



УКРАЇНА

(19) UA (11) 95775 (13) C2

(51) МПК

C07K 16/28 (2006.01)

C12N 15/13 (2006.01)

C07H 21/04 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(54) АНТИТІЛО, ЯКЕ СПЕЦИФІЧНО ЗВ'ЯЗУЄТЬСЯ З Р-КАДГЕРИНОМ

1

2

(21) а200711806

(22) 13.04.2006

(24) 12.09.2011

(86) РСТ/IB2006/001053, 13.04.2006

(31) 60/675,311

(32) 26.04.2005

(33) US

(46) 12.09.2011, Бюл.№ 17, 2011 р.

(72) БОЕР КРИСТОФЕР ТОДД, US, БЕРНЕР МО-  
РІН ДЖЕРІ, US, БОЙЛ МЕЛАНІ, GB, КАСПЕРСОН  
ДЖЕРАЛЬД ФРАЙЄС, US, ГРІГГС ДЕВІД УІЛЛЬ-  
ЯМ, US, ХЕД РІЧАРД ДЕВІД, US, ДЖОЙ УІЛЛЬЯМ  
ДІН, US, МАЦЦАРЕЛЛА РІЧАРД АЛЛЕН, US, МІН-  
ТЕР РАЛЬФ РЕЙМОНД, GB, МОФФАТ МАРК АЛ-  
ЛЕН, US, ТІЛЄ БАРЕТ РІЧАРД, US, ВАНАРС-  
ДЕЙЛ ТОДД ЛІ, US

(73) ПФАЙЗЕР ІНК., US

(56) WO 02097395 A, 05.12.2002.

LIU GANG ET AL: "Neph1 and nephrin interaction in  
the slit diaphragm is an important determinant of  
glomerular permeability." THE JOURNAL OF  
CLINICAL INVESTIGATION. JUL 2003, vol. 112, no.  
2, July 2003 (2003-07), pages 209-221,  
XP002400164 ISSN: 0021-9738.  
WO 0125492 A, 12.04.2001.

(57) 1. Виділене антитіло або його анти-  
гензв'язувальна частина, які зв'язуються з Р-  
кадгерином з  $K_D$  50 нМ або менше і містять домен  
 $V_H$  і домен  $V_L$ , де домен  $V_H$  містить:

а) CDR1  $V_H$ , як вказано у SEQ ID NO:24;

б) CDR2  $V_H$ , як вказано у SEQ ID NO:25; і

с) CDR3  $V_H$ , як вказано у будь-якій з SEQ ID  
NO:26-37 і 91-256;

і де домен  $V_L$  містить:

д) CDR1  $V_L$ , як вказано у SEQ ID NO:38;

е) CDR2  $V_L$ , як вказано у SEQ ID NO:39; і

ф) CDR3  $V_L$ , як вказано у будь-якій з SEQ ID NO:40-  
47 і 257-319.

2. Антитіло або його антигензв'язувальна частина  
за п. 1, де домен  $V_H$  містить послідовність, як вка-  
зано у будь-якій з SEQ ID NO:1-13 і 320-325, і де  
домен  $V_L$  містить послідовність, як вказано у будь-  
якій з SEQ ID NO:14-23 і 326-331.

3. Антитіло або його антигензв'язувальна частина  
за п. 2, де домен  $V_H$  містить послідовність, як вка-  
зано у будь-якій з SEQ ID NO:13, 320, 321 і 322.

4. Антитіло або його антигензв'язувальна частина  
за п. 2, де домен  $V_L$  містить послідовність, як вка-  
зано у будь-якій з SEQ ID NO:22, 326, 327 і 328.

5. Антитіло або його антигензв'язувальна частина,  
які зв'язуються з Р-кадгерином з  $K_D$  50 нМ або ме-  
нше, де домен  $V_H$  містить будь-яку з SEQ ID  
NO:13, 320, 321 і 322, і де домен  $V_L$  містить будь-  
яку з SEQ ID NO:22, 326, 327 і 328.

6. Антитіло або його антигензв'язувальна частина  
за п. 1, де антитіло вибране з групи, яка склада-  
ється з:

а) антитіла або його антигензв'язувальної частини,  
які містять домен  $V_H$ , як вказано у SEQ ID NO:13, і  
домен  $V_L$ , як вказано у SEQ ID NO:22;

б) антитіла або його антигензв'язувальної частини,  
які містять домен  $V_H$ , як вказано у SEQ ID NO:320, і  
домен  $V_L$ , як вказано у SEQ ID NO:326;

с) антитіла або його антигензв'язувальної частини,  
які містять домен  $V_H$ , як вказано у SEQ ID NO:321, і  
домен  $V_L$ , як вказано у SEQ ID NO:327; і

д) антитіла або його антигензв'язувальної частини,  
які містять домен  $V_H$ , як вказано у SEQ ID NO:322, і  
домен  $V_L$ , як вказано у SEQ ID NO:328.

7. Антитіло або його антигензв'язувальна частина  
за п. 6, що містять домен  $V_H$ , як вказано у SEQ ID  
NO:321, і домен  $V_L$ , як вказано у SEQ ID NO:327.

8. Антитіло за будь-яким з пп. 1-7, яке являє собою  
молекулу IgG, IgM, IgE, IgA або IgD, або одержане  
з них.

9. Антитіло за п. 8, де IgG являє собою IgG<sub>1</sub>, де  
константна ділянка важкого ланцюга містить SEQ  
ID NO:344, і де константна ділянка легкого ланцю-  
га містить SEQ ID NO:345, за умови, що С-  
кінцевий залишок лізину з SEQ ID NO:344 необо-  
в'язково відщеплений.

10. Фармацевтична композиція, що містить антиті-  
ло або антигензв'язувальну частину за пп. 1-9 і  
фармацевтично прийнятний носій.

11. Антитіло за п. 1, що містить амінокислотну по-  
слідовність варіабельної ділянки важкого ланцюга,

(13) C2

(11) 95775

(19) UA

для якої використовується ген сімейства  $V_H-3$  людини.

12. Виділена молекула нуклеїнової кислоти, яка містить:

а) послідовність нуклеїнової кислоти, яка кодує важкий ланцюг антитіла за будь-яким з пп. 1-9 і 11, де вказаний важкий ланцюг, будучи скомбінованим з легким ланцюгом вказаного антитіла, утворює антитіло, що специфічно зв'язується з Р-кадгерином; або

б) послідовність нуклеїнової кислоти, яка кодує легкий ланцюг антитіла за будь-яким з пп. 1-9 і 11, де вказаний легкий ланцюг, будучи скомбінованим з важким ланцюгом вказаного антитіла, утворює антитіло, що специфічно зв'язується з Р-кадгерином.

13. Виділена молекула нуклеїнової кислоти за п. 12, що має нуклеотидну послідовність, як вказано у будь-якій з SEQ ID NO:80, 89, 332, 333, 334, 338, 339 і 340.

За даною заявкою заявляється пріоритет попередньої заявки США №60/675311, зареєстрованої 26 квітня 2005 року, яка наведена тут у повному об'ємі шляхом посилання.

Даний винахід стосується антитіл і їх антигензв'язувальних частин, які зв'язують Р-кадгерин. Також винахід стосується молекул нуклеїнових кислот, що кодують такі антитіла і антигензв'язувальні частини, способів одержання антитіл і антигензв'язувальних частин проти Р-кадгерину, композицій, що містять такі антитіла і антигензв'язувальні частини, і способів використання антитіл, антигензв'язувальних частин і композицій.

Кадгерини являють собою суперсімейство трансмембранних глікопротеїнів, що регулюють міжклітинну адгезію у ході розвитку і підтримки гомеостазу тканин (Gumbiner J. Cell. Biol., 148:399-404 (2000); Yagi, et al., Genes Dev., 14:1169-1180 (2000)). Внутрішньоклітинні домени кадгерину взаємодіють з цитоплазматичними білками, такими як катеніни і p120, які формують основу прикріплення кадгерину до актинового цитоскелету. Кадгерини мають п'ять позаклітинних доменів, що зв'язують  $Ca^{2+}$ , і невеликий цитоплазматичний домен, який є високо консервативним серед класичних кадгеринів. Члени сімейства класичних кадгеринів включають Р-кадгерин, Е-кадгерин і N-кадгерин. Вважають, що молекули клітинної адгезії, такі як кадгерини, грають важливу роль у клітинних контактах ракових і метастатичних клітин (Furukawa, et al., Microscopy Res. Technique 38 (4):343-352 (1997)). Експресія Р-кадгерину у звичайних дорослих тканинах є низькою і, в основному, обмежується міоепітеліальними клітинами і базальними шарами багатшарового епітелію (Shimoyama, et al., Cancer Res. 49:2128-33 (1989)). Експресія Р-кадгерину підвищується при запальних захворюваннях кишечника, таких як хвороба Крона і коліт (Hardy, et al., Gut 50:513-519 (2002)). У наш час значна сукупність даних також свідчить, що порушена експресія Р-кадгерину пов'язана з клітинною проліферацією і з пухлинами товстої кишки, молочної залози, легенів, щитовидної залози і шийки матки (Gamallo, Modern Pathology, 14:650-654, (2001); i Stefansson, et al., J. Clin. Oncol. 22(7):1242-

1252 (2004)). Було описано, що Р-кадгерин людини являє собою антиген, розпізнаваний моноклональним антитілом NCC-CAD-299, яке утворюється проти плоскоклітинного раку жіночих зовнішніх статевих органів (Shimoyama, et al., Cancer Res., 49:2128-2133 (1989)). Припускають, що регуляція опосередкованої Р-кадгерином адгезії і внутрішньоклітинної передачі сигналів приводить до зниженої проліферації і виживання пухлинних клітин *in vivo*. Відповідно, у зв'язку з центральною роллю, яку Р-кадгерин, очевидно, грає у клітинній проліферації і розвитку солідної пухлини, бажано одержати антитіла проти Р-кадгерину, які здатні забезпечити сприятливий терапевтичний вплив на пацієнтів з різними видами раку.

В одному з аспектів даний винахід стосується антитіла проти Р-кадгерину або його антигензв'язувальної частини, де антитіло або його антигензв'язувальна частина володіють принаймні однією з декількох функціональних властивостей, як описано нижче в А)-К).

А) Наприклад, в одному з варіантів здійснення антитіла або їх антигензв'язувальна частина володіють більш високою афінністю зв'язування Р-кадгерину ( $K_D(P)$ ), ніж Е-кадгерину ( $K_D(E)$ ). В одному з варіантів здійснення антитіла або їх антигензв'язувальна частина за даним винаходом мають величину  $K_D(E)/K_D(P)$ , що перевищує або дорівнює 1,5. В іншому варіанті здійснення антитіла або їх антигензв'язувальна частина за даним винаходом мають величину  $K_D(E)/K_D(P)$ , що перевищує або дорівнює 2, що перевищує або дорівнює 3, що перевищує або дорівнює 5, що перевищує або дорівнює 10, що перевищує або дорівнює 20, що перевищує або дорівнює 50, що перевищує або дорівнює 100, що перевищує або дорівнює 200, що перевищує або дорівнює 500, або, що перевищує або дорівнює 1000. Як правило, верхньої межі для  $K_D(E)/K_D(P)$  не існує, оскільки величина  $K_D(E)$  може бути дуже невеликою, наприклад, 0. Однак, у практичних цілях верхня межа для величини  $K_D(E)/K_D(P)$  може становити  $1 \times 10$ . Такі величини  $K_D$  для Р-кадгерину і для Е-кадгерину можна вимірювати будь-яким способом, відомим фахівцям у даній галузі, наприклад, за допомогою ELISA, RIA,

проточної цитометрії або поверхневого плазмонного резонансу, наприклад, BIACORE™.

В) В іншому варіанті здійснення антитіло або його частина зв'язують Р-кадгерин з величиною  $K_D$  1000 нМ або менше, як виміряно поверхневим плазмонним резонансом. В іншому варіанті здійснення антитіло або ділянка зв'язують Р-кадгерин з величиною  $K_D$ , що складає менш ніж 500 нМ, менш ніж 100 нМ, менш ніж 50 нМ, менш ніж 20 нМ, менш ніж 10 нМ, менш ніж 1 нМ, менш ніж 500 пМ або менш ніж 100 пМ, як виміряно поверхневим плазмонним резонансом. Як правило, нижньої межі для величини  $K_D$  не існує. Однак, у практичних цілях нижню межу можна передбачити такою, що дорівнює приблизно  $10^{-7}$  пМ.

С) В іншому варіанті здійснення антитіло або його частина мають швидкість зворотної реакції ( $k_{\text{звор.}}$ ) для Р-кадгерину, що складає менш ніж або дорівнює  $0,01 \text{ секунда}^{-1}$ , як виміряно поверхневим плазмонним резонансом. Наприклад, у деяких варіантах здійснення антитіло або частина мають величину  $k_{\text{звор.}}$  для Р-кадгерину, що складає менш ніж  $0,005 \text{ секунда}^{-1}$ , менш ніж  $0,004 \text{ секунда}^{-1}$ , менш ніж  $0,003 \text{ секунда}^{-1}$ , менш ніж  $0,002 \text{ секунда}^{-1}$  або менш ніж  $0,001 \text{ секунда}^{-1}$ . Як правило, нижньої межі для величини  $k_{\text{звор.}}$  не існує. Однак, у практичних цілях нижню межу можна передбачити такою, що дорівнює приблизно  $1 \times 10^{-7} \text{ секунда}^{-1}$ .

Д) В іншому варіанті здійснення антитіло проти Р-кадгерину або його частина володіють величиною  $IC_{50}$  100 нМ або менше, як виміряно за допомогою аналізу залежної від Р-кадгерину адгезії клітин. В іншому варіанті здійснення вказана  $IC_{50}$  складає менш ніж 50 нМ, менш ніж 40 нМ, менш ніж 20 нМ, менш ніж 10 нМ, менш ніж 1 нМ, менш ніж 500 пМ, менш ніж 200 пМ, менш ніж 100 пМ або менш ніж 10 пМ, як виміряно за допомогою аналізу залежної від Р-кадгерину адгезії клітин. Як правило, нижньої межі для величини  $IC_{50}$ , як виміряно за допомогою аналізу залежної від Р-кадгерину адгезії клітин, не існує. Однак, у практичних цілях нижню межу можна передбачити такою, що дорівнює приблизно 1 пМ.

Е) В іншому варіанті здійснення антитіло проти Р-кадгерину або його частина володіють величиною  $IC_{50}$  100 нМ або менше, як виміряно за допомогою аналізу залежної від Р-кадгерину агрегації клітин. В іншому варіанті здійснення вказана  $IC_{50}$  складає менш ніж 50 нМ, менш ніж 40 нМ, менш ніж 20 нМ, менш ніж 10 нМ, менш ніж 1 нМ, менш ніж 500 пМ, менш ніж 200 пМ, менш ніж 100 пМ або менш ніж 1 пМ, як виміряно за допомогою аналізу залежної від Р-кадгерину агрегації клітин. Як правило, нижньої межі для величини  $IC_{50}$ , як виміряно за допомогою аналізу залежної від Р-кадгерину агрегації клітин, не існує. Однак, у практичних цілях нижню межу можна передбачити такою, що дорівнює приблизно 1 пМ.

Ф) В іншому варіанті здійснення антитіло проти Р-кадгерину або його частина підвищують розпад шароподібного утворення у 2 рази або більше в аналізі розпаду шароподібного утворення, що залежить від Р-кадгерину, при порівнянні з контрольним зразком без наявності IgG. В іншому варіанті здійснення антитіло проти Р-кадгерину або його

частина підвищують розпад шароподібного утворення в аналізі розпаду шароподібного утворення, що залежить від Р-кадгерину, принаймні у 3, принаймні у 4, принаймні у 6, принаймні у 10 або принаймні у 15 разів у порівнянні з контрольним зразком без наявності IgG.

Г) В іншому варіанті здійснення антитіло проти Р-кадгерину або його частина конкурують за зв'язування Р-кадгерину з антитілом, вибраним з групи, яка складається з 194-e06; 194-a02; 194-b09; 195-e11; 194-g09; 196-h02; 194-e01; 196-d10; 196-g03; 196-e06; 195-a09; 198-a09; 200-h06; g-194-b09; g-194-g09; g-196-g03; g-196-h02; g-194-e01; g-194-e06; 129-1c4; i g-129-1c4.

Н) В іншому варіанті здійснення антитіло проти Р-кадгерину або його частина перехресно конкурують за зв'язування Р-кадгерину з антитілом, вибраним з групи, яка складається з 194-e06; 194-a02; 194-b09; 195-e11; 194-g09; 196-h02; 194-e01; 196-d10; 196-g03; 196-e06; 195-a09; 198-a09; 200-h06; g-194-b09; g-194-g09; g-196-g03; g-196-h02; g-194-e01; g-194-e06; 129-1c4; i g-129-1c4.

І) В іншому варіанті здійснення антитіло проти Р-кадгерину або його частина зв'язуються з тим же епітопом Р-кадгерину, що і антитіло, вибране з групи, яка складається з 194-e06; 194-a02; 194-b09; 195-e11; 194-g09; 196-h02; 194-e01; 196-d10; 196-g03; 196-e06; 195-a09; 198-a09; 200-h06; g-194-b09; g-194-g09; g-196-g03; g-196-h02; g-194-e01; g-194-e06; 129-1c4; i g-129-1c4.

Ј) В іншому варіанті здійснення антитіло проти Р-кадгерину або його частина зв'язуються з Р-кадгериним практично з тією ж величиною  $K_D$ , що і антитіло, вибране з групи, яка складається з 194-e06; 194-a02; 194-b09; 195-e11; 194-g09; 196-h02; 194-e01; 196-d10; 196-g03; 196-e06; 195-a09; 198-a09; 200-h06; g-194-b09; g-194-g09; g-196-g03; g-196-h02; g-194-e01; g-194-e06; 129-1c4; i g-129-1c4.

К) В іншому варіанті здійснення антитіло проти Р-кадгерину або його частина зв'язуються з Р-кадгериним практично з тією ж величиною  $k_{\text{звор.}}$ , що і антитіло, вибране з групи, яка складається з 194-e06; 194-a02; 194-b09; 195-e11; 194-g09; 196-h02; 194-e01; 196-d10; 196-g03; 196-e06; 195-a09; 198-a09; 200-h06; g-194-b09; g-194-g09; g-196-g03; g-196-h02; g-194-e01; g-194-e06; 129-1c4; i g-129-1c4.

В іншому аспекті даний винахід стосується антитіла або його антигензв'язувальної частини, що володіють принаймні однією з описаних раніше в А)-К) функціональних властивостей, містять домен  $V_H$ , амінокислотна послідовність якого принаймні на 90 % співпадає з будь-якою з SEQ ID №№:1-13 і 320-325. В одному з варіантів здійснення амінокислотна послідовність вказаного домену  $V_H$  співпадає принаймні на 91 %, принаймні на 93 %, принаймні на 95 %, принаймні на 97 %, принаймні на 99 % або 100 % з будь-якою з SEQ ID №№:1-12 і 320-325.

В іншому варіанті здійснення антитіло або його частина володіють принаймні однією з описаних раніше в А)-К) функціональних властивостей, містять домен  $V_H$ , який являє собою будь-яку з SEQ ID №№:1-13 і 320-325 або відрізняється від будь-якої з SEQ ID №№:1-13 і 320-325 наявністю при-

наймні однієї консервативної амінокислотної заміни. Наприклад, домен  $V_H$  може відрізнятися від будь-якої з SEQ ID №№: 1-13 і 320-325 на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 або 10 консервативних амінокислотних заміні. В іншому варіанті здійснення будь-яка з цих консервативних амінокислотних заміні може відбуватися в областях CDR1, CDR2 і/або CDR3.

В іншому аспекті даний винахід стосується антитіла або його антигензв'язувальної частини, що володіють принаймні однією з описаних раніше в А)-К) функціональних властивостей, містять домен  $V_L$ , амінокислотна послідовність якого принаймні на 90 % співпадає з будь-якою з SEQ ID №№: 14-23 і 326-331. В одному з варіантів здійснення амінокислотна послідовність вказаного домену  $V_L$  співпадає принаймні на 91 %, принаймні на 93 %, принаймні на 95 %, принаймні на 97 %, принаймні на 99 % або 100 % з будь-якою з SEQ ID №№: 14-23 і 326-331.

В іншому варіанті здійснення антитіла або його частина володіють принаймні однією з описаних раніше в А)-К) функціональних властивостей і містять домен  $V_L$ , який являє собою будь-яку з SEQ ID №№: 14-23 і 326-331 або відрізняється від будь-якої з SEQ ID №№: 14-23 і 326-331 наявністю принаймні однієї консервативної амінокислотної заміни. Наприклад, домен  $V_L$  може відрізнятися від будь-якої з SEQ ID №№: 14-23 і 326-331 на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 або 10 консервативних амінокислотних заміні. В іншому варіанті здійснення будь-яка з цих консервативних амінокислотних заміні може відбуватися в областях CDR1, CDR2 і/або CDR3.

В іншому аспекті даний винахід стосується антитіла або його антигензв'язувальної частини, що володіє принаймні однією з описаних раніше в А)-К) функціональних властивостей, де амінокислотна послідовність доменів  $V_L$  і  $V_H$  принаймні на 90 % співпадає з доменами  $V_L$  і  $V_H$ , відповідно, будь-якого з антитіл 194-e06; 194-a02; 194-b09; 195-e11; 194-g09; 196-h02; 194-01 196-d10; 196-g03; 196-e06; 195-a09; 198-a09; 200-h06; g-194-b09; g-194-g09; g-196-g03; g-196-h02; g-194-e01; g-194-e06; 129-1c4; і g-129-1c4. Наприклад, амінокислотна послідовність кожного з доменів  $V_L$  і  $V_H$  принаймні на 91 %, 93 %, 95 %, 97 %, 99 % або 100 % співпадає з доменами  $V_L$  і  $V_H$ , відповідно, будь-якого з антитіл 194-e06; 194-a02; 194-b09; 195-e11; 194-g09; 196-h02; 194-e01; 196-d10; 196-g03; 196-e06; 195-a09; 198-a09; 200-h06; g-194-b09; g-194-g09; g-196-g03; g-196-h02; g-194-e01; g-194-e06; 129-1c4; і g-129-1c4.

В іншому аспекті даний винахід стосується антитіла або його антигензв'язувальної частини, які вибирають з групи, що складається з а) антитіла або його ділянки, що містить домен  $V_H$ , як вказано у SEQ ID №: 1, і домен  $V_L$ , як вказано у SEQ ID №:14; б) антитіла або його ділянки, що містить домен  $V_H$ , як вказано у SEQ ID №:2, і домен  $V_L$ , як вказано у SEQ ID №:14; в) антитіла або його ділянки, що містить домен  $V_H$ , як вказано у SEQ ID №:2, і домен  $V_L$ , як вказано у SEQ ID №:15; г) антитіла або його ділянки, що містить домен  $V_H$ , як вказано у SEQ ID №:3, і домен  $V_L$ , як вказано у SEQ ID №:16; е) антитіла або його ділянки, що містить домен  $V_H$ , як вказано у SEQ ID №:4, і домен  $V_L$ , як

вказано у SEQ ID №:17; ф) антитіла або його ділянки, що містить домен  $V_H$ , як вказано у SEQ ID №:4, і домен  $V_L$ , як вказано у SEQ ID №:23; г) антитіла або його ділянки, що містить домен  $V_H$ , як вказано у SEQ ID №:5, і домен  $V_L$ , як вказано у SEQ ID №:18; h) антитіла або його ділянки, що містить домен  $V_H$ , як вказано у SEQ ID №:6, і домен  $V_L$ , як вказано у SEQ ID №:23; i) антитіла або його ділянки, що містить домен  $V_H$ , як вказано у SEQ ID №:7, і домен  $V_L$ , як вказано у SEQ ID №:23; j) антитіла або його ділянки, що містить домен  $V_H$ , як вказано у SEQ ID №:8, і домен  $V_L$ , як вказано у SEQ ID №:23; k) антитіла або його ділянки, що містить домен  $V_H$ , як вказано у SEQ ID №:9, і домен  $V_L$ , як вказано у SEQ ID №:23; l) антитіла або його ділянки, що містить домен  $V_H$ , як вказано у SEQ ID №:10, і домен  $V_L$ , як вказано у SEQ ID №:19; m) антитіла або його ділянки, що містить домен  $V_H$ , як вказано у SEQ ID №:11, і домен  $V_L$ , як вказано у SEQ ID №:20; n) антитіла або його ділянки, що містить домен  $V_H$ , як вказано у SEQ ID №:12, і домен  $V_L$ , як вказано у SEQ ID №:21; o) антитіла або його ділянки, що містить домен  $V_H$ , як вказано у SEQ ID №:13, і домен  $V_L$ , як вказано у SEQ ID №:22; p) антитіла або його ділянки, що містить домен  $V_H$ , як вказано у SEQ ID №:320, і домен  $V_L$ , як вказано у SEQ ID №:326; q) антитіла або його ділянки, що містить домен  $V_H$ , як вказано у SEQ ID №:321, і домен  $V_L$ , як вказано у SEQ ID №:327; r) антитіла або його ділянки, що містить домен  $V_H$ , як вказано у SEQ ID №:322, і домен  $V_L$ , як вказано у SEQ ID №:328; s) антитіла або його ділянки, що містить домен  $V_H$ , як вказано у SEQ ID №:323, і домен  $V_L$ , як вказано у SEQ ID №:329; t) антитіла або його ділянки, що містить домен  $V_H$ , як вказано у SEQ ID №:324, і домен  $V_L$ , як вказано у SEQ ID №:330; і u) антитіла або його ділянки, що містить домен  $V_H$ , як вказано у SEQ ID №:325, і домен  $V_L$ , як вказано у SEQ ID №:331.

В іншому варіанті здійснення у випадку будь-якого з антитіл або їх частин, описаних вище у групах а)-u), домени  $V_H$  і/або  $V_L$  можуть відрізнятися від конкретних вказаних у даній заявці SEQ ID №№ принаймні на одну консервативну амінокислотну заміну. Наприклад, домени  $V_H$  і/або  $V_L$  можуть відрізнятися від вказаної SEQ ID № на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 або 10 консервативних амінокислотних заміні. В іншому варіанті здійснення будь-яка з цих консервативних амінокислотних заміні може відбуватися в областях CDR1, CDR2 і/або CDR3.

В іншому варіанті здійснення даний винахід стосується антитіла або його антигензв'язувальної частини, що володіють принаймні однією з описаних раніше в А)-К) функціональних властивостей, містять домен  $V_H$ , який незалежно вибирають з будь-якої з SEQ ID №№:1-13 і 320-325 або послідовності, відмінної від будь-якої з SEQ ID №№:1-13 і 320-325 принаймні на одну консервативну амінокислотну заміну, і додатково містять домен  $V_L$ , який незалежно вибирають з будь-якої з SEQ ID №№: 14-23 і 326-331, або послідовності, відмінної від будь-якої з SEQ ID №№: 14-23 і 326-331 принаймні на одну консервативну амінокислотну заміну. Наприклад, кожний з доменів  $V_H$  і  $V_L$  може незалежно відрізнятися від будь-якої з SEQ ID



№№:1-13, 320-325, 14-23 і 326-331 на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 або 10 консервативних амінокислотних заміні.

В іншому варіанті здійснення даний винахід стосується антитіла або його антигензв'язувальної частини, що володіють принаймні однією з описаних раніше в А)-К) функціональних властивостей, де вказане антитіло або ділянка містять CDR3 V<sub>H</sub>, вибраний з будь-якої з SEQ ID №№:26-37 і 91-256 або послідовності, відмінної від будь-якої з SEQ ID №№:26-37 і 91-256 принаймні на одну консервативну амінокислотну заміну. Наприклад, CDR3 V<sub>H</sub> може відрізнятися від будь-якої з SEQ ID №№:26-37 і 91-256 на 1,2, 3 або 4 консервативних амінокислотних заміні.

В іншому варіанті здійснення даний винахід стосується антитіла або його антигензв'язувальної частини, що володіють принаймні однією з описаних раніше в А)-К) функціональних властивостей, де вказане антитіло або антигензв'язувальна частина містять CDR3 V<sub>L</sub>, вибраний з будь-якої з SEQ ID №№:40-47 і 257-319 або послідовності, відмінної від будь-якої з SEQ ID №№:40-47 і 257-319 принаймні на одну консервативну амінокислотну заміну. Наприклад, CDR3 V<sub>L</sub> може відрізнятися від будь-якої з SEQ ID №№:40-47 і 257-319 на 1, 2, 3, 4 або 5 консервативних амінокислотних заміні.

В іншому варіанті здійснення даний винахід стосується антитіла або його антигензв'язувальної частини, де вказане антитіло або антигензв'язувальна частина містять: CDR1 V<sub>H</sub>, як вказано у SEQ ID №:24, або послідовність, відмінну від SEQ ID №:24 принаймні на одну консервативну амінокислотну заміну; CDR2V<sub>H</sub>, як вказано у SEQ ID №:25, або послідовність, відмінну від SEQ ID №:25 принаймні на одну консервативну амінокислотну заміну; і CDR3 V<sub>H</sub>, що незалежно вибирають з будь-якої з SEQ ID №№:26-37 і 91-256, або з послідовності, відмінної від будь-якої з SEQ ID №№:26-37 і 91-256 принаймні на одну консервативну амінокислотну заміну. Наприклад, кожна з вказаних вище послідовностей CDR1, CDR2 і CDR3 V<sub>H</sub> може незалежно відрізнятися від відповідних вказаних SEQ ID №№ на 1, 2, 3, 4 або 5 консервативних амінокислотних заміні.

В іншому варіанті здійснення даний винахід стосується антитіла або його антигензв'язувальної частини, де вказане антитіло або антигензв'язувальна частина містять: CDR1 V<sub>L</sub>, як вказано у SEQ ID №:38, або послідовність, відмінну від SEQ ID №:38 принаймні на одну консервативну амінокислотну заміну; CDR2 V<sub>L</sub>, як вказано у SEQ ID №:39, або послідовність, відмінну від SEQ ID №:39 принаймні на одну консервативну амінокислотну заміну; і CDR3 V<sub>L</sub>, що незалежно вибирають з будь-якої з SEQ ID №№:40-47 і 257-319, або з послідовності, відмінної від будь-якої з SEQ ID №№:40-47 і 257-319 принаймні на одну консервативну амінокислотну заміну. Наприклад, кожна з вказаних вище послідовностей CDR1, CDR2 і CDR3 V<sub>L</sub> може незалежно відрізнятися від відповідних вказаних SEQ ID №№ на 1, 2, 3, 4 або 5 консервативних амінокислотних заміні.

Крім того, даний винахід стосується антитіла або його антигензв'язувальної частини, де вказане

антитіло або антигензв'язувальна частина містять: CDR1 V<sub>H</sub>, як вказано у SEQ ID №:24; CDR2 V<sub>H</sub>, як вказано у SEQ ID №:25; CDR3 V<sub>H</sub>, вибраний з будь-якої з SEQ ID №№:26-37 і 91-256; CDR1 V<sub>L</sub>, як вказано у SEQ ID №:38; CDR2V<sub>L</sub>, як вказано у SEQ ID №:39; і CDR3 V<sub>L</sub>, вибраний з будь-якої з SEQ ID №№:40-47 і 257-319. В іншому варіанті здійснення кожна з вказаних послідовностей CDR1, CDR2 і CDR3 V<sub>H</sub> і V<sub>L</sub> може незалежно відрізнятися від конкретних вказаних вище SEQ ID №№ принаймні на одну консервативну амінокислотну заміну. Наприклад, кожна з послідовностей CDR1, CDR2 і CDR3 може незалежно відрізнятися від відповідних конкретних SEQ ID №№, вказаних вище, на 1, 2, 3, 4 або 5 консервативних амінокислотних заміні.

Крім того, даний винахід стосується антитіла або його антигензв'язувальної частини, де вказане антитіло або антигензв'язувальна частина містять CDR1 V<sub>H</sub> і V<sub>L</sub>, CDR2V<sub>H</sub> і V<sub>L</sub> і CDR3 V<sub>H</sub> і V<sub>L</sub>, як зустрічається у будь-якому з антитіл 194-e06; 194-a02; 194-b09; 195-e11; 194-g09; 196-h02; 194-e01; 196-d10; 196-g03; 196-e06; 195-a09; 198-a09; 200-h06; g-194-b09; g-194-g09; g-196-g03; g-196-h02; g-194-e01; g-194-e06; 129-1c4; і g-129-1c4.

Крім того, даний винахід стосується антитіла або його антигензв'язувальної частини, що містять домен V<sub>H</sub>, який вибирають з будь-якої з SEQ ID №№:1-13 і 320-325 або який відрізняється від будь-якої з SEQ ID №№:1-13 і 320-325 на 1-10 консервативних амінокислотних заміні.

Крім того, даний винахід стосується антитіла або його антигензв'язувальної частини, що містять домен V<sub>L</sub>, який вибирають з будь-якої з SEQ ID №№: 14-23 і 326-331 або який відрізняється від будь-якої з SEQ ID №№: 14-23 і 326-331 на 1-10 консервативних амінокислотних заміні.

Крім того, даний винахід стосується антитіла або його антигензв'язувальної частини, що містять домен V<sub>H</sub>, який незалежно вибирають з будь-якої з SEQ ID №№:1-13 і 320-325 або послідовності, відмінної від будь-якої з SEQ ID №№:1-13 і 320-325 на 1-10 консервативних амінокислотних заміні, і додатково містять домен V<sub>L</sub>, який незалежно вибирають з будь-якої з SEQ ID №№:14-23 і 326-331 або послідовності, відмінної від будь-якої з SEQ ID №№: 14-23 і 326-331 на 1-10 консервативних амінокислотних заміні.

Крім того, даний винахід стосується антитіла або його антигензв'язувальної частини, де вказане антитіло або антигензв'язувальна частина містять: CDR1V<sub>H</sub>, як вказано у SEQ ID №:24, або послідовність, відмінну від SEQ ID №:24 на 1-4 консервативних амінокислотних заміні; CDR2 V<sub>H</sub>, як вказано у SEQ ID №:25, або послідовність, відмінну від SEQ ID №:25 на 1-4 консервативних амінокислотних заміні; і CDR3 V<sub>H</sub>, що вибирають з будь-якої з SEQ ID №№:26-37 і 91-256, або з послідовності, відмінної від будь-якої з SEQ ID №№:26-37 і 91-256 на 1-4 консервативних амінокислотних заміні.

Крім того, даний винахід стосується антитіла або його антигензв'язувальної частини, де вказане антитіло або антигензв'язувальна частина містять: CDR1V<sub>L</sub>, як вказано у SEQ ID №:38, або послідовність, відмінну від SEQ ID №:38 на 1-4 консервати-

вних амінокислотних заміни; CDR2V<sub>L</sub>, як вказано у SEQ ID №:39, або послідовність, відмінну від SEQ ID №:39 на 1-4 консервативних амінокислотних заміни; і CDR3 V<sub>L</sub>, що вибирають з будь-якої з SEQ ID №№:40-47 і 257-319, або з послідовності, відмінної від будь-якої з SEQ ID №№:40-47 і 257-319 на 1-4 консервативних амінокислотних заміни.

Крім того, даний винахід стосується антитіла або його антигензв'язувальної частини, що володіють принаймні однією з описаних раніше в А)-К) функціональних властивостей, де вказане антитіло або антигензв'язувальна частина містять: FR1 V<sub>H</sub>, як вказано у SEQ ID №:48; FR2 V<sub>H</sub>, як вказано у SEQ ID №:49; FR3 V<sub>H</sub>, вибраний з будь-якої з SEQ ID №№:50-55; FR4 V<sub>H</sub>, вибраний з будь-якої з SEQ ID №№:56 і 57; FR1 V<sub>L</sub>, вибраний з будь-якої з SEQ ID №№:58 і 59; FR2V<sub>L</sub>, вибраний з будь-якої з SEQ ID №№:60-62; FR3 V<sub>L</sub>, вибраний з будь-якої з SEQ ID №№:63-66; і FR4 V<sub>L</sub>, як вказано у SEQ ID №:67. В іншому варіанті здійснення кожна з вказаних послідовностей FR1,FR2,FR3 і FR4 V<sub>H</sub> і V<sub>L</sub> може також незалежно відрізнятися від конкретних вказаних вище SEQ ID №№ принаймні на одну консервативну амінокислотну заміну. Наприклад, кожна з послідовностей FR1,FR2,FR3 і FR4 може незалежно відрізнятися від відповідних конкретних SEQ ID №№, вказаних вище, на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 або 10 консервативних амінокислотних заміни. У ще одному варіанті здійснення будь-яку з послідовностей FR1,FR2,FR3 і FR4 можна піддавати мутації для співпадання з відповідною послідовністю карксоної області зародкової лінії.

В іншому варіанті здійснення даний винахід стосується будь-якого з описаних у даній заявці антитіл, де антитіло являє собою молекулу IgG, IgM, IgE, IgA або IgD або одержане з них. Наприклад, антитіло може являти собою IgG<sub>1</sub> або IgG<sub>2</sub>. Наприклад, в одному з варіантів здійснення IgG являє собою IgG<sub>1</sub>, де константна область важкого ланцюга містить SEQ ID №:344 і де константна область легкого ланцюга містить SEQ ID №:345, за умови, що С-кінцевий залишок лізину з SEQ ID №:344, необов'язково, розщеплений.

Інший варіант здійснення стосується будь-яких описаних вище антитіл або антигензв'язувальних частин, що являють собою фрагмент Fab, фрагмент F(ab')<sub>2</sub>, фрагмент Fv, одноланцюжковий фрагмент Fv, одноланцюжковий фрагмент V<sub>H</sub>, одноланцюжковий фрагмент V<sub>L</sub>, гуманізоване антитіло, химерне антитіло або біспецифічне антитіло.

Інший варіант здійснення стосується дериватизованого антитіла або антигензв'язувальної частини, що містять будь-яке з антитіл або їх частин, як описано у даній заявці, і принаймні одну додаткову молекулу. Наприклад, принаймні одна додаткова молекула може являти собою інше антитіло (наприклад, біспецифічне антитіло або димер), засіб для реєстрації, мітку, цитотоксичний засіб, фармацевтичний засіб і/або білок, або пептид, які здатні опосередковувати зв'язок антитіла або ділянки антитіла з іншою молекулою (такою як внутрішня область стрептавідину або поліглістидинова мітка). Наприклад, ефективні засоби для реєстрації, за допомогою яких можна дериватизувати антитіло або антигензв'язувальну частину за винахо-

дом, включають флуоресцентні сполуки, у тому числі флуоресцеїн, флуоресцеїнізотіоціанат, родамін, хлорид 5-диметиламін-1-нафталінсульфонілу, фікоеритрин, лантанідні люмінофори і т.п. Також антитіло можна мітити ефективними для реєстрації ферментами, такими як пероксидаза хрому, β-галактозидаза, люцифераза, лужна фосфатаза, глюкозоксидида і т.п. В іншому варіанті здійснення антитіла або їх ділянки за даним винаходом можна також мітити біотином або заздалегідь заданим поліпептидним епітопом, розпізнаваним вторинним репортером (наприклад, парні послідовності лейцинових застібок, ділянки зв'язування для вторинних антитіл, домени зв'язування металів, епітопні мітки). У ще одному варіанті здійснення даного винаходу будь-які з антитіл або їх частин також можна дериватизувати хімічною групою, такою як поліетиленгліколь (PEG), метильною або етильною групою, або вуглецевою групою.

У деяких варіантах здійснення описані у даній заявці антитіла або антигензв'язувальні частини проти Р-кадгерину прикріплюють до твердого носія.

У деяких варіантах здійснення розщеплюють С-кінцевий лізин важкого ланцюга з будь-якого антитіла проти Р-кадгерину за винаходом. У різних варіантах здійснення винаходу важкі і легкі ланцюги антитіл проти Р-кадгерину можуть, необов'язково, містити N-кінцеву сигнальну послідовність. Наприклад, сигнальна послідовність важкого ланцюга може являти собою SEQ ID №:346, а сигнальна послідовність легкого ланцюга може являти собою SEQ ID №:347.

В іншому варіанті здійснення даний винахід стосується будь-якого з антитіл або їх антигензв'язувальних частин, як описано у даній заявці, де антитіла або їх антигензв'язувальні частини належать людині.

Також даний винахід стосується фармацевтичної композиції, що містить будь-яке з антитіл або їх антигензв'язувальних частин, як описано вище, і фармацевтично прийнятний носій.

В іншому варіанті здійснення винахід стосується молекули виділеної нуклеїнової кислоти, що містить нуклеотидну послідовність, яка кодує будь-яке з антитіл або їх антигензв'язувальних частин, як описано у даній заявці. Один з конкретних варіантів здійснення стосується молекули виділеної нуклеїнової кислоти, що містить нуклеотидну послідовність, як вказано у будь-якій з SEQ ID №№:68-90 і 332-343. Крім того, винахід стосується вектора, що містить будь-яку з описаних у даній заявці молекул нуклеїнових кислот, де вектор, необов'язково, містить послідовність, що контролює експресію, яка функціонально пов'язана з молекулою нуклеїнової кислоти.

Інший варіант здійснення стосується клітини-хазяїна, що містить будь-який з описаних у даній заявці векторів або містить будь-яку з описаних у даній заявці молекул нуклеїнових кислот. Також даний винахід стосується окремої лінії клітин, що продукують будь-яке з антитіл або антигензв'язувальних частин, як описано у даній заявці, або продукують важкий ланцюг або легкий ланцюг яко-

го-небудь з вказаних антитіл або вказаних антигензв'язувальних частин.

В іншому варіанті здійснення даний винахід стосується способу одержання антитіла проти Р-кадгерину або його антигензв'язувальної частини, де спосіб включає культивування у прийнятних умовах будь-яких описаних у даній заявці клітин-хазяїнів або клітинних ліній і виділення вказаного антитіла або антигензв'язувальної ділянки.

Також даний винахід стосується трансгенної тварини, яка не є людиною, або трансгенної рослини, що містить будь-яку з описаних у даній заявці нуклеїнових кислот, де трансгенна тварина, яка не є людиною, або трансгенна рослина експресує вказану нуклеїнову кислоту.

Крім того, даний винахід стосується способу виділення антитіла або його антигензв'язувальної ділянки, які зв'язуються з Р-кадгерином, де спосіб включає стадію виділення антитіла з трансгенної тварини, яка не є людиною, або трансгенної рослини, як описано у даній заявці.

Також даний винахід стосується способу лікування патологічного росту клітин у ссавця за необхідності цього, де спосіб включає стадію введення вказаному ссавцеві будь-якого з антитіл або їх антигензв'язувальних частин, або будь-якої з фармацевтичних композицій, як описано у даній заявці. Крім того, даний винахід стосується способу лікування патологічного росту клітин у ссавця за необхідності цього за допомогою антитіла або його антигензв'язувальної ділянки, що зв'язується з Р-кадгерином, де спосіб включає стадію введення вказаному ссавцеві ефективної кількості будь-якої з описаних у даній заявці молекул нуклеїнових кислот у прийнятних умовах, що дозволяють експресію вказаних молекул нуклеїнових кислот. В іншому варіанті здійснення спосіб лікування патологічного росту клітин додатково включає введення визначеної кількості однієї або декількох речовин, вибраних з протипухлинних засобів, протиангіогенних засобів, інгібіторів передачі сигналів і антипроліферативних засобів, де ці кількості разом ефективні у лікуванні вказаного патологічного росту клітин. У конкретних варіантах здійснення вказаний патологічний ріст клітин є раковим.

Крім того, даний винахід стосується способу зниження залежної від Р-кадгерину агрегації клітин, де спосіб включає контактування клітин з будь-яким з описаних у даній заявці антитіл або їх антигензв'язувальних частин або з будь-якою з описаних у даній заявці фармацевтичних композицій.

В іншому аспекті даний винахід стосується антитіла або його антигензв'язувальної частини, що містить амінокислотну послідовність варіабельної області важкого ланцюга, для якої використовується ген сімейства  $V_H-3$  людини. Наприклад, в одному з варіантів здійснення ген сімейства  $V_H-3$  людини являє собою  $V_H-3-23$ .

В іншому аспекті даний винахід стосується будь-якого з антитіл або їх антигензв'язувальних частин, як описано у даній заявці, де вказане антитіло або антигензв'язувальна частина являє собою антитіло людини. В іншому аспекті вказане

антитіло або антигензв'язувальна частина являють собою рекомбінантне антитіло людини.

Також винахід стосується способу одержання антитіла проти Р-кадгерину або його антигензв'язувальної частини, де спосіб включає стадії синтезу фагової бібліотеки антитіл людини, скринінгу бібліотеки за допомогою Р-кадгерину або його антигенної частини, виділення фагу, що зв'язує Р-кадгерин, і одержання антитіла з фагу.

#### ВИЗНАЧЕННЯ І ЗАГАЛЬНІ СПОСОБИ

Доки у даній заявці не вказано інакше, наукові і технічні терміни, що використовуються у зв'язку з даним винаходом, мають значення, які звичайно мають на увазі фахівці у даній галузі. Крім того, доки по контексту не потрібно інакше, терміни в однині включають в себе множину, а терміни у множині включають в себе однину. Загалом, номенклатура, що використовується у межах опису і використовується при описі у даній заявці способів культивування клітин і тканин, молекулярної біології, імунології, мікробіології, генетики і хімії білків та нуклеїнових кислот, а також гібридизації є такою, що добре відома і звичайно використовується у даній галузі.

Як правило, способи і процедури за даним винаходом здійснюють відповідно до загальноприйнятих способів, добре відомих у даній галузі, і як описано у різних загальних і більш конкретних посиланнях, процитованих і вказаних протягом усього даного опису, доти, доки не вказано інакше. Див., наприклад, Sambrook, et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3rd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (2000); Ausubel, et al., *Short Protocols in Molecular Biology: A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology*, Wiley, John & Sons, Inc. (2002); Harlow and Lane *Using Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1998); і Coligan, et al., *Short Protocols in Protein Science*, Wiley, John & Sons, Inc. (2003), описи яких наведені тут повністю за допомогою посилання. Ферментативні реакції і способи очищення здійснюють відповідно до вказівок виробника, як звичайно виконують у даній галузі або як описано у даній заявці. Номенклатура, що використовується у межах опису і використовується при описі у даній заявці лабораторних процедур і способів аналітичної хімії, хімії органічного синтезу і медичної, і фармацевтичної хімії є такою, яка добре відома і звичайно використовуються у даній галузі. Для хімічного синтезу, хімічного аналізу, фармацевтичного препарату, складу, доставки, а також лікування пацієнтів використовують загальноприйняті способи.

Відомо, що основна структурна одиниця антитіла містить тетрамер. Кожний тетрамер складається з двох однакових пар поліпептидних ланцюгів, де кожна пара має один "легкий" (приблизно 25 кДа) і один "важкий" ланцюг (приблизно 50-70 кДа). Амінокінцева ділянка кожного ланцюга містить варіабельну область приблизно від 100 до 120 або більше амінокислот, яка, в основному, відповідає за розпізнавання антигену.

Карбоксикінцева ділянка кожного ланцюга визначає константну область, яка, в основному, від-

повідальна за ефекторну функцію. Легкі ланцюги, що є людськими, поділяють на легкі ланцюги каппа і лямбда. Важкі ланцюги поділяють на мю, дельта, гамма, альфа або епсилон, і вони визначають ізотип антитіла як IgM, IgD, IgG, IgA і IgE, відповідно. У легких і важких ланцюгах варіабельна і константна області з'єднані за допомогою ділянки "J", що складається приблизно з 12 або більше амінокислот, де важкий ланцюг також включає ділянку "D" приблизно з 3 або більше амінокислот. Загалом, див. *Fundamental Immunology*. Ch.7 (Paul, W., ed., 2nd ed. Raven Press, N.Y. (1989)) (наведено тут повністю шляхом посилання для всіх цілей). Варіабельні області кожної пари важкий/легкий ланцюги ( $V_H$  і  $V_L$ ) формують ділянку зв'язування антитіла. Таким чином, наприклад, ціле антитіло IgG має дві ділянки зв'язування. За винятком біфункціональних або біспецифічних антитіл, дві ділянки зв'язування є однаковими.

Варіабельні області важкого і легкого ланцюгів володіють однаковою загальною структурою з відносно консервативних каркасних областей (FR), з'єднаних трьома гіперваріабельними ділянками, які також називають ділянками, що визначають комплементарність, або CDR. Термін "варіабельний" стосується того факту, що серед антитіл послідовність визначених ділянок варіабельних доменів значною мірою відрізняється, і вони використовуються для зв'язування і специфічності кожного конкретного антитіла відносно його конкретного антигену. Однак, варіабельність розподілена серед варіабельних доменів антитіл нерівномірно, а сконцентрована у CDR, які розділені більш високо консервативними FR. CDR з двох ланцюгів кожної пари вирівняні за допомогою FR, що дозволяє зв'язуватися з конкретним епітопом. З N-кінця у напрямі до C-кінця і легкий, і важкий ланцюги містять домени FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 і FR4. Співвіднесення амінокислот з кожним доменом відбувається 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), описи яких наведені тут повністю шляхом посилання.

Доки не вказано інакше, наведені нижче терміни потрібно розуміти як такі, що володіють наступними значеннями:

Доки конкретно не вказано інакше, термін "Р-кадгерин" стосується Р-кадгерину людини, який являє собою інтегральний білок мембрани і є членом класичного кадгеринового сімейства трансмембранних глікопротеїнів, що регулюють міжклітинну адгезію. Клонування і секвенування Р-кадгерину людини було описано, наприклад, Shimoyama, et al., *J. Cell Biol.* 109 (4 Pt 1), 1787-1794 (1989), опис якого наведений тут повністю шляхом посилання. Мають на увазі, що термін "Р-кадгерин" включає рекомбінантний Р-кадгерин людини і рекомбінантні химерні форми Р-кадгерину, які можна одержувати загальноприйнятими способами рекомбінантної експресії або купувати комерційно доступні (R&D Systems 861-PC-100).

У межах даної заявки, доки конкретно не вказано інакше, термін "Е-кадгерин" стосується Е-кадгерину людини, який являє собою інтегральний білок мембрани і є членом класичного кадгеринового сімейства трансмембранних глікопротеїнів, що регулюють міжклітинну адгезію. Е-кадгерин описаний, наприклад, у Takeichi, *Science*, 251:1451-1455 (1991), опис якого наведений тут повністю шляхом посилання. Мають на увазі, що термін "Е-кадгерин" включає рекомбінантний Е-кадгерин людини і рекомбінантні химерні форми Е-кадгерину, які можна одержувати загальноприйнятими способами рекомбінантної експресії або купувати комерційно доступні (R&D 648-EC-100).

Термін "поліпептид" включає природні або штучні білки, фрагменти білків і поліпептидні аналоги білкової послідовності. Поліпептид може бути мономерним або полімерним.

Термін "виділений білок", "виділений поліпептид" або "виділене антитіло" стосується білка, поліпептиду або антитіла, яке внаслідок свого походження або джерела одержання (1) не зв'язане з природно з'єднаними з ним компонентами, які супроводжують його в його природному стані, (2) вільне від інших білків з того ж виду, (3) експресується клітиною з іншого виду або (4) не зустрічається у природі. Таким чином, поліпептид, що синтезується хімічно або синтезується у клітинній системі, відмінний від клітини, з якої він походить у природних умовах, "відділяють" від природно зв'язаних з ним компонентів. Також білок можна одержувати у вигляді такого, що практично не містить природно зв'язаних компонентів за допомогою виділення з використанням добре відомих у даній галузі способів очищення білків.

Приклади виділених антитіл включають антитіло проти Р-кадгерину, яке було очищене афінним способом з використанням Р-кадгерину, а також антитіло проти Р-кадгерину, яке було синтезоване за допомогою лінії клітин *in vitro*.

Білок або поліпептид є "практично чистим", "практично гомогенним" або "практично очищеним", якщо принаймні приблизно від 60 до 75 % зразка характеризується як поліпептид одного виду. Поліпептид або білок може бути мономерним або мультимерним. Як правило, практично чистий поліпептид або білок може містити приблизно 50 %, 60 %, 70 %, 80 % або 90 % мас/мас, зразка білка, більш звичайно, приблизно 95 %, а переважно може бути чистим більш, ніж на 99 %. Чистота або гомогенність білка може бути показана множиною добре відомих у даній галузі способів, таких як електрофорез білкового зразка у поліакриламідному гелі з подальшим одержанням зображення єдиної поліпептидної смуги після забарвлювання гелю з використанням добре відомої у даній галузі фарби. Для визначеної мети можна забезпечувати більш високе розрізнення з використанням HPLC або інших способів, добре відомих у даній галузі для очищення.

У межах даної заявки термін "поліпептидний фрагмент" стосується поліпептиду, що має амінокінцеву або карбоксикінцеву делецію, але де інша амінокислотна послідовність ідентична відповідним положенням у природній послідовності. У де-

яких варіантах здійснення довжина фрагментів складає принаймні 5, 6, 8 або 10 амінокислот. В інших варіантах здійснення довжина фрагментів складає принаймні 14, принаймні 20, принаймні 50 або принаймні 70, 80, 90, 100, 150 або 200 амінокислот.

У межах даної заявки термін "аналог" або "поліпептидний аналог" стосується поліпептиду, що містить ділянку, яка практично співпадає з визначеною контрольною амінокислотою послідовністю і практично володіє тією ж функцією або активністю, що і контрольна амінокислота послідовність. Як правило, поліпептидні аналоги містять консервативну амінокислотну заміну (або вставку, або делецію) відносно контрольної послідовності. Довжина аналогів може складати принаймні 20 або 25 амінокислот, або довжина може складати принаймні 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150 або 200 амінокислот або більше, а часто аналоги можуть бути такими ж довгими, як і повнорозмірний поліпептид. Деякі варіанти здійснення винаходу включають антитіла з поліпептидних фрагментів або з поліпептидних аналогів з 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 або 17 замінами відносно амінокислотної послідовності зародкової лінії. Керуючись цим описом, фахівці у даній галузі можуть легко одержувати фрагменти або аналоги антитіл або молекул імуноглобулінів.

У визначених варіантах здійснення амінокислотні заміни в антитілі проти Р-кадгерину або в його антигензв'язувальній частині є такими, які: (1) знижують чутливість до протеолізу, (2) знижують чутливість до окиснення, (3) змінюють афінність зв'язування для формування білкових комплексів, а також (4) додають або модифікують інші фізико-хімічні або функціональні властивості таких аналогів, але при збереженні специфічного зв'язування з Р-кадгерином. Аналоги можуть містити різні заміни відносно природної пептидної послідовності. Наприклад, у природній послідовності, наприклад, у ділянці поліпептиду, розташованій поза межами домену(ів), що формує міжмолекулярні контакти, можна здійснювати одиничні або множинні амінокислотні заміни, переважно, консервативні амінокислотні заміни. Також у формуючому міжмолекулярні контакти домені(ах) можна здійснювати амінокислотні заміни, здатні поліпшити активність поліпептиду. Консервативна амінокислота заміна не повинна істотно змінювати структурні характеристики вихідної послідовності; наприклад, заміна амінокислоти не повинна змінювати антипаралельну  $\beta$ -складчасту структуру, що утворює домен зв'язування імуноглобуліну, який знаходиться у вихідній послідовності, або не повинна порушувати інші типи вторинної структури, що характеризує вихідну послідовність. Загалом, в антипаралельній  $\beta$ -складчастій структурі не використовують гліцин і пролін. Приклади визнаних у даній галузі вторинних і третинних структур поліпептидів описані у *Proteins. Structures and Molecular Principles* (Creighton, Ed., W.H. Freeman and Company, New York (1984)); *Introduction to Protein Structure* (C.Branden and J.Toose, eds., Garland Publishing, New York, N.Y. (1991)); і Thornton, et al., *Nature*,

354:105 (1991), наведених тут повністю шляхом посилання.

У межах даної заявки термін "антитіло" є синонімом імуноглобуліну, і його потрібно розуміти так, як загальноприйнято у даній галузі. Зокрема, термін "антитіло" не обмежений яким-небудь конкретним способом одержання антитіла. Наприклад, термін "антитіло" включає в себе, але ними не обмежується, рекомбінантні антитіла, моноклональні антитіла і поліклональні антитіла.

У межах даної заявки термін "антигензв'язувальна частина" антитіла (або просто "ділянка антитіла") стосується одного або декількох фрагментів антитіла, що зберігають здатність специфічно зв'язуватися з антигеном (наприклад, Р-кадгерином). Було показано, що антигензв'язувальна функція антитіла може бути здійснена фрагментами повнорозмірного антитіла. Приклади зв'язувальних фрагментів, що входять у термін "антигензв'язувальна частина" антитіла, включають (i) фрагмент Fab, моновалентний фрагмент, що складається з доменів  $V_L$ ,  $V_H$ ,  $C_L$  і  $C_H1$ ; (ii) фрагмент  $F(ab')_2$ , бівалентний фрагмент, що містить два фрагменти Fab, які з'єднані дисульфідним містком у шарнірній області; (iii) фрагмент Fd, що складається з доменів  $V_H$  і  $C_H1$ ; (iv) фрагмент Fv, що складається з доменів  $V_L$  і  $V_H$  одного плеча антитіла, (v) фрагмент dAb (Ward, et al., *Nature*, (1989) 341:544-546), що складається з домену  $V_H$ ; і (vi) окрему гіперваріабельну ділянку (CDR). Крім того, хоча два домени фрагмента Fv,  $V_L$  і  $V_H$ , кодуються окремими генами, їх можна з'єднувати з використанням рекомбінантних способів за допомогою синтетичного лінкери, що дозволяє одержувати їх у вигляді єдиного білкового ланцюга, в якому ділянки  $V_L$  і  $V_H$  об'єднують у пару для формування моновалентних молекул (відомих як одноланцюжковий Fv (scFv)); див., наприклад, Bird, et al., *Science* (1988) 242:423-426 і Huston, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 85:5879-5883 (1988)). Мається на увазі, що такі одноланцюжкові антитіла також входять у термін "антигензв'язувальна частина" антитіла. Також включені інші форми одноланцюжкових антитіл, такі як димери. Димери являють собою бівалентні, біспецифічні антитіла, в яких домени  $V_H$  і  $V_L$  експресуються на одному поліпептидному ланцюгу, але з використанням лінкери, що є дуже коротким, щоб дозволити об'єднання у пару двох доменів на одному і тому ж ланцюгу, тим самим змушуючи домени утворювати пари з комплементарними доменими іншого ланцюга і формуючи дві антигензв'язувальні ділянки (див., наприклад, Holliger, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:6444-6448 (1993); Poljak, et al., *Structure*, 2:1121-1123(1994)).

Крім того, антитіло або його антигензв'язувальна частина можуть бути частиною більш великих молекул імуноадгезії, сформованих ковалентною або нековалентною взаємодією антитіла або ділянки антитіла з одним або декількома іншими білками або пептидами. Приклади таких молекул імуноадгезії включають використання внутрішньої області стрептавідину для одержання тетрамерної молекули scFv (Kipriyanov, et al., *Human Antibodies and Hybridomas*, 6:93-101 (1995)) і використання

цистеїнового залишку, маркерного пептиду і С-кінцевої полігліцидинові мітки для одержання бівалентних і біотинільованих молекул scFv (Kipriyanov, et al., *Mol. Immunol.*, 31:1047-1058 (1994)). Інші приклади включають випадки, коли одна або декілька CDR антитіла ковалентно або нековалентно включені у молекулу, роблячи її імуноадгезивною, такою, що специфічно зв'язується з цікавлячим антигеном, таким як Р-кадгерин. У таких варіантах здійснення CDR можна включати як частину більш великого поліпептидного ланцюга, можна ковалентно зв'язувати з іншим поліпептидним ланцюгом або можна включати нековалентним способом. Ділянки антитіла, такі як фрагменти Fab і F(ab')<sub>2</sub>, можна одержувати з цілих антитіл з використанням загальноприйнятих способів, таких як розщеплення цілих антитіл папаїном або пепсином, відповідно. Крім того, антитіла, частини антитіл і молекули імуноадгезії можна одержувати з використанням загальноприйнятих способів рекомбінантної ДНК, як описано у даній заявці.

Якщо "антитіло" згадують у даній заявці відносно даного винаходу, то потрібно розуміти, що також можна використовувати його антигензв'язувальну частину. Антигензв'язувальна частина конкурує з цілим антитілом за специфічне зв'язування. Див., загалом, *Fundamental Immunology*. Ch.7 (Paul, W., ed., 2nd ed. Raven Press, N.Y. (1989)) (наведене тут повністю шляхом посилання для всіх цілей). Антигензв'язувальні частини можна одержувати способами рекомбінантної ДНК або ферментативним або хімічним розщепленням цілих антитіл. У деяких варіантах здійснення антигензв'язувальні частини включають фрагменти Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fd, Fv, dAb і гіперваріабельні ділянки (CDR), одноланцюжкові антитіла (scFv), химерні антитіла, димери і поліпептиди, які містять принаймні ділянку антитіла, достатню для надання поліпептиду специфічного зв'язування антигену. У варіантах здійснення з однією або декількома ділянками зв'язування ділянки зв'язування можуть співпадати одна з одною або можуть відрізнятися.

У межах даної заявки термін "антитіло людини" означає будь-яке антитіло, в якому послідовності варіабельних і константних доменів являють собою послідовності людини. Термін включає антитіла з послідовностями, одержаними на основі генів людини, але які були змінені, наприклад, для зниження можливої імуногенності, збільшення афінності, усунення цистеїнів, здатних викликати небажане зсідання, і т.д. Також термін включає такі антитіла, які одержують рекомбінантно у клітинах, що не є людськими, здатних забезпечувати невласне клітиною людини глікозилування. Ці антитіла можна одержувати множиною способів, як описано нижче.

У межах даної заявки термін "химерне антитіло" означає антитіло, що містить ділянки з двох або більше різних антитіл, у тому числі антитіл з різних видів. Наприклад, одну або декілька CDR химерного антитіла можна одержувати з антитіла людини проти Р-кадгерину. В одному з прикладів CDR з антитіла людини можна об'єднувати з CDR з антитіла, що не є людським, наприклад, мишачого або щурячого. В іншому прикладі всі CDR мож-

на одержувати з антитіл людини проти Р-кадгерину. У ще одному прикладі CDR з більш ніж одного антитіла людини проти Р-кадгерину можна об'єднувати у химерне антитіло. Наприклад, химерне антитіло може містити CDR1 з легкого ланцюга першого антитіла людини проти Р-кадгерину, CDR2 з легкого ланцюга другого антитіла людини проти Р-кадгерину і CDR3 з легкого ланцюга третього антитіла людини проти Р-кадгерину, а CDR з важкого ланцюга можуть бути одержані з одного або декількох інших антитіл проти Р-кадгерину. Крім того, каркасні області можна одержувати з одного з антитіл проти Р-кадгерину, з якого одержують одну або декілька CDR, або з одного або декількох різних антитіл людини. Крім того, мають на увазі, що термін "химерне антитіло" включає будь-яке з вказаних вище поєднань, де поєднання містять антитіла людини і антитіла, що не є людськими.

У межах даної заявки термін "гуманізоване антитіло" стосується антитіл з джерела, що не є людським, де амінокислотні залишки, характерні для послідовностей антитіл з видів, що не є людськими, замінені на залишки, які знаходяться у відповідних положеннях в антитілах людини. Вважають, що цей процес "гуманізації" знижує імуногенність одержуваного антитіла у людини. Розуміють, що антитіла з джерела, що не є людським, можна гуманізувати з використанням добре відомих у даній галузі способів. Див., наприклад, Winter, et al., *Immunol. Today*, 14:43-46 (1993). Цікавляче антитіло можна конструювати способами рекомбінантної ДНК для заміщення CH1, CH2, CH3, шарнірних доменів і/або каркасного домену відповідною послідовністю людини. Див., наприклад, WO92/02190 і патенти США №№5530101, 5585089, 5693761, 5693792, 5714350 і 5777085. У межах даної заявки термін "гуманізоване антитіло" включає у своє значення химерні антитіла людини і антитіла з приєднаними CDR. Химерні антитіла людини за винаходом включають V<sub>H</sub> і V<sub>L</sub> антитіла з виду, що не є людським, і домени C<sub>H</sub> і C<sub>L</sub> антитіла людини. Антитіла з приєднаними CDR за винаходом одержують у результаті заміни CDR з V<sub>H</sub> і V<sub>L</sub> антитіла людини на CDR з V<sub>H</sub> і V<sub>L</sub>, відповідно, з антитіла тварини, відмінної від людини.

У межах даної заявки термін "ELISA" стосується твердофазового імуноферментного аналізу. Цей аналіз добре відомий фахівцям у даній галузі. Приклади цього аналізу можна знайти у Vaughan, T.J., et al., *Nat. Biotech.*, 14:309-314 (1996), а також у прикладі 7 даної заявки.

У межах даної заявки термін "поверхневий плазмонний резонанс" стосується оптичного явища, яке дозволяє аналізувати біоспецифічні взаємодії у режимі реального часу за допомогою реєстрації змін концентрацій білків у біосенсорній матриці, наприклад, з використанням системи BIACORE (Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Sweden and Piscataway, N.J.). Для додаткових описів див. Jonsson et al., *Ann. Biol. Clin.*, 51:19-26 (1993); Jonsson, et al., *Biotechniques*, 11:620-627 (1991); Jonsson, et al., *J. Mol. Recognit.*, 8:125-131 (1995); і Johnsson, et al., *Anal. Biochem.*, 198:268-277 (1991).

Термін " $K_D$ " стосується рівноважної константи афінності зв'язування для конкретної взаємодії антитіло-антиген. Вказують, що антитіло специфічно зв'язується з антигеном, якщо  $K_D \leq 1$  mM, переважно -  $\leq 100$  nM, а найбільш переважно -  $\leq 10$  nM. Константу афінності зв'язування  $K_D$  можна вимірювати поверхневим плазмонним резонансом, наприклад, з використанням системи BIACORE™, як описано у прикладі 6.

Термін " $K_{\text{звор.}}$ " стосується константи швидкості дисоціації для конкретної взаємодії антитіло-антиген. Константу швидкості дисоціації  $K_{\text{звор.}}$  можна вимірювати поверхневим плазмонним резонансом, наприклад, з використанням системи BIACORE™, як описано у прикладі 6.

У межах даної заявки термін "аналіз залежної від Р-кадгерину адгезії клітин" стосується аналізу, що використовується для вимірювання здатності антитіла проти Р-кадгерину блокувати адгезію клітин до рецептора Р-кадгерину, зафіксованого на твердому носії. Наприклад, цей тип аналізу можна здійснювати фіксуванням Р-кадгерину на твердому носії, такому як пластмаса. Потім клітинам з надекспресією Р-кадгерину дозволяють прикріплюватися до твердого носія за допомогою взаємодії Р-кадгерин-Р-кадгерин. Потім можна кількісно визначити величину адгезії за наявності і за відсутності антитіла проти Р-кадгерину. Адгезію як функцію концентрації антитіла можна потім використовувати для визначення величини  $IC_{50}$ . У прикладі 3 представлені додаткові подробиці аналізу залежної від Р-кадгерину адгезії клітин, який використовували для вимірювання величин  $IC_{50}$  для антитіл проти Р-кадгерину.

У межах даної заявки термін "аналіз залежної від Р-кадгерину агрегації клітин" стосується аналізу для вимірювання здатності антитіла проти Р-кадгерину блокувати агрегацію клітин, які експресують на своїй поверхні Р-кадгерин. Наприклад, у цьому типі аналізу можна використовувати лінію клітин, які надекспресують Р-кадгерин, де клітини вміщують у суспензію і дозволяють формувати скупчення, що залежать від Р-кадгерину. Потім аналіз агрегації використовують для кількісного визначення здатності антитіла проти Р-кадгерину запобігати цій агрегації, що проводиться за допомогою вимірювання розміру клітинних скупчень, які утворюються у присутності і за відсутності антитіла. Розмір скупчення клітин як функцію концентрації антитіла проти Р-кадгерину потім можна використовувати для визначення величини  $IC_{50}$ . У прикладі 4 представлені додаткові подробиці аналізу залежної від Р-кадгерину агрегації клітин, який використовували для вимірювання величин  $IC_{50}$  для декількох антитіл проти Р-кадгерину.

У межах даної заявки термін "аналіз залежного від Р-кадгерину розпаду шароподібного утворення" стосується аналізу для вимірювання здатності антитіла проти Р-кадгерину порушувати заздалегідь утворені, залежні від Р-кадгерину скупчення клітин. За допомогою вимірювання зменшення розміру скупчень як функції концентрації антитіла можна визначати величину  $IC_{50}$ . У прикладі 5 представлені додаткові подробиці аналізу залежного від Р-кадгерину розпаду шароподібного

утворення, який використовували для вимірювання величин  $IC_{50}$  для антитіл проти Р-кадгерину.

У межах даної заявки термін "молекулярна вибірність" стосується афінності зв'язування антитіла відносно специфічного антигену, що перевищує афінність для спорідненого антигену. Наприклад, антитіла за даним винаходом можуть бути вибірні відносно Р-кадгерину у порівнянні з Е-кадгерином, що означає, що афінність зв'язування антитіла для Р-кадгерину принаймні у 2 рази вища, наприклад, у 4 рази або у 10 разів, або у 50 разів, або у 100 разів або більше, ніж для Е-кадгерину. Такі величини афінності зв'язування можна вимірювати з використанням загальноприйнятих способів, відомих фахівцям у даній галузі.

Термін "епітоп" включає будь-яку білкову детермінанту, здатну до специфічного зв'язування з імуноглобуліном або рецептором Т-клітин або до іншої взаємодії з молекулою. Як правило, детермінанти епітопів складаються з хімічно активних поверхневих груп молекул, таких як амінокислоти або бічні ланцюги вуглеводів або цукрів, і, як правило, володіють специфічними характеристиками тривимірної структури, а також специфічними характеристиками заряду. "Епітоп" може бути "лінійним" або "конформаційним". У лінійному епітопі всі ділянки взаємодії між білком і взаємодіючою молекулою (такою як антитіло) розташовані лінійно вздовж основної амінокислотної послідовності білка. У конформаційному епітопі ділянки взаємодії розташовані у поперечному напрямі відносно амінокислотних залишків білка, відділених один від одного. Після визначення бажаного епітопу на антигені можна одержувати антитіла проти цього епітопу, наприклад, з використанням описаних у даному винаході способів. Альтернативно, у ході процесу відкриття одержання і характеристика антитіл можуть приводити до доповнення інформації про бажані епітопи. Потім на основі цієї інформації можна проводити конкурентний скринінг антитіл на предмет зв'язування з одним і тим же епітопом. Спосіб досягнення цього полягає у проведенні досліджень перехресного конкування для знаходження антитіл, що конкурентно зв'язуються одне з одним, тобто антитіла конкурують за зв'язування з антигеном. Високопродуктивний спосіб "сортування" антитіл на основі їх перехресного конкування описаний у міжнародній патентній публікації №WO 03/48731.

У межах даної заявки термін "конкурує" відносно антитіла означає, що перше антитіло або його антигензв'язувальна частина конкурує за зв'язування з другим антитілом або його антигензв'язувальною частиною, де зв'язування першого антитіла з його спорідненим епітопом у присутності другого антитіла помітно знижується у порівнянні зі зв'язуванням першого антитіла за відсутності другого антитіла. Альтернативно, може існувати, але необов'язково, випадок, коли зв'язування другого антитіла з його епітопом у присутності першого антитіла також помітно знижується. Тобто перше антитіло може інгібувати зв'язування другого антитіла з його епітопом за відсутності інгібування другим антитілом зв'язування першого антитіла з його відповідним епітопом. Однак, якщо кожне

антитіло значно інгібує зв'язування іншого антитіла з його спорідненим епітопом або лігандом, в однаковій, більшій або меншій мірі, то вказують, що антитіла "перехресно конкурують" одне з одним за зв'язування з їх відповідним епітопом(ами). У даній винахід входить і конкурування, і перехресне конкурування антитіл. Незалежно від механізму, яким відбувається таке конкурування або перехресне конкурування (наприклад, стерична перешкода, конформаційна зміна або зв'язування зі спільним епітопом або його ділянкою і т.п.), фахівець у даній галузі на основі представлених у даній заявці вказівок розуміє, що таке конкурування і/або перехресне конкурування антитіл входить і може бути ефективним для описаних у даній заявці способів.

У межах даної заявки термін "використовує" відносно конкретного гена означає, що амінокислотна послідовність конкретної ділянки в антитілі одержана безпосередньо з цього гена у ході дозрівання В-клітини. Наприклад, вираз "амінокислотна послідовність варіабельної області важкого ланцюга, для якої використовується ген сімейства V<sub>H</sub>-3 людини" стосується випадку, коли область V<sub>H</sub> антитіла одержана з ділянок гена сімейства V<sub>H</sub>-3 у ході дозрівання В-клітини. У В-клітинах людини існує більше 30 різних функціональних генів варіабельної області важкого ланцюга, з яких утворюються антитіла. Таким чином, використання конкретного гена варіабельної області важкого ланцюга є показовим для переважного зв'язувального фрагмента при взаємодії антитіло-антиген відносно сумісних властивостей зв'язування з антигеном і функціональної активності. Як розуміють, аналіз використання гена забезпечує тільки обмежене уявлення про структуру антитіла. Оскільки В-клітини людини випадковим чином утворюють транскрипти V-D-J важкого або V-J легкогоappa-ланцюга, то відбувається множина вторинних процесів, у тому числі, без обмежень, соматична гіпермутація, п-додавання і подовження CDR3. Див., наприклад, Mendez et al., *Nature Genetics* 15:146-156(1997).

У межах даної заявки додержуються загальноприйнятого використання двадцяти загальноприйнятих амінокислот і їх скорочених позначень. Див. *Immunology-A Synthesis* (2<sup>nd</sup> Edition, E.S. Golub and D.R. Gren, Eds., Sinauer Associates, Sunderland, Mass. (1991)), наведене тут повністю шляхом посилання.

У межах даної заявки термін "полінуклеотид" означає полімерну форму нуклеотидів довжиною принаймні 10 основ, рибонуклеотидів або дезокси-нуклеотидів, або модифіковану форму кожного типу нуклеотиду. Термін включає одно- і двохланцюжкові форми.

У межах даної заявки термін "ізолюваний полінуклеотид" означає полінуклеотид геномного, кДНК або синтетичного походження або їх визначеного поєднання, де внаслідок свого походження "ізолюваний полінуклеотид" (1) не зв'язаний з усіма або з частиною полінуклеотидів, з якими "ізолюваний полінуклеотид" спостерігають у природі, (2) функціонально зв'язаний з полінуклеотидом, з яким він не зв'язаний у природі, або (3) не зустрі-

чається у природі у вигляді частини більш великої послідовності.

У межах даної заявки термін "природні нуклеотиди" включає дезоксирибонуклеотиди і рибонуклеотиди. У межах даної заявки термін "модифіковані нуклеотиди" включає нуклеотиди з модифікованими або заміщеними групами цукрів і т.п. У межах даної заявки термін "олігонуклеотидні зв'язки" включає такі олігонуклеотидні зв'язки, як фосфортіоатний, фосфордитіоатний, фосфорселеноатний, фосфордиселеноатний, фосфораніліотіоатний, фосфораніладатний, фосфорамідатний і т.п. 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 Analogues: A Practical Approach*, pp.87-108 (F.Eckstein, Ed., Oxford University Press, Oxford England (1991)); патент США №51515Ю; Uhlmann and Peyman, *Chemical Reviews*, 90:543 (1990), описи яких наведені тут повністю шляхом посилання. За бажанням, олігонуклеотид може містити мітку для реєстрації.

"Функціонально зв'язані" послідовності включають послідовності, що контролюють експресію, які прилягають до цікавлячого гена, і послідовності, що контролюють експресію, які діють у транспозиціях або на відстані, контролюючи цікавлячий ген.

У межах даної заявки термін "послідовність, що контролює експресію" означає полінуклеотидні послідовності, необхідні для впливу на експресію і процесинг кодуючих послідовностей, з якими вони лігують. Послідовності, що контролюють експресію, включають послідовності ініціації транскрипції, термінації, промоторів і енхансерів; ефективні сигнали для процесингу РНК, такі як сигнали сплайсингу і поліаденілювання; послідовності, що стабілізують цитоплазматичну мРНК; послідовності, що підвищують ефективність трансляції (тобто консенсусна послідовність Козака); послідовності, що збільшують стабільність білка; і, коли необхідні, послідовності, що підвищують секрецію білка. Природа таких контролюючих послідовностей відрізняється в залежності від організму-хазяїна; у прокариотах такі контролюючі послідовності, як правило, містять промотор, ділянку зв'язування рибосом і послідовність термінації транскрипції; в еукаріотах, як правило, такі контролюючі послідовності містять промотори і послідовність термінації транскрипції. Мають на увазі, що термін "контролюючі послідовності" включає, як мінімум, всі компоненти, присутність яких необхідна для експресії і процесингу, а також може включати додаткові компоненти, наявність яких є сприятливою, наприклад, лідерні послідовності і послідовності учасників для злиття.

У межах даної заявки термін "вектор" означає молекулу нуклеїнової кислоти, здатну переносити іншу нуклеїнову кислоту, з якою вона була з'єднана. У деяких варіантах здійснення вектор являє собою плазмиду, тобто кільцеву двохланцюжкову частину ДНК, в яку можна лігувати додаткові ділянки ДНК. У деяких варіантах здійснення вектор



являє собою вірусний вектор, де додаткові ділянки ДНК можна лігувати у вірусний геном. У деяких варіантах здійснення вектори здатні до автономної реплікації у клітині-хазяїні, в яку їх вводять (наприклад, бактеріальні вектори з бактеріальною ділянкою ініціації реплікації і епісомальні вектори, що належать ссавцеві). В інших варіантах здійснення вектори (наприклад, неепісомальні вектори, що належать ссавцеві) можна вбудовувати у геном клітини-хазяїна після введення у клітину-хазяїна, і таким чином їх можна реплікувати разом з геномом хазяїна. Крім того, визначені вектори здатні контролювати експресію генів, з якими вони функціонально зв'язані. У межах даної заявки такі вектори називають "рекомбінантними векторами експресії" (або просто "векторами експресії").

У межах даної заявки термін "рекомбінантна клітина-хазяїн" (або просто "клітина-хазяїн") означає клітину, в яку був введений рекомбінантний вектор експресії. Потрібно розуміти, що "рекомбінантна клітина-хазяїн" і "клітина-хазяїн" означають не тільки конкретну клітину об'єкта, але також і потомство такої клітини. Оскільки у наступних поколіннях можуть відбуватися певні зміни, обумовлені мутацією або впливами навколишнього середовища, то фактично таке потомство може бути не ідентичним батьківській клітині, однак при цьому воно включене в об'єм терміну "клітина-хазяїн" у межах даної заявки.

У межах даної заявки термін "зародкова лінія" стосується нуклеотидних послідовностей генів і ділянок генів для антитіл у тому вигляді, в якому вони передаються від батьків нащадкам через гамети. Ця послідовність зародкової лінії відмінна від тих, що кодують антитіла у зрілих В-клітинах нуклеотидних послідовностей, які були змінені подіями рекомбінації і гіпермутації у ході дозрівання В-клітин.

Термін "процент співпадіння послідовностей" у контексті послідовностей нуклеїнових кислот означає залишки у двох послідовностях, які є однаковими при вирівнюванні на предмет максимальної відповідності. Довжина порівнюваної на предмет співпадіння послідовності може перевищувати ділянку довжиною принаймні приблизно дев'ять нуклеотидів, звичайно - принаймні приблизно 18 нуклеотидів, більш звичайно - принаймні приблизно 24 нуклеотиди, як правило - принаймні приблизно 28 нуклеотидів, більш звичайно - принаймні приблизно 32 нуклеотиди, а переважно - принаймні приблизно 36,48 або більше нуклеотидів. Існує множина відомих у даній галузі різних алгоритмів, які можна використовувати для визначення співпадіння нуклеотидних послідовностей. Наприклад, полінуклеотидні послідовності можна порівнювати з використанням FASTA, Gap або Bestfit, що являють собою програми у Wisconsin Package Version 10.0, Genetics Computer Group (GCG), Madison, Wisconsin. FASTA, що містить, наприклад, програми FASTA2 і FASTA3, забезпечує вирівнювання і процент співпадіння послідовностей в областях найкращого перекривання заданої і шуканої послідовностей (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.* 216:11-M (1998); наведені тут повністю шляхом посилання). Доки не вказано інакше, для конкретної програми або алгоритму використовуються параметри за умовчанням. Наприклад, процент співпадіння послідовностей між послідовностями нуклеїнових кислот можна визначати з використанням FASTA з її встановленими за умовчанням параметрами (довжина слова складає 6 і фактор NOPAM для матриці для кількісного підрахунку) або з використанням Gap з її встановленими за умовчанням параметрами, як надано в GCG Version 6.1, наведений тут повністю шляхом посилання.

Доки не вказано інакше, зразок для порівняння нуклеотидної послідовності включає комплементарну їй послідовність. Таким чином, зразок для порівняння нуклеїнової кислоти, що володіє визначеною послідовністю, потрібно розуміти як такий, що включає її комплементарний ланцюг з її комплементарною послідовністю.

Термін "значна подібність" або "значна подібність послідовностей" відносно нуклеїнової кислоти або її ділянки означає, що при оптимальному вирівнюванні разом з відповідними нуклеотидними вставками або делеціями з іншою нуклеїновою кислотою (або її комплементарним ланцюгом) спостерігають співпадіння нуклеотидних послідовностей принаймні приблизно на 85 %, переважно - принаймні приблизно на 90 %, а більш переважно - принаймні приблизно на 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % нуклеотидних основ, як визначено будь-яким добре відомим алгоритмом для співпадіння послідовностей, таким як FASTA, BLAST або Gap, як описано вище.

Термін "процент співпадіння послідовностей" у контексті амінокислотних послідовностей означає залишки у двох послідовностях, які є однаковими при вирівнюванні на предмет максимальної відповідності. Довжина послідовності, що порівнюється на предмет співпадіння, може перевищувати ділянку довжиною принаймні приблизно п'ять амінокислот, звичайно - принаймні приблизно 20 амінокислот, більш звичайно - принаймні приблизно 30 амінокислот, як правило - принаймні приблизно 50 амінокислот, більш звичайно - принаймні приблизно 100 амінокислот, а ще більш звичайно - приблизно 150,200 або більше амінокислот. Існує множина відомих у даній галузі різних алгоритмів, які можна використовувати для визначення співпадіння амінокислотних послідовностей. Наприклад, амінокислотні послідовності можна порівнювати з використанням FASTA, Gap або Bestfit, що являють собою програми у Wisconsin Package Version 10.0, Genetics Computer Group (GCG), Madison, Wisconsin.

Застосовно до поліпептидів термін "значне співпадіння" або "значна подібність" означає, що дві послідовності амінокислот при оптимальному вирівнюванні, такому як за допомогою програм GAP або BESTFIT з використанням встановлених за умовчанням величин розриву, як надано у програмах, володіють подібністю послідовностей принаймні на 70 %, 75 % або 80 %, переважно подібністю послідовностей принаймні на 90 % або 95 %, а більш переважно - подібністю послідовностей

принаймні на 97 %, 98 % або 99 %. У деяких варіантах здійснення положення залишків, які не є однаковими, відрізняються консервативними амінокислотними замінами.

У межах даної заявки термін "консервативна амінокислотна заміна" стосується випадку, коли амінокислотний залишок замінений іншим амінокислотним залишком, що володіє групою R бічного ланцюга з подібними хімічними властивостями (наприклад, заряд або гідрофобність). Загалом, консервативна амінокислотна заміна практично не змінює функціональні властивості білка. У випадках, коли дві або більше амінокислотних послідовностей відрізняються одна від одної консервативними замінами, процент співпадіння послідовностей можна підвищувати, вносячи поправку на консервативний характер заміни. Способи здійснення цієї поправки добре відомі фахівцям у даній галузі. Див., наприклад, Pearson, *Methods Mol. Biol.*, 243:307-31 (1994). Приклади груп амінокислот, що мають бічні ланцюги з подібними хімічними властивостями, включають: 1) аліфатичні бічні ланцюги: гліцин, аланін, валін, лейцин та ізолейцин; 2) аліфатично-гідроксильні 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) кислі бічні ланцюги: аспарагінова кислота і глутамінова кислота; і 7) сірковмісні бічні ланцюги: цистеїн і метіонін. Наприклад, консервативні амінокислотні заміни груп можуть являти собою: валін-лейцин-ізолейцин, фенілаланін-тирозин, лізин-аргінін, аланін-валін, глутамат-аспартат і аспарагін-глутамін.

Альтернативно, консервативна заміна являє собою будь-яку зміну, що володіє додатною величиною у матриці логарифмічної правдоподібності RAM250, описаній у Gonnet et al., *Science* 256:1443-45 (1992), наведеному тут повністю шляхом посилання. "Помірно консервативна" заміна являє собою будь-яку зміну, що володіє від'ємною величиною у матриці логарифмічної правдоподібності RAM250.

Як правило, співпадіння послідовностей для поліпептидів визначають з використанням програмного забезпечення для аналізу послідовностей. Програмне забезпечення для аналізу білків порівнює послідовності з використанням вимірювань подібності, що співвідноситься з різними замінами, делеціями та іншими модифікаціями, у тому числі консервативними амінокислотними замінами. Наприклад, GCG містить програми, такі як "Gap" і "Bestfit", які можна використовувати з встановленими за умовчанням параметрами, як вказано у програмах, для визначення гомології послідовностей або співпадіння послідовностей між близькородними поліпептидами, такими як гомологічні поліпептиди з різних видів організмів, або між білком дикої типу і його аналогом. Див., наприклад, GCG Version 6.1 (University of Wisconsin, WI). Також поліпептидні послідовності можна порівнювати з використанням FASTA, застосовуючи встановлені за умовчанням або рекомендовані параметри, див. GCG Version 6.1.FASTA (наприклад, FASTA2 і

FASTA3) забезпечує вирівнювання і процент співпадіння послідовностей в областях найкращого перекривання заданої і шуканої послідовностей (Pearson, *Methods Enzymol.*, 183:63-98 (1990); Pearson, *Methods Mol. Biol.*, 132:185-219 (2000)). Іншим переважним алгоритмом при порівнянні послідовності за винаходом з базою даних, що містить велику кількість послідовностей з різних організмів, є комп'ютерна програма BLAST, особливо blastp або tblastn, з використанням встановлених за умовчанням параметрів, як надано разом з програмами. Див., наприклад, Altschul, et al., *J. Mol. Biol.*, 215:403-410 (1990); Altschul, et al., *Nucleic Acids Res.*, 25:3389-402 (1997).

Як правило, довжина поліпептидних послідовностей, що порівнюються на предмет гомології, складає принаймні приблизно 16 амінокислотних залишків, звичайно - принаймні приблизно 20 залишків, більш звичайно - принаймні приблизно 24 залишків, як правило - принаймні приблизно 28 залишків, а переважно - приблизно більш ніж 35 залишків. При пошуку бази даних, що містить послідовності з великої кількості різних організмів, є переважним проводити порівняння амінокислотних послідовностей.

У межах даної заявки терміни "мітка" або "мічений" стосуються включення іншої молекули в антитіло. В одному з варіантів здійснення мітка являє собою маркер, що піддається виявленню, наприклад, включення міченої радіоактивною міткою амінокислоти або приєднання до поліпептиду біотинільованих молекул, які можна виявляти міченим авідіном (наприклад, стрептавідином, що володіє флуоресцентним маркером або ферментативною активністю, які можна реєструвати оптичними або колориметричними способами). В іншому варіанті здійснення мітка або маркер можуть являти собою терапевтичний засіб, наприклад, кон'югат лікарського засобу або токсин. У даній галузі відомі і можуть бути використані різні способи мічення поліпептидів і глікопротеїнів. Приклади міток для поліпептидів включають в себе, але ними не обмежуються, наступне: радіоактивні ізотопи 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, лантанідні люмінофори), ферментні мітки (наприклад, пероксидаза хрому,  $\beta$ -галактозидаза, люцифераза, лужна фосфатаза), хемілюмінесцентні маркери, біотинільовані групи, заздалегідь визначені поліпептидні епітопи, розпізнавані вторинним репортером (наприклад, парні послідовності лейцинових застібок, ділянки зв'язування для вторинних антитіл, домени зв'язування металів, епітопні мітки), магнітні речовини, такі як хелати гадолінію, токсини, такі як коклюшний токсин, таксол, цитохалазин В, граміцидин D, бромід етидію, 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 їх аналоги або гомологи. У деяких варіантах здійснення мітки приєднують до спейсерних груп

різної довжини для зменшення можливої стеричної перешкоди.

"Терапевтично ефективна кількість" стосується такої кількості терапевтичного засобу, що вводиться, яка певною мірою ослаблює один або декілька симптомів захворювання, що підлягає лікуванню. Відносно лікування раку терапевтично ефективна кількість стосується такої кількості, яка надає принаймні один з наступних ефектів: зменшення розміру пухлини; інгібування (тобто уповільнення у деякій мірі, переважно, припинення) метастазування пухлини; інгібування у деякій мірі (тобто уповільнення у деякій мірі, переважно, припинення) росту пухлини, а також ослаблення у деякій мірі (або, переважно, усунення) одного або декількох симптомів, пов'язаних з раком.

"Лікувати", "лікуючий" і "лікування" стосуються способу ослаблення або усунення біологічного порушення і/або супутніх йому симптомів. Відносно раку ці терміни просто означають, що очікувана тривалість життя ураженого раком індивідуума збільшена або що ослаблений один або декілька симптомів захворювання.

"Контактування" стосується зведення разом антитіла або його антигензв'язувальної ділянки за даним винаходом і Р-кадгерину-мішені або його епітопу таким чином, що антитіло може впливати на біологічну активність Р-кадгерину. Таке "контактування" можна здійснювати "in vitro", тобто у пробірці, чашці Петрі або т.п. У пробірці до контактування може бути залучене тільки антитіло або його антигензв'язувальна частина і Р-кадгерин або його епітоп або до нього можуть бути залучені цілі клітини. Клітини також можна підтримувати або вирощувати у планшетах для культивування клітин і у такому оточуючому середовищі приводити у контакт з антитілами або їх антигензв'язувальними ділянками. У цьому контексті здатність конкретного антитіла або його антигензв'язувальної частини впливати на зв'язане з Р-кадгерином захворювання, тобто IC50 для антитіла, можна визначати до спроби використати антитіло in vivo у більш складних живих організмів. У випадку клітин, що знаходяться поза організмом, для контактування Р-кадгерину з антитілами або їх антигензв'язувальними частинами існує множина способів, і вони добре відомі фахівцям у даній галузі.

Доки не вказано інакше, у межах даної заявки "патологічний ріст клітин" стосується клітинного росту, що не залежить від звичайних регуляторних механізмів (наприклад, втрата контактного інгібування), у тому числі патологічного росту звичайних клітин і росту патологічних клітин. Це включає в себе, але ним не обмежується, патологічний ріст: пухлинних клітин (пухлин), що проліферують внаслідок експресії мутантної тирозинкінази або надекспресії рецептора тирозинкінази; доброякісних і злоякісних клітин при інших проліферативних захворюваннях, при яких відбувається патологічна активація тирозинкінази; будь-яких пухлин, що проліферують за допомогою рецептора тирозинкінази; будь-яких пухлин, що проліферують внаслідок патологічної активації серин/треонінкінази; доброякісних і злоякісних клітин при інших проліферативних захворюваннях, при яких відбувається пато-

логічна активація серин/треонінкінази; пухлин, доброякісних і злоякісних, що експресують активованний онкоген Ras; пухлинних клітин, доброякісних і злоякісних, в яких білок Ras активований внаслідок онкогенної мутації в іншому гені; доброякісних і злоякісних клітин при інших проліферативних захворюваннях, при яких відбувається патологічна активація Ras. Приклади таких доброякісних проліферативних захворювань являють собою псоріаз, доброякісну гіпертрофію передміхурової залози, вірус папіломи людини (HPV) і рестеноз. Також "патологічний ріст клітин" стосується і включає в себе патологічний ріст доброякісних і злоякісних клітин, обумовлений активністю ферменту фарнезилпротеїнтрансферази.

У даній заявці терміни "патологічний ріст клітин" і "гіперпроліферативне захворювання" використовують взаємозамінно.

"In vitro" стосується процедур, що виконуються у штучному оточуючому середовищі, такому як, наприклад, без обмежень, пробірка або культуральне середовище.

"In vivo" стосується процедур, що виконуються у живому організмі, такому як, без обмежень, миша, щур або кролик.

На фіг. 1 представлені послідовності амінокислот і нуклеїнових кислот з SEQ ID №№: 1-347.

Антитіла проти Р-кадгерину людини

Даний винахід стосується виділених антитіл людини або їх антигензв'язувальних частин, які зв'язуються з Р-кадгерином людини. Переважно, антитіла людини являють собою рекомбінантні антитіла проти Р-кадгерину людини, що володіють спорідненістю до Р-кадгерину, яка перевищує спорідненість до Е-кадгерину. У різних аспектах винахід стосується таких антитіл і антигензв'язувальних частин, і їх фармацевтичних композицій, а також нуклеїнових кислот, рекомбінантних векторів експресії і клітин-хазяїнів для одержання таких антитіл і антигензв'язувальних частин. Також винахід стосується способів застосування антитіл і антигензв'язувальних частин за даним винаходом для виявлення Р-кадгерину або для інгібування активності Р-кадгерину людини, in vitro або in vivo.

Відомі амінокислотні і нуклеотидні послідовності Р-кадгерину з декількох видів, включаючи людину (див., наприклад, унікальний ідентифікатор №NM\_001793.3). Р-кадгерин людини або його антигенні частини можна одержувати відповідно до способів, добре відомих фахівцям у даній галузі, або їх можна купувати у комерційних виробників (наприклад, R&D Systems861-PC-100).

У визначених варіантах здійснення антитіла за даним винаходом являють собою IgG, позначені як: 194-e06; 194-a02; 194-b09; 195-e11; 194-g09; 196-h02; 194-e01; 196-d10; 196-g03; 196-e06; 195-a09; 198-a09; 200-h06; g-194-b09; g-194-g09; g-196-g03; g-196-h02; g-194-e01; g-194-e06; 129-1c4; і g-129-1c4. Як більш детально описано у прикладі 1, використовували високопродуктивний скринінг бібліотеки фагового дисплею scFv для виявлення 129-1c4 scFv, який потім перетворювали в IgG. 129-1c4 являє собою ведуче антитіло, що виявляється у ході початкового скринінгу фагового дисплею, і є батьківським антитілом для лінії, з

якої одержували деякі інші антитіла за даним винаходом. Деякі з таких одержаних антитіл позначені як 194-e06; 194-a02; 194-b09; 195-e11; 194-g09; 196-h02; 194-e01; 196-d10; 196-g03; 196-e06; 195-a09; 198-a09; а також 200-h06 і являють собою оптимізовані антитіла батьківської лінії 129-1c4. Антитіло g-129-1c4 являє собою варіант зародкової лінії батьківського антитіла 129-1c4, де визначені амінокислоти у каркасних областях доменів  $V_H$  і  $V_L$  змінені мутацією для співпадіння з такими у каркасних областях зародкової лінії. Будь-яке з вказаних вище антитіл також можна зробити таким, що належить до зародкової лінії, таким чином, щоб послідовності каркасних областей співпадали з каркасними послідовностями зародкової лінії, як в g-129-1c4. Наприклад, в одному з варіантів здійснення даного винаходу антитіла g-194-b09, g-194-g09, g-196-g03, g-196-h02, g-194-e01, g-195-e11, g-200-h06 і g-194-e06 являють собою варіанти зародкової лінії 194-b09, 194-g09, 196-g03, 196-h02, 194-e01, 195-e11, 200-h06 і 194-e06, відповідно. Конкретні амінокислоти, які змінювали мутацією для одержання варіантів зародкової лінії, очевидні фахівцям у даній галузі внаслідок порівняння послідовностей антитіла зародкової лінії і антитіла, що не належить до зародкової лінії. Як зазначено нижче, конкретні амінокислотні послідовності антитіл за даним винаходом описані у таблицях 1-3 і на фіг. 1.

Антитіла за даним винаходом одержували зі значним зміщенням у бік використання сімейства генів  $V_H3$  варіабельних областей важкого ланцюга. Зокрема, батьківське антитіло 129-1c4 одержане з частини гена варіабельної області  $V_H3$ -23. У В-клітинах людини існує більше 30 різних функціональних генів варіабельних областей важкого ланцюга, за допомогою яких одержують антитіла. Таким чином, зміщення вказує на переважний зв'язувальний фрагмент при взаємодії антитіл з антигеном відносно сумісних властивостей зв'язування з антигеном і функціональної активності.

Як розуміють, аналіз використання генів забезпечує тільки обмежене уявлення про структуру антитіл. Оскільки В-клітини людини випадковим чином утворюють транскрипти V-D-J важкого або V-J легкого каппа-ланцюга, то відбувається множина вторинних процесів, у тому числі, без обмежень, соматична гіпермутація, n-додавання і подовження CDR3. Див., наприклад, Mendez et al., Nature Genetics 15:146-156 (1997) і опубліковану патентну заявку США №2003-0070185, зареєстровану 19 лютого 2002 року. Відповідно до подальшого дослідження структури антитіл за даним винаходом заздалегідь визначені амінокислотні послідовності антитіл одержували з кДНК, одержаних з клонів. Крім того, N-кінцеві амінокислотні послідовності одержували за допомогою секвенування білка. На фіг. 1 представлені нуклеотидні і амінокислотні послідовності варіабельних областей важкого і легкого ланцюгів для деяких антитіл за даним винаходом.

Кожне з вказаних вище конкретних антитіл може бути описане за допомогою послідовностей їх варіабельних доменів важкого ( $V_H$ ) і легкого ( $V_L$ ) ланцюгів, як вказано у таблицях 1 і 2. Конкретні

послідовності, позначені цими SEQ ID №№, подані на фіг. 1. Як вказано у таблицях 1 і 2, відповідні послідовності амінокислот і ДНК  $V_H$  і  $V_L$  для описаних вище антитіл вказані за допомогою SEQ ID №№: 1-23, 68-90 і 320-343.

Таблиця 1

## Антитіла проти Р-кадгерину людини

Антитіло	Ідентифікатор послідовності (SEQ ID №)			
	$V_H$		$V_L$	
	Амінокислота	ДНК	Амінокислота	ДНК
194-e06	1	68	14	81
194-a02	2	69	14	81
194-b09	2	69	15	82
195-e11	3	70	16	83
194-g09	4	71	17	84
196-h02	4	71	23	90
194-e01	5	72	18	85
196-d10	6	73	23	90
196-g03	7	74	23	90
196-e06	8	75	23	90
195-a09	9	76	23	90
198-a09	10	77	19	86
200-h06	11	78	20	87
129-1c4	12	79	21	88

Таблиця 2

## Антитіла проти Р-кадгерину людини, приведені до стану зародкової лінії

Антитіло	Ідентифікатор послідовності (SEQ ID №)			
	$V_H$		$V_L$	
	Амінокислота	ДНК	Амінокислота	ДНК
g-194-b09	320	332	326	338
g-194-g09	321	333	327	339
g-196-g03	322	334	328	340
g-196-h02	323	335	329	341
g-194-e01	324	336	330	342
g-194-e06	325	337	331	343
g-129-1c4	13	80	22	89

Додаткові антитіла і антигензв'язувальні частини за даним винаходом також можуть бути описані як такі, що містять різні послідовності CDR і FR, які приводять до варіабельних областей важкого і легкого ланцюгів антитіл, вказаних у таблицях 1 і 2. Відповідно, SEQ ID №№, що відповідають різним послідовностям CDR і FR антитіл за даним винаходом, вказані у таблиці 3. Крім того, в областях CDR3 важкого і легкого ланцюгів батьківського антитіла 129-1c4 також здійснювали множину вибраних випадковим чином мутацій, що приводять до поліпшеної афінності до Р-кадгерину, яка знаходиться у діапазоні від 10- до 417-кратного поліпшення, як виміряно аналізом конкурування за епітоп (див. приклад 8). SEQ ID №№ цих мутантних послідовностей CDR3  $V_H$  і  $V_L$

(SEQ ID №№:91-256 і 257-319) також включені у наведену нижче таблицю 3.

Таблиця 3

SEQ ID №№:	Опис
24	V <sub>H</sub> CDR1
25	V <sub>H</sub> CDR2
26-37, 91-256	V <sub>H</sub> CDR3
38	V <sub>L</sub> CDR1
39	V <sub>L</sub> CDR2
40-47, 257-319	V <sub>L</sub> CDR3
48	V <sub>H</sub> FR1
49	V <sub>H</sub> FR2
50-55	V <sub>H</sub> FR3
56, 57	V <sub>H</sub> FR4
58, 59	V <sub>L</sub> FR1
60-62	V <sub>L</sub> FR2
63-66	V <sub>L</sub> FR3
67	V <sub>L</sub> FR4

#### Способи одержання антитіл

##### Бібліотеки фагового дисплею

Антитіла або антигензв'язувальні частини за даним винаходом можна одержувати відповідно до декількох відомих у даній галузі способів. Наприклад, способи фагового дисплею можна використовувати для забезпечення бібліотек, що містять сукупність антитіл з різною спорідненістю до Р-кадгерину. Потім ці бібліотеки можна скринувати для виявлення і виділення антитіл з бажаною спорідненістю до Р-кадгерину.

Наприклад, рекомбінантні антитіла проти Р-кадгерину людини за даним винаходом можна виділяти скринінгом рекомбінантної комбінаторної бібліотеки антитіл. Переважно, бібліотека являє собою бібліотеку фагового дисплею scFv, що одержують з використанням кДНК V<sub>L</sub> і V<sub>H</sub> людини, які одержують з мРНК, що виділяються з В-клітин людини. Способи одержання і скринінгу таких бібліотек відомі у даній галузі. Набори для одержання бібліотек фагового дисплею є комерційно доступними (наприклад, Pharmacia Recombinant Phage Antibody System, номер у каталозі №27-9400-01; і набір фагового дисплею Stratagene SurfZAP™, номер у каталозі №240612). Також існують інші способи і реактиви, які можна використовувати для одержання і скринінгу бібліотек дисплею антитіл (див., наприклад, патент США №5223409; публікації PCT №№WO92/18619, WO91/17271, WO92/20791, WO92/15679, WO93/01288, WO92/01047 і WO92/09690; 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); Barbas, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88:7978-7982 (1991); і Griffiths, et al., EMBO J., 13:3245-3260 (1994); які

наведені тут повністю шляхом посилання). Інший спосіб одержання бібліотеки антитіл для використання у способах фагового дисплею включає стадії імунізації тварини, яка не є людиною, яка містить ділянки імуноглобулінів людини, за допомогою Р-кадгерину або його антигенної частини для виклику імунної реакції, виділення у імунізованих тварин клітин, які продукують антитіла; виділення з одержаних клітин РНК, що кодує важкі і легкі ланцюги антитіл за винаходом, зворотної транскрипції РНК для одержання кДНК, ампліфікації кДНК з використанням праймерів і вставляння кДНК у вектор фагового дисплею таким чином, щоб антитіла експресувалися у фагу. Для одержання таких сукупностей необхідно імуорталізувати В-клітини від імунізованої тварини. Переважно, первинні В-клітини можна безпосередньо використовувати як джерело ДНК. Суміш кДНК, які одержують з В-клітин, наприклад, одержаних з селезінок, використовують для одержання бібліотеки експресії, наприклад, бібліотеки фагового дисплею, що трансфікується в *E. coli*. У кінцевому результаті, у бібліотеці виявляють клони, що володіють бажаною величиною афінності зв'язування антигену, а ДНК, яка кодує відповідальний за таке зв'язування продукт, виділяють і обробляють для звичайної рекомбінантної експресії. Також бібліотеки фагового дисплею можна конструювати з використанням заздалегідь оброблених послідовностей нуклеотидів і подібним чином піддавати скринінгу. Як правило, кДНК, що кодують важкі і легкі ланцюги, надають окремо або у зв'язаному вигляді для формування аналогів Fv для продукції у фаговій бібліотеці. Потім фагову бібліотеку скринують на предмет антитіл з найвищою афінністю до Р-кадгерину, і з відповідного клону виділяють генетичний матеріал. Додаткові стадії скринінгу можуть підвищувати афінність вихідного антитіла, що виділяється.

В одному з варіантів здійснення для виділення і одержання антитіл проти Р-кадгерину людини, що володіють бажаними характеристиками, антитіло проти Р-кадгерину людини, як описано у даній заявці, спочатку використовують для відбору послідовностей важких і легких ланцюгів людини з подібною активністю зв'язування відносно Р-кадгерину, застосовуючи способи одержання відбитків епітопу, описані у публікації PCT №WO 93/06213, яка наведена тут повністю шляхом посилання. Переважно, бібліотеки антитіл, що використовуються у даному способі, являють собою бібліотеки scFv, що одержують і скринують, як описано у публікації PCT №WO92/01047, McCafferty, et al., Nature, 348:552-554 (1990); і Griffiths, et al., EMBO J. 12:725-734 (1993), всі з яких наведені тут повністю шляхом посилання. Бібліотеки антитіл scFv можна скринувати з використанням Р-кадгерину людини як антигену. Фагову бібліотеку скринують на предмет антитіл з найвищою афінністю до Р-кадгерину, і виділяють генетичний матеріал з відповідного клону. Додаткові стадії скринінгу можуть підвищувати афінність вихідного антитіла, що виділяється.

Потім, після відбору вихідних доменів V<sub>L</sub> і V<sub>H</sub> людини, можна здійснювати експерименти "змішу-

вання і порівняння", в яких різні пари початково вибраних ділянок  $V_L$  і  $V_H$  скринують на предмет зв'язування Р-кадгерину для відбору переважних поєднань пар  $V_L/V_H$ . Ці експерименти зі змішування і порівняння також можна здійснювати після того, як ділянки  $V_L$  і  $V_H$  були випадковим чином змінені мутацією для оптимізації зв'язування, як описано нижче. Крім того, для подальшого поліпшення якості антитіла ділянки  $V_L$  і  $V_H$  з переважної пари(пар)  $V_L/V_H$  можна випадковим чином змінювати мутацією, переважно, у ділянці CDR3  $V_H$  і/або  $V_L$ , у процесі, аналогічному до процесу соматичних мутацій *in vivo*, який відповідальний за дозрівання афінності антитіл у ході природної імунної реакції. Наприклад, таке дозрівання афінності *in vitro* можна здійснювати ампліфікуванням доменів  $V_H$  і  $V_L$  з використанням праймерів для PCR, які комплементарні CDR3  $V_H$  або CDR3  $V_L$ , відповідно, де праймери були "доповнені" у визначених положеннях випадковою сумішшю з чотирьох нуклеотидних основ таким чином, що одержувані продукти PCR кодують ділянки  $V_H$  і  $V_L$ , у ділянці CDR3  $V_H$  і/або  $V_L$  яких були введені випадкові мутації. Ці змінені випадковою мутацією ділянки  $V_H$  і  $V_L$  можна повторно скринувати на предмет зв'язування з Р-кадгериним, і можна відбирати послідовності, які володіють високою афінністю і низькою швидкістю зворотної реакції для Р-кадгерину. Як описано раніше, деякі послідовності CDR3  $V_H$  і  $V_L$  за даним винаходом, які були змінені випадковою мутацією і володіли поліпшеною афінністю, вказані за допомогою SEQ ID №№:91-256 і 257-319.

Після скринінгу і виділення антитіла проти Р-кадгерину за винаходом з рекомбінантної бібліотеки дисплею імуноглобулінів нуклеїнові кислоти, що кодують вибране антитіло, можна виділяти з упаковки дисплею (наприклад, з геному фагу) і субклонувати в інші вектори експресії загальноприйнятими способами рекомбінантної ДНК. За бажанням, нуклеїнову кислоту можна додатково обробляти для одержання інших форм антитіла за даним винаходом, як описано нижче. Для експресії рекомбінантного антитіла людини, що виділяється скринінгом комбінаторної бібліотеки, ДНК, що кодує антитіло, клонують у рекомбінантний вектор експресії і вводять у клітину-хазяїна, як описано нижче.

#### Імунізація

В іншому варіанті здійснення антитіла проти Р-кадгерину людини можна одержувати за допомогою імунізації трансгенної тварини, яка не є людиною, що містить у своєму геномі деякі або всі ділянки важких і легких ланцюгів імуноглобуліну людини з антигеном Р-кадгерину. Наприклад, тварина, яка не є людиною, може являти собою тварину XENOMOUSE™. (Abgenix, Inc., Fremont, CA).

Миші XENOMOUSE™ являють собою сконструйовані лінії мишей, що містять великі фрагменти ділянок важкого ланцюга і легкого ланцюга імуноглобуліну людини і є дефектними щодо продукції 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, WO98/50433, WO 99/45031, WO 99/53049, WO 00/09560 і WO 00/037504.

Описані у цих документах способи можна змінювати, як описано у патенті США №5994619, який наведений тут повністю шляхом посилання. У патенті США №5994619 описані способи одержання нових клітин і клітинних ліній внутрішньоклітинної маси, що культивується, (CICM), які одержують від свиней і корів, і трансгенних клітин CICM, в які була вставлена гетерологічна ДНК. Трансгенні клітини CICM можна використовувати для одержання клонованих трансгенних ембріонів, зародків і потомства. Також у патенті '619 описані способи одержання трансгенних тварин, здатних передавати гетерологічну ДНК своїм нащадкам. Приклади тварин, що не є людиною, які можна використовувати у цих способах, включають щурів, овець, свиней, кіз, велику рогату худобу, курчат і коней.

Миші XENOMOUSE™ продукують подібну до тієї, що належить дорослій людині, сукупність антитіл, що повністю є людськими, а також продукують антигенспецифічні антитіла людини. У деяких варіантах здійснення миші XENOMOUSE™ містять приблизно 80 % сукупності генів V антитіла людини внаслідок введення фрагментів ділянок важкого ланцюга людини і ділянок легкого ланцюга каппа у конфігурації зародкової лінії, величиною у мільйон пар основ, у штучну хромосому дріжджів (YAC). В інших варіантах здійснення миші XENOMOUSE™ додатково містять приблизно всі ділянки легкого ланцюга лямбда 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, описи яких наведені тут повністю шляхом посилання.

У деяких варіантах здійснення тварина, яка не є людиною, що містить гени імуноглобулінів людини, являє собою тварин, які володіють "міні-ділянками" імуноглобулінів людини. У способі міні-ділянок екзогенну ділянку Ig імітують за допомогою включення окремих генів з ділянки Ig. Таким чином, один або декілька генів  $V_H$ , один або декілька генів  $D_H$ , один або декілька генів  $J_H$ , константний домен  $\mu$  і другий константний домен (переважно, константний домен  $\gamma$ ) формують у вигляді конструкта для введення тварині. Цей спосіб описаний у патентах США №№5545807, 5545806, 5569825, 5625126, 5633425, 5661016, 5770429, 5789650, 5814318, 5591669, 5612205, 5721367, 5789215 і 5643763, наведених тут повністю шляхом посилання.

Потім тварин, що не є людиною, як описано вище, можна імунізувати антигеном Р-кадгерину, як описано нижче, в умовах, що дозволяють продукцію антитіл. У тварин виділяють клітини, що продукують антитіла, а з виділених клітин, що продукують антитіла, або з іморталізованої клітинної лінії, одержаної з таких клітин, виділяють нуклеїнові кислоти, які кодують важкі і легкі ланцюги цікавлячого антитіла проти Р-кадгерину. Потім ці нуклеїнові кислоти конструюють з використанням способів, відомих фахівцям у даній галузі, і, як додатково описано нижче, для зниження кількості послідовності, що не є людською, тобто для гума-

нізування антитіла для ослаблення імунної реакції у людини.

У деяких варіантах здійснення антиген Р-кадгерину може являти собою виділений і/або очищений Р-кадгерин. У деяких варіантах здійснення антиген Р-кадгерину являє собою Р-кадгерин людини. В інших варіантах здійснення антиген Р-кадгерину може являти собою клітину, що експресує або надекспресує Р-кадгерин. В інших варіантах здійснення антиген Р-кадгерину являє собою рекомбінантний білок, що експресується за допомогою рекомбінантного способу у дріжджах, клітинах комах, бактеріях, таких як *E. coli*, або інших джерелах. Імунізацію тварин можна проводити будь-яким відомим у даній галузі способом. Див., наприклад, Harlow and Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual*. New York: Cold Spring Harbor Press (1990). Способи імунізації тварин, які не є людиною, таких як миші, щурі, вівці, кози, свині, велика рогата худоба і коні, добре відомі у даній галузі. Див., наприклад, Harlow and Lane, вище, і патент США №5994619. Наприклад, антиген Р-кадгерину можна вводити разом з ад'ювантом для стимуляції імунної реакції. Приклади ад'ювантів включають повний або неповний ад'ювант Фрейнда, RIBI (дипептиди мурамилу) або ISCOM (імуностимулюючі комплекси). Такі ад'юванти можуть захищати поліпептид від швидкого диспергування за допомогою його ізоляції у місцевому відкладенні, або вони можуть містити речовини, що стимулюють організм-хазяїн секретувати фактори, які є хемотаксичними для макрофагів та інших компонентів імунної системи. Переважно, у випадку введення поліпептиду схема імунізації включає два або більше введення поліпептиду, що проводяться протягом декількох тижнів.

Наприклад, після імунізації трансгенної тварини за допомогою Р-кадгерину, як описано вище, у імунізованій трансгенній тварині можна виділяти первинні клітини (наприклад, В-клітини селезінки або периферичної крові) і можна виявляти окремі клітини, що продукують антитіла, які специфічні до бажаного антигену. Потім з кожної окремої клітини виділяють поліаденільовану мРНК і проводять полімеразну ланцюгову реакцію зі зворотною транскрипцією (RT-PCR), використовуючи смислові праймери для відпалу з послідовностями варіабельних областей (наприклад, вироджені праймери, що розпізнають більшість або всі ділянки FR1 генів варіабельних областей важкого і легкого ланцюгів людини, а також антисмислові праймери для відпалу з послідовностями константної області або з'єднувальної області). Потім кДНК варіабельних доменів важкого і легкого ланцюгів клонують і експресують у будь-якій прийнятній клітині-хазяїні, наприклад, мієломній клітині, у вигляді химерних антитіл з відповідними константними областями імуноглобулінів, такими як константні домени важкого ланцюга і константні домени  $\kappa$  або  $\lambda$ . Див. Babcock, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 93:7843-48, (1996), наведену тут повністю шляхом посилання. Потім антитіла проти Р-кадгерину можна виявляти і виділяти, як описано у даній заявці.

Рекомбінантні способи одержання антитіл

Антитіло або частину антитіла за винаходом можна одержувати рекомбінантною експресією генів легкого і важкого ланцюгів імуноглобуліну у клітині-хазяїні. Наприклад, для рекомбінантної експресії антитіла клітину-хазяїна трансфікують одним або декількома рекомбінантними векторами експресії, що несуть фрагменти ДНК, які кодують імуноглобулінові легкі і важкі ланцюги антитіла таким чином, що легкі і важкі ланцюги експресуються у клітині-хазяїні і, переважно, секретуються у середовищі, в якому культивують клітини-хазяїни, де з такого середовища можна виділяти антитіла. Для одержання генів важкого і легкого ланцюгів антитіла, для вбудовування цих генів у рекомбінантні вектори експресії і для введення векторів у клітини-хазяїни використовують загальноприйняті способи рекомбінантної ДНК, такі як способи, описані у Sambrook, Fritsch and Maniatis (eds), *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Second Edition, Cold Spring Harbor, N.Y., (1989), Ausubel, F. M., et al., (eds.) *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing Associates, (1989) і у патенті США №4816397, описи яких наведені тут повністю шляхом посилання.

Мутації і модифікації

Для експресії антитіл проти Р-кадгерину за даним винаходом фрагменти ДНК, що кодують ділянки  $V_H$  і  $V_L$ , можна спочатку одержувати з використанням будь-якого з вказаних вище способів. Також у послідовності ДНК можна вводити різні мутації, делеції і/або додатки з використанням способів, відомих фахівцям у даній галузі. Наприклад, мутагенез можна здійснювати з використанням загальноприйнятих способів, таких як мутагенез, що опосередковується PCR, при якому змінені мутацією нуклеотиди вбудовують у праймери для PCR таким чином, що продукт PCR містить бажані мутації, або сайт-направлений мутагенез. Наприклад, одним з типів заміни, які можна здійснювати, є заміна в антитілі одного або декількох цистеїнів, які можуть бути хімічно реакційноздатні, на інший залишок, такий як, без обмежень, аланін або серин. Наприклад, це може бути заміна неканонічного цистеїну. Заміну можна проводити у CDR або каркасній області варіабельного домену або у константному домені антитіла. У деяких варіантах здійснення цистеїн є канонічним.

Також антитіла можна змінювати мутацією у варіабельних доменах важкого і/або легкого ланцюгів, наприклад, для зміни зв'язувальної властивості антитіла. Наприклад, мутацію можна здійснювати в одній або декількох ділянках CDR для збільшення або зменшення величини  $K_D$  антитіла відносно Р-кадгерину, збільшення або зменшення величини  $k_{\text{звор}}$  або зміни специфічності зв'язування антитіла. Способи сайт-направленого мутагенезу добре відомі у даній галузі. Див., наприклад, Sambrook, et al., and Ausubel, et al., вище, наведений тут повністю шляхом посилання. Наприклад, як більш детально описано у прикладі 8, множина варіантів послідовностей CDR3  $V_H$  і  $V_L$  з батьківської 129-1c4 була одержана відповідно до описаних вище способів і вказана як SEQ ID №№:91-256 (варіанти CDR3  $V_H$ ) і SEQ ID №№:257-319 (варіанти CDR3  $V_L$ ) на фіг.1.

Також мутацію можна здійснювати у каркасній області або константному домені для підвищення часу напівжиття антитіла проти Р-кадгерину. Див., наприклад, публікацію PCT №WO 00/09560, наведену тут повністю шляхом посилання. Також мутацію у каркасній області або константному домені можна здійснювати для зміни імуногенності антитіла, забезпечення ділянки для ковалентного або нековалентного зв'язування з іншою молекулою або для зміни таких властивостей, як зв'язування комплекменту, зв'язування FcR або залежна від антитіла, опосередковувана клітинами цитотоксичність (ADCC). За винаходом окреме антитіло може мати мутації у будь-якій одній або декількох CDR або каркасних областях варіабельного домену або у константному домені.

У способі, відомому як "приведення до стану зародкової лінії" визначені амінокислоти у послідовностях  $V_H$  і  $V_L$  можна змінювати мутацією для співпадання з амінокислотами, які зустрічаються у природі у послідовностях  $V_H$  і  $V_L$  зародкової лінії. Зокрема, амінокислотні послідовності каркасних областей у послідовностях  $V_H$  і  $V_L$  можна змінювати мутацією для співпадання з послідовностями зародкової лінії для зниження ризику розвитку імуногенності при введенні антитіла. Послідовності ДНК зародкової лінії для генів  $V_H$  і  $V_L$  людини відомі у даній галузі (див., наприклад, базу даних послідовностей зародкової лінії людини "Vbase"; див. також Kabat, E. A., et al., (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, публікація NIH №91-3242; Tomlinson, et al., (1992) *J. Mol. Biol.* 227:776-798; і Cox, et al., *Eur. J. Immunol.* 24:827-836 (1994); змісти кожної з яких в явній формі наведені тут повністю шляхом посилання).

Інший тип амінокислотної заміни, яку можна здійснювати, являє собою усунення можливих ділянок протеолізу в антитілі. Такі ділянки можуть виникати у CDR або каркасній області варіабельного домену або у константному домені антитіла. Заміна залишків цистеїну і усунення ділянок протеолізу можуть знижувати ризик гетерогенності у продукті антитіла і таким чином підвищувати його гомогенність. Інший тип амінокислотної заміни проводять для видалення пар аспарагін-гліцин, що формують можливі ділянки дезамідування, за допомогою зміни одного або обох залишків. В іншому прикладі можна розщеплювати С-кінцевий лизин важкого ланцюга антитіла проти Р-кадгерину за винаходом. У різних варіантах здійснення винаходу важкі і легкі ланцюги антитіла проти Р-кадгерину можуть, необов'язково, містити N-кінцеву сигнальну послідовність, таку як послідовності, вказані у SEQ ID №№:346 і 347.

Після одержання фрагментів ДНК, що кодують ділянки  $V_H$  і  $V_L$  за даним винаходом, ці фрагменти ДНК можна додатково обробляти загальноприйнятими способами рекомбінантної ДНК, наприклад, перетворювати гени варіабельних областей у гени повнорозмірних ланцюгів антитіла, у гени фрагментів Fab або у ген scFv. При цих обробках фрагмент ДНК, що кодує  $V_H$  або  $V_L$ , функціонально зв'язують з іншим фрагментом ДНК, що кодує інший білок, такий як константна область антитіла

або гнучкий лінкер. Як використовують у даному контексті, термін "функціонально зв'язаний" призначений для позначення того, що два фрагменти ДНК з'єднані таким чином, що амінокислотні послідовності, які кодуються двома фрагментами ДНК, залишаються в одній рамці зчитування.

Виділену ДНК, що кодує ділянку  $V_H$ , можна перетворювати у ген повнорозмірного важкого ланцюга за допомогою функціонального зв'язування ДНК, що кодує  $V_H$ , з іншою молекулою ДНК, що кодує константні області важкого ланцюга (CH1, CH2 і CH3). Послідовності генів константної області важкого ланцюга людини відомі у даній галузі (див., наприклад, Kabat, E. A., et al., (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Fifth Ed., U.S. Department of Health and Human Services, публікація NIH №91-3242), а фрагменти ДНК, що містять ці ділянки, можна одержувати загальноприйнятою ампліфікацією за допомогою PCR. Константна область важкого ланцюга може являти собою константну область IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA, IgE, IgM або IgD, але найбільш переважно, вона являє собою константну область IgG1 або IgG2. Послідовність константної області IgG1 може являти собою будь-який з різних алелів або алотипів, які, як відомо, зустрічаються у різних індивідуумів, наприклад, Gm(1), Gm(2), Gm(3) і Gm(17). Ці алотипи відображають виникаючу у природі амінокислотну заміну у константних областях IgG1. Наприклад, константна область важкого ланцюга IgG1 може являти собою SEQ ID №:344. У випадку гена фрагмента Fab важкого ланцюга ДНК, що кодує  $V_H$ , можна функціонально зв'язувати з іншою молекулою ДНК, що кодує тільки константну область важкого ланцюга CH1. Константну область важкого ланцюга CH1 можна одержувати з будь-якого з генів важкого ланцюга.

Виділену ДНК, що кодує ділянку  $V_L$ , можна перетворювати у ген повнорозмірного легкого ланцюга (а також у ген Fab легкого ланцюга) за допомогою функціонального зв'язування ДНК, що кодує  $V_L$ , з іншою молекулою ДНК, що кодує константну область легкого ланцюга,  $C_L$ . Послідовності генів константної області легкого ланцюга людини відомі у даній галузі (див., наприклад, Kabat, E. A., et al., (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Fifth Ed., U.S. Department of Health and Human Services, публікація NIH №91-3242), а фрагменти ДНК, що містять ці ділянки, можна одержувати загальноприйнятою ампліфікацією за допомогою PCR. Константна область легкого ланцюга може являти собою константну область каппа або лямбда. Константна область каппа може являти собою будь-який з різних алелів, які, як відомо, зустрічаються у різних індивідуумів, наприклад, Inv(1), Inv(2) і Inv(3). Константну область лямбда можна одержувати з будь-якого з трьох генів лямбда. Наприклад, константна область легкого ланцюга IgG1 може являти собою SEQ ID №:347.

Для одержання гена scFv фрагменти ДНК, що кодують  $V_H$  і  $V_L$ , функціонально зв'язують з іншим фрагментом, що кодує гнучкий лінкер, наприклад, кодує амінокислотну послідовність  $(Gly_4-Ser)_3$  таким чином, що послідовності  $V_H$  і  $V_L$  можуть експресуватися у вигляді безперервного одноланцю-



жкового білка, де ділянки  $V_L$  і  $V_H$  з'єднані гнучким лінкером (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)). Одноланцюжкове антитіло може бути моновалентним, якщо використовують тільки один  $V_H$  і  $V_L$ , бівалентним, якщо використовують два  $V_H$  і  $V_L$ , або полівалентним, якщо використовують більше двох  $V_H$  і  $V_L$ . Можна одержувати біспецифічні або полівалентні антитіла, що зв'язуються специфічно з Р-кадгеріном та іншою молекулою.

В іншому варіанті здійснення можна одержувати злине антитіло або імуноадгезивну речовину, які містять всі або ділянку антитіла проти Р-кадгерину за винаходом, зв'язані з іншим поліпептидом. В іншому варіанті здійснення з поліпептидом зв'язані тільки варіабельні домени антитіла проти Р-кадгерину. В іншому варіанті здійснення домен  $V_H$  антитіла проти Р-кадгерину зв'язаний з першим поліпептидом, тоді як домен  $V_L$  антитіла проти Р-кадгерину зв'язаний з другим поліпептидом, який об'єднаний з першим поліпептидом таким чином, що домени  $V_H$  і  $V_L$  можуть взаємодіяти один з одним, утворюючи антигензв'язувальну частину. В іншому варіанті здійснення домен  $V_H$  відділений від домену  $V_L$  лінкером таким чином, що домени  $V_H$  і  $V_L$  можуть взаємодіяти один з одним. Потім антитіло  $V_H$ -лінкер- $V_L$  зв'язують з цікавлячим поліпептидом. Крім того, можна одержувати злиті антитіла, в яких два (або більше) одноланцюжкових антитіла зв'язані одне з одним. Це є ефективним при бажанні одержати двовалентне або полівалентне антитіло на одному поліпептидному ланцюгу або при бажанні одержати біспецифічне антитіло.

В інших варіантах здійснення можна одержувати інші модифіковані антитіла з використанням молекул нуклеїнових кислот, що кодують антитіло проти Р-кадгерину. Наприклад, "каппа-тіла" (III, et al., Protein Eng. 10:949-57 (1997)), "міні-тіла" (Martin, et al., EMBO J., 13:5303-9 (1994)), "димери" (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., Int. J. Cancer, (Suppl.) 7:51-52 (1992)) можна одержувати з використанням загальноприйнятих способів молекулярної біології відповідно до вказівок в описі.

Біспецифічні антитіла або антигензв'язувальні фрагменти можна одержувати множиною способів, у тому числі злиттям гібридом або зв'язуванням фрагментів Fab<sup>1</sup>. Див., наприклад, Songsivilai & Lachmann, Clin. Exp. Immunol., 79:315-321 (1990), Kostelny, et al., J. Immunol., 148:1547-1553 (1992). Крім того, біспецифічні антитіла можна формувати у вигляді "димерів" або "Janusins". У деяких варіантах здійснення біспецифічне антитіло зв'язується з двома різними епітопами Р-кадгерину. У деяких варіантах здійснення описані вище модифіковані антитіла одержують з використанням одного або декількох варіабельних доменів або ділянок CDR з наданого у даній заявці антитіла проти Р-кадгерину людини.

Вектори і клітини-хазіяни

Для експресії антитіл і антигензв'язувальних частин за винаходом ДНК, що одержують, як описано вище, які кодують частини або повнорозмірні легкі і важкі ланцюги, вбудовують у вектори експресії таким чином, що гени виявляються функціонально зв'язаними з послідовностями, які контролюють транскрипцію і трансляцію. У цьому контексті термін "функціонально зв'язаний" призначений для позначення того, що ген антитіла лігований у вектор таким чином, що контролюючі транскрипцію і трансляцію послідовності у векторі виконують призначену ним функцію регуляції транскрипції і трансляції гена антитіла. Вектор експресії і контролюючі експресію послідовності вибирають, щоб вони були сумісні з використовуваною для експресії клітиною-хазіяном. Вектори експресії включають плазміди, ретровіруси, аденовіруси, аденоасоційовані віруси (AAV), віруси рослин, такі як вірус мозаїки цвітної капусти, вірус тютюнової мозаїки, косміди, YAC, епісоми, що одержують з EBV, і т.п. Ген антитіла лігують у вектор таким чином, що контролюючі транскрипцію і трансляцію послідовності у векторі виконують призначену ним функцію регуляції транскрипції і трансляції гена антитіла. Вектор експресії і контролюючі експресію послідовності вибирають, щоб вони були сумісні з використовуваною для експресії клітиною-хазіяном. Ген легкого ланцюга антитіла і ген важкого ланцюга антитіла можна вставляти в окремі вектори. У переважному варіанті здійснення обидва гени вставляють в один і той же вектор експресії. Гени антитіла вставляють у вектор експресії загальноприйнятими способами (наприклад, лігуванням комплементарних ділянок рестрикції у фрагменті гена антитіла і векторі або лігуванням тупих кінців у випадку відсутності ділянок рестрикції).

Зручним вектором є вектор, що кодує функціонально повну послідовність  $C_H$  або  $C_L$  імуноглобуліну людини разом з відповідними ділянками рестрикції, які сконструйовані таким чином, що будь-яку послідовність  $V_H$  або  $V_L$  можна легко вставляти і експресувати, як описано вище. У таких векторах сплайсинг звичайно відбувається між донорською ділянкою сплайсингу у вставленій ділянці J і акцепторною ділянкою сплайсингу, що передуює домену C людини, а також у ділянках сплайсингу, що виникають в екзонах  $C_H$  людини.

Поліаденілювання і термінація транскрипції відбуваються у природних ділянках хромосом, розташованих нижче кодуючих ділянок. Також рекомбінантний вектор експресії може кодувати сигнальний пептид, що сприяє секреції ланцюга антитіла з клітини-хазіяна. Ген ланцюга антитіла можна клонувати у вектор таким чином, що сигнальний пептид виявляється зв'язаним в одній рамці зчитування з амінокінцевою ділянкою ланцюга імуноглобуліну. Сигнальний пептид може являти собою сигнальний пептид імуноглобуліну або гетерологічний сигнальний пептид (тобто сигнальний пептид з білка, що не належить до імуноглобулінів).

Крім генів ланцюгів антитіла, рекомбінантні вектори експресії за винаходом містять регуляторні

послідовності, що контролюють експресію генів ланцюгів антитіла у клітині-хазяїні. Фахівці у даній галузі розуміють, що схема вектора експресії може залежати від таких факторів, як вибір клітини-хазяїна, що підлягає трансформації, бажаний рівень експресії білка і т.п. Переважні регуляторні послідовності для експресії у клітині-хазяїна ссавця включають в себе вірусні елементи, що приводять до експресії білка у клітинах ссавців на високих рівнях, наприклад, промотори і/або енхансери, що одержують з ретровірусних LTR, цитомегаловірусу (CMV) (наприклад, промотор/енхансер CMV), вірус мавпи 40 (SV40) (наприклад, промотор/енхансер SV40), аденовірусу (наприклад, основний пізній промотор аденовірусу (AdMLP)), поліоми, а також такі сильні промотори ссавців, як природні промотори імуноглобулінів і актину. Для додаткового опису вірусних регуляторних елементів і їх послідовностей див., наприклад, патент США №5168062, патент США №4510245 і патент США №4968615. Способи експресії антитіл у рослинах, включаючи опис промоторів і векторів, а також трансформації рослин, відомі у даній галузі. Див., наприклад, патент США №6517529, наведений тут повністю шляхом посилання. Також у даній галузі добре відомі способи експресії поліпептидів у бактеріальних клітинах або клітинах грибів, наприклад, дріжджових клітинах.

Крім генів ланцюгів антитіла і регуляторних послідовностей, рекомбінантні вектори експресії за винаходом можуть містити додаткові послідовності, такі як послідовності, що регулюють реплікацію вектора у клітинах-хазяїнах (наприклад, ділянки ініціації реплікації), і гени маркерів, що селектуються. Ген маркера, що селектується, сприяє селекції клітин-хазяїнів, в які був введений вектор (див., наприклад, патенти США №№4399216, 4634665 і 5179017, наведені тут повністю шляхом посилання). Наприклад, звичайно ген маркера, що селектується, надає стійкість до лікарських засобів, таких як G418, гігроміцин або метотрексат, у клітині-хазяїні, в яку був введений вектор. Переважні гени маркерів, що селектуються, включають ген дигідрофолат-редуктази (DHFR) (для використання у dhfr-клітинах-хазяїнах разом з селекцією/ампліфікацією метотрексату), ген неоміцин-фосфотрансферази (для селекції G418) і ген глутамат-синтетази.

Молекули нуклеїнових кислот, що кодують антитіла проти Р-кадгерину, і вектори, що містять ці молекули нуклеїнових кислот, можна використовувати для трансфекції прийнятної клітини-хазяїна ссавців, рослин, бактерій або дріжджів. Трансформацію можна здійснювати будь-яким відомим способом для введення полінуклеотидів у клітині-хазяїна. Способи введення гетерологічних полінуклеотидів у клітини ссавців добре відомі у даній галузі і включають трансфекцію, опосередковувану декстраном, осадження фосфатом кальцію, трансфекцію, опосередковувану полібренном, злиття протопластів, електропорацію, введення полінуклеотиду(ів) у ліпосоми і пряму мікроін'єкцію ДНК в ядра. Крім того, молекули нуклеїнових кислот можна вводити у клітини ссавців за допомогою вірусних векторів. Способи трансформації клітин

добре відомі у даній галузі. Див., наприклад, патенти США №№4399216, 4912040, 4740461 і 4959455, наведені тут повністю шляхом посилання. Способи трансформації рослинних клітин добре відомі у даній галузі, включаючи, наприклад, трансформацію, опосередковувану *Agrobacterium*, біолістичну трансформацію, пряму ін'єкцію, електропорацію і вірусну трансформацію. Також у даній галузі добре відомі способи трансформації бактеріальних і дріжджових клітин.

Лінії клітин ссавців, доступні як клітини-хазяїни для експресії, добре відомі у даній галузі і включають множину іморталізованих клітинних ліній, доступних в Американській колекції типових культур (ATCC). Наприклад, вони включають в себе клітини яєчника китайського хом'ячка (CHO), клітини NSO, клітини SP2, клітини HEK-293T, клітини NIH-3T3, клітини HeLa, ембріональні клітини нирки хом'ячка (BHK), клітини нирки африканської зеленої мавпи (COS), клітини гепатоцелюлярної карциноми людини (наприклад, Нер G2), клітини A549 і множину інших ліній клітин. Особливо переважні лінії клітин вибирають, визначаючи, які з клітинних ліній володіють експресією на високому рівні. Інші лінії клітин, які можна використовувати, являють собою лінії клітин комах, наприклад, клітини Sf9 або Sf21. У випадку введення рекомбінантних векторів експресії, що кодують гени антитіла, у клітини-хазяїни ссавців антитіла одержують за допомогою культивування клітин-хазяїнів протягом періоду часу, достатнього для надання можливості експресії антитіла у клітинах-хазяїнах або, більш переважно, для секреції антитіла у культуральне середовище, в якому вирощують клітини-хазяїни. Антитіла можна виділяти з культурального середовища з використанням загальноприйнятих способів очищення білків. Рослинні клітини-хазяїни включають в себе, наприклад, *Nicotiana*, *Arabidopsis*, ряску, кукурудзу, пшеницю, картоплю і т.п. Бактеріальні клітини-хазяїни включають види *E. coli* і *Streptomyces*. Дріжджові клітини-хазяїни включають *Schizosaccharomyces pombe*, *Saccharomyces cerevisiae* і *Pichia pastoris*.

Крім того, експресію антитіл за винаходом у продукуючих клітинних лініях можна підвищувати з використанням множини відомих способів. Наприклад, загальноприйняті способи підвищення експресії у визначених умовах являють собою системи експресії глутамін-синтетази (система GS) і гена DHFR. Клітинні клони з високою експресією можна виявляти з використанням загальноприйнятих способів, таких як клонування серійним розведенням і спосіб мікрокрапель. Система GS описана в європейських патентах №№0216846, 0256055, 0323997 і 0338841.

Ймовірно, антитіла, що експресуються різними лініями клітин або у трансгенних тваринах, відрізняються одне від одного різним глікозилюванням. Однак, всі антитіла, які кодуються наданими у даній заявці молекулами нуклеїнових кислот або які містять надані у даній заявці послідовності амінокислот, є частиною даного винаходу незалежно від глікозилювання антитіл.

Трансгенні тварини і рослини

Також антитіла проти Р-кадгерину за винаходом можна одержувати трансгенно за допомогою розмноження ссавця або рослини, які є трансгенними відносно цікавлячих послідовностей важкого і легкого ланцюгів імуноглобуліну, і одержання з них антитіла у придатній для виділення формі. Застосовно до трансгенної продукції у ссавцях антитіла проти Р-кадгерину можна одержувати в і виділяти з молока кіз, корів або інших ссавців. Див., наприклад, патенти США №№5827690, 5756687, 5750172 і 5741957, наведені тут повністю шляхом посилання. У деяких варіантах здійснення трансгенних тварин, що не є людиною, які містять ділянки імуноглобулінів людини, імунізують Р-кадгерином або його імуногенною частиною, як описано вище. Способи одержання антитіл у рослинах описані, наприклад, у патентах США №№6046037 і 5959177, наведених тут повністю шляхом посилання.

У деяких варіантах здійснення трансгенні тварини, що не є людиною, або рослини одержують введенням загальноприйнятими трансгенними способами у тварину або рослину однієї або декількох молекул нуклеїнових кислот, що кодують антитіло проти Р-кадгерину або його антигензв'язувальну частину за винаходом. Див. Hogan і патент США №6417429, вище. Трансгенні клітини, що використовуються для одержання трансгенної тварини, можуть являти собою ембріональні стовбурові клітини або соматичні клітини, або запліднену яйцеклітину. Трансгенні організми, що не є людиною, можуть бути химерними, нехимерними гетерозиготами і нехимерними гомозиготами. Див., наприклад, Hogan et al., *Manipulating the Mouse Embryo: A Laboratory Manual*, 2<sup>nd</sup> ed., 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), всі з яких наведені тут повністю шляхом посилання. У деяких варіантах здійснення трансгенні тварини, що не є людиною, містять заданий розрив і заміну за допомогою націленого конструкта, що кодує цікавлячий важкий ланцюг і/або легкий ланцюг. Антитіла проти Р-кадгерину можна одержувати у будь-якій трансгенній тварині. У переважному варіанті здійснення тварини, що не є людиною, являють собою мишей, щурів, овець, свиней, кіз, велику рогату худобу або коней. Трансгенні тварини, що не є людиною, експресують вказані поліпептиди, що кодуються, у крові, молоці, сечі, слині, слізній рідині, слизу та інших рідинах організму.

#### Переключення класу

Клас (наприклад, IgG, IgM, IgE, IgA або IgD) і підклас (наприклад, IgG1, IgG2, IgG3 або IgG4) антитіл проти Р-кадгерину можна визначати будь-яким відомим у даній галузі способом. Як правило, клас і підклас антитіла можна визначати з використанням антитіл, специфічних до конкретного класу і підкласу антитіла. Такі антитіла є комерційно доступними. Клас і підклас можна визначати за допомогою ELISA або Вестерн-блотингом, а також іншими способами. Альтернативно, клас і підклас можна визначати секвенуванням всіх або частини

константних доменів важкого і/або легкого ланцюгів антитіл, порівнянням їх амінокислотних послідовностей з відомими амінокислотними послідовностями різного класу і підкласу імуноглобулінів і визначенням класу і підкласу антитіл. Антитіла проти Р-кадгерину за даним винаходом можуть являти собою молекулу IgG, IgM, IgE, IgA або IgD. Наприклад, антитіла проти Р-кадгерину можуть являти собою IgG, що належить до підкласу IgG1, IgG2, IgG3 або IgG4. В одному з варіантів здійснення антитіла проти Р-кадгерину можуть мати константну область важкого ланцюга, вказану за допомогою SEQ ID №:344, і константну область легкого ланцюга, вказану за допомогою SEQ ID №:345.

В одному з аспектів винахід стосується способу перетворення класу або підкласу антитіла проти Р-кадгерину в інший клас або підклас. У деяких варіантах здійснення з використанням добре відомих у даній галузі способів виділяють молекулу нуклеїнової кислоти, що кодує  $V_L$  або  $V_H$ , яка не містить послідовностей, що кодують  $C_L$  або  $C_H$ . Потім молекулу нуклеїнової кислоти функціонально зв'язують з послідовністю нуклеїнової кислоти, що кодує  $C_L$  або  $C_H$  з імуноглобуліну бажаного класу або підкласу. Це можна здійснювати з використанням вектора або молекули нуклеїнової кислоти, що містить ланцюг  $C_L$  або  $C_H$ , як описано вище. Наприклад, клас антитіла проти Р-кадгерину, що початково був IgM, можна переключити на IgG. Крім того, переключення класу можна використовувати для перетворення одного підкласу IgG в інший, наприклад, IgG1 в IgG2. Інший спосіб одержання антитіла за винаходом, що містить бажаний ізотип, включає стадії виділення нуклеїнової кислоти, що кодує важкий ланцюг антитіла проти Р-кадгерину, і нуклеїнової кислоти, що кодує легкий ланцюг антитіла проти Р-кадгерину, виділення послідовності, що кодує ділянку  $V_H$ , лігування послідовності  $V_H$  і послідовності, що кодує константний домен важкого ланцюга бажаного ізотипу, експресії гена легкого ланцюга і конструкта важкого ланцюга у клітині і одержання антитіла проти Р-кадгерину бажаного ізотипу.

#### Деімунізовані антитіла

В іншому аспекті винаходу антитіла або їх антигензв'язувальні частини можна деімунізувати для зниження їх імуногенності з використанням способів, описаних, наприклад, у публікаціях PCT №№WO 98/52976 і WO 00/34317 (які наведені тут повністю шляхом посилання).

#### Дериватизовані і мічені антитіла

Антитіло проти Р-кадгерину або антигензв'язувальні частини за винаходом можна дериватизувати або зв'язувати з іншою молекулою (наприклад, іншим пептидом або білком). Як правило, антитіла або їх частини дериватизують таким чином, що дериватизація або мічення не впливають несприятливим чином на зв'язування Р-кадгерину. Відповідно, мають на увазі, що антитіла і ділянки антитіл за винаходом включають початкові і модифіковані форми антитіл проти Р-кадгерину людини, описані у даній заявці. Наприклад, антитіло або частину антитіла за винаходом можна функціонально зв'язувати (хімічним зв'язуванням, гене-

тичним злиттям, нековалентним зв'язком або іншим способом) з однією або декількома іншими молекулами, такими як інше антитіло (наприклад, біспецифічне антитіло або димер), засіб для реєстрації, мітка, цитотоксичний засіб, фармацевтичний засіб і/або білок або пептид, які здатні опосередковувати зв'язок антитіла або частини антитіла з іншою молекулою (наприклад, внутрішня область стрептавідину або полігістидинова мітка).

Один з типів дериватизованого антитіла одержують за допомогою зшивання двох або більше антитіл (однакового типу або різного типу, наприклад, для одержання біспецифічних антитіл). Прийнятні засоби для зшивання включають засоби, які є гетеробіфункціональними, володіючи двома різними реакційноздатними групами, розділеними відповідним спейсером (наприклад, складний ефір м-малеїмідобензоїл-N-гідроксисукциніміду), або є гомобіфункціональними (наприклад, суберат дисукциніміду). Такі лінкери доступні в Pierce Chemical Company, Rockford, IL.

Інший тип дериватизованого антитіла являє собою мічене антитіло. Ефективні засоби для реєстрації, за допомогою яких можна дериватизувати антитіло або антигензв'язувальну частину за винаходом, включають флуоресцентні сполуки, у тому числі флуоресцеїн, флуоресцеїнізотіоціанат, родамін, хлорид 5-диметиламін-1-нафталінсульфонілу, фікоеритрин, лантанідні люмінофори і т.п. Також антитіло можна мітити ефективними для реєстрації ферментами, такими як пероксидаза хрому,  $\beta$ -галактозидаза, люцифераза, лужна фосфатаза, глюкозооксидаза і т.п. Якщо антитіло мітять ферментом, що піддається виявленню, то його виявляють додаванням додаткових реагентів, що використовуються ферментом для продукування продукту реакції, який можна реєструвати. Наприклад, коли присутній засіб у вигляді пероксидази хрому, то додавання перексиду водню і діамінобензидину приводить до забарвленого продукту реакції, що піддається реєстрації. Також антитіло можна мітити біотином і виявляти непрямим вимірюванням зв'язування авідину або стрептавідину. Також антитіло можна мітити заздалегідь заданим поліпептидним епітопом, що розпізнається вторинним репортером (наприклад, парними послідовностями лейцинових застібок, ділянками зв'язування для вторинних антитіл, доменами зв'язування металів, епітопними мітками). У деяких варіантах здійснення мітки приєднують за допомогою спейсерних ділянок різної довжини для зниження можливої стеричної перешкоди. Також антитіло проти Р-кадгерину можна дериватизувати хімічною групою, такою як поліетиленгліколь (PEG), метильна або етильна група, або вуглеводна група. Ці групи ефективні для поліпшення біологічних характеристик антитіла, наприклад, для збільшення часу напівжиття у сироватці.

Афінність зв'язування антитіл проти Р-кадгерину з Р-кадгерином Афінність зв'язування ( $K_D$ ) і швидкість дисоціації ( $k_{\text{звор.}}$ ) антитіла проти Р-кадгерину або його антигензв'язувальної частини відносно Р-кадгерину можна визначати відомими у даній галузі способами. Афінність зв'язування можна вимірювати за допомогою ELISA, RIA, проточ-

ної цитометрії або поверхневого плазмонного резонансу, наприклад BIACORE™. Швидкість дисоціації можна вимірювати поверхневим плазмонним резонансом. Переважно, афінність зв'язування і швидкість дисоціації вимірюють поверхневим плазмонним резонансом. Більш переважно, афінність зв'язування і швидкість дисоціації вимірюють з використанням BIACORE™. Чи володіє антитіло практично такою ж величиною  $K_D$ , що і антитіло проти Р-кадгерину, можна визначати з використанням відомих у даній галузі способів. Такі способи визначення  $K_D$  і  $k_{\text{звор.}}$  можна використовувати у ході стадії початкового скринінгу, а також у ході подальших стадій оптимізації.

Виявлення епітопів Р-кадгерину, розпізнаваних антитілами проти Р-кадгерину Винахід стосується антитіл проти Р-кадгерину людини, що зв'язуються з Р-кадгерином і конкурують або перехресно конкурують за і/або зв'язуються з тим же епітопом, що і будь-яке з антитіл, описаних у таблицях 1 або 2. Зв'язується антитіло з тим же епітопом або перехресно конкурує за зв'язування з антитілом проти Р-кадгерину за даним винаходом можна визначати з використанням відомих у даній галузі способів. В одному з варіантів здійснення антитілу проти Р-кадгерину за винаходом дозволяють зв'язуватися з Р-кадгерином у насичуючих умовах, а потім вимірюють здатність антитіла, що тестується, зв'язуватися з Р-кадгерином. Якщо антитіло, що тестується, здатне зв'язуватися з Р-кадгерином у той же час, що і антитіло проти Р-кадгерину, отже, антитіло, що тестується, зв'язується з епітопом, відмінним від епітопу для антитіла проти Р-кадгерину. Однак, якщо антитіло, що тестується, не здатне в один і той же час зв'язуватися з Р-кадгерином, отже, антитіло, що тестується зв'язується з тим самим епітопом, епітопом, що перекривається, або епітопом, який розташований безпосередньо близько від епітопу, що зв'язується антитілом проти Р-кадгерину людини. Цей експеримент можна проводити з використанням ELISA, RIA, BIACORE™ або проточної цитометрії. У переважному варіанті здійснення експеримент проводять з використанням ELISA.

Інгібування активності Р-кадгерину антитілом проти Р-кадгерину Антитіла проти Р-кадгерину, що інгібують активність Р-кадгерину, можна виявляти з використанням множини аналізів. Наприклад, аналіз агрегації клітин забезпечує спосіб вимірювання клітинної агрегації, що залежить від Р-кадгерину. У цьому типі аналізу використовують лінію клітин, що надекспресують Р-кадгерин, де клітини вмішують у суспензію і дозволяють утворювати скупчення, що залежать від Р-кадгерину. Потім аналіз агрегації використовують для кількісного визначення здатності антитіла проти Р-кадгерину запобігати цій агрегації за допомогою вимірювання розміру клітинних скупчень, що утворюються за наявності і за відсутності антитіла. Потім розмір скупчення клітин як функцію концентрації антитіла проти Р-кадгерину можна використовувати для визначення величини  $IC_{50}$ . У прикладі 4 представлені додаткові подробиці аналізу залежної від Р-кадгерину агрегації, використаного

для вимірювання величин  $IC_{50}$  для декількох анти-тіл проти Р-кадгерину.

Також для вимірювання здатності антитіла проти Р-кадгерину блокувати адгезію клітин до рецептора Р-кадгерину, зафіксованого на твердому носії, можна використовувати аналізи клітинної адгезії. Наприклад, цей тип аналізу можна проводити за допомогою фіксування Р-кадгерину на твердому носії, такому як пластмаса. Потім клітинам, що надекспресують Р-кадгерин, дозволяють прикріплюватися до твердого носія за допомогою взаємодій Р-кадгерин-Р-кадгерин. Після цього можна кількісно визначати ступінь адгезії за наявності і за відсутності антитіла проти Р-кадгерину. Потім величину адгезії як функцію концентрації антитіла використовують для визначення величини  $IC_{50}$ . У прикладі 3 представлені додаткові подробиці аналізу залежної від Р-кадгерину адгезії клітин, який використовували для вимірювання величин  $IC_{50}$  для антитіл проти Р-кадгерину.

Інгібування активності Р-кадгерину також можна вимірювати з використанням аналізу залежного від Р-кадгерину розпаду шароподібного утворення. Цей тип аналізу вимірює здатність антитіла проти Р-кадгерину руйнувати заздалегідь утворені клітинні скупчення, що залежать від Р-кадгерину. Величину  $IC_{50}$  можна визначати за допомогою вимірювання зменшення розміру скупчень як функції концентрації антитіла. У прикладі 5 представлені додаткові подробиці аналізу залежного від Р-кадгерину розпаду шароподібного скупчення, який використовували для вимірювання величин  $IC_{50}$  для антитіл проти Р-кадгерину. Описані вище способи і аналізи для визначення інгібування активності Р-кадгерину різними антитілами або їх антигензв'язувальними частинами можна використовувати у ході стадії початкового скринінгу, а також у ході подальших стадій оптимізації.

Молекулярна вибірність

Вибірність антитіл проти Р-кадгерину за даним винаходом відносно інших кадгеринів, таких як Е-кадгерин, можна визначати з використанням добре відомих у даній галузі способів. Наприклад, вибірність можна визначати з використанням Вестерн-блотингу, проточної цитометрії, ELISA, імунопреципітації або RIA. У прикладі 7 представлені додаткові подробиці аналізу ELISA, який використовували для вимірювання вибірності специфічних антитіл відносно Р-кадгерину у порівнянні з Е-кадгерином. Описані вище способи і аналізи для визначення вибірності різних антитіл або їх антигензв'язувальних частин відносно Р-кадгерину можна використовувати у ході стадії початкового скринінгу, а також у ході подальших стадій оптимізації.

Фармацевтичні композиції і введення

Також даний винахід стосується фармацевтичної композиції для лікування патологічного клітинного росту у ссавця, у тому числі людини, яка містить кількість антитіла проти Р-кадгерину або його антигензв'язувальної частини, як описано у даній заявці, яка ефективна для лікування патологічного клітинного росту, а також містить фармацевтично прийнятний носій.

Антитіла і антигензв'язувальні частини за даним винаходом можна включати у фармацевтичні композиції, прийнятні для введення індивідууму. Як правило, фармацевтична композиція містить антитіло або антигензв'язувальну частину за винаходом і фармацевтично прийнятний носій. У межах даної заявки "фармацевтично прийнятний носій" означає всі без виключення розчинники, диспергуючі середовища, покриття, протибактеріальні і протигрибкові засоби, ізотонічні засоби та засоби, що затримують всмоктування, і т.п., які є фізіологічно сумісними. Деякі приклади фармацевтично прийнятних носіїв являють собою воду, фізіологічний розчин, забуферений фосфатом фізіологічний розчин, декстрозу, гліцерин, етанол і т.п., а також їх поєднання. У багатьох випадках переважно включати у композицію ізотонічні засоби, наприклад, цукри, багатоатомні спирти, такі як маніт, сорбіт, або хлорид натрію. Додаткові приклади фармацевтично прийнятних речовин являють собою зволожувачі або невеликі кількості допоміжних речовин, таких як зволожувачі або емульгатори, консерванти або буферні речовини, які підвищують термін зберігання або ефективність антитіла.

Композиції за даним винаходом можуть знаходитися у множині форм, наприклад, рідкій, напівтвердій і твердій лікарських формах, таких як рідкі розчини (наприклад, розчини, що вводяться ін'єкцією та інфузією), дисперсії або суспензії, таблетки, пілюлі, порошки, ліпосоми і супозиторії. Переважна форма залежить від передбачуваного способу введення і терапевтичного застосування. Як правило, переважні композиції знаходяться у вигляді розчинів, що вводяться ін'єкцією або інфузією, наприклад, композиції, подібні до композицій, які використовують для пасивної імунізації людини. Переважним способом введення є парентеральний (наприклад, внутрішньовенний, підшкірний, внутрішньочеревинний, внутрішньом'язовий). У переважному варіанті здійснення антитіло вводять внутрішньовенною інфузією або ін'єкцією. В іншому переважному варіанті здійснення антитіло вводять внутрішньом'язовою або підшкірною ін'єкцією. Препарати для ін'єкції можуть знаходитися у вигляді стандартної лікарської форми, наприклад, в ампулах або контейнерах, що містять множинну дозу, за наявності або за відсутності консерванту, що додається. Композиції можуть знаходитися у вигляді таких форм, як суспензії, розчини або емульсії у масляних або водних носіях, а також можуть містити засоби, що сприяють складанню, такі як суспендуючі, стабілізуючі і/або диспергуючі засоби. Альтернативно, активний інгредієнт може знаходитися у вигляді порошку для складання з прийнятним носієм, наприклад, стерильною апірогенною водою, перед використанням.

Як правило, терапевтичні композиції повинні бути стерильними і стабільними в умовах виробництва і зберігання. Композицію можна складати у вигляді розчину, мікроемульсії, дисперсії, ліпосоми або іншої заданої структури, прийнятної для високої концентрації лікарського засобу. Стерильні розчини, що вводяться ін'єкцією, можна одержувати включенням антитіла проти Р-кадгерину у необ-

хідній кількості у відповідний розчинник разом з одним або поєднанням описаних вище інгредієнтів, за необхідності, з подальшою стерилізацією фільтруванням. Як правило, дисперсії одержують включенням активної сполуки у стерильний носій, що містить основне дисперсне середовище та інші необхідні інгредієнти з числа тих, що вказані вище. У випадку стерильних порошків для одержання стерильних розчинів, що вводяться ін'єкцією, переважними способами одержання є сушіння у вакуумі і ліофілізація, що приводять до одержання порошку активного інгредієнта разом з будь-яким додатковим бажаним інгредієнтом з його заздалегідь стерилізованого фільтруванням розчину. Налягнути текучість розчину можна підтримувати, наприклад, з використанням такого покриття, як лецитин, за допомогою забезпечення необхідного розміру частинок у випадку дисперсії і за допомогою використання поверхнево-активних речовин. Тривале всмоктування композицій, що вводяться ін'єкцією, можна забезпечувати включенням у композицію засобу, що уповільнює всмоктування, наприклад, солей моностеарату і желатину.

Антитіла або ділянки антитіл за даним винаходом можна вводити множиною відомих у даній галузі способів, хоча для багатьох варіантів терапевтичного застосування переважним способом/схемою введення є підшкірне, внутрішньом'язове введення або внутрішньовенна інфузія. Як розуміє фахівець у даній галузі, спосіб і/або схема введення відрізняються в залежності від бажаних результатів.

У визначених варіантах здійснення композицій антитіла за даним винаходом можна одержувати разом з носієм, що запобігає швидкому вивільненню антитіла, наприклад, у вигляді препарату з контрольованим вивільненням, включаючи імпланти, трансдермальні пластири і системи доставки у мікрокапсулах. Можна використовувати біорозкладані, біосумісні полімери, такі як етиленвінілацетат, поліангідриди, полігліколева кислота, колаген, складні поліортоєфіри і полімер молочної кислоти. Як правило, фахівцям у даній галузі відома множина способів одержання таких складів. Див., наприклад, Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J. R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978, наведену тут повністю шляхом посилання.

Також у композиції можна включати додаткові активні сполуки. У визначених варіантах здійснення інгібуюче антитіло проти Р-кадгерину за винаходом складають разом з і/або вводять разом з одним або декількома додатковими терапевтичними засобами. Ці засоби включають, без обмежень, антитіла, що зв'язують інші мішені, протипухлинні засоби, антиангіогенні засоби, інгібітори передачі сигналу, антипроліферативні засоби, хіміотерапевтичні засоби або пептидні аналоги, що інгібують Р-кадгерин. Для таких варіантів сумісної терапії можуть бути необхідні більш низькі дози інгібуючого антитіла проти Р-кадгерину, а також засобів, які спільно вводяться, що відповідно дозволяє уникати можливої токсичності або ускладнень, пов'язаних з різними варіантами монотерапії.

Композиції за винаходом можуть містити "терапевтично ефективну кількість" або "профілактично ефективну кількість" антитіла або антигензв'язувальної ділянки за винаходом. "Терапевтично ефективна кількість" стосується кількості, яка ефективна при дозах і протягом періодів часу, необхідних для досягнення бажаного терапевтичного результату. Терапевтично ефективна кількість антитіла або антигензв'язувальної частини може відрізнятися в залежності від таких факторів, як стан захворювання, вік, стать і маса індивідуума, а також здатність антитіла або частини антитіла викликати у індивідуума бажану реакцію. Також терапевтично ефективна кількість являє собою кількість, при якій терапевтично сприятливі ефекти перевершують які-небудь токсичні або несприятливі ефекти антитіла або антигензв'язувальної частини. "Профілактично ефективна кількість" стосується кількості, яка ефективна при дозах і протягом періодів часу, необхідних для досягнення бажаного профілактичного результату. Як правило, оскільки профілактичну дозу використовують для індивідуумів до розвитку або на ранній стадії захворювання, то профілактично ефективна кількість може бути меншою, ніж терапевтично ефективна кількість.

Схеми введення доз можна пристосовувати для забезпечення оптимальної бажаної реакції (наприклад, терапевтичної або профілактичної реакції). Наприклад, можна вводити разову ударну дозу, можна вводити декілька окремих доз протягом певного часу або дозу можна пропорційно знижувати або підвищувати, як вказується потребою терапевтичної ситуації. Особливо ефективним є складання композицій для парентерального введення в одиничній дозованій формі для полегшення введення і рівномірності дози. У межах даної заявки одинична дозована форма стосується фізично відокремлених форм, придатних як разові дози для індивідуумів, які підлягають лікуванню, що належать до ссавців; кожна форма містить заздалегідь визначену кількість активної сполуки, розраховану для надання бажаного терапевтичного впливу, разом з необхідним фармацевтичним носієм. Опис стандартних лікарських форм за винаходом обумовлений і безпосередньо залежить від а) унікальних характеристик антитіла проти Р-кадгерину або його частини і конкретного терапевтичного або профілактичного ефекту, якого потрібно досягти, а також (b) обмежень, властивих даній області складання такого антитіла для лікування сприйнятливості у індивідуумів.

Приклад необмежувального діапазону для терапевтично або профілактично ефективної кількості антитіла або частини антитіла за винаходом складає від 0,025 до 50 мг/кг, більш переважно - від 0,1 до 50 мг/кг, більш переважно - 0,1-25, від 0,1 до 10 або від 0,1 до 3 мг/кг. У деяких варіантах здійснення препарат містить 5 мг/мл антитіла у буфері з 20 мМ цитрату натрію, рН 5,5, 140 мМ NaCl і 0,2 мг/мл полісорбату 80. Потрібно зазначити, що величини доз можуть відрізнятися в залежності від виду і тяжкості стану, що підлягає полегшенню. Крім того, потрібно розуміти, що для кожного конкретного індивідуума конкретні схеми

введення доз з плином часу потрібно регулювати відповідно до потреб індивідуума і професійного рішення індивідуума, який вводить або контролює введення композицій, і що вказані у даній заявці діапазони доз призначені тільки для прикладу і не призначені для обмеження об'єму або застосування на практиці заявленої композиції.

В іншому аспекті даний винахід стосується наборів, що містять антитіло проти Р-кадгерину або антигензв'язувальну частину за винаходом або композицію, яка містить таке антитіло або частину. Крім антитіла або композиції, набір може містити діагностичні або терапевтичні засоби. Також набір може містити інструкції для застосування у способі діагностики або лікування. У переважному варіанті здійснення набір містить антитіло або композицію, що містить його, а також діагностичний засіб, який можна використовувати в описаному нижче способі. В іншому переважному варіанті здійснення набір містить антитіло або композицію, що містить його, і один або декілька терапевтичних засобів, які можна використовувати в описаному нижче способі.

Використовувані способи діагностики

Антитіла проти Р-кадгерину або їх антигензв'язувальні частини можна використовувати у способах діагностики для виявлення Р-кадгерину у біологічному зразку *in vitro* або *in vivo*. Наприклад, антитіла проти Р-кадгерину можна використовувати у загальноприйнятому імуноаналізі, у тому числі, без обмежень, ELISA, RIA, проточній цитометрії, імуногістохімії тканин, Вестерн-блотингу або імунопреципітації. Антитіла проти Р-кадгерину за винаходом можна використовувати для виявлення Р-кадгерину у людини. Також антитіла проти Р-кадгерину можна використовувати для виявлення Р-кадгерину у мишей, щурів і яванських макак.

Винахід стосується способу виявлення Р-кадгерину у біологічному зразку, що включає контактування біологічного зразка з антитілом проти Р-кадгерину за винаходом і виявлення антитіла, що зв'язалося. В одному з варіантів здійснення антитіло проти Р-кадгерину безпосередньо мітять міткою, що піддається виявленню. В іншому варіанті здійснення антитіло проти Р-кадгерину (перше антитіло) є неміченим, а мітять друге антитіло або іншу молекулу, здатну зв'язувати антитіло проти Р-кадгерину. Як добре відомо фахівцям у даній галузі, друге антитіло вибирають так, щоб воно було здатне специфічно зв'язувати перше антитіло конкретного виду і класу. Наприклад, якщо антитіло проти Р-кадгерину являє собою IgG людини, то друге антитіло повинно являти собою антитіло проти IgG людини. Інші молекули, здатні зв'язуватися з антитілами, включають в себе, але ними не обмежуються, білок А і білок G, обидва з яких комерційно доступні, наприклад, у Pierce Chemical Co.

Прийнятні мітки для антитіла або другого антитіла були описані раніше і включають різні ферменти, простетичні групи, флуоресцентні речовини, люмінесцентні речовини і радіоактивні речовини. Приклади прийнятних ферментів включають пероксидазу хрому, лужну фосфатазу,  $\beta$ -галактозидазу або ацетилхолінестеразу; приклади

прийнятних комплексів простетичних груп включають стрептавідин/біотин і авідин/біотин; приклади прийнятних флуоресцентних речовин включають умбеліферон, флуоресцеїн, флуоресцеїнізотіоціанат, родамін, дихлортриазиніламінофлуоресцеїн, хлорид дансилу або фікоеритрин; приклад люмінесцентної речовини включає люмінол; а приклади прийнятної радіоактивної речовини включають  $^{125}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ ,  $^{35}\text{S}$  або  $^3\text{H}$ .

В інших варіантах здійснення Р-кадгерин можна аналізувати у біологічному зразку за допомогою конкурентного імуноаналізу з використанням стандартів Р-кадгерину, мічених речовиною, що піддається виявленню, і неміченого антитіла проти Р-кадгерину. У цьому аналізі поєднують біологічний зразок, мічені стандарти Р-кадгерину і антитіло проти Р-кадгерину і визначають кількість міченого стандарту Р-кадгерину, що зв'язався з неміченим антитілом. Кількість Р-кадгерину у біологічному зразку обернено пропорційна кількості міченого стандарту Р-кадгерину, що зв'язався з антитілом проти Р-кадгерину.

Описані вище імуноаналізи можна використовувати для множини цілей. Наприклад, антитіла проти Р-кадгерину можна використовувати для виявлення Р-кадгерину у клітинах, що культивуються. У переважному варіанті здійснення антитіла проти Р-кадгерину використовують для визначення кількості Р-кадгерину, що продукується клітинами, які були оброблені різними сполуками. Цей спосіб можна використовувати для виявлення сполук, які регулюють рівні білка Р-кадгерину. Відповідно до цього способу, один зразок клітин протягом визначеного періоду часу обробляють сполукою, що тестується, тоді як інший зразок залишають необробленим. Якщо потрібно виміряти загальний рівень Р-кадгерину, то клітини лізують і визначають загальний рівень Р-кадгерину з використанням одного з описаних вище імуноаналізів. Для визначення ефекту сполуки, що тестується, порівнюють загальний рівень Р-кадгерину в оброблених і необроблених клітинах.

Переважаючий імуноаналіз для вимірювання загальних рівнів Р-кадгерину являє собою проточну цитометрію або імуногістохімію. Такі способи, як ELISA, RIA, проточна цитометрія, Вестерн-блотинг, імуногістохімія, мічення інтегральних мембранних білків на клітинній поверхні та імунопреципітація добре відомі у даній галузі. Див., наприклад, Harlow and Lane, вище. Крім того, масштаб імуноаналізів можна пристосовувати до високопродуктивного скринінгу для тестування великої кількості сполук на предмет активації або інгібування експресії Р-кадгерину.

Також антитіла проти Р-кадгерину за винаходом можна використовувати для визначення рівнів Р-кадгерину у тканині або у клітинах, які одержують з тканини. У деяких варіантах здійснення тканина являє собою уражену захворюванням тканину. У деяких варіантах здійснення спосіб тканину або її біоптат вирізають у пацієнта. Потім тканину або біоптат використовують в імуноаналізі для визначення, наприклад, загальних рівнів Р-кадгерину або місцеположення Р-кадгерину за допомогою описаних вище способів.

Також антитіла за даним винаходом можна використовувати *in vivo* для виявлення тканин і органів, що експресують Р-кадгерин. Одна з переваг використання антитіл проти Р-кадгерину людини за даним винаходом полягає у тому, що їх можна безпечно використовувати *in vivo* за відсутності виклику значної імунної реакції на антитіло після введення, на відміну від антитіл з джерела, що не є людським, або гуманізованих або химерних антитіл.

Спосіб включає стадії введення міченого міткою, що піддається виявленню, антитіла проти Р-кадгерину або композиції, що містить їх, пацієнту за необхідності такого діагностичного тесту, а також проведення пацієнту аналізу одержання зображення для визначення розташування тканин, що експресують Р-кадгерин. Аналіз одержання зображення добре відомий у галузі медицини і включає в себе, але ними не обмежується, рентгенографію, магнітно-резонансну томографію (MRI) або комп'ютерну томографію (СТ). Антитіло можна мітити будь-якою речовиною, прийнятною для одержання зображення *in vivo*, наприклад, контрастною речовиною, такою як барій, який можна використовувати у рентгенографії, або магнітною контрастною речовиною, такою як хелат гадолінію, який можна використовувати для MRI або СТ. Інші мітки включають в себе, але ними не обмежуються, радіоактивні ізотопи, такі як  $^{99}\text{Tc}$ . В іншому варіанті здійснення антитіло проти Р-кадгерину є неміченим, і його зображення одержують введенням другого антитіла або іншої молекули, яка піддається виявленню і яка здатна зв'язувати антитіло проти Р-кадгерину. В одному з варіантів здійснення біоптат одержують у пацієнта для визначення того, чи експресує цікавляча тканина Р-кадгерин.

Використовувані терапевтичні способи

В іншому варіанті здійснення винахід стосується способу інгібування активності Р-кадгерину за допомогою введення пацієнту антитіла проти Р-кадгерину за необхідності цього. Будь-яке з описаних у даній заявці антитіл або їх антигензв'язувальних частин можна використовувати терапевтично. У переважному варіанті здійснення антитіло проти Р-кадгерину являє собою людське, химерне або гуманізоване антитіло. В іншому переважному варіанті здійснення Р-кадгерин є людським, а пацієнт являє собою пацієнта людини. Альтернативно, пацієнт може являти собою ссавця, який експресує Р-кадгерин, з яким перехресно реагує антитіло проти Р-кадгерину. Антитіло можна вводити ссавцеві, який не є людиною, що експресує Р-кадгерин, з яким перехресно реагує антитіло, (наприклад, щуру, миші або яванській макаці) для ветеринарних цілей або як тваринної моделі захворювання людини. Такі тваринні моделі можуть бути ефективні для оцінки терапевтичної ефективності антитіл за даним винаходом.

В іншому варіанті здійснення антитіло проти Р-кадгерину або частину антитіла можна вводити пацієнту, який експресує Р-кадгерин на невідповідно високих рівнях. Антитіло можна вводити один раз, однак більш переважним є багаторазове введення. Антитіло можна вводити від трьох разів на

добу до одного разу у кожні шість місяців або у більш тривалий період. Введення можна здійснювати за такою схемою, як три рази на добу, два рази на добу, один раз на добу, один раз кожні дві доби, один раз кожні три доби, один раз на тиждень, один раз кожні два тижні, один раз кожний місяць, один раз кожні два місяці, один раз кожні три місяці і один раз кожні шість місяців. Також антитіло можна вводити безперервно за допомогою міні-помпи. Антитіло можна вводити у слизову, букально, інтраназально, за допомогою інгалації, внутрішньовенним, підшкірним, внутрішньом'язовим, парентеральним або внутрішньопухлинним способом. Антитіло можна вводити один раз, принаймні два рази або принаймні протягом періоду часу, доки стан лікують, тимчасово полегшують або виліковують. Як правило, антитіло вводять доти, доки присутній стан. Звичайно антитіло вводять у вигляді частини фармацевтичної композиції, як описано вище. Як правило, доза антитіла знаходиться у діапазоні від 0,1 до 100 мг/кг, більш переважно - від 0,5 до 50 мг/кг, більш переважно - від 1 до 20 мг/кг, а ще більш переважно - від 1 до 10 мг/кг. Концентрацію антитіла у сироватці можна вимірювати будь-яким відомим у даній галузі способом.

Також даний винахід стосується способу лікування патологічного росту клітин у ссавця, у тому числі людини, де спосіб включає введення вказаному ссавцеві терапевтично ефективної кількості антитіла проти Р-кадгерину або його антигензв'язувальної частини, як описано у даній заявці, яке є ефективним для лікування патологічного клітинного росту.

В одному з варіантів здійснення цього способу патологічний ріст клітин являє собою рак, включаючи в себе, але ними не обмежуючись, мезотеліому, гепатобіліарний рак (печінки і жовчних протоків), первинну або вторинну пухлину ЦНС, первинну або вторинну пухлину головного мозку, рак легенів (NSCLC і SCLC), рак кістки, рак підшлункової залози, рак шкіри, рак голови або ший, шкірну або внутрішньоочну меланому, рак яєчника, рак товстої кишки, рак прямої кишки, рак анальної області, рак шлунку, рак шлунково-кишкового тракту (шлунковий, колоректальний і дуоденальний), рак молочної залози, рак матки, карциному фалопієвих труб, карциному ендометрію, карциному шийки матки, карциному піхви, карциному зовнішніх жіночих статевих органів, хворобу Ходжкіна, рак стравоходу, рак тонкої кишки, рак ендокринної системи, рак щитовидної залози, рак паразитовидної залози, рак надниркових залоз, саркому м'якої тканини, рак уретри, рак чоловічого статевого члена, рак передміхурової залози, рак сім'яників, хронічний або гострий лейкоз, хронічний мієлоїдний лейкоз, лімфоцитарні лімфоми, рак сечового міхура, рак нирок або сечоводу, карциному епітелію нирок, карциному ниркової миски, неоплазію центральної нервової системи (ЦНС), первинну лімфому ЦНС, неходжкінську лімфому, пухлини хребта, гліому стовбур мозку, аденому гіпофізу, рак кори надниркових залоз, рак жовчного міхура, множинну мієлому, холангіокарциному, фібросаркому, нейробластоми, ретиноб-



ластому або поєднання одного або декількох описаних вище варіантів раку.

У переважному варіанті здійснення даного винаходу рак вибирають з раку легенів (NSCLC і SCLC), раку голови або шиї, раку яєчника, раку товстої кишки, раку прямої кишки, раку анальної області, раку шлунку, раку молочної залози, раку нирок або сечоводу, карциноми епітелію нирок, карциноми ниркової миски, неоплазії центральної нервової системи (ЦНС), первинної лімфоми ЦНС, неходжкінської лімфоми, пухлин хребта або поєднання одного або декількох описаних вище варіантів раку.

В іншому переважному варіанті здійснення даного винаходу рак вибирають з раку легенів (NSCLC і SCLC), раку яєчника, раку товстої кишки, раку прямої кишки, раку анальної області або поєднання одного або декількох описаних вище варіантів раку.

В іншому варіанті здійснення вказаного способу вказаний патологічний ріст клітин являє собою доброякісне проліферативне захворювання, включаючи в себе, але ними не обмежуючись, псоріаз, доброякісну гіпертрофію передміхурової залози або рестеноз.

Також даний винахід стосується способу лікування патологічного росту клітин у ссавця, де спосіб включає введення вказаному ссавцеві кількості антитіла проти Р-кадгерину або його антигензв'язувальної ділянки, як описано у даній заявці, яка ефективна для лікування патологічного клітинного росту, у поєднанні з протипухлинним засобом, вибраним з групи, яка складається з інгібіторів мітозу, алкілувальних речовин, антиметаболітів, інтеркалюючих антибіотиків, інгібіторів факторів росту, інгібіторів клітинного циклу, ферментів, інгібіторів топоізомерази, регуляторів біологічних реакцій, антитіл, цитотоксичних речовин, антигормонів і антиандрогенів.

Також винахід стосується фармацевтичної композиції для лікування патологічного росту клітин у ссавця, у тому числі людини, яка включає кількість антитіла проти Р-кадгерину або його антигензв'язувальної частини, як описано у даній заявці, яка ефективна для лікування патологічного клітинного росту, у поєднанні з фармацевтично прийнятним носієм і протипухлинним засобом, вибраним з групи, яка складається з інгібіторів мітозу, алкілувальних речовин, антиметаболітів, інтеркалюючих антибіотиків, інгібіторів факторів росту, інгібіторів клітинного циклу, ферментів, інгібіторів топоізомерази, регуляторів біологічних реакцій, антигормонів і антиандрогенів.

Також винахід стосується способу лікування гіперпроліферативного захворювання у ссавця, де спосіб включає введення вказаному ссавцеві терапевтично ефективної кількості антитіла проти Р-кадгерину або його антигензв'язувальної частини, як описано у даній заявці, у поєднанні з протипухлинним засобом, вибраним з групи, яка складається з антипроліферативних засобів, інгібіторів кіназ, інгібіторів ангіогенезу, інгібіторів факторів росту, інгібіторів сох-I, інгібіторів сох-II, інгібіторів мітозу, алкілувальних засобів, антиметаболітів, інтеркалюючих антибіотиків, інгібіторів факторів росту,

радіоактивного випромінювання, інгібіторів клітинного циклу, ферментів, інгібіторів топоізомерази, регуляторів біологічних реакцій, антитіл, цитотоксичних засобів, антигормонів, статинів і антиандрогенів.

В одному з варіантів здійснення даного винаходу протипухлинний засіб, що використовується у поєднанні з антитілом проти Р-кадгерину або його антигензв'язувальною ділянкою, а також описаними у даній заявці фармацевтичними композиціями, являє собою протиангіогенний засіб, інгібітор кіназ, інгібітор пан-кіназ або інгібітор факторів росту. Переважні інгібітори пан-кіназ включають SU-11248, описаний у патенті США №6573293 (Pfizer, Inc, NY, USA).

Протиангіогенні засоби включають в себе, але ними не обмежуються, наступні речовини, наприклад, інгібітор EGF, інгібітори EGFR, інгібітори VEGF, інгібітори VEGFR, інгібітори TIE2, інгібітори IGF1R, інгібітори COX-II (циклооксигенази II), інгібітори MMP-2 (матричної металопротеїнази 2) та інгібітори MMP-9 (матричної металопротеїнази 9). Переважні інгібітори VEGF включають в себе, наприклад, авастин (бевацизумаб), моноклональне антитіло проти VEGF з Genentech, Inc. of South San Francisco, California.

Додаткові інгібітори VEGF включають CP-547632 (Pfizer Inc., NY, USA), AG13736 (Pfizer Inc.), ZD-6474 (AstraZeneca), AEE788 (Novartis), AZD-2171, пастку VEGF (Regeneron/Aventis), ваталаніб (також відомий як PTK-787, ZK-222584: Novartis & Schering AG), макуген (пераптаніб октанатрію, NX-1838, EYE-001, Pfizer Inc./Gilead/Eyetech), IM862 (Cytran Inc. of Kirkland, Washington, USA); і ангіозим, синтетичний рибозим з Ribozyme (Boulder, Colorado) і Chiron (Emeryville, California), а також їх поєднання. Інгібітори VEGF, ефективні для здійснення даного винаходу на практиці, описані у патентах США №6534524 і 6235764, обидва з яких наведені тут повністю для всіх цілей. Особливо переважні інгібітори VEGF включають CP-547632, AG13736, ваталаніб, макуген і їх поєднання.

Додаткові інгібітори VEGF описані, наприклад, у WO 99/24440 (опублікованому 20 травня 1999 року), міжнародній публікації PCT PCT/IB99/00797 (зарєєстрованій 3 травня 1999 року), у WO 95/21613 (опублікованому 17 серпня 1995 року), WO 99/61422 (опублікованому 2 грудня 1999 року), патенті США №6534,524 (в якому описаний AG13736), патенті США №5834504 (виданому 10 листопада 1998 року), WO 98/50356 (опублікованому 12 листопада 1998 року), патенті США №5883113 (виданому 16 березня 1999 року), патенті США №5886020 (виданому 23 березня 1999 року), патенті США №5792783 (виданому 11 серпня 1998 року), патенті США №6653308 (виданому 25 листопада 2003 року), WO 99/10349 (опублікованому 4 березня 1999 року), WO 97/32856 (опублікованому 12 вересня 1997 року), WO 97/22596 (опублікованому 26 червня 1997 року), WO 98/54093 (опублікованому 3 грудня, 1998 року), WO 98/02438 (опублікованому 22 січня 1998 року), WO 99/16755 (опублікованому 8 квітня 1999 року) і WO 98/02437 (опублікованому 22 січня 1998 року),

всі з яких наведені тут повністю шляхом посилання.

Інші антипроліферативні засоби, які можна використовувати разом з антитілами або їх антигензв'язувальними ділянками за даним винаходом, включають інгібітори ферменту фарнезилпротеїн-трансферази та інгібітори рецептора тирозинкінази PDGFr, у тому числі сполуки, описані і заявлені у наступних патентних заявках США: 09/221946 (зарєєстрованій 28 грудня 1998 року); 09/454058 (зарєєстрованій 2 грудня 1999 року); 09/501163 (зарєєстрованій 9 лютого 2000 року); 09/539930 (зарєєстрованій 31 березня 2000 року); 09/202796 (зарєєстрованій 22 травня 1997 року); 09/384339 (зарєєстрованій 26 серпня 1999 року); і 09/383755 (зарєєстрованій 26 серпня 1999 року); а також сполуки, описані і заявлені у наступних умовних патентних заявках США: 60/168207 (зарєєстрованій 30 листопада 1999 року); 60/170119 (зарєєстрованій 10 грудня 1999 року); 60/177718 (зарєєстрованій 21 січня 2000 року); 60/168217 (зарєєстрованій 30 листопада 1999 року) і 60/200834 (зарєєстрованій 1 травня 2000 року). Кожна з вказаних вище патентних заявок і умовних патентних заявок наведена тут повністю шляхом посилання.

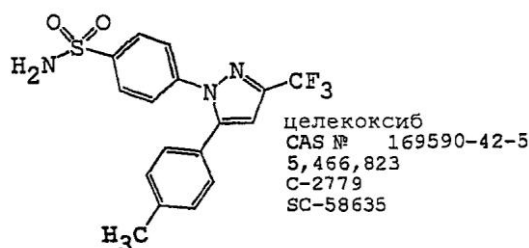
Інгібітори PDGFr включають в себе, але ними не обмежуються, речовини, описані у WO 01/40217, опублікованому 7 липня 2001 року і WO 2004/020431, опублікованому 11 березня 2004 року, змісти яких наведені тут повністю для всіх цілей. Переважні інгібітори PDGFr включають Pfizer CP-673451 і CP-868596, а також їх фармацевтично прийнятні солі.

Переважають інгібітори GArF включають Pfizer AG-2037 (пелітрексол і його фармацевтично прийнятні солі). Інгібітори GArF, ефективні для здійснення даного винаходу на практиці, описані у патенті США №5608082, наведеному тут повністю для всіх цілей.

Приклади ефективних інгібіторів COX-II, які можна використовувати у поєднанні з антитілом проти Р-кадгерину або його антигензв'язувальними ділянками, як описано у даній заявці, а також описаними у даній заявці фармацевтичними композиціями, включають в себе CELEBREX™ (целекоксиб), парекоксиб, деракоксиб, ABT-963, МК-663 (еторикоксиб), COX-189 (луміракоксиб), BMS 347070, RS 57067, NS-398, бекстра (валдекоксиб), паракоксиб, віокс (рофекоксиб), SD-8381, 4-метил-2-(3,4-диметилфеніл)-1-(4-сульфамойлфеніл)-1Н-пірол, 2-(4-етоксифеніл)-4-метил-1-(4-сульфамойлфеніл)-1Н-пірол, T-614, JTE-522, S-2474, SVT-2016, CT-3, SC-58125 і аркоксиа (еторикоксиб). Крім того, інгібітори COX-II описані у патентних заявках США №№10/801446 і 10/801429, змісти яких наведені тут повністю для всіх цілей.

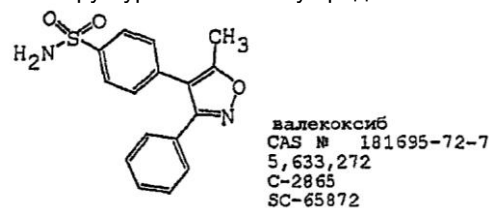
В одному з переважних варіантів здійснення протипухлинний засіб являє собою целекоксиб, як описано у патенті США №5466823, зміст якого повністю наведений тут для всіх цілей шляхом посилання.

Структура целекоксибу представлена нижче:



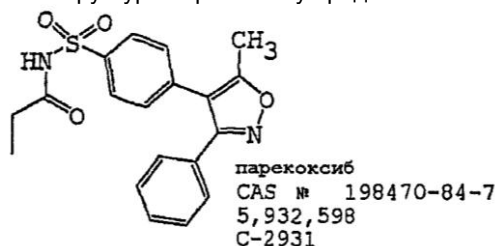
В одному з переважних варіантів здійснення протипухлинний засіб являє собою валекоксиб, як описано у патенті США №5633272, зміст якого повністю наведений тут для всіх цілей шляхом посилання.

Структура валекоксибу представлена нижче:



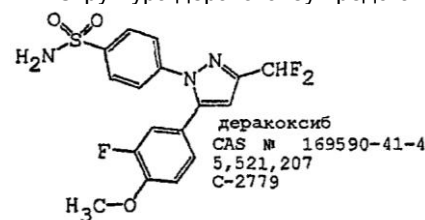
В одному з переважних варіантів здійснення протипухлинний засіб являє собою парекоксиб, як описано у патенті США №5932598, зміст якого повністю наведений тут для всіх цілей шляхом посилання.

Структура парекоксибу представлена нижче:



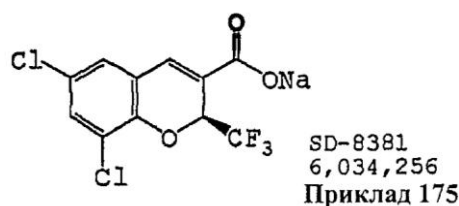
В одному з переважних варіантів здійснення протипухлинний засіб являє собою деракоксиб, як описано у патенті США №5521207, зміст якого повністю наведений тут для всіх цілей шляхом посилання.

Структура деракоксибу представлена нижче:



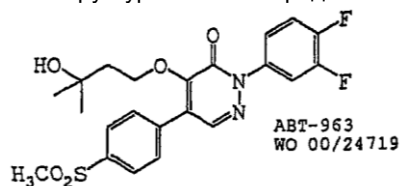
В одному з переважних варіантів здійснення протипухлинний засіб являє собою SD-8381, як описано у патенті США №6034256, зміст якого повністю наведений тут для всіх цілей шляхом посилання.

Структура SD-8381 представлена нижче:

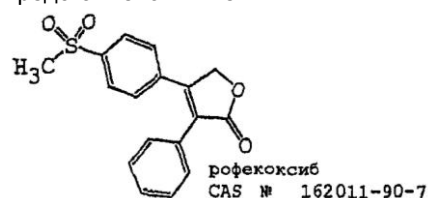


В одному з переважних варіантів здійснення протипухлинний засіб являє собою ABT-963, як описано у міжнародній публікації №WO2002/24719, зміст якої повністю наведений тут для всіх цілей шляхом посилання.

Структура ABT-963 представлена нижче:

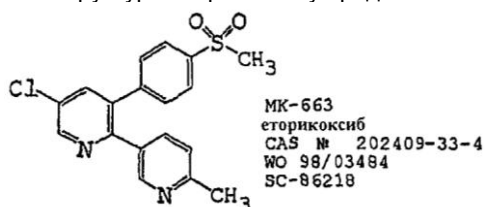


В одному з переважних варіантів здійснення протипухлинний засіб являє собою рофекоксиб, як представлено нижче:



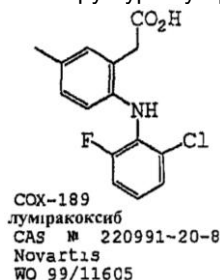
В одному з переважних варіантів здійснення протипухлинний засіб являє собою МК-663 (еторикоксиб), як описано у міжнародній публікації №WO 1998/03484, зміст якої повністю наведений тут для всіх цілей шляхом посилання.

Структура еторикоксибу представлена нижче:



В одному з переважних варіантів здійснення протипухлинний засіб являє собою СОХ-189 (луміракоксиб), як описано у міжнародній публікації №WO 1999/11605, зміст якої повністю наведений тут для всіх цілей шляхом посилання.

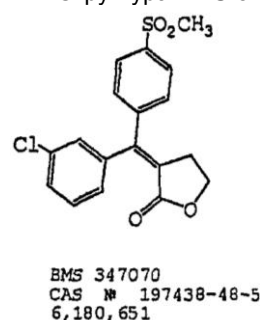
Структура луміракоксибу представлена нижче:



В одному з переважних варіантів здійснення протипухлинний засіб являє собою BMS-347070, як описано у патенті США № 6180651, зміст якого

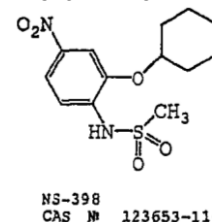
повністю наведений тут для всіх цілей шляхом посилання.

Структура BMS-347070 представлена нижче:



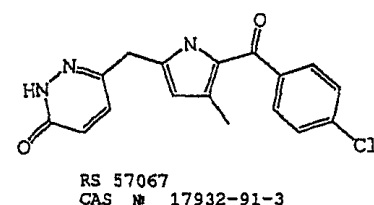
В одному з переважних варіантів здійснення протипухлинний засіб являє собою NS-398 (CAS123653-11-2).

Структура NS-398 (CAS123653-11-2) представлена нижче:



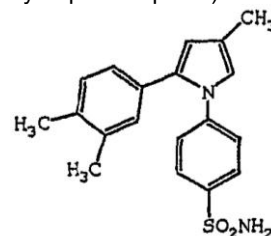
В одному з переважних варіантів здійснення протипухлинний засіб являє собою RS57067 (CAS17932-91-3).

Структура RS57067 (CAS17932-91-3) представлена нижче:



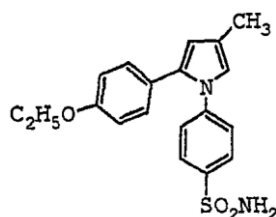
В одному з переважних варіантів здійснення протипухлинний засіб являє собою 4-метил-2-(3,4-диметилфеніл)-1-(4-сульфамойлфеніл)-1Н-пірол.

Структура 4-метил-2-(3,4-диметилфеніл)-1-(4-сульфамойлфеніл)-1Н-піролу представлена нижче:

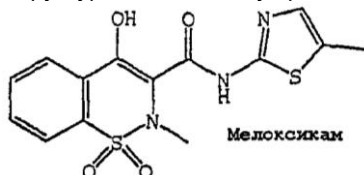


В одному з переважних варіантів здійснення протипухлинний засіб являє собою 2-(4-етоксифеніл)-4-метил-1-(4-сульфамойлфеніл)-1Н-пірол.

Структура 2-(4-етоксифеніл)-4-метил-1-(4-сульфамойлфеніл)-1Н-піролу представлена нижче:



В одному з переважних варіантів здійснення протипухлинний засіб являє собою мелоксикам. Структура мелоксикаму представлена нижче:



Інші ефективні інгібітори, як і протипухлинні засоби, що використовуються у поєднанні з антитілами за даним винаходом і описаними у даній заявці фармацевтичними композиціями, включають в себе аспірин і нестероїдні протизапальні лікарські засоби (NSAID), які інгібують фермент, що утворює простагландини (циклооксигеназу I і II), що приводить до більш низьких рівнів простагландинів, де засоби включають в себе, але ними не обмежуються, салсалат (амігесик), дифлунізал (долобід), ібупрофен (мотрин), кетопрофен (орудие), набуметон (релафен), піроксикам (фельден), напроксен (алев, напросин), диклофенак (вольтарен), індометацин (індоцин), суліндак (клінорил), толметин (толектин), етодолак (лодин), кеторолак (торадол), оксaproзин (дайпро) і їх поєднання. Переважні інгібітори COX-I включають ібупрофен (мотрин), нуприн, напроксен (алев), індометацин (індоцин), набуметон (релафен) і їх поєднання.

Засоби, які націлюють, що використовують у поєднанні з антитілом проти Р-кадгерину або його антигензв'язувальною ділянкою, як описано у даній заявці, і їх фармацевтичними композиціями, як описано у даній заявці, включають в себе інгібітори EGFr, такі як іреса (гефітініб, AstraZeneca), тарцева (ерлотиніб або OSI-774, OSI Pharmaceuticals Inc.), ербітукс (цетуксимаб, Imclone Pharmaceuticals, Inc.), EMD-7200 (Merck AG), ABX-EGF (Amgen Inc. і Abgenix Inc.), HR3 (Cuban Government), антитіла IgA (University of Erlangen-Nuremberg), TP-38 (IVAX), злитий білок EGFR, EGF-вакцина, імуноліпосоми проти EGFR (Hermes Biosciences Inc.) і їх поєднання.

Переважаючі інгібітори EGFr включають іресу, ербітукс, тарцеву і їх поєднання.

Також даний винахід стосується протипухлинних засобів, вибраних з інгібіторів пан-рецептора erb або інгібіторів рецептора ErbB2, наприклад, CP-724714 (Pfizer, Inc.), CI-1033 (канертиніб, Pfizer, Inc.), герцептин (трастузумаб, Genentech Inc.), омитаг (2C4, пертузумаб, Genentech Inc.), TAK-165 (Takeda), GW-572016 (лонафарніб, GlaxoSmithKline), GW-282974 (GlaxoSmithKline), EKB-569 (Wyeth), PKI-166 (Novartis), dHER2 (вакцина HER2, Corixa і GlaxoSmithKline), APC8024 (вакцина HER2, Dendreon), біспецифічне антитіло проти HER2/neu (Decof Cancer Center),

B7.her2.IgG3 (Agensys), AS HER2 (Research Institute for Rad Biology & Medicine), трифункціональні біспецифічні антитіла (University of Munich) і моноклональне антитіло AR-209 (Aronex Pharmaceuticals Inc), а також моноклональне антитіло 2B-1 (Chiron) і їх поєднання. Переважні протипухлинні засоби, вибірні відносно erb, включають герцептин, TAK-165, CP-724,714, ABX-EGF, HER3 і їх поєднання. Переважні інгібітори пан-рецептора erb включають GW572016, CI-1033, EKB-569 і омитаг, а також їх поєднання.

Додаткові інгібітори егБВ2 включають інгібітори, описані у WO98/02434 (опублікованому 22 січня 1998 року), WO 99/35146 (опублікованому 15 липня 1999 року), WO 99/35132 (опублікованому 15 липня 1999 року), WO 98/02437 (опублікованому 22 січня 1998 року), WO 97/13760 (опублікованому 17 квітня 1997 року), WO 95/19970 (опублікованому 27 липня 1995 року), патенті США №5587458 (виданому 24 грудня 1996 року) і патенті США №5877305 (виданому 2 березня 1999 року), кожний з яких наведений тут повністю шляхом посилання. Ефективні за даним винаходом інгібітори рецептора ErbB2 також описані у патентах США №6465449 і 6284764, а також міжнародній заявці №WO 2001/98277, де кожний наведений тут повністю шляхом посилання.

Крім того, інші протипухлинні засоби можна вибирати з наступних засобів: BAY-43-9006 (Onyx Pharmaceuticals Inc.), генасенс (огмеросен, Genta), панітумумаб (Abgenix/Amgen), зевалін (Schering), бексар (Corixa/GlaxoSmithKline), абарелікс, алімта, EPO 906 (Novartis), дискодермолід (ХАА-296), ABT-510 (Abbott), неовастат (Aeterna), ензастаурин (Eli Lilly), комбрестатин А4Р (Oxigene), ZD-6126 (AstraZeneca), флавопіридол (Aventis), CYC-202 (Cyclacel), AVE-8062 (Aventis), DMXAA (Roche/Antisoma), тимітак (Eximias), темодар (темозолomid, Schering Plough) і ревілімд (Celgene), а також їх поєднання.

Інші протипухлинні засоби можна вибирати з наступних речовин: CyPat (ацетат ципротерону), гістерелін (ацетат гістереліну), пленексис (депо абареліксу), атрасентан (ABT-627), сатраплатин (JM-216), таломід (талідомід), тератоп, теміліфен (DPPE), ABI-007 (паклітаксел), евіста (ралоксифен), атаместан (біомед-777), ксиотакс (поліглутаматпаклітаксел), таргетин (бексаротин) і їх поєднання.

Крім того, інші протипухлинні засоби можна вибирати з наступних речовин: тризаон (тирапазамін), апосин (екзисулід), невастат (АЕ-941), цеппен (дигідрохлорид гістаміну), оратецин (рубітекан), вірулізин, гастримун (G17DT), DX-8951f (мезилат екзатекану), онконаз (ранпірناз), ВЕС2 (мітумаб), кситрин (мотексафін гадолінію) і їх поєднання.

Додаткові протипухлинні засоби можна вибирати з наступних речовин: цеавак (CEA), неутрексин (глюкуронат триметрезату) і їх поєднання. Додаткові протипухлинні засоби можна вибирати з наступних речовин: оварекс (ореговомаб), осидем (IDM-1) і їх поєднання. Додаткові протипухлинні засоби можна вибирати з наступних речовин: адвексин (ING201), тиразон (тирапазамін) і їх поєд-

нання. Додаткові протипухлинні засоби можна вибирати з наступних речовин: RSR13 (ефапроксирал), котара (1311 chTNT 1/b), NBI-3001 (IL-4) і їх поєднання. Додаткові протипухлинні засоби можна вибирати з наступних речовин: канваксин, вакцина GMK, інтерон А PEG, таксопрексин (DHA/паклітаксел) і їх поєднання. Інші переважні протипухлинні засоби включають інгібітор PD325901 MEK1/2 Pfizer, інгібітор MEK ARRY-142886Array Biopharm, інгібітор CDK2 BMS-387032Bristol Myers, інгібітор CDK PD0332991 Pfizer і AXD-5438 AstraZeneca, а також їх поєднання. Крім того, також можна використовувати інгібітори mTOR, такі як CCI-779 (Wyeth) і похідні рапаміцину RAD001 (Novartis) і AP-23573 (Ariad), інгібітори HDAC SAHA (Merck Inc./Aton Pharmaceuticals) і їх поєднання. Додаткові протипухлинні засоби включають інгібітор aurora2VX-680 (Vertex), інгібітор Chkl/2 XL844 (Exelixis).

У поєднанні з антитілом проти Р-кадгерину або його антигензв'язувальною частиною, як описано у даній заявці, а також їх фармацевтичними композиціями, як описано у даній заявці, можна використовувати наступні цитотоксичні засоби, наприклад, один або декілька, вибраних з групи, яка складається з епірубіцину (еленс), доцетакселу (таксотер), паклітакселу, зинекарду (дексразоксан), ритуксимабу (ритуксан), мезилату іматинібу (глівек) і їх поєднань.

Також винахід стосується використання антитіл і їх антигензв'язувальних частин за даним винаходом разом з гормональною терапією, включаючи в себе, але ними не обмежуються, екземестан (аромазин, Pfizer Inc.), леупрорелін (лупрон або леуплін, TAP/Abbott/Takeda), анастрозол (аримідекс, Astrazeneca), госрелін (золадекс, AstraZeneca), доксеркальциферол, фадрозол, форместан, цитрат тамоксифену (тамоксифен, нолвадекс, AstraZeneca), казодекс (AstraZeneca), абарелікс (Praecis), трелстар і їх поєднання.

Також винахід стосується таких засобів гормональної терапії, як протиестрогенні засоби, що включають в себе, але ними не обмежуються, фулвестрант, тореміфен, ралоксифен, лазофоксифен, летрозол (фемара, Novartis), протиандрогенні засоби, такі як бікалутамід, флутамід, міфепристон, нілутамід, казодекс<sup>®</sup>(4'-ціано-3-(4-фторфенілсульфоніл)-2-гідрокси-2-метил-3'-(трифторметил)пропіоналід, бікалутамід) і їх поєднання.

Крім того, винахід стосується антитіл за даним винаходом окремо або у поєднанні з одним або декількома продуктами замісної терапії, наприклад, продуктом, вибраним з групи, яка складається з філграстиму (неупоген), ондансетрону (зофран), фрагміну, прокрити, алокси, еменду або їх поєднань.

Особливо переважні цитотоксичні засоби включають камптосар, ербітукс, іресу, глівек, таксотер і їх поєднання.

Як протипухлинні засоби можна використовувати наступні інгібітори топоізомерази I: камптотецин, іринотекан HCl (камптосар), едотекарин, оратекцин (суперген), екзатекан (Daiichi), BN-80915 (Roche) і їх поєднання. Особливо переважні інгібі-

тори топоізомерази II включають епірубіцин (еленс).

Антитіла за винаходом можна використовувати разом з протипухлинними засобами, алкілювальними засобами, антиметаболітами, антибіотиками, протипухлинними засобами, які одержують з рослин, похідними камптотецину, інгібіторами тирозинкінази, іншими антитілами, інтерферонами і/або регуляторами біологічних реакцій.

Алкілювальні засоби включають в себе, але ними не обмежуються, N-оксид азотистого іприту, циклофосфамід, іфосфамід, мелфалан, бусульфан, мітобронітол, карбоквон, тіотепу, ранімустин, німустин, темозоломід, AMD-473, алтретамін, AP-5280, апазиквон, бросталіцин, бендамустин, кармустин, естрамустин, фотемустин, глужфосфамід, іфосфамід, KW-2170, мафосфамід і мітолактол; алкілювальні сполуки з координаційних сполук платини включають в себе, але ними не обмежуються, цисплатин, параплатин (карбоплатин), ептаплатин, лобаплатин, недаплатин, елоксатин (оксаліплатин, Sanofi) або сатрплатин і їх поєднання. Особливо переважні алкілювальні засоби включають елоксатин (оксаліплатин).

Антиметаболіти включають в себе, але ними не обмежуються, метотрексат, 6-меркаптопуринрибозид, меркаптопурин, 5-фторурацил (5-FU) окремо або у поєднанні з лейковорином, тегафур, UFT, доксифлуридин, кармофур, цитарабін, окфосфат цитарабіну, еноцитабін, S-1, алімту (пеметрексед динатрію, LY231514, MTA), гемзар (гемцитабін, Eli Lilly), флударабін, 5-азацитидин, капецитабін, кладрибін, клофарабін, децитабін, ефлорнітин, етинілцитидин, арабінозид цитозину, гідроксисечовину, TS-1, мелфалан, неларабін, нолатрексед, окфосфат, пеметрексед динатрію, пентостатин, пелітрексол, ралтитрексед, триапін, триметрексед, відарабін, вінкрестин, вінорелбін; або, наприклад, один з переважних антиметаболітів, описаних в європейській патентній заявці №239362, такий як N-(5-[N-(3,4-дигідро-2-метил-4-оксохіназолін-6-ілметил)-N-метиламіно]-2-теніол)-L-глутамінова кислота і їх поєднання.

Антибіотики включають в себе, але ними не обмежуються, інтеркалюючі антибіотики: акларубіцин, актиноміцин D, амрубіцин, анаміцин, адріаміцин, блеоміцин, даунорубіцин, доксорубіцин, елсамітруцин, епірубіцин, галарубіцин, ідарубіцин, мітоміцин C, неморубіцин, неокарзиностатин, пепломіцин, пірарубіцин, ребекаміцин, стимуламер, стрептозоцин, валрубіцин, зиностатин і їх поєднання.

Одержувані з рослин протипухлинні речовини включають в себе, наприклад, речовини, вибрані з інгібіторів мітозу, наприклад, вінбластину, доцетакселу (таксотер), паклітакселу і їх поєднань.

Цитотоксичні інгібітори топоізомерази II включають один або декілька засобів, вибраних з групи, яка складається з акларубіцину, амонафіді, белотекану, камптотецину, 10-гідроксикамптотецину, 9-амінокамптотецину, дифломотекану, іринотекану HCl (камптосар), едотекарину, епірубіцину (еленс), етопозиду, екзатекану, гіматекану, луртотекану, мітоксантрон, пірарубіцину, піксантрон, рубіте-

кану, собузоксану, SN-38, тафлупозиду, топотекану і їх поєднань.

Переважні цитотоксичні інгібітори топоізомери включають один або декілька засобів, вибраних з групи, яка складається з камптотецину, 10-гідроксиамптотецину, 9-аміноамптотецину, іринотекану HCl (камптосару), едотекарину, епірубіцину (еленс), етопозиду, SN-38, топотекану і їх поєднань.

Імунологічні засоби включають інтерферони і множини інших засобів, що посилюють імунітет. Інтерферони включають інтерферон альфа, інтерферон альфа-2а, інтерферон альфа-2b, інтерферон бета, інтерферон гамма-1а, інтерферон гамма-1b (актимун) або інтерферон гамма-n1 і їх поєднання. Інші засоби включають філграстим, лентинан, сизофілан, терацис, убенімекс, WF-10, альдеслейкін, алемтузумаб, BAM-002, дакарбазин, даклізумаб, денілейкін, гемтузумаб озогаміцину, ібритумомаб, іміквімод, ленограстим, лентинан, вакцину меланоми (Coriga), молграмостим, OncoVAX-CL, сарграмостим, тазонермін, теклейкін, тималазин, тозитумомаб, вірулізин, Z-100, епратузумаб, мітумомаб, ореговомаб, пемтумомаб (Y-muHMFg1), провендж (Dendreon) і їх поєднання.

Регулятори біологічних реакцій являють собою засоби, що модифікують захисні механізми живих організмів або біологічні реакції, такі як виживання, ріст або диференціювання клітин тканини, що наставляє їх на набуття протипухлинної активності. Такі засоби включають хрестин, лентинан, сизофілан, піцибаніл, убенімекс і їх поєднання.

Інші протиракові засоби включають алітретиноїн, ампліген, бексаротен атрасентану, бортезомиб, босентан, кальцитріол, екзисулінд, фінастерид, фотемустин, ібандронову кислоту, мілтефосин, мітоксантрон, L-аспарагіназу, прокарбазин, дакарбазин, гідроксикарбамід, пегаспаргазу, пентостатин, тазаротен, телцит (TLK-286, Telik Inc.), велкаду (бортемазиб, Millenium), третиноїн і їх поєднання.

Інші протиангіогенні сполуки включають ацитретин, фенретинід, талідомід, золедронову кислоту, ангіостатин, аплідін, циленгітид, комбретастатин А-4, ендостатин, галофугінон, ребімастат, ремоваб, ревлімід, скваламін, україн, вітаксин і їх поєднання.

Координаційні сполуки платини включають в себе, але ними не обмежуються, цисплатин, карбоплатин, недаплатин, оксаліплатин і їх поєднання.

Похідні камптотецину включають в себе, але ними не обмежуються, камптотецин, 10-гідроксиамптотецин, 9-аміноамптотецин, іринотекан, SN-38, едотекарин, топотекан і їх поєднання.

Інші протипухлинні засоби включають мітоксантрон, L-аспарагіназу, прокарбазин, дакарбазин, гідроксикарбамід, пентостатин, третиноїн і їх поєднання.

Також можна використовувати протипухлинні засоби, здатні посилювати протипухлинні імунні реакції, наприклад, антитіла проти CTLA4 (антиген цитотоксичних лімфоцитів 4) та інші засоби, здатні

блокувати CTLA4, такі як MDX-010 (Medarex) і сполуки CTLA4, описані у патенті США №6682736; а також антипроліферативні засоби, такі як інші інгібітори фарнезилпротейнтрансферази, наприклад, інгібітори фарнезилпротейнтрансферази. Крім того, специфічні антитіла проти CTLA4, які можна використовувати за даним винаходом, включають антитіла, описані в умовній заявці США №60/113,647 (зареєстрованій 23 грудня 1998 року), патенті США №6682736, обидва з яких наведені тут повністю шляхом посилання.

Специфічні антитіла проти IGF1R, які можна використовувати за даним винаходом, включають антитіла, описані у міжнародній патентній заявці № WO 2002/053596, яка наведена тут повністю шляхом посилання.

Специфічні антитіла проти CD40, які можна використовувати за даним винаходом, включають антитіла, описані у міжнародній патентній заявці № WO 2003/040170, яка наведена тут повністю шляхом посилання.

Також як протипухлинні засоби можна використовувати засоби для генної терапії, такі як TNFerade (Gene Vec), що експресує TNF-альфа у відповідь на променеву терапію.

В одному з варіантів здійснення даного винаходу статини можна використовувати у поєднанні з антитілом проти Р-кадгерину або його антигензв'язувальною ділянкою, як описано у даній заявці, і їх фармацевтичними композиціями. Статини (інгібітори HMG-CoA-редуктази) можна вибирати з групи, що складається з аторвастатину (ліпітор, Pfizer Inc.), правастатину (правахол, Bristol-Myers Squibb), ловастатину (мевакор, Merck Inc.), симвастатину (зокор, Merck Inc.), флувастатину (лескол, Novartis), церивастатину (байкол, Bayer), розувастатину (крестор, AstraZeneca), ловостатину та ніацину (адвікор, Kos Pharmaceuticals), їх похідних і поєднань.

У переважному варіанті здійснення статин вибирають з групи, що складається з аторвастатину і ловастатину, їх похідних і поєднань.

Інші засоби, ефективні як протипухлинні засоби, включають кадует.

Для будь-якого зі способів лікування гіперпроліферативного захворювання або патологічного росту клітин, як описано у даній заявці, з використанням поєднання антитіла проти Р-кадгерину або антигензв'язувальної частини разом принаймні з одним додатковим терапевтичним засобом антитіло проти Р-кадгерину можна кон'югувати або дериватизувати за допомогою додаткового терапевтичного засобу. Також принаймні один додатковий терапевтичний засіб можна вводити окремо або у недериватизованому або некон'югованому вигляді. Якщо принаймні один додатковий терапевтичний засіб не дериватизований або кон'югований з антитілом, то його можна вводити у тому ж фармацевтичному препараті, що і антитіло, або його можна вводити в окремому препараті.

Генна терапія

Молекули нуклеїнових кислот, що кодують антитіла і частини антитіл за даним винаходом, можна вводити пацієнту за необхідності цього за допомогою генної терапії. Терапію можна проводити

*in vivo* або *ex vivo*. У переважному варіанті здійснення пацієнту вводять молекули нуклеїнових кислот, що кодують важкий ланцюг і легкий ланцюг. У більш переважному варіанті здійснення молекули нуклеїнових кислот вводять таким чином, що вони стійко вбудовуються у хромосоми В-клітин, оскільки ці клітини спеціалізовані на продукції антитіл. У переважному варіанті здійснення попередників В-клітин трансфікують або інфікують *ex vivo* і повторно трансплантують пацієнту за необхідності цього. В іншому варіанті здійснення попередників В-клітин або інші клітини інфікують *in vivo* з використанням вірусу, для якого відомо інфікування цікавлячого типу клітин. Загальноприйняті вектори, що використовуються для генної терапії, включають ліпосоми, плазміди і вірусні вектори. Приклади вірусних векторів являють собою ретровіруси, аденовіруси і аденоасоційовані віруси. Після інфікування *in vivo* або *ex vivo* рівні експресії антитіл можна спостерігати, одержуючи зразок від пацієнта, який піддається лікуванню, і використовуючи будь-який імуноаналіз, відомий у даній галузі або описаний у даній заявці.

У переважному варіанті здійснення спосіб генної терапії включає стадії введення ізолюваної молекули нуклеїнової кислоти, що кодує важкий ланцюг або її антигензв'язувальну частину з антитіла проти Р-кадгерину, і експресії молекули нуклеїнової кислоти. В іншому варіанті здійснення спосіб генної терапії включає стадії введення ізолюваної молекули нуклеїнової кислоти, що кодує легкий ланцюг або її антигензв'язувальну частину з антитіла проти Р-кадгерину, і експресії молекули нуклеїнової кислоти. У більш переважній процедурі спосіб генної терапії включає стадії введення ізолюваної молекули нуклеїнової кислоти, що кодує важкий ланцюг або її антигензв'язувальну частину, та ізолюваної молекули нуклеїнової кислоти, що кодує легкий ланцюг або її антигензв'язувальну частину з антитіла проти Р-кадгерину за винаходом, і експресії молекул нуклеїнової кислоти. Також спосіб генної терапії може включати стадію введення іншого терапевтичного засобу, такого як будь-який з засобів, описаних раніше у зв'язку з сумісною терапією.

Для кращого розуміння даного винаходу наведені наступні приклади. Ці приклади призначені тільки для ілюстрації і не призначені яким-небудь чином для обмеження об'єму винаходу.

#### ПРИКЛАДИ

У наведених нижче прикладах і способах одержання "BSA" означає бичачий сироватковий альбумін; "EDTA" означає етилендіамінтетраоцтову кислоту; "DMSO" означає диметилсульфоксид; "MOPS" означає 3-(N-морфоліно)пропансульфонову кислоту; "MES" означає 2-(N-морфоліно)етансульфонову кислоту; "PBS" означає забуферений фосфатом фізіологічний розчин; "dPBS" означає забуферений фосфатом фізіологічний розчин Дульбеко; "HEMA" означає 2-гідроксietилметакрилат; "DMEM" означає модифіковане за способом Дульбеко середовище Ігла; "FBS" означає ембріональну телячу сироватку; "NEAA" означає замінні амінокислоти; "HEPES" означає N-2-гідроксietилпіперазин-N'-2-

етансульфонову кислоту; і "DMF" означає диметилформамід.

Приклад 1: скринінг бібліотеки фагового дисплею scFv

Для скринінгу бібліотеки фагового дисплею scFv використовували як антиген рекомбінантний Р-кадгерин людини (R&D Systems 861-PC-100). Для відбору використовували великі бібліотеки антитіл людини scFv, клоновані у фагмідний вектор (Vaughan, T.J. et al., Nat. Biotech. 14:309-314 (1996)). Розпізнавані Р-кадгерином scFv виділяли з бібліотек фагового дисплею серіями повторних циклів селекції на рекомбінантному Р-кадгерині людини і моношарах клітин HCT116, що злилися, які експресують Р-кадгерин. Коротко, після інкубації разом з бібліотекою фаг, що зв'язався, відділяли від Р-кадгерину, а фаг, що не зв'язався, вимивали. Потім фаг, що зв'язався, виділяли, як описано у Vaughan, T.J. et al., Nat. Biotech. 14:309-314 (1996) і повторювали процес селекції. Клоні з характерним співвідношенням з продуктів виходу циклів селекції піддавали твердофазовому імуноферментному фаговому аналізу (ELISA) для тестування зв'язування з Р-кадгерином, переважно, як описано у Vaughan, T.J. et al., Nat. Biotech. 14:309-314 (1996). В ELISA використовували два різних антигени: рекомбінантний Р-кадгерин людини (R&D Systems) і моношари клітин A431, що злилися, які експресують Р-кадгерин. ELISA-позитивні клони піддавали секвенуванню ДНК, як описано у Vaughan, T.J. et al., Nat. Biotech. 14:309-314 (1996) і в Osbourn, J.K. et al., Immunotechnology 3:293-302 (1998). Унікальні ELISA-позитивні клони перетворювали у цілі молекули IgG і тестували їх здатність нейтралізувати Р-кадгерин в аналізі залежності від Р-кадгерину адгезії, який описаний у прикладі 4. На основі результатів цього скринінгу як основна батьківська лінія для подальшої оптимізації було вибрано антитіло 129-1c4 (IC<sub>50</sub> 1-3 мкМ в аналізі адгезії A431).

Приклад 2: оптимізації основної лінії

Одержані з 129-1c4 бібліотеки фагового дисплею конструювали олігонуклеотид-направленим мутагенезом варіабельних ділянок CDR3 важкого (V<sub>H</sub>) і варіабельних ділянок CDR3 легкого (V<sub>L</sub>) ланцюга антитіла. Бібліотеки конструювали з використанням загальноприйнятих способів молекулярної біології, як описано у Clackson and Lowman, Phage Display-A Practical Approach (Oxford University Press 2004). Селекцію на основі афінності проводили наступним чином: після інкубації разом з бібліотекою рекомбінантний Р-кадгерин людини (R&D Systems) поглинали за допомогою парамагнітних гранул, покритих білком G (Dyna 100.03), а фаг, що зв'язався, виділяли магнітним розділенням, тоді як комплекси, що не зв'язалися, вимивали. Процес селекції повторювали з концентраціями, що знижуються, рекомбінантного Р-кадгерину людини (від 25 нМ до 10 пМ протягом 4 циклів), присутнього у ході селекції. Крім того, продукти виходу селекції з бібліотек CDR3 V<sub>H</sub> і CDR3 V<sub>L</sub> рекомбінували у додаткові бібліотеки фагового дисплею і відбирали протягом ще двох циклів селекції на основі афінності. Клоні з характерним співвідношенням з продуктів виходу циклів селек-

ції піддавали скринінгу як scFv у конкурентному аналізі для епітопу 129-1с4, як описано у прикладі 8.

Приклад 3: аналіз залежної від Р-кадгерину адгезії

Для визначення величин  $IC_{50}$  в аналізі залежної від Р-кадгерину адгезії застосовували наступну схему, використовуючи декілька оптимізованих scFv, які були перетворені в IgG у ході стадії оптимізації при винаході антитіла, як описано вище у прикладі 2. Середні виміряні величини  $IC_{50}$  для цих антитіл наведені нижче у таблиці 4.

Рекомбінантний Fc Р-кадгерину людини (R&D, номер у каталозі №861-PC) за 24 години до використання розбавляли до концентрації 1 мг/мл за допомогою 2 mM  $CaCl_2$  у воді MilliQ і зберігали при 4 °C. Клітини A431 культивували і одержували наступним чином. Клітини A431 (ECACC №85090402) культивували загальноприйнятим способом у потрійних флаконах Nunc (площа  $3 \times 175 \text{ cm}^2$ ) у мінімальному підтримуючому середовищі (MEM) (Invitrogen, номер у каталозі №31095), що містить 10 % ембріональної телячої сироватки (Invitrogen, номер у каталозі №10100-147) і 1 % замінних амінокислот (Invitrogen, номер у каталозі №11140-035). До моменту збору для використання в аналізі клітини, що культивуються, досягали змикання моношару з величиною приблизно 80 %. Для запобігання можливим ефектам, пов'язаним з пересіванням, клітини звичайно використовували між 4 і 8 пасажами і знімали після 48 або 72 годин культивування. Клітини A431 знімали за допомогою 0,25 % трипсину/1 mM EDTA (Gibco, номер у каталозі №25200-056) протягом часу, достатнього для дисоціації клітин (7-10 хвилин), а потім відразу розводили у середовищі для культивування тканини до щільності приблизно  $2 \times 10^6$  клітин/мл. Потім клітини A431 центрифугували (1200 об./хвилину), ресуспендували у буфері для аналізу (збалансований сольовий розчин Хенкса (без  $Mg^{2+}$  і  $Ca^{2+}$ , без фенолового червоного) (Invitrogen, номер у каталозі №14175-053), доповнений до кінцевої концентрації  $CaCl_2$  величиною 1 mM), повторно центрифугували і знову ресуспендували у буфері для аналізу при кінцевій щільності  $2 \times 10^6$  клітин/мл.

Одержання серійних розведень IgG і попередню інкубацію з клітинами A431 здійснювали наступним чином. 180 мкл кожного IgG, що тестується, або його ділянки доповнювали 20 мкл буферу для аналізу, що містить 10 % BSA (Sigma, номер у каталозі №A-9576), для стандартизації концентрації BSA до величини 1 %. Контрольне поліклональне антитіло проти Р-кадгерину миші/людини (R&D, номер у каталозі №AF-761) спочатку ресуспендували у воді MilliQ для одержання вихідного розчину 1 мг/мл. Потім 40 мкл цього вихідного розчину додатково розводили у 140 мкл буферу для аналізу. Потім додавали 20 мкл буферу для аналізу, що містить 10 % BSA, одержуючи 200 мкл з концентрацією антитіла 0,2 мг/мл і 0,1 % BSA. Два зразки серійних розведень одержували за допомогою початкового додавання  $2 \times 90$  мкл поліклонального антитіла AF-761 або IgG, що тестується, у ряд 196-ямкового поліпропіленового планшету для

розведення Greiner (Greiner, номер у каталозі №780271). Потім у ряди 2-11 додавали 60 мкл буферу для аналізу. Після цього виконували розведення 30 мкл у 60 мкл (1:3) упоперек планшету, зліва направо для рядів 1-11. Потім для визначення максимальної адгезії до ямок 12A-D додавали тільки 60 мкл буферу для аналізу. Мінімальні величини адгезії визначали додаванням 60 мкл 25 mM EDTA (у буфері для аналізу) до ямок 12 E-H. Потім у всі ямки додавали 60 мкл суспензії клітин A431 ( $2 \times 10^6$  клітин/мл у буфері для аналізу - які одержують як вказано вище) і після перемішування планшети заздалегідь інкубували протягом 1 години при 37 °C.

Нарівні з одержанням серійних розведень IgG, що тестується, і попередньою інкубацією з клітинами A431 одержували покриті Р-кадгерином аналітичні планшети наступним чином. Рекомбінантний Fc Р-кадгерину людини розводили у буфері для нанесення покриття (PBS без  $Mg^{2+}$  і  $Ca^{2+}$  - Invitrogen, номер у каталозі №14190-094) до концентрації 10 мкг/мл і розподіляли по 96-ямкових аналітичних планшетах Fluoronunc (Nunc, номер у каталозі №437958) (100 мкл/ямку). Потім планшети інкубували протягом 1 години 30 хвилин при кімнатній температурі. Після цього планшети промивали 3 рази за допомогою PBS з використанням промиваючого пристрою для 96-ямкових планшетів Тесап. Потім для блокування додавали 200 мкл/ямку буферу для аналізу, і планшети інкубували протягом додаткової 1 години при кімнатній температурі. Після цього планшети промивали 3 рази за допомогою PBS, як описано раніше.

Потім 100 мкл/ямку заздалегідь інкубованої речовини IgG/A431 переносили з 96-ямкових планшетів для розведення Greiner у покриті Р-кадгерином аналітичні планшети. Під час перенесення речовини IgG/A431 перемішували піпетуванням для забезпечення гомогенності клітин. Потім дозволяли відбуватися процесу адгезії за допомогою інкубації аналітичних планшетів при 37 °C протягом 30-45 хвилин. Після закінчення інкубації клітини, що не прикріпилися, видаляли обережним відсмоктуванням середовища з планшетів і повторним наповненням ямок буфером для промивання клітин (збалансований сольовий розчин Хенкса (без  $Mg^{2+}$  і  $Ca^{2+}$ , без фенолового червоного) (Invitrogen, номер у каталозі №14175-053), доповнений до кінцевої концентрації  $CaCl_2$  величиною 1 mM). Потім планшети протягом 15 хвилин перевертали у резервуарі з буфером для промивання клітин для видалення клітин, що не прикріпилися, які залишилися. Після закінчення цієї інкубації обережно відсмоктували вміст ямок.

Підрахунок клітин, що прикріпилися, проводили наступним чином. Клітини, що прикріпилися, виявляли додаванням 100 мкл/ямку сумісного реагенту для реєстрації лізису/пужної фосфатази (5X-концентрований діетаноламіновий буфер для субстрату (Pierce, номер у каталозі №34064) розводили водою до співвідношення 1:5, після чого розчиняли одну таблетку PNPP15 мг (Sigma, номер у каталозі №N-2640) у 25 мл 1X розчину) з подальшою інкубацією протягом 30-60 хвилин при 37 °C. Потім припиняли реакцію додаванням 1 M NaOH



(50 мкл/ямку) для досягнення максимальної величини OD, що складає приблизно 0,8 за відсутності інгібування. Після цього вимірювали поглинання при 405 нм з використанням загальноприйнятого планшет-рідера.

Потім результати аналізували наступним чином. Приймаючи ямки A-D ряду 12 за 100 % адгезії і ямки E-H ряду 12 за 0 % адгезії, перетворювали спочатку дані рядів у величини % адгезії наступним чином:

$\% \text{ адгезії} = \{(\text{величина адгезії} - \text{мінімальна величина адгезії}) / (\text{максимальна величина адгезії} - \text{мінімальна величина адгезії})\} * 100$

Потім будували графік залежності % адгезії від концентрації інгібітору IgG і визначали величини IC<sub>50</sub> з використанням програмного забезпечення Prism. У випадку спостереження часткового інгібування IC<sub>50</sub> виражають у вигляді концентрації IgG, що приводить до величини фактичного інгібування 50 % на відміну від значення середньої точки кривої. Величини IC<sub>50</sub> наведені у таблиці 4.

Таблиця 4

IgG	Середнє значення IC <sub>50</sub> (нМ) при аналізі адгезії A431 (n=3)
194-e06	0,162
194-a02	0,217
194-b09	0,229
195-e11	0,114
194-g09	0,158
196-h02	0,148
194-e01	0,147
196-d10	0,080
196-g03	0,149
196-e06	0,117
195-a09	0,114
198-a09	0,097
200-h06	0,168

Для дослідження декількох приведених до стану зародкової лінії, оптимізованих IgG з лінії 129-1c4 у порівнянні з їх еквівалентами, не приведеними до стану зародкової лінії, проводили два окремих аналізи адгезії A431. Для цих експериментів було необхідно перейти на нову порцію Р-кадгерину (CFR-134041), що, очевидно, пов'язано з дещо підвищеними величинами IC<sub>50</sub>. У порівнянні з іншими даними. Середні значення даних для декількох приведених до зародкового стану IgG з двох експериментів представлені у таблиці 5. Як вказано раніше, g-194-b09 відповідає варіанту приведення до зародкового стану 194-b09 і т.д.

Таблиця 5

IgG	Середнє значення IC <sub>50</sub> (нМ) при аналізі адгезії A431 (n=2)
g-194-b09	0,77
194-b09	2,10
g-194-g09	1,00
194-g09	0,73
g-196-g03	1,05
196-g03	0,39

g-194-e06	0,77
194-e06	0,46
g-195-e11	0,87
195-e11	0,97
g-200-h06	1,31
200-h06	0,63

Приклад 4: аналіз залежності від Р-кадгерину агрегації клітин

Для визначення величин IC<sub>50</sub> в аналізі залежності від Р-кадгерину агрегації застосовували наступну схему, використовуючи декілька оптимізованих scFv, які були перетворені в IgG у ході стадії оптимізації при винаході антитіла, як описано вище у прикладі 2. Оскільки клітинні лінії, що надекспресують Р-кадгерин, при вміщенні у суспензію для росту формують щільні багатоклітинні скупчення, то можна вимірювати агрегацію клітин у присутності антитіла проти Р-кадгерину, які перешкоджають клітинній агрегації. Середні виміряні величини IC<sub>50</sub> для деяких антитіл наведені нижче у таблиці 6.

Одержання планшету здійснювали наступним чином. Кожний 96-ямковий аналітичний планшет покривали 50 мкл полі-HEMA (12 мг/мл у 90 % етанолу, 10 % метанолу), а потім випарювали протягом періоду від 6 годин до періоду всієї ночі з подальшим промиванням 3 × 100 мкл стерильної H<sub>2</sub>O перед використанням. Після цього клітини культивували наступним чином. Клітини з клітинної лінії SW480 людини (які стабільно експресують Р-кадгерин G418<sup>r</sup>) пересівали у повне середовище для росту (qs DMEM (In Vitrogen 11995-065), 10 % FBS (Omega Scientific FB-02), 1:100 NEAA (In Vitrogen 11140-050), 1:100 піруват натрію (In Vitrogen 11360-070), 1:100 глутамін (In Vitrogen 25030-051), 1:100 пеніцилін/стрептолізин (In Vitrogen 15070-063), 1:100 генетицин 50 мг/мл (In Vitrogen 10131-035)) + G418 (500 мкг/мл), а потім розділяли на частини 1:3-4 двічі на тиждень. Після цього культури заморожували у середовищі для росту + 10 % DMSO.

У добу 1 клітини SW480:pCAD і контрольний зразок SW480:pCLNX (стійкий контрольний вектор) висівали на планшет 5 × 10<sup>6</sup> клітин/100 мм при розведенні, що не перевищує 1:3. Потім клітини вирощували у культурі протягом 48 годин. Кожний планшет 100 мм забезпечував приблизно 10 × 10<sup>6</sup> клітин, або достатню кількість для 2 × 96-ямкових планшетів.

У добу 3 видаляли середовище з подальшим промиванням за допомогою dPBS (PBS Дульбекко (In Vitrogen 14040-133)), після чого клітини обробляли трипсином у планшеті 3 мл/100 мм. Потім, після виділення за допомогою двох об'ємів (6 мл) повного середовища для росту проводили нейтралізацію. Потім планшет тричі промивали з використанням піпетки з 10 мл для руйнування скупчень. Після цього клітини підраховували і одержували осад, використовуючи центрифугу Beckman при 1000 об./хвилину протягом 5 хвилин. Потім середовище відсмоктували, осад спочатку ресуспендували в <1 мл повного середовища для росту за допомогою струшування пальцями, а потім піпеткою р1000, а після цього концентрацію

клітин нормалізували до 1,3 М/мл. Наявність дисперсії окремих клітин підтверджували мікроскопією.

Потім одержували планшет з реагентом за допомогою блокування 96-ямкового планшету dPBS і 5 % FBS протягом 30 хвилин. Після цього промивали планшет з використанням  $1 \times 100$  мкл dPBS з подальшим відсмоктуванням і струшуванням для сушіння. Серії розведення IgG, що тестується, одержували за допомогою dPBS з використанням  $4 \times [\text{IgG}]$  концентрації, достатньої для 3 ямок планшету для обробки в одній ямці 96-ямкового планшету. 40000 клітин у 30 мкл/ямку розділяли на порції у 96-ямковий, промитий, покритий полі-HEMA планшет Costar3590, не призначений для культивування тканини (Corning3590). Потім у кожну ямку 96-ямкового планшета переносили 10 мкл реагенту. Для кожного варіанту обробки одержували три серії зразків з використанням 8-канальної піпетки. Потім протягом ночі (16-18 годин) проводили інкубацію при 250 об./хвилину, при струшуванні, в інкубаторі, що зволожується, 5 %  $\text{CO}_2$ , 37 °C.

У добу 440 мкл клітин, що струшуються, переносили у покритий полілізином 96-ямковий планшет (покритий полілізином 96-ямковий планшет BioCoat: BD 356516). Потім ямки промивали за допомогою 60 мкл повного середовища для росту, планшет струшували легким постукуванням і переносили у планшет, покритий полілізином. За необхідності проводили додаткове промивання за допомогою 50 мкл. Потім протягом 60 хвилин проводили інкубацію в інкубаторі, що зволожується, 5 %  $\text{CO}_2$ , 2,37 °C. На цій стадії проявляли обережність для кількісного перенесення всіх клітин, наскільки можливо обережно, без надмірного піпетування. Потім клітини фіксували додаванням 100 мкл фіксуючого розчину (7,4 % формальдегід (37 % мас/об. - Sigma F15587)) у витяжний шафі з подальшою інкубацією протягом >30 хвилин при кімнатній температурі.

Потім для промивання клітин рідину зливали у склянку для збору або лоток і злегка струшували для видалення рідини, що залишилася, і обережно постукували по паперовій серветці. Потім використовували 100 мкл dPBS на ямку для промивання з подальшою інкубацією протягом 15 хвилин. Потім клітини забарвлювали за допомогою зливання рідини, як вказано вище, і використання 100 мкл барвника Hoescht (1 мкг/мл барвника Hoescht у dPBS-10 мкг/мл молекулярних зондів Hoescht 33342) з подальшою інкубацією протягом 30 хвилин. Після цього клітини двічі промивали, залишаючи залишок у вигляді 100 мкл dPBS в ямці для мікроскопії.

Потім вимірювали (Cellomics) кількість агрегованих об'єктів, а середнє число об'єктів (з IgG, що тестується) порівнювали з таким для IgG (наприклад, Gt-антитіло проти Р-кадгерину R&D Systems AF761) або контролю у вигляді тільки середовища. Потім будували графік залежності числа об'єктів від концентрації інгібітору IgG і визначали величини  $\text{IC}_{50}$ . Величини  $\text{IC}_{50}$  для декількох антитіл за даним винаходом представлені у таблиці 6.

Таблиця 6

IgG	Середнє значення $\text{IC}_{50}$ (нМ) при аналізі адгезії (SW480)
194-e06	0,7
194-a02	1,1
g-194-b09	0,9
g-195-e11	2,2
g-194-g09	2,6
196-h02	3,2
194-e01	1,3
196-d10	1,5
g-196-g03	0,9
196-e06	1,9
195-a09	1,7
198-a09	2,9
g-200-h06	4,7
129-1c4	35

Приклад 5: аналіз залежного від Р-кадгерину розпаду шароподібних утворень Наступний аналіз розпаду шароподібного утворення являє собою варіант аналізу агрегації (описаний у прикладі 4), в якому скупчення клітин формуються протягом ночі перед додаванням Р-кадгерину і контрольних антитіл. Потім додають реагенти, що тестуються, на додаткові 24 години перед аналізом.

Одержання планшету здійснювали наступним чином. Кожний 96-ямковий аналітичний планшет покривали за допомогою 50 мкл полі-HEMA (12 мкг/мл у 90 % етанолу, 10 % метанолу), а потім випарювали протягом періоду від 6 годин до періоду всієї ночі з подальшим промиванням  $3 \times 100$  мкл стерильної  $\text{H}_2\text{O}$  перед використанням. Після цього клітини культивували наступним чином. Клітини з клітинної лінії SW480 людини (що стабільно експресують Р-кадгерин G418<sup>r</sup>) пересівали у повне середовище для росту (qs DMEM (In Vitrogen 11995-065), 10 % FBS (Omega Scientific FB-02), 1:100NEAA (In Vitrogen 11140-050), 1:100 піруват натрію (In Vitrogen 11360-070), 1:100 глутамін (In Vitrogen 25030-051), 1:100 пеніцилін/стрептолізин (In Vitrogen 15070-063), 1:100 генетицин 50 мкг/мл (In Vitrogen 10131-035)) + G418 (500 мкг/мл), а потім розділяли на частини 1:3-4 двічі на тиждень. Після цього культури заморожували у середовищі для росту + 10 %DMSO.

У добу 1 клітини SW480:pCAD і контрольний зразок SW480:pCLNX (стійкий контрольний вектор) висівали на планшет  $5 \times 10^6$  клітин/100 мм при розведенні, що не перевищує 1:3. Потім клітини вирощували у культурі протягом 48 годин. Кожний планшет 100 мм забезпечував приблизно  $10 \times 10^6$  клітин, або достатню кількість для  $2 \times 96$ -ямкових планшетів.

У добу 3 видаляли середовище з подальшим промиванням за допомогою dPBS (PBS Дульбеко (In Vitrogen 14040-133)), після чого клітини обробляли трипсином у планшеті 3 мл/100 мм. Потім, після виділення за допомогою двох об'ємів (6 мл) повного середовища для росту проводили нейтралізацію. Потім планшет тричі промивали з використанням піпетки з 10 мл для руйнування скупчень. Після цього клітини підраховували і

одержували осад, використовуючи центрифугу Beckman при 1000 об./хвилину протягом 5 хвилин. Потім середовище відсмоктували, осад спочатку ресуспендували в <1 мл повного середовища для росту за допомогою струшування пальцями, а потім піпеткою р1000, а після цього концентрацію клітин нормалізували до  $1,0 \times 10^6$ /мл. Наявність дисперсії окремих клітин підтверджували мікроскопією.

40000 клітин у 40 мкл/ямку розділяли на порції у 96-ямковий, промитий, покритий полі-HEMA планшет Costar 3590, не призначений для культивування тканини (Corning 3590). Потім протягом ночі (16-18 годин) проводили інкубацію при 250 об./хвилину, при струшуванні, в інкубаторі, що зволожується, 5 % CO<sub>2</sub>, 37 °C.

Потім, у добу 4 одержували планшет з реагентом за допомогою блокування 96-ямкового планшету dPBS і 5 % FBS протягом 30 хвилин. Після цього промивали планшет з використанням 1 × 100 мкл dPBS з подальшим відсмоктуванням і струшуванням для сушіння. Серії розведень IgG, що тестується, одержували за допомогою dPBS з використанням 5x[IgG] концентрації, достатньої для 3 ямок планшету для обробки в одній ямці 96-ямкового планшету. Потім у кожну ямку 96-ямкового планшету переносили 10 мкл реагенту. Для кожного варіанту обробки одержували три серії зразків з використанням 8-канальної піпетки. Потім проводили інкубацію (20-24 години) при 250 об./хвилину, при струшуванні, в інкубаторі, що зволожується, 5 % CO<sub>2</sub>, 37 °C.

У добу 550 мкл клітин, що струшуються, переносили у покритий полілізином 96-ямковий планшет (покритий полілізином 96-ямковий планшет BioCoat: BD 356516). Потім ямки промивали за допомогою 50 мкл повного середовища для росту, планшет струшували легким постукуванням і переносили у планшет, покритий полілізином. За необхідності проводили додаткове промивання за допомогою 50 мкл. Потім протягом 60 хвилин проводили інкубацію в інкубаторі, що зволожується, 5 % CO<sub>2</sub>, 37 °C. На цій стадії проявляли обережність для кількісного перенесення всіх клітин, наскільки можливо обережно, без надмірного піпетування. Потім клітини фіксували додаванням 100 мкл фіксуючого розчину (7,4 % формальдегід (37 % мас/об. - Sigma F15587)) у витяжній шафі з подальшою інкубацією протягом >30 хвилин при кімнатній температурі.

Потім для промивання клітин рідину зливали у склянку для збору або лоток і злегка струшували для видалення рідини, що залишилася, і обережно постукували по паперовій серветці. Потім використовували 100 мкл dPBS на ямку для промивання з подальшою інкубацією протягом 15 хвилин. Потім клітини забарвлювали за допомогою зливання рідини, як вказано вище, і використання 100 мкл барвника Hoescht (1 мкг/мл барвника Hoescht у dPBS-10 мг/мл молекулярних зондів Hoescht 33342) з подальшою інкубацією протягом 30 хвилин. Після цього клітини двічі промивали, залишаючи залишок у вигляді 100 мкл dPBS в ямці для мікроскопії. Потім вимірювали (Cellomics) кількість агрегованих об'єктів, а середнє число об'єктів (з

IgG, що тестується) порівнювали з таким для IgG (наприклад, Gt-антитіло проти Р-кадгерину R&D Systems AF761) або контролю у вигляді тільки середовища. Потім для визначення величин IC<sub>50</sub> можна будувати графік залежності числа об'єктів від концентрації інгібітору IgG. Альтернативно, число об'єктів виражали у вигляді числа разів, в яке посилювався розпад у порівнянні з контролем при одній конкретній концентрації, як представлено у таблиці 7.

Таблиця 7

IgG	Аналіз розпаду шароподібного скупчення SW480 Число разів, в яке підвищується розпад у порівнянні з контролем при 5 нМ
194-e06	10
194-a02	10
g-194-b09	10
g-195-e11	7
g-194-g09	14
196-h02	10
194-e01	16
196-d10	10
g-196-g03	13
196-e06	10
195-a09	10
198-a09	13
g-200-h06	7
129-1c4	4

Приклад 6: вимірювання K<sub>D</sub> і K<sub>звор.</sub> для антитіл проти Р-кадгерину Вимірювання афінності (K<sub>D</sub> і K<sub>звор.</sub>) одноланцюжкових антитіл scFv проти Р-кадгерину за допомогою поверхневого плазмонного резонансу з використанням пристрою BIACORE™ 3000 проводили наступним чином, застосовуючи протоколи виробника.

Для виконання кінетичних аналізів злитий білок рекомбінантний Р-кадгерин людини/Fc (hCad/Fc) і злитий білок Р-кадгерин миші/Fc (mCad/Fc) фіксували в окремих плаваючих комірках сенсорної матриці CM5 BIACORE™ з використанням загальноприйнятого зв'язування за допомогою амінів. Поверхні обробляли з використанням 10 мМ ацетатного буферу, pH 4,5 разом з 2,0 мМ CaCl<sub>2</sub> як фіксуючого буферу і досягали щільності білка величиною 5800 і 1600 одиниць відповіді для злитих білків hCad/Fc і mCad/Fc, відповідно. Деактивацію складних ефірів N-гідроксисукциніміду, що не прореагували, проводили з використанням 1 М гідрохлориду етаноламіну, pH 8,5. Активовану/деактивовану порожню поверхню використовували як контрольну поверхню. Зразки антитіл scFv у проточному буфері одержували у концентраціях, що знаходяться у діапазоні від 200 до 0,78 нМ (0 нМ розчин, що містить тільки проточний буфер, включали як нульову точку відліку). Зразки вибирали випадковим чином і протягом 1 хвилини вводили ін'єкцією у вигляді трьох серій кожного у плаваючі комірки з використанням

HBS-P (10 mM HEPES pH 7,4, 150 mM NaCl, 0,005 % поверхнево-активної речовини P20) разом з 2,0 mM CaCl<sub>2</sub> як проточного буферу. Для визначення констант афінності використовували об'ємну швидкість потоку 25 мкл/хвилину. Дисоціацію антитіла спостерігали протягом 5 хвилин, а поверхню відновлювали за допомогою ін'єкції 10 mM гліцин-HCl pH 1,5 (25 мкл/хвилину) протягом 12 секунд. Вихідні дані обробляли з використанням пакету програмного забезпечення Scrubber (©BioLogic Software) і аналізували з використанням пакету програмного забезпечення CLAMP (©BioLogic Software). Дані загалом приводили у відповідність з простою моделлю зв'язування Ленгмюра 1:1.

Константи афінності для одноланцюжкових антитіл проти Р-кадгерину за даним винаходом наведені у таблиці 8:

Таблиця 8

scFv	hCad/Fc K <sub>D</sub> (нМ)	hCad/Fc k <sub>звор.</sub> (1/сек.)	mCad/Fc K <sub>D</sub> (нМ)	mCad/Fc k <sub>звор.</sub> (1/сек.)
194-b09	4,0	$1,9 \times 10^{-03}$	11	$3,6 \times 10^{-3}$
194-g09	2,6	$1,6 \times 10^{-03}$	1,8	$8,1 \times 10^{-4}$
196-g03	1,1	$7,0 \times 10^{-04}$	0,76	$4,7 \times 10^{-4}$

Приклад 7: визначення вибірності антитіл проти Р-кадгерину Для визначення вибірності різних антитіл відносно Р-кадгерину у порівнянні з Е-кадгериним використовували наступну схему.

Рекомбінантний Р-кадгерин людини (R&D Systems 861-PC-100) і рекомбінантний Е-кадгерин людини (R&D Systems 648-EC-100) наносили на ямки планшетів для фіксування білків Exiqon (VWR International) при 1 мкг/мл у PBS + 0,5 mM CaCl<sub>2</sub>. Зразки IgG блокували в 3 % Marvel/PBS + 0,5 mM CaCl<sub>2</sub> протягом 1 години до титрування від 50 нМ (7,5 мкг/мл) до 0,64 нМ (0,096 мкг/мл) і додавали у вигляді двох серій в ямки, покриті двома різними антигенами. Після зрівноважування протягом ночі при 4 °C планшети три рази промивали за допомогою їх PBS/0,1 % Tween+0,5 mM CaCl<sub>2</sub>, а потім три рази за допомогою 1×PBS+0,5 mM CaCl<sub>2</sub>. Потім 50 мкл кон'югату антитіла проти Fab людини і пероксидази, розведеної 1:5000 в 3 % Marvel/PBS + 0,5 mM CaCl<sub>2</sub>, додавали у кожну ямку і залишали зрівноважуватися протягом 1 години при кімнатній температурі. Планшети промивали три рази за допомогою 1×PBS/0,1 % Tween+0,5 mM CaCl<sub>2</sub> і три рази за допомогою 1×PBS+0,5 mM CaCl<sub>2</sub>. У кожну ямку додавали 50 мкл 3,3',5,5'-тетраметилбензидину (TMB; Sigma) і дозволяли розвиватися реакції протягом 20 хвилин до припинення за допомогою додавання 25 мкл/ямку 0,5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Після зчитування величин поглинання при 450 нм аналізували дані з використанням програмного забезпечення Graphpad Prism для обчислення відносних величин K<sub>D</sub> для кожного антитіла для зв'язування з Р-кадгериним і Е-кадгериним. Одержані дані узагальнені у таблиці 9.

Таблиця 9

IgG	Р-кадгерин K <sub>D</sub> (нМ)	Е-кадгерин K <sub>D</sub> (нМ)	K <sub>D</sub> (E)/K <sub>D</sub> (P)
194-a02	116	682	6
g-194-b09	788	+2156	3
g-194-g09	2602	Не зв'язується	>100
194-e01	112	20511	183
g-194-e06	191	794	4
195-a09	120	11516	96
194-e06	56	264	5
196-d10	45	63	1,4
196-e06	62	187	3
g-196-g03	449	7513	17
196-h02	102	33212	326
198-a09	78	19396	249

Приклад 8: аналіз конкурування за епітоп

Для вимірювання величин IC<sub>50</sub> в аналізі конкурування за епітоп для визначення здатності різних scFv з батьківської лінії витіснити батьківський IgG з природного Р-кадгерину на поверхні клітин A431 використовували наступну схему. Кількість біотинільованого батьківського IgG, що зв'язався, за наявності інгібуючого scFv виявляють з використанням європію-стрептавідину і кількісного підрахунку DELFIA. Виміряні величини IC<sub>50</sub> для декількох scFv представлені у таблиці 10.

Клітини A431 (ECACC №85090402), що культивуються відповідно до загальноприйнятих способів, а потім знімаються при величині змикання моношару приблизно 80 %, висівали при  $2,5 \times 10^4$  клітин на ямку у покриті колагеном 96-ямкові планшети Beckton Dickenson (BD, номер у каталозі №6407) за добу до використання. Потім планшети промивали 3 рази за допомогою занурення в ємність з буфером PBS (Gibco, номер у каталозі №14190-094, без кальцію, магнію і бікарбонату натрію) перед додаванням 200 мкл в ямку блокуючого буферу (PBS Gibco, номер у каталозі №14190-094, разом з 3 % Marvel (Premier International Foods Ltd.)) та інкубували протягом 2 годин при кімнатній температурі. Після цього планшети 3 рази промивали за допомогою PBS, як вказано вище.

Для високопродуктивного скринінгу і одержання профілю IC<sub>50</sub> речовини scFv/IgG спочатку одержували у планшетах для розведення Greiner (96-ямкові поліпропіленові планшети Greiner (Greiner, номер у каталозі №780271)) у загальному об'ємі 60 мкл аналітичного буферу. Потім переносили 50 мкл з допоміжного планшета Greiner безпосередньо в аналітичний планшет і дозволяли проходити реакції зв'язування протягом 2 годин 30 хвилин при кімнатній температурі. Після закінчення реакції зв'язування планшети промивали 3 рази у PBS перед додаванням міченого європієм стрептавідину (Perkin Elmer, номер у каталозі №1244-360, розведення 1:1000 у буфері для аналізу DELFIA (Perkin Elmer, номер у каталозі №4002-0010)) та інкубували протягом додаткової 1 години при кімнатній температурі.

Потім планшети промивали 7 разів з використанням буферу для промивання DELFIA (Perkin Elmer, номер у каталозі №4010-0010) за допомогою багаторазового занурення планшетів в ємність з буфером. У результаті, після додавання посилюючого засобу для DELFIA (Perkin Elmer, номер у каталозі №4001-0010-100 мкл/ямку) планшети зчитували з використанням загальноприйнятого протоколу DELFIA на сумісному рідері (наприклад, Wallac або Envision).

Підготовка планшету для розведень Greiner-HTS

Умови високопродуктивного скринінгу (HTS) змінювали різним чином в залежності від стадії оптимізації. У випадку HTS продуктів з оптимізації окремих ланцюгів  $V_H$  і  $V_L$  кінцевий [периплазматичний препарат] фіксували на рівні 12,5 % таким чином, що батьківський scFv приводив до частко-

вого інгібування. У випадку більш пізнього HTS продуктів з рекомбінантних бібліотек  $V_H:V_L$  кінцева концентрація периплазматичного препарату була знижена до 1,7 %, і у цих умовах контрольний scFv з оптимізованого  $V_H$  (TOP-108-C01) приводив до часткового інгібування. Оптимізація концентрації периплазматичного препарату таким чином, що відповідний контрольний scFv приводив до часткового інгібування, залишала інтервал для виявлення у ньому поліпшених клонів.

Для досягнення цих кінцевих концентрацій периплазматичного препарату scFv використовували наступну процедуру:

i) З використанням пристрою Cybiwell перенесли необхідний об'єм (див. нижче) речовини зразка периплазматичного препарату з планшету для зразків, що має глибокі ямки, у планшет для розведень Greiner у ряди 1-11.

[кінцева концентрація периплазматичного  
препарату]  
[12,5%]  
[1,7%]

переносимий об'єм

= 7,5 мкл  
= 10,0 мкл (розведеного  
периплазматичного препарату 1:10)

(заздалегідь розведений периплазматичний препарат 1:10 одержували перенесенням 10 мкл чистого периплазматичного препарату з планшету для зразків у планшет для розведення Greiner, що містить 90 мкл аналітичного буферу (з використанням Cybiwell)).

ii) Потім об'єм у рядах 1-11 доводили до 30 мкл додаванням відповідного об'єму аналітичного буферу.

iii) Після цього додавали 30 мкл аналітичного буферу у ряд 12 (A-D) (ямки для загального зв'язування).

iv) Для визначення неспецифічного зв'язування до ряду 12 (E-H) додавали 30 мкл надлишку неміченого батьківського IgG (129-1c4) в аналітичному буфері. IgG додавали у концентрації 1000 нМ для одержання кінцевої концентрації 500 нМ.

v) Біотинілювали IgG129-1c4 з використанням водонерозчинного реагенту EZ-link-NHS-LC-Biotin (Perbio/Pierce, номер продукту №21336). Розчин IgG доповнювали додаванням 1/10-ої об'єму 1 M  $\text{NaHCO}_3$  і 1/10-ої об'єму диметилформаміду. Реагент EZ-link-NHS-LC-Biotin розчиняли у DMF, а потім додавали у п'ятикратному надлишку у порівнянні з IgG і дозволяли проходити реакції протягом 20 хвилин при кімнатній температурі. Після цього біотинілюваний IgG стабілізували додаванням BSA (0,1 %). Потім у всі ямки додавали 30 мкл біотинілюваного батьківського IgG 129-1c4 в аналітичному буфері для одержання кінцевої концентрації 1,5 нМ у кінцевому об'ємі 60 мкл (тобто мічений європієм IgG додавали у 2 × кінцевій концентрації).

vi) Після змішування вмісту планшету Greiner за допомогою струшування переносили 50 мкл безпосередньо в аналітичний планшет і дозволяли проходити реакції зв'язування протягом 2 годин 30 хвилин при кімнатній температурі (як описано раніше).

Підготовка планшету для розведень Greiner-одержання профілю  $\text{IC}_{50}$

i) Додавали 30 мкл/ямку аналітичного буферу у ряди 2-11 і ямки 12A-12D у звичайних планшетах для розведення Greiner.

ii) Для визначення неспецифічного зв'язування до ряду 12 (E-H) додавали 30 мкл надлишку неміченого батьківського IgG (129-1c4) в аналітичному буфері. IgG потрібно додавати у концентрації 1000 нМ для одержання кінцевої концентрації 500 нМ.

iii) У ряд 1 додавали 2 × 45 мкл кожного нерозведеного scFv His-prep таким чином, щоб одержати 4 серії з 11 точок титрування  $\text{IC}_{50}$  на 96-ямковий аналітичний планшет. Потім проводили дві серії серійних розведень 1:3 за допомогою відбору 15 мкл з ряду 1 і змішування у ряді 2 з подальшим відбором 15 мкл з ряду 2 і змішуванням у ряді 3 і т.д. Після змішування у ряді 11 видаляли 15 мкл (тобто залишаючи кінцевий об'єм 30 мкл).

iv) Потім у всі ямки додавали 30 мкл біотинілюваного батьківського IgG 129-1c4 в аналітичному буфері для одержання кінцевої концентрації 1,5 нМ у кінцевому об'ємі 60 мкл (тобто мічений європієм IgG додавали у 2 × кінцевій концентрації).

v) Після змішування вмісту планшету Greiner за допомогою струшування переносили 50 мкл безпосередньо в аналітичний планшет і дозволяли проходити реакції зв'язування протягом 2 годин 30 хвилин при кімнатній температурі, як описано раніше.

У випадку HTS scFv експресували у 96-ямковій структурі у вигляді неочищеного екстракту з бактеріальної периплазми (периплазматичний препарат scFv) в основному буфері, що містить MOPS/EDTA/сорбіт pH 7,4 (MES pH 7,4). Для одержання профілю  $\text{IC}_{50}$  scFv експресували у більш низькопродуктивній очищеній формі з використанням гістидинової мітки scFv для афінного очищення (гістидиновий препарат scFv) в основному буфері з PBS.

Для обох аналізів HTS і IC<sub>50</sub> вихідні дані спочатку перетворювали у дані % зв'язування відповідно до наведеного нижче рівняння:

% зв'язування = {(величина зв'язування - величина неспецифічного зв'язування)/(величина загального зв'язування - величина неспецифічного зв'язування)}\*100

Потім дані HTS додатково аналізували з використанням загальноприйнятих матриць Excel для виявлення сигналів, що приводять до більш високого інгібування (більш низького % зв'язування), ніж відповідний контрольний scFv. Для аналізу IC<sub>50</sub> дані щодо % зв'язування аналізували з використанням програмного забезпечення для обробки кривих Prism версія 4.0. scFv являють собою варіанти батьківського IgG 129-1c4, де ділянки CDR3 V<sub>H</sub> і V<sub>L</sub> були випадковим чином змінені мутацією, як описано у прикладі 2. Послідовності варіантів CDR3 V<sub>H</sub> подані на фіг. 1 у вигляді SEQ ID №№:91-256. Послідовності варіантів CDR3 V<sub>L</sub> подані на фіг.1 у вигляді SEQ ID №№:257-319. Величини IC<sub>50</sub> для декількох scFv, в яких спостерігали поліпшене зв'язування у порівнянні з батьківським IgG 129-1c4, представлені у таблиці 10. Кожний з варіантів scFv батьківського 129-1c4 позначений за допомогою двох SEQ ID №№:CDR3 V<sub>H</sub> і CDR3 V<sub>L</sub>. Для порівняння, IC<sub>50</sub> для батьківського IgG 129-1c4 становив 108,3 нМ.

Таблиця 10

SEQ ID №: CDR3 V <sub>H</sub>	SEQ ID №: CDR3 V <sub>L</sub>	IC <sub>50</sub> (нМ)
37	40	2,49
37	261	1,78
37	43	5,67
37	274	8,73
37	277	2,20
37	287	10,50
37	288	6,67
37	295	0,80
37	297	2,49

37	299	1,97
37	303	1,47
37	304	1,10
37	305	2,19
95	47	2,36
97	47	1,33
113	47	2,06
125	47	0,26
131	47	0,35
31	47	2,05
147	47	1,16
165	47	5,11
167	47	0,60
180	47	0,43
181	47	2,46
27	47	0,54
195	47	1,29
187	43	1,58
27	296	1,16
163	43	2,45
26	40	0,76
26	43	0,93
27	309	1,36
199	310	2,54
201	310	2,26
207	291	2,73
240	313	2,98

Всі публікації, патенти і патентні заявки, що цитуються у даному описі, включені сюди у вигляді посилання у такій же мірі, як якби кожна публікація або патентна заявка була індивідуально і конкретно вказана для включення шляхом посилання. Хоча вказаний вище винахід описаний у вигляді ілюстрації і прикладу з метою ясності розуміння, фахівці у даній галузі, враховуючи опис цього винаходу, легко розуміють, що у нього можна вводити зміни і модифікації без втрати суті або об'єму доданої формули винаходу.

## СПИСОК ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

&lt;110&gt; Agouron/Pfizer Inc

&lt;120&gt; Антитіла проти Р-кадгерину

&lt;130&gt; PC32778

&lt;160&gt; 347

&lt;170&gt; PatentIn версія 3.3

&lt;210&gt; 1

&lt;211&gt; 117

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 1

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 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 Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr 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 Ser Trp Gly Thr Gly Thr Leu Trp Pro Trp Gly Gln Gly Lys Met  
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
 115

87

95775

88

<210> 2  
 <211> 117  
 <212> БІЛОК  
 <213> людина

<400> 2

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 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 Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr 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 Ser Trp Gly Asp Gly Thr Leu Asn Pro Trp Gly Gln Gly Lys Met  
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 3  
 <211> 117  
 <212> БІЛОК  
 <213> людина

<400> 3

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr



89	95775	90
20	25	30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
35	40	45
Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr 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 Ser Trp Gly Leu Gly Ser Asn Glu Asn Trp Gly Gln Gly Thr Met		
100	105	110
Val Thr Val Ser Ser		
115		
<210> 4		
<211> 117		
<212> БІЛОК		
<213> людина		
<400> 4		
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly		
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 Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
35	40	45
Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr 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		

91

95775

92

85

90

95

Ala Asp Thr Asn Ser Ala Lys Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Met  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

&lt;210&gt; 5

&lt;211&gt; 117

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 5

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
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 Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr 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 Gly Thr Gly Tyr Pro Ser Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Met  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

&lt;210&gt; 6

&lt;211&gt; 117

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

93

95775

94

&lt;400&gt; 6

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 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 Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr 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 Gly Thr Ala Lys Pro Ser Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Met  
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
 115

&lt;210&gt; 7

&lt;211&gt; 117

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 7

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 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 Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45

95

95775

96

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr 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 Gly Asn Glu Arg Pro Ser Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Met  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

&lt;210&gt; 8

&lt;211&gt; 117

&lt;212&gt; БИЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 8

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
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 Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ala 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 Gly Ser Arg Thr Val Gln Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Met  
100 105 110

97

95775

98

Val Thr Val Ser Ser

115

&lt;210&gt; 9

&lt;211&gt; 117

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 9

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

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 Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35

40

45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr 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 Thr Asn Ser Pro Gly Thr Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Met

100

105

110

Val Thr Val Ser Ser

115

&lt;210&gt; 10

&lt;211&gt; 117

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 10

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1

5

10

15

99

95775

100

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr 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 Thr Ile Ala Pro Gly Arg Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Met  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 11

<211> 117

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 11

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
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 Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr 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

101

95775

102

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

Ala Gly Leu Asp Arg Val Trp Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Met  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

&lt;210&gt; 12

&lt;211&gt; 117

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 12

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
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 Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr 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 Ser Trp Gly Gly Gly Trp Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Met  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

&lt;210&gt; 13

&lt;211&gt; 117

103

95775

104

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 13

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
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 Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr 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 Lys Trp Gly Gly Gly Trp Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Met  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

&lt;210&gt; 14

&lt;211&gt; 111

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 14

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln  
1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Asn Asp Val Gly Ala Tyr  
20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu



105	95775	106
35	40	45
Ile Leu Ser Glu Val Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe		
50	55	60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Ser Ile Ser Gly Leu		
65	70	75 80
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Phe Thr Ser Gly		
85	90	95
Leu Pro Trp Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu		
100	105	110
<210> 15		
<211> 111		
<212> БІЛОК		
<213> людина		
<400> 15		
.		
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln		
1	5	10 15
Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Asn Asp Val Gly Ala Tyr		
20	25	30
Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu		
35	40	45
Ile Leu Ser Glu Val Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe		
50	55	60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Ser Ile Ser Gly Leu		
65	70	75 80
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Phe Thr Ser Gly		
85	90	95
Leu Pro Trp Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu		
100	105	110
<210> 16		

107

95775

108

&lt;211&gt; 111

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 16

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln  
1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Asn Asp Val Gly Ala Tyr  
20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu  
35 40 45

Ile Leu Ser Glu Val Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe  
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Ser Ile Ser Gly Leu  
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Phe Thr Ser Gly  
85 90 95

Ile Val Phe Asn Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu  
100 105 110

&lt;210&gt; 17

&lt;211&gt; 111

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 17

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln  
1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Asn Asp Val Gly Ala Tyr  
20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Arg His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu  
35 40 45

109

95775

110

Ile Leu Ser Glu Val Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe  
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Ser Ile Ser Gly Leu  
65 70 75 80

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

Ser Thr Phe Met Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu  
100 105 110

&lt;210&gt; 18

&lt;211&gt; 111

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 18

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln  
1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Asn Asp Val Gly Ala Tyr  
20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu  
35 40 45

Ile Leu Ser Glu Val Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe  
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Ser Ile Ser Gly Leu  
65 70 75 80

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

Ser Thr Phe Met Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu  
100 105 110

&lt;210&gt; 19

&lt;211&gt; 111

&lt;212&gt; БІЛОК

111

95775

112

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 19

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Pro Pro Gly Gln  
1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Asn Asp Val Gly Ala Tyr  
20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu  
35 40 45

Ile Leu Ser Glu Val Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe  
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Ser Ile Ser Gly Leu  
65 70 75 80

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

Ser Thr Phe Met Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu  
100 105 110

&lt;210&gt; 20

&lt;211&gt; 111

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 20

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln  
1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Asn Asp Val Gly Ala Tyr  
20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu  
35 40 45

Ile Leu Ser Glu Val Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe  
50 55 60

113

95775

114

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Ser Ile Ser Gly Leu  
65 70 75 80

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

Ser Thr Phe Met Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu  
100 105 110

&lt;210&gt; 21

&lt;211&gt; 111

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 21

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln  
1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Asn Asp Val Gly Ala Tyr  
20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu  
35 40 45

Ile Leu Ser Glu Val Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe  
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Ser Ile Ser Gly Leu  
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Phe Thr Ser Gly  
85 90 95

Ser Thr Phe Met Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu  
100 105 110

&lt;210&gt; 22

&lt;211&gt; 111

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

115

95775

116

&lt;400&gt; 22

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln  
1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Asn Asp Val Gly Ala Tyr  
20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu  
35 40 45

Met Ile Tyr Glu Val Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe  
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu  
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Phe Thr Ser Gly  
85 90 95

Ser Thr Phe Met Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu  
100 105 110

&lt;210&gt; 23

&lt;211&gt; 111

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 23

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln  
1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Asn Asp Val Gly Ala Tyr  
20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu  
35 40 45

Ile Leu Ser Glu Val Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe  
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Ser Ile Ser Gly Leu

117

95775

118

65

70

75

80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Thr Ser Tyr Thr Met Gly

85

90

95

Ser Thr Phe Met Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100

105

110

&lt;210&gt; 24

&lt;211&gt; 5

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 24

Ser Tyr Ala Met Ser

1

5

&lt;210&gt; 25

&lt;211&gt; 17

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 25

Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1

5

10

15

Gly

&lt;210&gt; 26

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 26

Trp Gly Thr Gly Thr Leu Trp Pro

1

5

&lt;210&gt; 27

&lt;211&gt; 8

119

<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 27

Trp Gly Asp Gly Thr Leu Asn Pro  
1 5

<210> 28  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 28

Trp Gly Leu Gly Ser Asn Glu Asn  
1 5

<210> 29  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 29

Thr Asn Ser Ala Lys Phe Asp Pro  
1 5

<210> 30  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 30

Thr Gly Tyr Pro Ser Phe Asp Pro  
1 5

<210> 31  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

95775

120

<400> 31

Thr Ala Lys Pro Ser Phe Asp Pro  
1 5

<210> 32  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 32

Asn Glu Arg Pro Ser Phe Asp Pro  
1 5

<210> 33  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 33

Ser Arg Thr Val Gln Phe Asp Pro  
1 5

<210> 34  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 34

Asn Ser Pro Gly Thr Phe Asp Pro  
1 5

<210> 35  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 35

Ile Ala Pro Gly Arg Phe Asp Pro



1 5

<210> 36

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 36

Leu Asp Arg Val Trp Phe Asp Pro

1 5

<210> 37

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 37

Trp Gly Gly Gly Trp Phe Asp Pro

1 5

<210> 38

<211> 14

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 38

Thr Gly Thr Ser Asn Asp Val Gly Ala Tyr Asn Tyr Val Ser

1 5 10

<210> 39

<211> 7

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 39

Glu Val Asn Lys Arg Pro Ser

1 5

<210> 40

123

95775

124

&lt;211&gt; 11

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 40

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Leu Pro Trp Val Leu

1 5 10

&lt;210&gt; 41

&lt;211&gt; 11

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 41

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Leu Pro Trp Val Val

1 5 10

&lt;210&gt; 42

&lt;211&gt; 11

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 42

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Ile Val Phe Asn Leu

1 5 10

&lt;210&gt; 43

&lt;211&gt; 11

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 43

Thr Ser Tyr Thr Met Gly Ser Thr Phe Met Leu

1 5 10

&lt;210&gt; 44

&lt;211&gt; 11

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 44

Ser Ser Tyr Thr Met Gly Ser Thr Phe Met Leu

1 5 10

&lt;210&gt; 45

&lt;211&gt; 11

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 45

Thr Ser Tyr Arg Met Asp Ser Thr Phe Met Leu

1 5 10

&lt;210&gt; 46

&lt;211&gt; 11

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 46

Thr Ser Tyr Arg Ala Gly Ser Thr Phe Met Leu

1 5 10

&lt;210&gt; 47

&lt;211&gt; 11

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 47

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Ser Thr Phe Met Leu

1 5 10

&lt;210&gt; 48

&lt;211&gt; 30

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 48

125

95775

126

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser  
20 25 30

&lt;210&gt; 49

&lt;211&gt; 14

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 49

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

&lt;210&gt; 50

&lt;211&gt; 32

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 50

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln  
1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ser  
20 25 30

&lt;210&gt; 51

&lt;211&gt; 32

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 51

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln  
1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Asp  
20 25 30

&lt;210&gt; 52

&lt;211&gt; 32

127

95775

128

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 52

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln  
1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Gly  
20 25 30

&lt;210&gt; 53

&lt;211&gt; 32

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 53

Arg Phe Ala Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln  
1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Gly  
20 25 30

&lt;210&gt; 54

&lt;211&gt; 32

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 54

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln  
1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Thr  
20 25 30

&lt;210&gt; 55

&lt;211&gt; 32

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 55

129

95775

130

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln  
1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys  
20 25 30

<210> 56  
<211> 11  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 56

Trp Gly Gln Gly Lys Met Val Thr Val Ser Ser  
1 5 10

<210> 57  
<211> 11  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 57

Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser  
1 5 10

<210> 58  
<211> 22  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 58

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Pro Pro Gly Gln  
1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys  
20

<210> 59  
<211> 22  
<212> БІЛОК

131

95775

132

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 59

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln

1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys

20

&lt;210&gt; 60

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 60

Trp Tyr Gln Arg His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Ile Leu Ser

1 5 10 15

&lt;210&gt; 61

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 61

Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Met Ile Tyr

1 5 10 15

&lt;210&gt; 62

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 62

Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Ile Leu Ser

1 5 10 15

&lt;210&gt; 63

&lt;211&gt; 32

&lt;212&gt; БІЛОК

133

95775

134

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 63

Gly Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser  
1 5 10 15

Leu Ser Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys  
20 25 30

&lt;210&gt; 64

&lt;211&gt; 32

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 64

Gly Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser  
1 5 10 15

Leu Ser Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala Gly Tyr Tyr Cys  
20 25 30

&lt;210&gt; 65

&lt;211&gt; 32

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 65

Gly Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser  
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys  
20 25 30

&lt;210&gt; 66

&lt;211&gt; 32

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 66

135

95775

136

Gly Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser  
 1 5 10 15

Leu Ser Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys  
 20 25 30

&lt;210&gt; 67

&lt;211&gt; 10

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 67

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu  
 1 5 10

&lt;210&gt; 68

&lt;211&gt; 351

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 68

gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgccca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gagtgggga 300

acggggacct tgtggccctg gggccaaggg aaaatggtca ccgtctcgag t 351

&lt;210&gt; 69

&lt;211&gt; 351

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; людина

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; різні ознаки

&lt;222&gt; (330)..(330)

&lt;223&gt; n являє собою a, c, g або t



<220>

<221> різні ознаки

<222> (348)..(348)

<223> н являє собою а, с, г або т

<400> 69

gaggtgcagc tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gagttgggga 300

gacggggacct tgaaccctg gggccaaggn aaaatggcca ccgtctcnag t 351

<210> 70

<211> 351

<212> ДНК

<213> людина

<400> 70

gaggtgcagc tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gagttgggga 300

ctgggggagca acgaaaactg gggccaaggg acaatggcca ccgtctcgag t 351

<210> 71

<211> 351

<212> ДНК

<213> людина

<400> 71

139

95775

140

gaggtgcagc tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgcc a tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc ggacacgaac 300

tccgccaaagt tgcacccctg gggccaaggg acaatggtea ccgtctcgag t 351

&lt;210&gt; 72

&lt;211&gt; 351

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 72

gaggtgcagc tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgcc a tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gggcacgggg 300

tacccctcct tgcacccctg gggccaaggg acaatggtea ccgtctcgag t 351

&lt;210&gt; 73

&lt;211&gt; 351

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 73

gaggtgcagc tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgcc a tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

141

95775

142

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gggcacggcc 300

aagccgagct tcgacccctg gggccaaggg acaatggtea ccgtctcgag t 351

<210> 74

<211> 351

<212> ДНК

<213> людина

<400> 74

gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc ggggaacgag 300

aggccgtcgt tcgacccctg gggccaaggg acaatggtea ccgtctcgag t 351

<210> 75

<211> 351

<212> ДНК

<213> людина

<400> 75

gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcgccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gggcagccgc 300

acggtgcagt tcgacccctg gggccaaggg acaatggtea ccgtctcgag t 351

<210> 76

<211> 351

143

95775

144

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 76

gaggtgcagc tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgccca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gacgaactcg 300

ccggggacgt tcgaccctg gggccaagg acaatggcca ccgtctcgag t 351

&lt;210&gt; 77

&lt;211&gt; 351

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 77

gaggtgcagc tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgccca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gaccatcgcg 300

cccggccggt tcgaccctg gggccaagg acaatggcca ccgtctcgag t 351

&lt;210&gt; 78

&lt;211&gt; 351

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 78

gaggtgcagc tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgccca tgagctgggt ccgccaggct 120

145

95775

146

ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc ggggctcgac 300

cgggtgtggt tcgaccctg gggccaagg acaatggtca ccgtctcgag t 351

<210> 79

<211> 351

<212> ДНК

<213> людина

<400> 79

gaggtgcagc tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gagttgggga 300

ggaggtggt tcgaccctg gggccaagg acaatggtca ccgtctcctc a 351

<210> 80

<211> 351

<212> ДНК

<213> людина

<400> 80

gaggtgcagc tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gaaatgggga 300

147

95775

148

ggaggtctggt tcgacccctg gggccaaggg acaatgggtca ccgtctcttc a

351

&lt;210&gt; 81

&lt;211&gt; 333

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 81

cagtctgccc tgactcagcc tgccctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60

tcttgcaactg gaaccagtaa tgacgttggt gcttataatt atgtctcctg gtaccaacaa 120

caccagggca aagcccccaa actcattctt tctgagggtca ataaacggcc ctcaggggtt 180

tctaatacgtc tctctgggtc caagtctggc aacacggcct ctctgagcat ctctgggtc 240

caggctgagg acgaggctga ttattactgc agctcattta caagcggcct cccctgggtc 300

ctcttcggcg gagggaccaa gctgaccgtc cta 333

&lt;210&gt; 82

&lt;211&gt; 333

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 82

cagtctgccc tgactcagcc tgccctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60

tcttgcaactg gaaccagtaa tgacgttggt gcttataatt atgtctcctg gtaccaacaa 120

caccagggca aagcccccaa actcattctt tctgagggtca ataaacggcc ctcaggggtt 180

tctaatacgtc tctctgggtc caagtctggc aacacggcct ctctgagcat ctctgggtc 240

caggctgagg acgaggctga ttattactgc agctcattta caagcgggct cccctgggtc 300

gtcttcggcg gagggaccaa gctgaccgtc cta 333

&lt;210&gt; 83

&lt;211&gt; 333

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; людина

149

95775

150

&lt;400&gt; 83

cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60

tcttgcaactg gaaccagtaa tgacgttggt gcttataatt atgtctcctg gtaccaacaa 120

caccagggca aagcccccaa actcattctt tctgaggtca ataaacggcc ctcaggggtt 180

tctaactgct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ctctgagcat ctctgggctc 240

caggctgagg acgaggctga ttattactgc agctcattta caagcggcat cgtgttcaac 300

ctgttcggcg gagggaccaa gctgaccgtc cta 333

&lt;210&gt; 84

&lt;211&gt; 333

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 84

cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60

tcttgcaactg gaaccagtaa tgacgttggt gcttataatt atgtctcctg gtaccaacga 120

caccagggca aagcccccaa actcattctt tctgaggtca ataaacggcc ctcaggggtt 180

tctaactgct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ctctgagcat ctctgggctc 240

caggctgagg acgaggctga gtattactgc agcagctaca cgatggggag cacttttatg 300

ctattcggcg gagggaccaa gctgaccgtc cta 333

&lt;210&gt; 85

&lt;211&gt; 333

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 85

cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60

tcttgcaactg gaaccagtaa tgacgttggt gcttataatt atgtctcctg gtaccaacaa 120

caccagggca aagcccccaa actcattctt tctgaggtca ataaacggcc ctcaggggtt 180

151

95775

152

tctaatacgct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ctctgagcat ctctgggctc 240

caggctgagg acgaggctgg ttattactgc acgagctacc gggccgggag cacttttatg 300

ctattcggcg gagggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 86

<211> 333

<212> ДНК

<213> людина

<400> 86

cagtctgccc tgactcagcc tgctccgtg tctgggcctc ctggacagtc gatcaccatc 60

tcttgcaactg gaaccagtaa tgacgttggt gcttataatt atgtctcctg gtaccaacaa 120

caccagggca aagcccccaa actcattctt tctgaggtca ataaacggcc ctcaggggtt 180

tctaatacgct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ctctgagcat ctctgggctc 240

caggctgagg acgaggctga ttattactgc acctcgtaca ccatgggcag cacttttatg 300

ctattcggcg gagggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 87

<211> 333

<212> ДНК

<213> людина

<400> 87

cagtctgccc tgactcagcc tgctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60

tcttgcaactg gaaccagtaa tgacgttggt gcttataatt atgtctcctg gtaccaacaa 120

caccagggca aagcccccaa actcattctt tctgaggtca ataaacggcc ctcaggggtt 180

tctaatacgct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ctctgagcat ctctgggctc 240

caggctgagg acgaggctga ttattactgc acctcgtacc gcatggacag cacttttatg 300

ctattcggcg gagggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 88



153

95775

154

&lt;211&gt; 333

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 88

cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60

tcttgcactg gaaccagtaa tgacgttggt gcttataatt atgtctcctg gtaccaacaa 120

caccagggca aagcccccaa actcattctt tctgaggtca ataaacggcc ctgaggggtt 180

tctaactcgt tctctggctc caagtctggc aacacggcct ctctgagcat ctctgggctc 240

caggctgagg acgaggctga ttattactgc agctcattta caagcggcag cacttttatg 300

ctattcggcg gagggaccaaa gctgaccgtc cta 333

&lt;210&gt; 89

&lt;211&gt; 333

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 89

cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60

tcttgcactg gaaccagtaa tgacgttggt gcttataatt atgtctcctg gtaccaacaa 120

caccagggca aagcccccaa actcatgatt tatgaggtca ataaacggcc ctgaggggtt 180

tctaactcgt tctctggctc caagtctggc aacacggcct ctctgaccat ctctgggctc 240

caggctgagg acgaggctga ttattactgc agctcattta caagcggcag cacttttatg 300

ctattcggcg gagggaccaaa gctgaccgtc cta 333

&lt;210&gt; 90

&lt;211&gt; 333

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 90

cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60

155

95775

156

tcttgcaactg gaaccagtaa tgacgttggt gcttataatt atgtctcctg gtaccaacaa 120  
caccagggca aagcccccaa actcattctt tctgaggtea ataaacggcc ctcaggggtt 180  
tctaatacgt tctctggctc caagtctggc aacacggcct ctctgagcat ctctgggctc 240  
caggctgagg acgaggtga ttattactgc acctcgta caatgggcag cacttttatg 300  
ctattcggcg gagggaccaa gctgaccgtc cta 333

&lt;210&gt; 91

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 91

Asn Pro Lys Gly Gln Phe Asp Pro

1 5

&lt;210&gt; 92

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 92

Asn Ser Ala Gly Ser Phe Asp Pro

1 5

&lt;210&gt; 93

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 93

Ser Asn Gly Gly Leu Phe Asp Pro

1 5

&lt;210&gt; 94

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

157

95775

158

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 94

Ser Asn Gly Gly Phe Phe Asp Pro

1 5

&lt;210&gt; 95

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 95

Ser Asp Leu Gly Glu Phe Asp Pro

1 5

&lt;210&gt; 96

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 96

Thr Asn Thr Gly Gln Phe Asp Pro

1 5

&lt;210&gt; 97

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 97

Thr Pro Arg Gly Leu Phe Asp Pro

1 5

&lt;210&gt; 98

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 98

Ser Asn Thr Gly Asn Phe Asp Pro

1 5

&lt;210&gt; 99

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 99

Ser Arg Thr Val Gln Phe Asp Pro

1 5

&lt;210&gt; 100

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 100

Leu Gly Val Pro Gln Phe Asp Pro

1 5

&lt;210&gt; 101

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 101

Ser Asp Asn Gly Thr Phe Asp Pro

1 5

&lt;210&gt; 102

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 102

Ile Ala Pro Gly Arg Phe Asp Pro

1 5

159

<210> 103  
 <211> 8  
 <212> БІЛОК  
 <213> людина

<400> 103

Asn Thr Thr Gly Thr Phe Asp Pro  
 1 5

<210> 104  
 <211> 8  
 <212> БІЛОК  
 <213> людина

<400> 104

Ser Asp Ala Gly Arg Phe Asp Pro  
 1 5

<210> 105  
 <211> 8  
 <212> БІЛОК  
 <213> людина

<400> 105

Ile Asn Glu Gly Arg Phe Asp Pro  
 1 5

<210> 106  
 <211> 8  
 <212> БІЛОК  
 <213> людина

<400> 106

Asn Ser Asn Gly Val Phe Asp Pro  
 1 5

<210> 107  
 <211> 8

95775

160

<212> БІЛОК  
 <213> людина

<400> 107

Ser His Ser Gly Lys Phe Asp Pro  
 1 5

<210> 108  
 <211> 8  
 <212> БІЛОК  
 <213> людина

<400> 108

Asn Lys Lys Pro Pro Phe Asp Pro  
 1 5

<210> 109  
 <211> 8  
 <212> БІЛОК  
 <213> людина

<400> 109

Ser Asp Asn Gly Leu Phe Asp Pro  
 1 5

<210> 110  
 <211> 8  
 <212> БІЛОК  
 <213> людина

<400> 110

Trp Gly Ala Gly Glu Leu Asp His  
 1 5

<210> 111  
 <211> 8  
 <212> БІЛОК  
 <213> людина

161	95775	162
<400> 111	1	5
Trp Gly Thr Gly Ala His Glu Asn	<210> 116	
1 5	<211> 8	
	<212> БІЛОК	
<210> 112	<213> людина	
<211> 8		
<212> БІЛОК	<400> 116	
<213> людина		
<400> 112	Ser Asp Phe Gly Lys Phe Asp Pro	
	1 5	
Asn Asn Val Gly Arg Phe Asp Pro	<210> 117	
1 5	<211> 8	
	<212> БІЛОК	
<210> 113	<213> людина	
<211> 8		
<212> БІЛОК	<400> 117	
<213> людина		
<400> 113	Asn Glu Leu Gly Ser Phe Asp Pro	
	1 5	
Thr Asp Arg Pro Val Phe Asp Pro	<210> 118	
1 5	<211> 8	
	<212> БІЛОК	
<210> 114	<213> людина	
<211> 8		
<212> БІЛОК	<400> 118	
<213> людина		
<400> 114	Gln Glu Leu Pro Val Phe Asp Pro	
	1 5	
Ile Arg Ser Gly Met Phe Asp Pro	<210> 119	
1 5	<211> 8	
	<212> БІЛОК	
<210> 115	<213> людина	
<211> 8		
<212> БІЛОК	<400> 119	
<213> людина		
<400> 115	Phe Arg Asp Thr Ala Phe Asp Pro	
	1 5	
Thr Glu Gly Ala Leu Phe Asp Pro	<210> 120	

163

95775

164

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 120

Ala Asp Met Gly Arg Phe Asp Pro

1 5

&lt;210&gt; 121

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 121

Leu Gly Val Pro Val Phe Asp Pro

1 5

&lt;210&gt; 122

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 122

Thr His Ala Gly Met Phe Asp Pro

1 5

&lt;210&gt; 123

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 123

Val Tyr Ala Gly Arg Phe Asp Pro

1 5

&lt;210&gt; 124

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 124

Asn Thr Gln Gly Arg Phe Asp Pro

1 5

&lt;210&gt; 125

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 125

Thr Asn Gly Gly Leu Phe Asp Pro

1 5

&lt;210&gt; 126

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 126

Ile Thr Thr Val Lys Phe Asp Pro

1 5

&lt;210&gt; 127

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 127

Arg Leu Val His Gly Phe Asp Pro

1 5

&lt;210&gt; 128

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 128

## 165

Ile Arg Leu Gly Thr Phe Asp Pro  
1 5

<210> 129  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 129

Ser Glu Arg Pro Gln Phe Asp Pro  
1 5

<210> 130  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 130

Thr Ser Arg Pro Leu Phe Asp Pro  
1 5

<210> 131  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 131

Val Glu Ser Gly Arg Phe Asp Pro  
1 5

<210> 132  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 132

Ser Glu Met Pro Met Phe Asp Pro  
1 5

## 95775

<210> 133  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 133

Val Asn Pro Gly Tyr Phe Asp Pro  
1 5

<210> 134  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 134

Asn Asp Ile Ala Arg Phe Asp Pro  
1 5

<210> 135  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 135

Val Gly Val Gly Gln Phe Asp Pro  
1 5

<210> 136  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 136

Thr Arg Tyr Pro Thr Phe Asp Pro  
1 5

<210> 137  
<211> 8  
<212> БІЛОК

## 166

167

95775

168

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 137

Asn Ser Ala Gly Thr Phe Asp Pro

1 5

&lt;210&gt; 138

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 138

Val Asn Glu Gly Arg Phe Asp Pro

1 5

&lt;210&gt; 139

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 139

Asn Arg Thr Gly Arg Phe Asp Pro

1 5

&lt;210&gt; 140

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 140

Asn Ala Ser Ala Arg Phe Asp Pro

1 5

&lt;210&gt; 141

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 141

Ile Asn Thr Gly Met Phe Asp Pro

1 5

&lt;210&gt; 142

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 142

Asn Asp Asn Gly Arg Phe Asp Pro

1 5

&lt;210&gt; 143

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 143

Val Asp Gln Pro Ser Phe Asp Pro

1 5

&lt;210&gt; 144

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 144

Val Asp Arg Gly Gln Phe Asp Pro

1 5

&lt;210&gt; 145

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 145

Asn His Thr Gly Lys Phe Asp Pro

1 5



169

<210> 146  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

&lt;400&gt; 146

Thr Asn Thr Gly Arg Phe Asp Pro  
1 5

<210> 147  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

&lt;400&gt; 147

Ser Asp Ser Gly Leu Phe Asp Pro  
1 5

<210> 148  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

&lt;400&gt; 148

Asn Val Leu Ala Leu Phe Asp Pro  
1 5

<210> 149  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

&lt;400&gt; 149

Asn Tyr Glu Ala Arg Phe Asp Pro  
1 5

<210> 150  
<211> 8

95775

<212> БІЛОК  
<213> людина

&lt;400&gt; 150

Pro Asp Asn Gly Thr Phe Asp Pro  
1 5

<210> 151  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

&lt;400&gt; 151

Asn Arg Asn Gly Asn Phe Asp Pro  
1 5

<210> 152  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

&lt;400&gt; 152

Thr Thr Gly Gly Arg Phe Asp Pro  
1 5

<210> 153  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

&lt;400&gt; 153

Thr Gly Tyr Pro Ser Phe Asp Pro  
1 5

<210> 154  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

171

<400> 154

Asn Asn Glu Gly Gln Phe Asp Pro  
1 5

<210> 155  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 155

Asn Ser Lys Gly Arg Phe Asp Pro  
1 5

<210> 156  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 156

Thr Glu Asn Pro Thr Phe Asp Pro  
1 5

<210> 157  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 157

Thr Asn Gly Gly Arg Phe Asp Pro  
1 5

<210> 158  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 158

Asn Ser Tyr Gly Ser Phe Asp Pro

95775

172

1 5

<210> 159  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 159

Leu Glu Asn Val Val Phe Asp Pro  
1 5

<210> 160  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 160

Ala Asn His Gly Arg Phe Asp Pro  
1 5

<210> 161  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 161

Ala Asn Gly Gly Gln Phe Asp Pro  
1 5

<210> 162  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 162

Trp Gly Asn Asp Ala Ser Leu Gly  
1 5

<210> 163

173

<211> 8  
 <212> БІЛОК  
 <213> людина  
  
 <400> 163  
  
 Trp Gly Pro Thr Ala Ser Leu Asp  
 1 5  
  
 <210> 164  
 <211> 8  
 <212> БІЛОК  
 <213> людина  
  
 <400> 164  
  
 Trp Gly Arg Gly Thr Asn Glu Tyr  
 1 5  
  
 <210> 165  
 <211> 8  
 <212> БІЛОК  
 <213> людина  
  
 <400> 165  
  
 Trp Gly Gly Gly Gly His Tyr Asp  
 1 5  
  
 <210> 166  
 <211> 8  
 <212> БІЛОК  
 <213> людина  
  
 <400> 166  
  
 Trp Gly Ala Asp Ala Thr Leu Asp  
 1 5  
  
 <210> 167  
 <211> 8  
 <212> БІЛОК  
 <213> людина

95775

174

<400> 167  
  
 Thr Glu Phe Gly Thr Phe Asp Pro  
 1 5  
  
 <210> 168  
 <211> 8  
 <212> БІЛОК  
 <213> людина  
  
 <400> 168  
  
 Asn Ala Thr Gly Thr Phe Asp Pro  
 1 5  
  
 <210> 169  
 <211> 8  
 <212> БІЛОК  
 <213> людина  
  
 <400> 169  
  
 Thr Asn Ser Ala Lys Phe Asp Pro  
 1 5  
  
 <210> 170  
 <211> 8  
 <212> БІЛОК  
 <213> людина  
  
 <400> 170  
  
 Val Asn Ser Gly Lys Phe Asp Pro  
 1 5  
  
 <210> 171  
 <211> 8  
 <212> БІЛОК  
 <213> людина  
  
 <400> 171

175

Ser Leu Arg Val Glu Phe Asp Pro  
1 5

<210> 172  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 172

Asn Asp Arg Gly Met Phe Asp Pro  
1 5

<210> 173  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 173

Asn Ser Pro Gly Thr Phe Asp Pro  
1 5

<210> 174  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 174

Asn Thr Ala Gly Arg Phe Asp Pro  
1 5

<210> 175  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 175

Val Asn Arg Gly Arg Phe Asp Pro  
1 5

95775

<210> 176  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 176

Thr Glu Lys Pro Met Phe Asp Pro  
1 5

<210> 177  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 177

Trp Ser Val Ser Leu Phe Asp Pro  
1 5

<210> 178  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 178

Met Glu Val Val Glu Phe Asp Pro  
1 5

<210> 179  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 179

Val Asn His Gly Arg Phe Asp Pro  
1 5

<210> 180  
<211> 8  
<212> БІЛОК

176

177

95775

178

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 180

Thr Glu Val Gly Thr Phe Asp Pro

1 5

&lt;210&gt; 181

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 181

Thr Asp Lys Pro Val Phe Asp Pro

1 5

&lt;210&gt; 182

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 182

Leu Glu Leu Pro Arg Phe Asp Pro

1 5

&lt;210&gt; 183

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 183

Thr Asn His Ala Met Phe Asp Pro

1 5

&lt;210&gt; 184

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 184

Thr His Ser Gly Arg Phe Asp Pro

1 5

&lt;210&gt; 185

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 185

Asn Asp Arg Gly Gly Phe Asp Pro

1 5

&lt;210&gt; 186

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 186

Pro His Arg Gly Thr Phe Asp Pro

1 5

&lt;210&gt; 187

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 187

Thr Glu Leu Gly Gln Phe Asp Pro

1 5

&lt;210&gt; 188

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 188

Trp Gly Leu Gly Ser Asn Glu Asn

1 5

179

95775

180

<210> 189  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

&lt;400&gt; 189

Trp Gly Asn Asp Ala Thr Trp Asn  
1 5

<210> 190  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

&lt;400&gt; 190

Trp Gly Ser Thr Ala Ser Leu Asp  
1 5

<210> 191  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

&lt;400&gt; 191

Trp Gly Gly Gly Gly His Gln Asp  
1 5

<210> 192  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

&lt;400&gt; 192

Trp Gly Arg Gly Asp Trp Arg Ser  
1 5

<210> 193  
<211> 8

<212> БІЛОК  
<213> людина

&lt;400&gt; 193

Trp Gly Ser Thr Ala Ser Leu Ser  
1 5

<210> 194  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

&lt;400&gt; 194

Trp Gly His Gly Gly His Asp Thr  
1 5

<210> 195  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

&lt;400&gt; 195

Trp Gly Pro Arg Ala Thr Leu Asp  
1 5

<210> 196  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

&lt;400&gt; 196

Trp Gly Asn Gly Ala Phe Val Pro  
1 5

<210> 197  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

181	95775	182
<400> 197	1	5
Trp Gly Asn Asp Ala Thr Leu Ala	<210> 202	
1 5	<211> 8	
<210> 198	<212> БІЛОК	
<211> 8	<213> людина	
<212> БІЛОК	<400> 202	
<213> людина	Trp Gly Ser Gly Thr Met Asp Pro	
<400> 198	1 5	
Trp Gly Ser Gly Asn Leu Asp Pro	<210> 203	
1 5	<211> 8	
<210> 199	<212> БІЛОК	
<211> 8	<213> людина	
<212> БІЛОК	<400> 203	
<213> людина	Pro Asp Arg Gly Lys Phe Asp Pro	
<400> 199	1 5	
Asn Glu Leu Pro Lys Phe Asp Pro	<210> 204	
1 5	<211> 8	
<210> 200	<212> БІЛОК	
<211> 8	<213> людина	
<212> БІЛОК	<400> 204	
<213> людина	Thr His Asn Pro Val Phe Asp Pro	
<400> 200	1 5	
Ser Asp Gly Gly Thr Phe Asp Pro	<210> 205	
1 5	<211> 8	
<210> 201	<212> БІЛОК	
<211> 8	<213> людина	
<212> БІЛОК	<400> 205	
<213> людина	Asn Ser Ala Gly Arg Phe Asp Pro	
<400> 201	1 5	
Leu Asp Met Val Met Phe Asp Pro	<210> 206	

183

95775

184

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 206

Leu Asp Ser Val Val Phe Asp Pro

1 5

&lt;210&gt; 207

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 207

Trp Gly Thr Gly Gln His Glu Asn

1 5

&lt;210&gt; 208

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 208

Trp Gly Thr Gly His His Asp Pro

1 5

&lt;210&gt; 209

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 209

Asn Phe Lys Pro Ser Phe Asp Pro

1 5

&lt;210&gt; 210

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 210

Ala Asn Gly Gly Arg Phe Asp Pro

1 5

&lt;210&gt; 211

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 211

Trp Gly Thr Gly His Leu Glu Pro

1 5

&lt;210&gt; 212

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 212

Thr Gly Leu Pro Arg Phe Asp Pro

1 5

&lt;210&gt; 213

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 213

Ser Asn Val Gly Lys Phe Asp Pro

1 5

&lt;210&gt; 214

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 214



185

Asn Ala Val Ala Arg Phe Asp Pro  
1 5

<210> 215  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 215

Thr Asp Arg Pro Gln Phe Asp Pro  
1 5

<210> 216  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 216

Ser Leu Thr Val Asp Phe Asp Pro  
1 5

<210> 217  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 217

Thr Glu Met Ala Gln Phe Asp Pro  
1 5

<210> 218  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 218

Trp Gly Glu Gly His Leu Glu Tyr  
1 5

95775

186

<210> 219  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 219

Gln Lys Lys Val Glu Phe Asp Pro  
1 5

<210> 220  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 220

Thr Gly Tyr Pro Val Phe Asn Pro  
1 5

<210> 221  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 221

Ala Asn Ser Ala Lys Phe Asp Pro  
1 5

<210> 222  
<211> 8  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 222

Val Gly Arg Pro Gln Phe Asp Pro  
1 5

<210> 223  
<211> 8  
<212> БІЛОК

187

95775

188

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 223

Thr Tyr Asn Pro Met Phe Asp Pro  
1 5

&lt;210&gt; 224

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 224

Thr Glu Arg Pro Val Phe Asp Pro  
1 5

&lt;210&gt; 225

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 225

Leu Asp Leu Pro Arg Phe Asp Pro  
1 5

&lt;210&gt; 226

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 226

Trp Gly Ser Gly Ser Ile Asp His  
1 5

&lt;210&gt; 227

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 227

Leu Asp Arg Val Cys Ser Arg Trp  
1 5

&lt;210&gt; 228

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 228

Asn Thr Leu Pro Val Phe Asp Pro  
1 5

&lt;210&gt; 229

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 229

Ile Lys Pro Gly Arg Phe Asp Pro  
1 5

&lt;210&gt; 230

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 230

Thr Gly Tyr Pro Val Phe Asp Pro  
1 5

&lt;210&gt; 231

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 231

Ile Lys Pro Gly Met Phe Asp Pro  
1 5

189	95775	190
<210> 232		<212> БІЛОК
<211> 8		<213> людина
<212> БІЛОК		
<213> людина		<400> 236
<400> 232		Thr Tyr Trp Pro Ala Phe Asp Pro
Asn Met Thr Pro Arg Phe Asp Pro		1 5
1 5		<210> 237
<210> 233		<211> 8
<211> 8		<212> БІЛОК
<212> БІЛОК		<213> людина
<213> людина		<400> 237
<400> 233		Ile Asp Met Pro Trp Phe Asp Pro
Thr Glu Arg Pro Ser Phe Asp Pro		1 5
1 5		<210> 238
<210> 234		<211> 8
<211> 8		<212> БІЛОК
<212> БІЛОК		<213> людина
<213> людина		<400> 238
<400> 234		Trp Gly Thr Gly His His Asp Pro
Thr Asn Tyr Gly Thr Phe Asp Pro		1 5
1 5		<210> 239
<210> 235		<211> 8
<211> 8		<212> БІЛОК
<212> БІЛОК		<213> людина
<213> людина		<400> 239
<400> 235		Asn Ala Arg Pro Ser Phe Asp Pro
Thr Ser Arg Pro Ser Phe Asp Pro		1 5
1 5		<210> 240
<210> 236		<211> 8
<211> 8		<212> БІЛОК
		<213> людина

191	95775	192
<400> 240	1	5
Asn Gln Ile Val His Phe Asp Pro	<210> 245	
1 5	<211> 8	
	<212> БІЛОК	
<210> 241	<213> людина	
<211> 8		
<212> БІЛОК	<400> 245	
<213> людина		
<400> 241	Val Lys Pro Gly Phe Phe Asp Pro	
	1 5	
Asn Val Met Gly Arg Phe Asp Pro	<210> 246	
1 5	<211> 8	
	<212> БІЛОК	
<210> 242	<213> людина	
<211> 8		
<212> БІЛОК	<400> 246	
<213> людина		
<400> 242	Ile Asp Gln Gly Arg Phe Asp Pro	
	1 5	
Thr Asp Thr Pro Val Phe Asp Pro	<210> 247	
1 5	<211> 8	
	<212> БІЛОК	
<210> 243	<213> людина	
<211> 8		
<212> БІЛОК	<400> 247	
<213> людина		
<400> 243	Gln Ser Leu Pro Gln Phe Asp Pro	
	1 5	
Asn Arg Thr Val Trp Phe Asp Pro	<210> 248	
1 5	<211> 8	
	<212> БІЛОК	
<210> 244	<213> людина	
<211> 8		
<212> БІЛОК	<400> 248	
<213> людина		
<400> 244	Asn Glu Leu Gly Thr Phe Asp Pro	
	1 5	
Asn Arg Met Gly Ser Phe Asp Pro	<210> 249	

193

95775

194

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 249

Gln Lys Lys Val Glu Phe Asp Pro

1 5

&lt;210&gt; 250

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 250

Ile Asp Thr Pro Thr Phe Asp Pro

1 5

&lt;210&gt; 251

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 251

Trp Gly Tyr Asp Ala Thr Leu Glu

1 5

&lt;210&gt; 252

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 252

Ser Asp Gly Gly Lys Phe Asp Pro

1 5

&lt;210&gt; 253

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 253

Leu Asp Leu Val Arg Phe Asp Pro

1 5

&lt;210&gt; 254

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 254

Ala Asn Ala Gly Leu Phe Asp Pro

1 5

&lt;210&gt; 255

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 255

Trp Gly Thr Gly Ser Asn Arg Asp

1 5

&lt;210&gt; 256

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 256

Ser Glu Thr Ile Asn Phe Asp Pro

1 5

&lt;210&gt; 257

&lt;211&gt; 11

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 257

195

95775

196

Gly Ser Tyr Thr His Gly Ser Thr Phe Met Leu  
1 5 10

&lt;210&gt; 258

&lt;211&gt; 11

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 258

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Ile Pro Trp Ala Val  
1 5 10

&lt;210&gt; 259

&lt;211&gt; 11

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 259

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Val Pro Trp Ala Met  
1 5 10

&lt;210&gt; 260

&lt;211&gt; 11

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 260

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Leu Gln Trp Val Val  
1 5 10

&lt;210&gt; 261

&lt;211&gt; 11

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 261

Ser Ser Phe Thr Ser Gln Ile Pro Trp Ala Leu  
1 5 10

&lt;210&gt; 262

&lt;211&gt; 11

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 262

Ser Ser Phe Thr Ser Ala Glu Gln Trp Val Met  
1 5 10

&lt;210&gt; 263

&lt;211&gt; 11

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 263

Ser Ser Phe Thr Ser Gln Pro Gln Phe Asn Leu  
1 5 10

&lt;210&gt; 264

&lt;211&gt; 11

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 264

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Ser Thr Trp Val Leu  
1 5 10

&lt;210&gt; 265

&lt;211&gt; 11

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 265

Ser Ser Phe Thr Ser Ala Val Pro Trp Ala Ile  
1 5 10

&lt;210&gt; 266

&lt;211&gt; 11

&lt;212&gt; БІЛОК

<213> людина

<400> 266

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Ala Val Phe Val Leu  
1 5 10

<210> 267

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 267

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Ile Val Phe Asn Leu  
1 5 10

<210> 268

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 268

Ala Ser Tyr Arg Asp Gly Ser Thr Phe Met Leu  
1 5 10

<210> 269

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 269

Ala Ser Phe Gln Ser Gly Ser Thr Phe Met Leu  
1 5 10

<210> 270

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 270

Ala Ser Tyr Gln Ser Ala Ser Thr Phe Met Leu  
1 5 10

<210> 271  
<211> 11  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 271

Thr Ser Tyr Thr Ala Ser Ser Thr Phe Met Leu  
1 5 10

<210> 272  
<211> 11  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 272

Ser Ala Phe Gln Gln Ser Ser Thr Phe Met Leu  
1 5 10

<210> 273  
<211> 11  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 273

Gly Ser Tyr Ser Gln Gln Ser Thr Phe Met Leu  
1 5 10

<210> 274  
<211> 11  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 274

Gly Ala Tyr Ser Ala Gly Ser Thr Phe Met Leu  
1 5 10



201

95775

202

<210> 275  
<211> 11  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 275

Thr Ser Tyr Thr Gln Gly Ser Thr Phe Met Leu  
1 5 10

<210> 276  
<211> 11  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 276

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Arg Ala Phe Thr Cys  
1 5 10

<210> 277  
<211> 11  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 277

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Asp His Trp Val Leu  
1 5 10

<210> 278  
<211> 11  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 278

Ser Ser Phe Thr Ser Arg Ile Pro Trp Ala Val  
1 5 10

<210> 279  
<211> 11

<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 279

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Lys Ala Trp Val Ile  
1 5 10

<210> 280  
<211> 11  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 280

Ser Ser Phe Thr Ser Ala Glu Ala Trp Ala Pro  
1 5 10

<210> 281  
<211> 11  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 281

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Asp Arg Phe Asn Leu  
1 5 10

<210> 282  
<211> 11  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 282

Ser Ser Phe Thr Ser Tyr Lys Pro His Met Val  
1 5 10

<210> 283  
<211> 11  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 283

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Ile Gln Phe Asn Leu  
1 5 10

<210> 284

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 284

Ser Ser Phe Thr Ser Ala Ala Arg Phe Ala Leu  
1 5 10

<210> 285

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 285

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Ser Arg Phe Val Leu  
**1** 5 **10**

<210> 286

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 286

Ser Ser Phe Thr Ser Ser Leu Pro Trp Ala Leu  
1 5 10

<210> 287

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 287

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Ile Lys Phe Thr Leu

207

95775

208

1 5 10

<210> 288  
<211> 11  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 288

Ser Ser Phe Thr Ser Ala Ile Pro Trp Ser Leu

1 5 10

<210> 289  
<211> 11  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 289

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Glu Gln Phe Leu Leu

1 5 10

<210> 290  
<211> 11  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 290

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Pro Arg Trp Asn Leu

1 5 10

<210> 291  
<211> 11  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 291

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Ser Thr Phe Asn Leu

1 5 10

<210> 292

209

95775

210

&lt;211&gt; 11

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 292

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Arg Arg Phe Val Leu

1 5 10

&lt;210&gt; 293

&lt;211&gt; 11

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 293

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Asn Val Trp Val Leu

1 5 10

&lt;210&gt; 294

&lt;211&gt; 11

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 294

Ser Ser Phe Thr Ser Ala Pro Ala Phe Val Val

1 5 10

&lt;210&gt; 295

&lt;211&gt; 11

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 295

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Lys Thr Phe Val Leu

1 5 10

&lt;210&gt; 296

&lt;211&gt; 11

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

<400> 296

Ser Ser Phe Thr Ser Asn Ile Pro Trp Ala Ile  
1 5 10

<210> 297

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 297

Ser Ser Phe Thr Ser Ser Ala His Phe Val Leu  
1 5 10

<210> 298

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 298

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Pro Val Phe Asn Ile  
1 5 10

<210> 299

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 299

Ser Ser Phe Thr Ser Asp Arg Ala Phe Asn Leu  
1 5 10

<210> 300

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 300

213

95775

214

Ser Ser Phe Thr Ser Glu Trp Leu Trp Val Leu  
1 5 10

<210> 301  
<211> 11  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 301

Ser Ser Phe Thr Ser Gln Pro Arg Trp Ala Pro  
1 5 10

<210> 302  
<211> 11  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 302

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Ile Arg Phe Asn Leu  
1 5 10

<210> 303  
<211> 11  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 303

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Arg Ala Phe Asn Leu  
1 5 10

<210> 304  
<211> 11  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 304

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Pro Val Phe Asn Leu  
1 5 10

215

95775

216

<210> 305  
<211> 11  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 305

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Gln Gln Trp Val Leu  
1 5 10

<210> 306  
<211> 11  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 306

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Ile Arg Phe Asn Val  
1 5 10

<210> 307  
<211> 11  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 307

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Val Thr Trp Leu Leu  
1 5 10

<210> 308  
<211> 11  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 308

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Arg Ile Phe Asn Leu  
1 5 10

<210> 309  
<211> 11  
<212> БІЛОК



<213> людина

<400> 309

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Ile Pro Trp Ile Val  
1 5 10

<210> 310

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 310

Thr Ser Tyr Thr Leu Gly Ser Thr Phe Met Leu  
1 5 10

<210> 311

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 311

Thr Ser Tyr Thr His Gly Ser Thr Phe Met Leu  
1 5 10

<210> 312

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 312

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Tyr Ala Trp Leu Leu  
1 5 10

<210> 313

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 313

Thr Ser Tyr Val Met Gly Ser Thr Phe Met Leu  
1 5 10

<210> 314  
<211> 11  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 314

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Ser Thr Phe Thr Leu  
1 5 10

<210> 315  
<211> 11  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 315

Thr Ser Phe Thr Ser Gly Ser Thr Phe Met Leu  
1 5 10

<210> 316  
<211> 11  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 316

Thr Ser Ser Thr Leu Gly Ser Thr Phe Met Leu  
1 5 10

<210> 317  
<211> 11  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 317

Thr Arg Tyr Val Met Gly Ser Thr Phe Met Leu  
1 5 10

221

95775

222

<210> 318  
<211> 11  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 318

Thr Ser Tyr Arg Glu Gly Ser Thr Phe Met Leu  
1 5 10

<210> 319  
<211> 11  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 319

Ala Ser Tyr Gln Ala Ser Ser Thr Phe Met Leu  
1 5 10

<210> 320  
<211> 117  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 320

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
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 Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr 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

223

95775

224

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

Ala Lys Trp Gly Asp Gly Thr Leu Asn Pro Trp Gly Gln Gly Thr Met  
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 321

<211> 117

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 321

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 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 Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr 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 Lys Thr Asn Ser Ala Lys Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Met  
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 322

<211> 117

225

95775

226

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 322

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 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 Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr 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 Lys Asn Glu Arg Pro Ser Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Met  
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
 115

&lt;210&gt; 323

&lt;211&gt; 117

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 323

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 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 Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

227

95775

228

35

40

45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr 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 Lys Thr Asn Ser Ala Lys Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Met  
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
 115

&lt;210&gt; 324

&lt;211&gt; 117

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 324

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 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 Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr 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 Lys Thr Gly Tyr Pro Ser Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Met

229

95775

230

100

105

110

Val Thr Val Ser Ser

115

&lt;210&gt; 325

&lt;211&gt; 117

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 325

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

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 Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35

40

45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr 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 Lys Trp Gly Thr Gly Thr Leu Trp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Met

100

105

110

Val Thr Val Ser Ser

115

&lt;210&gt; 326

&lt;211&gt; 111

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 326

231

95775

232

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln  
1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Asn Asp Val Gly Ala Tyr  
20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu  
35 40 45

Met Ile Ser Glu Val Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe  
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu  
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Phe Thr Ser Gly  
85 90 95

Leu Pro Trp Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu  
100 105 110

&lt;210&gt; 327

&lt;211&gt; 111

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 327

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln  
1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Asn Asp Val Gly Ala Tyr  
20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu  
35 40 45

Met Ile Ser Glu Val Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe  
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu  
65 70 75 80



233

95775

234

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

Ser Thr Phe Met Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu  
100 105 110

<210> 328  
<211> 111  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 328

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln  
1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Asn Asp Val Gly Ala Tyr  
20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu  
35 40 45

Met Ile Ser Glu Val Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe  
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu  
65 70 75 80

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

Ser Thr Phe Met Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu  
100 105 110

<210> 329  
<211> 111  
<212> БІЛОК  
<213> людина

<400> 329

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln  
1 5 10 15

235

95775

236

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Asn Asp Val Gly Ala Tyr  
20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu  
35 40 45

Met Ile Ser Glu Val Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe  
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu  
65 70 75 80

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

Ser Thr Phe Met Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu  
100 105 110

<210> 330

<211> 111

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 330

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln  
1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Asn Asp Val Gly Ala Tyr  
20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu  
35 40 45

Met Ile Ser Glu Val Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe  
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu  
65 70 75 80

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

237

95775

238

Ser Thr Phe Met Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu  
 100 105 110

<210> 331  
 <211> 111  
 <212> БІЛОК  
 <213> людина

<400> 331

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln  
 1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Asn Asp Val Gly Ala Tyr  
 20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu  
 35 40 45

Met Ile Ser Glu Val Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe  
 50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu  
 65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Phe Thr Ser Gly  
 85 90 95

Leu Pro Trp Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu  
 100 105 110

<210> 332  
 <211> 351  
 <212> ДНК  
 <213> людина

<400> 332

gaggtgcagc tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc  
 tctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgcc a tgagctgggt ccgccaggct  
 ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac

239	95775	240	
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat			240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gaaatgggga			300
gacgggacct tgaaccctg gggccaagg acaatgggtca ccgtctctc a			351
<210> 333			
<211> 351			
<212> ДНК			
<213> людина			
<400> 333			
gagggtgcagc tgttgaggtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc			60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgcc tgagctgggt ccgccaggct			120
ccagggaagg ggctggagt ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac			180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat			240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gaaaacgaac			300
tcgcccaagt tcgaccctg gggccaagg acaatgggtca ccgtctctc a			351
<210> 334			
<211> 351			
<212> ДНК			
<213> людина			
<400> 334			
gagggtgcagc tgttgaggtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc			60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgcc tgagctgggt ccgccaggct			120
ccagggaagg ggctggagt ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac			180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat			240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gaaaaacgag			300
aggccgtcgt tcgaccctg gggccaagg acaatgggtca ccgtctctc a			351

241

95775

242

&lt;210&gt; 335

&lt;211&gt; 351

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 335

gaggtgcagc tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gaaatgggga 300

gacgggacct tgaaccctg gggccaagg acaatggta ccgtctctc a 351

&lt;210&gt; 336

&lt;211&gt; 351

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 336

gaggtgcagc tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gaaaacgggg 300

taccctctct tcgaccctg gggccaagg acaatggta ccgtctctc a 351

&lt;210&gt; 337

&lt;211&gt; 351

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 337

gaggtgcagc tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60

243

95775

244

tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgcc a tgagctgggt ccgccaggct 120  
 ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180  
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gaaatgggga 300  
 acggggacct tgtggccctg gggccaaggg acaatggtea ccgtctctc a 351

&lt;210&gt; 338

&lt;211&gt; 333

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 338

cagtctgccc tgactcagcc tgccctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60  
 tcctgcactg gaaccagtaa tgacgttggt gcttataatt atgtctctctg gtaccaacaa 120  
 cccccaggca aagcccccaa actcatgatt tctgaggtea ataaacggcc ctcagggggtt 180  
 tctaatacgct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ctctgaccat ctctgggctc 240  
 caggctgagg acgaggctga ttattactgc agctcattta caagcgggct ccctgggctc 300  
 gtcttcggcg gagggacca a gctgaccgct cta 333

&lt;210&gt; 339

&lt;211&gt; 333

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 339

cagtctgccc tgactcagcc tgccctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60  
 tcctgcactg gaaccagtaa tgacgttggt gcttataatt atgtctctctg gtaccaacaa 120  
 cccccaggca aagcccccaa actcatgatt tctgaggtea ataaacggcc ctcagggggtt 180  
 tctaatacgct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ctctgaccat ctctgggctc 240

245

95775

246

caggctgagg acgaggctga ttattactgc agcagctaca cgatggggag cacttttatg 300

ctattcggcg gagggaccaaa gctgaccgtc cta 333

<210> 340

<211> 333

<212> ДНК

<213> людина

<400> 340

cagtctgccc tgactcagcc tgccctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60

tcttgccactg gaaccagtaa tgacgttggt gcttataatt atgtctcctg gtaccaaaaa 120

caccagggca aagcccccaa actcatgatt tctgaggtea ataaacggcc ctcagggggtt 180

tctaatacgtc tctctggctc caagtctggc aacacggcct ctctgaccat ctctgggctc 240

caggctgagg acgaggctga ttattactgc acctcgtaca ccatgggcag cacttttatg 300

ctattcggcg gagggaccaaa gctgaccgtc cta 333

<210> 341

<211> 333

<212> ДНК

<213> людина

<400> 341

cagtctgccc tgactcagcc tgccctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60

tcttgccactg gaaccagtaa tgacgttggt gcttataatt atgtctcctg gtaccaaaaa 120

caccagggca aagcccccaa actcatgatt tctgaggtea ataaacggcc ctcagggggtt 180

tctaatacgtc tctctggctc caagtctggc aacacggcct ctctgaccat ctctgggctc 240

caggctgagg acgaggctga ttattactgc acctcgtaca ccatgggcag cacttttatg 300

ctattcggcg gagggaccaaa gctgaccgtc cta 333

<210> 342

<211> 333

<212> ДНК

247

95775

248

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 342

cagtctgccc tgactcagcc tgccctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60

tcctgcactg gaaccagtaa tgacgttggt gcttataatt atgtctcctg gtaccaacaa 120

caccagggca aagcccccaa actcatgatt tctgaggta ataaacggcc ctgaggggtt 180

tctaactgct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ctctgaccat ctctgggctc 240

caggctgagg acgaggctga ttattactgc acctcgtaca ccatgggcag cacttttatg 300

ctattcggcg gagggaccaa gctgaccgtc cta 333

&lt;210&gt; 343

&lt;211&gt; 333

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 343

cagtctgccc tgactcagcc tgccctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60

tcctgcactg gaaccagtaa tgacgttggt gcttataatt atgtctcctg gtaccaacaa 120

caccagggca aagcccccaa actcatgatt tctgaggta ataaacggcc ctgaggggtt 180

tctaactgct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ctctgaccat ctctgggctc 240

caggctgagg acgaggctga ttattactgc agctcattta caagcgggtt gccgtgggtg 300

ctcttcggcg gagggaccaa gctgaccgtc cta 333

&lt;210&gt; 344

&lt;211&gt; 330

&lt;212&gt; БІЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 344

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys

1

5

10

15



249

95775

250

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr  
 20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
 35 40 45

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr  
 65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
 85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys  
 100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro  
 115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys  
 130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp  
 145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu  
 165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu  
 180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn  
 195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly  
 210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu  
 225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

251

95775

252

245

250

255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

260

265

270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

275

280

285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

290

295

300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

305

310

315

320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

330

&lt;210&gt; 345

&lt;211&gt; 106

&lt;212&gt; БИЛОК

&lt;213&gt; людина

&lt;400&gt; 345

Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser

1

5

10

15

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp

20

25

30

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro

35

40

45

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn

50

55

60

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys

65

70

75

80

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val

85

90

95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser

253

95775

254

100

105

<210> 346

<211> 19

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 346

Met Glu Trp Ser Trp Val Phe Leu Phe Phe Leu Ser Val Thr Thr Gly

1

5

10

15

Val His Ser

<210> 347

<211> 20

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 347

Met Ser Val Pro Thr Gln Val Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr

1

5

10

15

Asp Ala Arg Cys

20

SEG ID №	Послідовність	Опис	Антитіло
1	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCASWG TGTLPFWGQG TMVTVSS	Повнорозмірна V <sub>H</sub>	194_e06, 196_a07, 198_f06
2	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCASWG DGTLPFWGQG TMVTVSS	Повнорозмірна V <sub>H</sub>	194_a02, 194_b09
3	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCASWG LGSNENFWGQG TMVTVSS	Повнорозмірна V <sub>H</sub>	195_e11
4	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCADTH SAKFDPFWGQG TMVTVSS	Повнорозмірна V <sub>H</sub>	194_g09, 196_h02
5	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAGTG YPSFDPFWGQG TMVTVSS	Повнорозмірна V <sub>H</sub>	194_e01
6	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAGTA KPSFDPFWGQG TMVTVSS	Повнорозмірна V <sub>H</sub>	196_d10
7	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAGNE RPSFDPFWGQG TMVTVSS	Повнорозмірна V <sub>H</sub>	196_g03
8	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAGSR TVQFDPFWGQG TMVTVSS	Повнорозмірна V <sub>H</sub>	196_e06
9	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCATNS PGTFDPFWGQG TMVTVSS	Повнорозмірна V <sub>H</sub>	195_a09

Фіг. 1

10	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCATIA PGRFDPFWGQG TMVTVSS	Повнорозмірна V <sub>H</sub>	198_a09
11	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAGLD RVWFDPFWGQG TMVTVSS	Повнорозмірна V <sub>H</sub>	200_h06
12	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCASWG GGWFDPFWGQG TMVTVSS	Повнорозмірна V <sub>H</sub>	129_1c4
13	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAKWG GGWFDPFWGQG TMVTVSS	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна V <sub>H</sub>	g_129_1c4
14	QSALTQPAVS SGSPGQSITI SCTGTSNDVG AYNVSWYQQ HPGKAPKIL SEVNRKPSGV SNRFSGSKSG NTASLSISGL QAEDAEADYIC SSFTSGLPWV LFGGGTKLTV L	Повнорозмірна V <sub>L</sub>	194_a02, 194_e06, 196_a07, 198_f06
15	QSALTQPAVS SGSPGQSITI SCTGTSNDVG AYNVSWYQQ HPGKAPKIL SEVNRKPSGV SNRFSGSKSG NTASLSISGL QAEDAEADYIC SSFTSGLPWV VFGGGTKLTV L	Повнорозмірна V <sub>L</sub>	194_b09
16	QSALTQPAVS SGSPGQSITI SCTGTSNDVG AYNVSWYQQ HPGKAPKIL SEVNRKPSGV SNRFSGSKSG NTASLSISGL QAEDAEADYIC SSFTSGIVFN LFGGGTKLTV L	Повнорозмірна V <sub>L</sub>	195_e11
17	QSALTQPAVS SGSPGQSITI SCTGTSNDVG AYNVSWYQQ HPGKAPKIL SEVNRKPSGV SNRFSGSKSG NTASLSISGL QAEDAEADYIC SSYTMGSTFM LFGGGTKLTV L	Повнорозмірна V <sub>L</sub>	194_g09
18	QSALTQPAVS SGSPGQSITI SCTGTSNDVG AYNVSWYQQ HPGKAPKIL SEVNRKPSGV SNRFSGSKSG NTASLSISGL QAEDAEADYIC TSYRAGSTFM LFGGGTKLTV L	Повнорозмірна V <sub>L</sub>	194_e01
19	QSALTQPAVS SGSPGQSITI SCTGTSNDVG AYNVSWYQQ HPGKAPKIL SEVNRKPSGV SNRFSGSKSG NTASLSISGL QAEDAEADYIC TSYTMGSTFM LFGGGTKLTV L	Повнорозмірна V <sub>L</sub>	198_a09

Фіг. 1B

20	QSALTQPASV SGSPGQSITI SCTGTSNDVG AYNVSWYQQ HPGKAPKLIL SEVNRPSGV SNRFSGSKSG NTASLSISGL QAEDADYYC TSYRMDSTEM LFGGGTKLTV L	Повнорозмірна V <sub>L</sub>	200_h06
21	QSALTQPASV SGSPGQSITI SCTGTSNDVG AYNVSWYQQ HPGKAPKLIL SEVNRPSGV SNRFSGSKSG NTASLSISGL QAEDADYYC SSFTSGSTEM LFGGGTKLTV L	Повнорозмірна V <sub>L</sub>	129_1c4
22	QSALTQPASV SGSPGQSITI SCTGTSNDVG AYNVSWYQQ HPGKAPKLIL SEVNRPSGV SNRFSGSKSG NTASLSISGL QAEDADYYC SSFTSGSTEM LFGGGTKLTV L	Повнорозмірна V <sub>L</sub>	g_129_1c4
23	QSALTQPASV SGSPGQSITI SCTGTSNDVG AYNVSWYQQ HPGKAPKLIL SEVNRPSGV SNRFSGSKSG NTASLSISGL QAEDADYYC TSYTMGSTEM LFGGGTKLTV L	Повнорозмірна V <sub>L</sub>	196_h02, 196_d10, 196_g03, 196_e06, 195_a09
24	SYAMS	V <sub>H</sub> CDR1	Bce
25	AISGSGGTYADSVKG	V <sub>H</sub> CDR2	Bce
26	WGDTLNP	V <sub>H</sub> CDR3	194_e06, 196_a07, 198_f06
27	WGDTLNP	V <sub>H</sub> CDR3	194_a02, 194_b09
28	WGLGNEN	V <sub>H</sub> CDR3	195_e11
29	TNSAKFDP	V <sub>H</sub> CDR3	194_g09, 196_h02
30	TGYP9FDP	V <sub>H</sub> CDR3	194_e01
31	TAKPSFDP	V <sub>H</sub> CDR3	196_d10
32	NERPSFDP	V <sub>H</sub> CDR3	196_g03
33	SRTVQFDP	V <sub>H</sub> CDR3	196_e06
34	NSPGTFDP	V <sub>H</sub> CDR3	195_a09

Фиг. 1C

35	IAPGRFDP	V <sub>H</sub> CDR3	196_a09
36	LDRVWFDP	V <sub>H</sub> CDR3	200_h06
37	WGGGWEDP	V <sub>H</sub> CDR3	129_1c4, g_129_1c4
38	TGTSNDVGAYNYVS	V <sub>L</sub> CDR1	Bci
39	EVNKRPS	V <sub>L</sub> CDR2	Bci
40	SSFTSGLEWVL	V <sub>L</sub> CDR3	194_a02, 194_e06, 196_a07, 196_f06
41	SSFTSGLEWVV	V <sub>L</sub> CDR3	194_b09
42	SSFTSGIVFNL	V <sub>L</sub> CDR3	195_e11
43	TSYTMGSTFNL	V <sub>L</sub> CDR3	195_a09, 196_d10, 196_e06, 196_g03, 196_h02, 198_a09
44	SSYTMGSTFNL	V <sub>L</sub> CDR3	194_g09
45	TSYRMDSTFNL	V <sub>L</sub> CDR3	200_h06
46	TSYRAESTFNL	V <sub>L</sub> CDR3	194_e01
47	SSFTSGSTFNL	V <sub>L</sub> CDR3	129_1c4, g_129_1c4
48	EVQLLESQGGIVQPGGSLRLSCAASGPTFS	V <sub>H</sub> FR1	Bci
49	WVRQAPGKGLEWVS	V <sub>H</sub> FR2	Bci
50	RETISRDNKNTLYLQMNSLRADTAVYYCAS	V <sub>H</sub> FR3	194_e06, 196_a07, 198_f06, 194_a02, 194_b09, 195_e11, 129_1c4

Фиг. 1D

51	RTTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAD	V <sub>H</sub> FR3	194_g09, 196_h02
52	RTTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAG	V <sub>H</sub> FR3	194_e01, 196_d10, 196_g03, 200_h06
53	REAIIRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAG	V <sub>H</sub> FR3	196_e06
54	RFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAT	V <sub>H</sub> FR3	195_a09, 198_a09
55	RTTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK	V <sub>H</sub> FR3	g_129_1c4
56	WGQGMVTVSS	V <sub>H</sub> FR4	194_e06, 196_a07, 198_f06, 194_a02, 194_b09
57	WGQGMVTVSS	V <sub>H</sub> FR4	195_e11, 194_g09, 196_h02, 194_e01, 196_d10, 196_g03, 196_e06, 195_a09, 198_a09, 200_h06, 129_1c4, g_129_1c4
58	QSALTQPASVSPPGQSITISC	V <sub>L</sub> FR1	198_a09
59	QSALTQPASVSPPGQSITISC	V <sub>L</sub> FR1	Всі за винятком 198_a09
60	WYQRHPGKAPKLILS	V <sub>L</sub> FR2	194_g09
61	WYQQHPGKAPKLMIY	V <sub>L</sub> FR2	g_129_1c4

Фіг. 1E

62	WYQQHPGKAPKLILS	V <sub>L</sub> FR2	194_a02, 194_e06, 196_a07, 198_f06, 194_b09, 195_e11, 195_a09, 196_d10, 196_e06, 196_g03, 196_h02, 198_a09, 200_h06, 194_e01, 129_1c4
63	GVSNRFSGSKSNTASLSISGLQAEDEAEYYC	V <sub>L</sub> FR3	194_g09
64	GVSNRFSGSKSNTASLSISGLQAEDEAGYYC	V <sub>L</sub> FR3	194_e01
65	GVSNRFSGSKSNTASLTISGLQAEDEADYYC	V <sub>L</sub> FR3	g_129_1c4
66	GVSNRFSGSKSNTASLSISGLQAEDEADYYC	V <sub>L</sub> FR3	194_a02, 194_e06, 196_a07, 198_f06, 194_b09, 195_e11, 195_a09, 196_d10, 196_e06, 196_g03, 196_h02, 198_a09, 200_h06, 129_1c4
67	FGGGTKLTVL	V <sub>L</sub> FR4	Bci
68	GAGGTGCAGCTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGTCCTGAGACTCTCTGTGCAAGCCTCTGGATTCACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGGTAGTGGGTAGCACAATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCCACCATCTCCAGAGACAATCCAAGAACACGCTGTATCTGCAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGTTGGGGAACGGGACCTGTGTGCCCTGGGGCCAGGGAAATGGTCACCGTCTCSAGT	Повнорозмірна ДНК V <sub>H</sub>	194_e06, 196_a07, 198_f06

Фіг. 1F

69	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCT ATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAAGCTCCGTGAAGGGCCG GTTACCATCTCCAGAGACAATTCCAGAACACGCTGTATCTGCAAAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGTTGGGGA GACGGGACCTTGAACCCGTGGGGCCAGGNAAAATGGTCAACCTCTCNAG T	Повнорозмірна ДНК $V_H$	194_a02, 194_b09
70	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCT ATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAAGCTCCGTGAAGGGCCG GTTACCATCTCCAGAGACAATTCCAGAACACGCTGTATCTGCAAAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGTTGGGGA CTGGGGAGCAACGAAACTGGGGCCAGGGACAATGGTCAACCTCTCGAG T	Повнорозмірна ДНК $V_H$	195_e11
71	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCT ATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAAGCTCCGTGAAGGGCCG GTTACCATCTCCAGAGACAATTCCAGAACACGCTGTATCTGCAAAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGTTGGGGA TCCGCCAAGTTCGACCCCTGGGGCCAGGGACAATGGTCAACCTCTCGAG T	Повнорозмірна ДНК $V_H$	194_g09, 196_h02

Фіг. 1G

72	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCT ATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAAGCTCCGTGAAGGGCCG GTTACCATCTCCAGAGACAATTCCAGAACACGCTGTATCTGCAAAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGGGCACGGGG TACCCCTCCTTCGACCCCTGGGGCCAGGGACAATGGTCAACCTCTCGAG T	Повнорозмірна ДНК $V_H$	194_e01
73	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCT ATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAAGCTCCGTGAAGGGCCG GTTACCATCTCCAGAGACAATTCCAGAACACGCTGTATCTGCAAAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGGGCACGGCC AAGCCGAGCTTCGACCCCTGGGGCCAGGGACAATGGTCAACCTCTCGAG T	Повнорозмірна ДНК $V_H$	196_d10
74	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCT ATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAAGCTCCGTGAAGGGCCG GTTACCATCTCCAGAGACAATTCCAGAACACGCTGTATCTGCAAAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGGGAACGAG AGGCCGTGTTGACCCCTGGGGCCAGGGACAATGGTCAACCTCTCGAG T	Повнорозмірна ДНК $V_H$	196_g03
75	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCT ATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAAGCTCCGTGAAGGGCCG GTTGCCATCTCCAGAGACAATTCCAGAACACGCTGTATCTGCAAAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGGGCACGGCC ACGGTGCAGTTCGACCCCTGGGGCCAGGGACAATGGTCAACCTCTCGAG T	Повнорозмірна ДНК $V_H$	196_e06

Фіг. 1H

76	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCT ATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATACTACGCACTCCGTGAAGGGCCG GTTCAACATCTCCAGAGCAATTCAGAAACAGCTGTATCTGCAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGACGAACTCG CCGGGACGTTCCAGCCCTGGGGCCAAGGGCAATGGTCAACGCTCTCGAG T	Повнорозмірна ДНК $V_H$	195_a09
77	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCT ATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATACTACGCACTCCGTGAAGGGCCG GTTCAACATCTCCAGAGCAATTCAGAAACAGCTGTATCTGCAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGACGAACTCG CCGGCCGTTCCAGCCCTGGGGCCAAGGGCAATGGTCAACGCTCTCGAG T	Повнорозмірна ДНК $V_H$	198_a09
78	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCT ATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATACTACGCACTCCGTGAAGGGCCG GTTCAACATCTCCAGAGCAATTCAGAAACAGCTGTATCTGCAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGGGCTCGAC CGGGTGGTTCGACCCCTGGGGCCAAGGGCAATGGTCAACGCTCTCGAG T	Повнорозмірна ДНК $V_H$	200_h06
79	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCT ATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATACTACGCACTCCGTGAAGGGCCG GTTCAACATCTCCAGAGCAATTCAGAAACAGCTGTATCTGCAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGTTGGGG GGAGGCTGGTTCGACCCCTGGGGCCAAGGGCAATGGTCAACGCTCTCCTC A	Повнорозмірна ДНК $V_H$	129_1c4

Фіг. 11

80	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCT ATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATACTACGCACTCCGTGAAGGGCCG GTTCAACATCTCCAGAGCAATTCAGAAACAGCTGTATCTGCAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAAATGGGG GGAGGCTGGTTCGACCCCTGGGGCCAAGGGCAATGGTCAACGCTCTCCTC A	Повнорозмірна ДНК $V_H$	q_129_1c4
81	CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCTCCGTGTCTGGTCTCCTGGACAGTC GATCACCATTCTCCTGCACCTGGAACAGTAATGAGTTGGTCTTATAATT ATGTCTCCTGGTACCAACACACCCAGGCAAGCCCCAAGCTCATTTCTT TCTGAGGTCAATAAAGGCCCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTC CAAGTCTGGCAACACGGCCCTCTGAGCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGG ACGAGGCTGATTATTACTGCACTCATTTACAGCGGCTCCCTGGGTCTC CTCTTCGGCGGAGGACCAAGCTGACCGTCTTA	Повнорозмірна ДНК $V_L$	194_a02, 194_e06, 196_a07, 198_f06
82	CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCTCCGTGTCTGGTCTCCTGGACAGTC GATCACCATTCTCCTGCACCTGGAACAGTAATGAGTTGGTCTTATAATT ATGTCTCCTGGTACCAACACACCCAGGCAAGCCCCAAGCTCATTTCTT TCTGAGGTCAATAAAGGCCCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTC CAAGTCTGGCAACACGGCCCTCTGAGCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGG ACGAGGCTGATTATTACTGCACTCATTTACAGCGGCTCCCTGGGTCTC GTCTTCGGCGGAGGACCAAGCTGACCGTCTTA	Повнорозмірна ДНК $V_L$	194_b09
83	CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCTCCGTGTCTGGTCTCCTGGACAGTC GATCACCATTCTCCTGCACCTGGAACAGTAATGAGTTGGTCTTATAATT ATGTCTCCTGGTACCAACACACCCAGGCAAGCCCCAAGCTCATTTCTT TCTGAGGTCAATAAAGGCCCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTC CAAGTCTGGCAACACGGCCCTCTGAGCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGG ACGAGGCTGATTATTACTGCACTCATTTACAGCGGCTCCCTGGGTCTC GTCTTCGGCGGAGGACCAAGCTGACCGTCTTA	Повнорозмірна ДНК $V_L$	195_e11
84	CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCTCCGTGTCTGGTCTCCTGGACAGTC GATCACCATTCTCCTGCACCTGGAACAGTAATGAGTTGGTCTTATAATT ATGTCTCCTGGTACCAACACACCCAGGCAAGCCCCAAGCTCATTTCTT TCTGAGGTCAATAAAGGCCCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTC CAAGTCTGGCAACACGGCCCTCTGAGCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGG ACGAGGCTGATTATTACTGCACTCATTTACAGCGGCTCCCTGGGTCTC GTCTTCGGCGGAGGACCAAGCTGACCGTCTTA	Повнорозмірна ДНК $V_L$	194_g09

Фіг. 11



85	CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGGACAGTC GATCACCATCTCCTGCACTGGAAACAGTAATGACGTTGGTGTATATAATT ATGTCTCCTGGTACCAACAACACCCAGGCAAGCCCCAAACTCATTTCTT TCTGAGGTCAATAAAGGCCCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTC CAAGTCTGGCAACACGGCTCTCTGAGCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGG ACGAGGCTGATTATTACTGCACTCGTACACCATGGGCAGCACTTTTATG CTATTCCGGGAGGGACCAAGCTGACCGTCTCTA	Повнорозмірна ДНК V <sub>L</sub>	194_e01
86	CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGCTCCTGGACAGTC GATCACCATCTCCTGCACTGGAAACAGTAATGACGTTGGTGTATATAATT ATGTCTCCTGGTACCAACAACACCCAGGCAAGCCCCAAACTCATTTCTT TCTGAGGTCAATAAAGGCCCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTC CAAGTCTGGCAACACGGCTCTCTGAGCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGG ACGAGGCTGATTATTACTGCACTCGTACACCATGGGCAGCACTTTTATG CTATTCCGGGAGGGACCAAGCTGACCGTCTCTA	Повнорозмірна ДНК V <sub>L</sub>	196_a09
87	CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGGACAGTC GATCACCATCTCCTGCACTGGAAACAGTAATGACGTTGGTGTATATAATT ATGTCTCCTGGTACCAACAACACCCAGGCAAGCCCCAAACTCATTTCTT TCTGAGGTCAATAAAGGCCCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTC CAAGTCTGGCAACACGGCTCTCTGAGCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGG ACGAGGCTGATTATTACTGCACTCGTACACCATGGGCAGCACTTTTATG CTATTCCGGGAGGGACCAAGCTGACCGTCTCTA	Повнорозмірна ДНК V <sub>L</sub>	200_h08
88	CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGGACAGTC GATCACCATCTCCTGCACTGGAAACAGTAATGACGTTGGTGTATATAATT ATGTCTCCTGGTACCAACAACACCCAGGCAAGCCCCAAACTCATTTCTT TCTGAGGTCAATAAAGGCCCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTC CAAGTCTGGCAACACGGCTCTCTGAGCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGG ACGAGGCTGATTATTACTGCACTCGTACACCATGGGCAGCACTTTTATG CTATTCCGGGAGGGACCAAGCTGACCGTCTCTA	Повнорозмірна ДНК V <sub>L</sub>	129_1c4
89	CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGGACAGTC GATCACCATCTCCTGCACTGGAAACAGTAATGACGTTGGTGTATATAATT ATGTCTCCTGGTACCAACAACACCCAGGCAAGCCCCAAACTCATTTCTT TCTGAGGTCAATAAAGGCCCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTC CAAGTCTGGCAACACGGCTCTCTGAGCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGG ACGAGGCTGATTATTACTGCACTCGTACACCATGGGCAGCACTTTTATG CTATTCCGGGAGGGACCAAGCTGACCGTCTCTA	Повнорозмірна ДНК V <sub>L</sub>	g_129_1c4

Фиг. 1К

90	CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGGACAGTC GATCACCATCTCCTGCACTGGAAACAGTAATGACGTTGGTGTATATAATT ATGTCTCCTGGTACCAACAACACCCAGGCAAGCCCCAAACTCATTTCTT TCTGAGGTCAATAAAGGCCCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTC CAAGTCTGGCAACACGGCTCTCTGAGCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGG ACGAGGCTGATTATTACTGCACTCGTACACCATGGGCAGCACTTTTATG CTATTCCGGGAGGGACCAAGCTGACCGTCTCTA	Повнорозмірна ДНК V <sub>L</sub>	196_h02, 196_d10, 196_g03, 196_e06, 195_a09
91	NEKGQFDP		
92	NSAGSFDP	Варіант CDR3 V <sub>H</sub>	Варіант 129-1c4
93	SNGGLEFDP	Варіант CDR3 V <sub>H</sub>	Варіант 129-1C4
94	SNGGFDP	Варіант CDR3 V <sub>H</sub>	Варіант 129-1C4
95	SDLGEFDP	Варіант CDR3 V <sub>H</sub>	Варіант 129-1C4
96	TNTGQFDP	Варіант CDR3 V <sub>H</sub>	Варіант 129-1C4
97	TFRGLEFDP	Варіант CDR3 V <sub>H</sub>	Варіант 129-1C4
98	SNTGNFDP	Варіант CDR3 V <sub>H</sub>	Варіант 129-1C4
99	SRTVQFDP	Варіант CDR3 V <sub>H</sub>	Варіант 129-1C4
100	LGVPQFDP	Варіант CDR3 V <sub>H</sub>	Варіант 129-1C4
101	SDNGTFDP	Варіант CDR3 V <sub>H</sub>	Варіант 129-1C4
102	IAPGRFDP	Варіант CDR3 V <sub>H</sub>	Варіант 129-1C4
103	NTTGTDP	Варіант CDR3 V <sub>H</sub>	Варіант 129-1C4
104	SDAGRFDP	Варіант CDR3 V <sub>H</sub>	Варіант 129-1C4
105	INEGRFDP	Варіант CDR3 V <sub>H</sub>	Варіант 129-1C4
106	NSNGVFDP	Варіант CDR3 V <sub>H</sub>	Варіант 129-1C4
107	SHSGKFDP	Варіант CDR3 V <sub>H</sub>	Варіант 129-1C4

Фиг. 1Л

108	NKKPFEDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1c4
109	SDNGLFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
110	WGAGELDH	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
111	WGTGAHEN	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
112	NNVGRFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
113	TDRFVFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
114	IRSGMFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
115	TEGALFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
116	SDFGKFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
117	NELGSFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
118	QELPVFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
119	FRDTAFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
120	ADMGRFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
121	LGVPVFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
122	THAGMFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
123	VYAGRFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
124	NTQGRFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
125	TNGGLFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
126	ITTVKFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
127	RLVHGFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
128	IRLGYFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
129	SERFQFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4

Fig. 1M

130	TSRPLFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1c4
131	VESGRFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
132	SEMPMFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
133	VNEGXFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
134	NDIARFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
135	VGVGGFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
136	TRYPTFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
137	NSAGTFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
138	VNEGRFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
139	NRTGRFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
140	NASARFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
141	INTGMFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
142	NDNGRFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
143	VDQPSFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
144	VDRGQFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
145	NHTGKFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
146	TNTGRFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
147	SDSGLFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
148	NVLALFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
149	NYEARFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
150	PDNGTFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
151	NRNGNFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4

Fig. 1N

152	TTGGRFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1c4
153	TEYPAFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
154	NNEGQFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
155	NSKGRFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
156	TENPTFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
157	TNGGRFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
158	NSYGSFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
159	LENVVEFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
160	ANHGRFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
161	ANGGQFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
162	WGNQASLG	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
163	WGPTASLD	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
164	WGRGTNEY	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
165	WGGGGHYD	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
166	WGADATLD	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
167	TEFGTFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
168	NATGTFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
169	TNSAKFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
170	VNSGKFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
171	SLRVEFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
172	NDRGMEFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
173	NSPGTFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4

Фиг. 10

174	NTAGRFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1c4
175	VNNGRFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
176	TEKPMFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
177	WGSBLFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
178	MEVVEFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
179	VNHGRFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
180	TEVGTDFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
181	TDKPVFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
182	LELPRFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
183	TNHAMFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
184	THSGRFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
185	NDRGGFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
186	PHRGTFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
187	TELGQFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
188	WGLGSNEN	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
189	WGNDAIYN	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
190	WGSTASLD	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
191	WGGGGHQD	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
192	WGRGQWRS	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
193	WGSTASLS	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
194	WGHGGHDT	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
195	WGPRATLD	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4

Фиг. 1P

196	WGNGAEVP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1c4
197	WGNDAFLA	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
198	WGSGLDF	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
199	NELPKEDF	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
200	SDGGTFDF	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
201	LDVMFDF	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
202	WGSGMTDF	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
203	PDGKFDF	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
204	THNFVDF	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
205	NSAGRFDF	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
206	LDGVVDF	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
207	WGTGQHFN	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
208	WGTGHHDF	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
209	NFKPSDF	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
210	ANGGRFDF	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
211	WGTGHLDF	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
212	TGLPRFDF	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
213	SNVGKFDF	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
214	NAVAREDF	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
215	TDRQDFDF	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
216	SLTVDFDF	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
217	TEMAQDFDF	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4

Фиг. 1Q

218	WGEHLEY	Вариант CDR3 VH	129-1c4 variant
219	QKKVEFDF	Вариант CDR3 VH	129-1C4 variant
220	TGYPVFNE	Вариант CDR3 VH	129-1C4 variant
221	ANSAKFDF	Вариант CDR3 VH	129-1C4 variant
222	VGRPQFDF	Вариант CDR3 VH	129-1C4 variant
223	TYNPMDF	Вариант CDR3 VH	129-1C4 variant
224	TERPVFDF	Вариант CDR3 VH	129-1C4 variant
225	LDLPRFDF	Вариант CDR3 VH	129-1C4 variant
226	WSSGSIDH	Вариант CDR3 VH	129-1C4 variant
227	LDRVCSRW	Вариант CDR3 VH	129-1C4 variant
228	NTLPVFDF	Вариант CDR3 VH	129-1C4 variant
229	IKPGRFDF	Вариант CDR3 VH	129-1C4 variant
230	TGYPVDF	Вариант CDR3 VH	129-1C4 variant
231	IKPGMEFDF	Вариант CDR3 VH	129-1C4 variant
232	NMTPRFDF	Вариант CDR3 VH	129-1C4 variant
233	TERPSEDF	Вариант CDR3 VH	129-1C4 variant
234	TNYGTDF	Вариант CDR3 VH	129-1C4 variant
235	TSRPSDF	Вариант CDR3 VH	129-1C4 variant
236	TYWPAFDF	Вариант CDR3 VH	129-1C4 variant
237	IDMPWFDF	Вариант CDR3 VH	129-1C4 variant
238	WGTGHHDF	Вариант CDR3 VH	129-1C4 variant
239	NARPSDF	Вариант CDR3 VH	129-1C4 variant

Фиг. 1R

240	NQIVHEDF	Вариант CDR3 V <sub>H</sub>	Вариант 129-1c4
241	NVMGRFDF	Вариант CDR3 V <sub>H</sub>	Вариант 129-1C4
242	TDTFVFDF	Вариант CDR3 V <sub>H</sub>	Вариант 129-1C4
243	NRTVWFDF	Вариант CDR3 V <sub>H</sub>	Вариант 129-1C4
244	NRMGSFDF	Вариант CDR3 V <sub>H</sub>	Вариант 129-1C4
245	VKPGFFDF	Вариант CDR3 V <sub>H</sub>	Вариант 129-1C4
246	IDQGRFDF	Вариант CDR3 V <sub>H</sub>	Вариант 129-1C4
247	QSLPQFDF	Вариант CDR3 V <sub>H</sub>	Вариант 129-1C4
248	NELGTFDF	Вариант CDR3 V <sub>H</sub>	Вариант 129-1C4
249	QKKVEFDF	Вариант CDR3 V <sub>H</sub>	Вариант 129-1C4
250	IDTPTFDF	Вариант CDR3 V <sub>H</sub>	Вариант 129-1C4
251	WGYDATLE	Вариант CDR3 V <sub>H</sub>	Вариант 129-1C4
252	SDGGKFDF	Вариант CDR3 V <sub>H</sub>	Вариант 129-1C4
253	LDLVREFD	Вариант CDR3 V <sub>H</sub>	Вариант 129-1C4
254	ANAGLFDF	Вариант CDR3 V <sub>H</sub>	Вариант 129-1C4
255	WGTGSRD	Вариант CDR3 V <sub>H</sub>	Вариант 129-1C4
256	SETINFDF	Вариант CDR3 V <sub>H</sub>	Вариант 129-1C4
257	GSYTHGSTFML	Вариант CDR3 V <sub>L</sub>	Вариант 129-1C4
258	SSFTSGIPWAV	Вариант CDR3 V <sub>L</sub>	Вариант 129-1C4
259	SSFTSGVPWAM	Вариант CDR3 V <sub>L</sub>	Вариант 129-1C4
260	SSFTSGLQWV	Вариант CDR3 V <sub>L</sub>	Вариант 129-1C4
261	SSFTSQIPWAL	Вариант CDR3 V <sub>L</sub>	Вариант 129-1C4

Фиг. 1S

262	SSFTSAEQWVM	Вариант CDR3 V <sub>L</sub>	Вариант 129-1c4
263	SSFTSQPFNL	Вариант CDR3 V <sub>L</sub>	Вариант 129-1C4
264	SSFTSGSTWVL	Вариант CDR3 V <sub>L</sub>	Вариант 129-1C4
265	SSFTSAVFWAI	Вариант CDR3 V <sub>L</sub>	Вариант 129-1C4
266	SSFTSGAVFVL	Вариант CDR3 V <sub>L</sub>	Вариант 129-1C4
267	SSFTSGIVFNL	Вариант CDR3 V <sub>L</sub>	Вариант 129-1C4
268	ASYADGSTFML	Вариант CDR3 V <sub>L</sub>	Вариант 129-1C4
269	ASFQSGSTFNL	Вариант CDR3 V <sub>L</sub>	Вариант 129-1C4
270	ASYQASSTFNL	Вариант CDR3 V <sub>L</sub>	Вариант 129-1C4
271	TSYTASSTFNL	Вариант CDR3 V <sub>L</sub>	Вариант 129-1C4
272	SAFQSGSTFNL	Вариант CDR3 V <sub>L</sub>	Вариант 129-1C4
273	GSYSQGSTFNL	Вариант CDR3 V <sub>L</sub>	Вариант 129-1C4
274	GRYSAGSTFNL	Вариант CDR3 V <sub>L</sub>	Вариант 129-1C4
275	TSYTOGSTFNL	Вариант CDR3 V <sub>L</sub>	Вариант 129-1C4
276	SSFTSGRAFTC	Вариант CDR3 V <sub>L</sub>	Вариант 129-1C4
277	SSFTSGDHMVL	Вариант CDR3 V <sub>L</sub>	Вариант 129-1C4
278	SSFTSRIPWAV	Вариант CDR3 V <sub>L</sub>	Вариант 129-1C4
279	SSFTSGKAWVI	Вариант CDR3 V <sub>L</sub>	Вариант 129-1C4
280	SSFTSAEAWAP	Вариант CDR3 V <sub>L</sub>	Вариант 129-1C4
281	SSFTSGDRFNL	Вариант CDR3 V <sub>L</sub>	Вариант 129-1C4
282	SSFTSYKPHMV	Вариант CDR3 V <sub>L</sub>	Вариант 129-1C4
283	SSFTSGIQFNL	Вариант CDR3 V <sub>L</sub>	Вариант 129-1C4

Фиг. 1T

284	SSFTSAAREFAL	Варіант CDR3 V <sub>L</sub>	Варіант 129-1c4
285	SSFTSGSREVL	Варіант CDR3 V <sub>L</sub>	Варіант 129-1C4
286	SSFTSSLFWAL	Варіант CDR3 V <sub>L</sub>	Варіант 129-1C4
287	SSFTSGIKFTL	Варіант CDR3 V <sub>L</sub>	Варіант 129-1C4
288	SSFTSAIPWSL	Варіант CDR3 V <sub>L</sub>	Варіант 129-1C4
289	SSFTSGEQFLL	Варіант CDR3 V <sub>L</sub>	Варіант 129-1C4
290	SSFTSGPRWNL	Варіант CDR3 V <sub>L</sub>	Варіант 129-1C4
291	SSFTSGSTFNL	Варіант CDR3 V <sub>L</sub>	Варіант 129-1C4
292	SSFTSGRRFVL	Варіант CDR3 V <sub>L</sub>	Варіант 129-1C4
293	SSFTSGNVWVL	Варіант CDR3 V <sub>L</sub>	Варіант 129-1C4
294	SSFTSAPAEVV	Варіант CDR3 V <sub>L</sub>	Варіант 129-1C4
295	SSFTSGKTFVL	Варіант CDR3 V <sub>L</sub>	Варіант 129-1C4
296	SSFTSNIPWAI	Варіант CDR3 V <sub>L</sub>	Варіант 129-1C4
297	SSFTSSAHEVL	Варіант CDR3 V <sub>L</sub>	Варіант 129-1C4
298	SSFTSGPFVNI	Варіант CDR3 V <sub>L</sub>	Варіант 129-1C4
299	SSFTSDRAENL	Варіант CDR3 V <sub>L</sub>	Варіант 129-1C4
300	SSFTSEMLWVL	Варіант CDR3 V <sub>L</sub>	Варіант 129-1C4
301	SSFTSQPRWAP	Варіант CDR3 V <sub>L</sub>	Варіант 129-1C4
302	SSFTSGIRFNL	Варіант CDR3 V <sub>L</sub>	Варіант 129-1C4
303	SSFTSGRAFNL	Варіант CDR3 V <sub>L</sub>	Варіант 129-1C4
304	SSFTSGPFVNL	Варіант CDR3 V <sub>L</sub>	Варіант 129-1C4
305	SSFTSGQWVL	Варіант CDR3 V <sub>L</sub>	Варіант 129-1C4

Фіг. 1U

306	SSFTSGIRFNV	Варіант CDR3 V <sub>L</sub>	Варіант 129-1c4
307	SSFTSGVTWLL	Варіант CDR3 V <sub>L</sub>	Варіант 129-1C4
308	SSFTSGRIFNL	Варіант CDR3 V <sub>L</sub>	Варіант 129-1C4
309	SSFTSGIPWIV	Варіант CDR3 V <sub>L</sub>	Варіант 129-1C4
310	TSYTLGSTFNL	Варіант CDR3 V <sub>L</sub>	Варіант 129-1C4
311	TSYTHGSTFNL	Варіант CDR3 V <sub>L</sub>	Варіант 129-1C4
312	SSFTSGYAWLL	Варіант CDR3 V <sub>L</sub>	Варіант 129-1C4
313	TSYVMGSTFNL	Варіант CDR3 V <sub>L</sub>	Варіант 129-1C4
314	SSFTSGSTFYL	Варіант CDR3 V <sub>L</sub>	Варіант 129-1C4
315	TSFTAGSTFNL	Варіант CDR3 V <sub>L</sub>	Варіант 129-1C4
316	TSSTLGSTFNL	Варіант CDR3 V <sub>L</sub>	Варіант 129-1C4
317	TRYVMGSTFNL	Варіант CDR3 V <sub>L</sub>	Варіант 129-1C4
318	TSYREGSTFNL	Варіант CDR3 V <sub>L</sub>	Варіант 129-1C4
319	ASYQASSTFNL	Варіант CDR3 V <sub>L</sub>	Варіант 129-1C4
320	EVQLLESQGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMSLRAED TAVYYCAKMG DGTLPWGQG TMVTVSS	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна V <sub>H</sub>	g-194-b09
321	EVQLLESQGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMSLRAED TAVYYCAKTN SAKFDPWGQG TMVTVSS	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна V <sub>H</sub>	g-194-g09
322	EVQLLESQGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMSLRAED TAVYYCAKNE RESFDPWGQG TMVTVSS	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна V <sub>H</sub>	g-196-g03
323	EVQLLESQGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMSLRAED TAVYYCAKTN SAKFDPWGQG TMVTVSS	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна V <sub>H</sub>	g-196-h02

Фіг. 1V

324	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNLSRAED TAVYYCAKTG YPSFDWQGQ TMVTVSS	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна $V_H$	g-194-e01
325	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNLSRAED TAVYYCAKTG TGTLPWQGQ TMVTVSS	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна $V_H$	g-194-e06
326	QSALTQPSAV SGSPGQSITI SCTGTSNDVG AYNVSWYQQ HPGKAPKLM SEVNKRPSGV SNRFGSKSG NTASLTISGL QAEDADYYC SSFTSGLPWV VFGGGTKLTV L	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна $V_L$	g-194-b09
327	QSALTQPSAV SGSPGQSITI SCTGTSNDVG AYNVSWYQQ HPGKAPKLM SEVNKRPSGV SNRFGSKSG NTASLTISGL QAEDADYYC SSFTSGSTFM LFGGGTKLTV L	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна $V_L$	g-194-g09
328	QSALTQPSAV SGSPGQSITI SCTGTSNDVG AYNVSWYQQ HPGKAPKLM SEVNKRPSGV SNRFGSKSG NTASLTISGL QAEDADYYC TSFTSGSTFM LFGGGTKLTV L	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна $V_L$	g-196-g03
329	QSALTQPSAV SGSPGQSITI SCTGTSNDVG AYNVSWYQQ HPGKAPKLM SEVNKRPSGV SNRFGSKSG NTASLTISGL QAEDADYYC TSFTSGSTFM LFGGGTKLTV L	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна $V_L$	g-196-h02
330	QSALTQPSAV SGSPGQSITI SCTGTSNDVG AYNVSWYQQ HPGKAPKLM SEVNKRPSGV SNRFGSKSG NTASLTISGL QAEDADYYC TSFTSGSTFM LFGGGTKLTV L	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна $V_L$	g-194-e01
331	QSALTQPSAV SGSPGQSITI SCTGTSNDVG AYNVSWYQQ HPGKAPKLM SEVNKRPSGV SNRFGSKSG NTASLTISGL QAEDADYYC SSFTSGLPWV LFGGGTKLTV L	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна $V_L$	g-194-e06
332	GAGGTGCAGCTGTGGAGTCTGGGGAGGCTTGGTACAGCTGGGGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCT ATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACAATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCG GTTACCAATCTCCAGAGACAATTCCAGAACACGCTGTATCTGCAATGA ACAGCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAAATGGGA GACGGGACCTTGAACCCGTGGGCCAAGGGACAATGCTACCGTCTCCTC A	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна $V_H$	g-194-b09

Фиг. 1W

333	GAGGTGCAGCTGTGGAGTCTGGGGAGGCTTGGTACAGCTGGGGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCT ATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACAATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCG GTTACCAATCTCCAGAGACAATTCCAGAACACGCTGTATCTGCAATGA ACAGCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAAATGGGA TCCGCCAGTTGACCCCTGGGGCCAAGGGACAATGCTACCGTCTCCTC A	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна $V_H$	g-194-g09
334	GAGGTGCAGCTGTGGAGTCTGGGGAGGCTTGGTACAGCTGGGGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCT ATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACAATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCG GTTACCAATCTCCAGAGACAATTCCAGAACACGCTGTATCTGCAATGA ACAGCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAAATGGGA AGGCCGTCTGTGACCCCTGGGGCCAAGGGACAATGCTACCGTCTCCTC A	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна $V_H$	g-196-g03
335	GAGGTGCAGCTGTGGAGTCTGGGGAGGCTTGGTACAGCTGGGGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCT ATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACAATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCG GTTACCAATCTCCAGAGACAATTCCAGAACACGCTGTATCTGCAATGA ACAGCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAAATGGGA GACGGGACCTTGAACCCGTGGGGCCAAGGGACAATGCTACCGTCTCCTC A	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна $V_H$	g-196-h02
336	GAGGTGCAGCTGTGGAGTCTGGGGAGGCTTGGTACAGCTGGGGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCT ATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACAATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCG GTTACCAATCTCCAGAGACAATTCCAGAACACGCTGTATCTGCAATGA ACAGCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAAATGGGA TACCCCTCTGTGACCCCTGGGGCCAAGGGACAATGCTACCGTCTCCTC A	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна $V_H$	g-194-e01

Фиг. 1X



337	GAGGTGCAGCTGTTGAGTCTGGGGAGGCTTGGTACAGCTGGGGGTC CCTGAGACTCTCTGTGACAGCTCTGGAATTCACCTTTAGCAGCTATGCCA TGAAGCTGGGTCCGCGAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCT ATTAGTGGTAGTGGTGGTATGACATCTACGACAGCTCCGTGAAGGGCCG GTTCAACCATCTCCAGAGCAATTCAGAAACAGCTGTATCTGCAATGA ACAGCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTCTGTGCGAATGGGA ACGGGGACCTTGTGGCCCTGGGGCCAGGGAATGGTCAACCTCTCTCTC A	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна $V_H$	g-194-e06
338	CAGTCTGCCCTGACTCAGCTGCTCCGTGTCTGGGTCTCTGGACAGTC GATCACCATCTCTGCACTGGAACCAAGTAATGAGCTTGGTCTTATAATT ATGTCTCTCTGGTACCAACACACCCAGGCAAGCCCCAACTCATGATT TCTGAGGTCAATAAAGCGCCCTCAGGGGTTCTAATCGCTTCTCTGGCTC CAAGTCTGGCAACAGGCTCTCTGACCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGG ACGAGGCTGATTATTACTGCACTCATTTACAAGCGGCTCCCTGGGTC GTCTTCGGCGGAGGACCAAGCTGACCGTCTA	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна $V_L$	g-194-b09
339	CAGTCTGCCCTGACTCAGCTGCTCCGTGTCTGGGTCTCTGGACAGTC GATCACCATCTCTGCACTGGAACCAAGTAATGAGCTTGGTCTTATAATT ATGTCTCTCTGGTACCAACACACCCAGGCAAGCCCCAACTCATGATT TCTGAGGTCAATAAAGCGCCCTCAGGGGTTCTAATCGCTTCTCTGGCTC CAAGTCTGGCAACAGGCTCTCTGACCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGG ACGAGGCTGATTATTACTGCACTCATTTACAAGCGGCTCCCTGGGTC GTCTTCGGCGGAGGACCAAGCTGACCGTCTA	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна $V_L$	g-194-g09
340	CAGTCTGCCCTGACTCAGCTGCTCCGTGTCTGGGTCTCTGGACAGTC GATCACCATCTCTGCACTGGAACCAAGTAATGAGCTTGGTCTTATAATT ATGTCTCTCTGGTACCAACACACCCAGGCAAGCCCCAACTCATGATT TCTGAGGTCAATAAAGCGCCCTCAGGGGTTCTAATCGCTTCTCTGGCTC CAAGTCTGGCAACAGGCTCTCTGACCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGG ACGAGGCTGATTATTACTGCACTCATTTACAAGCGGCTCCCTGGGTC GTCTTCGGCGGAGGACCAAGCTGACCGTCTA	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна $V_L$	g-196-g03
341	CAGTCTGCCCTGACTCAGCTGCTCCGTGTCTGGGTCTCTGGACAGTC GATCACCATCTCTGCACTGGAACCAAGTAATGAGCTTGGTCTTATAATT ATGTCTCTCTGGTACCAACACACCCAGGCAAGCCCCAACTCATGATT TCTGAGGTCAATAAAGCGCCCTCAGGGGTTCTAATCGCTTCTCTGGCTC CAAGTCTGGCAACAGGCTCTCTGACCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGG ACGAGGCTGATTATTACTGCACTCATTTACAAGCGGCTCCCTGGGTC GTCTTCGGCGGAGGACCAAGCTGACCGTCTA	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна $V_L$	g-196-h02

Фиг. 1Y

342	CAGTCTGCCCTGACTCAGCTGCTCCGTGTCTGGGTCTCTGGACAGTC GATCACCATCTCTGCACTGGAACCAAGTAATGAGCTTGGTCTTATAATT ATGTCTCTCTGGTACCAACACACCCAGGCAAGCCCCAACTCATGATT TCTGAGGTCAATAAAGCGCCCTCAGGGGTTCTAATCGCTTCTCTGGCTC CAAGTCTGGCAACAGGCTCTCTGACCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGG ACGAGGCTGATTATTACTGCACTCATTTACAAGCGGCTCCCTGGGTC GTCTTCGGCGGAGGACCAAGCTGACCGTCTA	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна $V_L$	g-194-e01
343	CAGTCTGCCCTGACTCAGCTGCTCCGTGTCTGGGTCTCTGGACAGTC GATCACCATCTCTGCACTGGAACCAAGTAATGAGCTTGGTCTTATAATT ATGTCTCTCTGGTACCAACACACCCAGGCAAGCCCCAACTCATGATT TCTGAGGTCAATAAAGCGCCCTCAGGGGTTCTAATCGCTTCTCTGGCTC CAAGTCTGGCAACAGGCTCTCTGACCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGG ACGAGGCTGATTATTACTGCACTCATTTACAAGCGGCTCCCTGGGTC GTCTTCGGCGGAGGACCAAGCTGACCGTCTA	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна $V_L$	g-194-e06
344	ASTKQPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPVAVLQSS GLYSLSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKQVEP KSCDKHTHCF ECPAPELGG PSVLEFPPKP KDTLMISRTF EVTCVVDVS HEDPEVKENK YVDGVEVHNA KTKPREQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTFPV LQSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFCFSV MHEALHNNHYT QKSLSLSPGK	Константна область легкого ланцюга $IgG_1$	
345	GQPKAAPSVF LFPSSSEELQ ANKATLVCLISDFEPAVTV AWKADSSPVK AGVETTPSK QSNKKYPAAS YLSLTPEQMK SHRSYSQVIT HEGSTVEKTV APTECS		Bci
346	MENSHVFLFF LSVITGVHS	Сигнальна последовательность важного ланцюга	Bci
347	MSVPTQVLGL LLLMLTDARC	Сигнальна последовательность легкого ланцюга	Bci

Фиг. 1Z