



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **118954** (13) **C2**

(51) МПК (2019.01)

**C07K 16/28** (2006.01)**A61K 39/395** (2006.01)**C07K 14/00****G01N 33/531** (2006.01)**A61P 17/00**

МІНІСТЕРСТВО  
ЕКОНОМІЧНОГО  
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД**

<b>(21)</b> Номер заявки:	<b>а 2014 13210</b>	<b>(73)</b> Власник(и):	<b>ЮСБ ФАРМА С.А.</b> , 60 Allée de la Recherche, B-1070 Brussels, Belgium (BE)
<b>(22)</b> Дата подання заявки:	<b>13.05.2013</b>	<b>(74)</b> Представник:	<b>Кістерський Кирило Арсенійович,</b> <b>реєстр. №207</b>
<b>(24)</b> Дата, з якої є чинними права на винахід:	<b>10.04.2019</b>	<b>(56)</b> Перелік документів, взятих до уваги експертизою:	US 2007092507 A1, 26.04.2007 WO 2005013912 A2, 17.02.2005 WO 2009080764 A2, 02.07.2009 WO 2006106323 A1, 12.10.2006 CHRISTIANSON GREGORY J. et al. Monoclonal antibodies directed against human FcRn and their applications. MABS, 2012, vol. 4, no. 2, P. 208 - 216 GETMAN KATE E. et al. Pharmacokinetic effects of 4C9, an anti-FcRn antibody, in rats: implications for the use of FcRn inhibitors for the treatment of humoral autoimmune and alloimmune conditions. Journal of pharmaceutical sciences, American pharmaceutical association, Washington, US, 2005, vol. 94, no. 4, P. 718 - 729 WARK K.L. et al. Latest technologies for the enhancement of antibody affinity. Advanced drug delivery reviews, Elsevier BV, Amsterdam, NL, 2006, Vol. 58, no. 5-6, P. 657 - 670 ALTSHULER E.P. et al. Generation of recombinant antibodies and means for increasing their affinity. Biochemistry (Moscow), 2010, Vol. 75, no. 13, P. 1584 - 1605 CHOWDHURY P.S. et al. Improving antibody affinity by mimicking somatic hypermutation in vitro", Nature biotechnology, Nature publishing group, New York, NY, US, 1999, Vol. 17, P. 568 - 572
<b>(31)</b> Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	<b>1208370.5</b>		
<b>(32)</b> Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	<b>14.05.2012</b>		
<b>(33)</b> Код держави- учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку:	<b>GB</b>		
<b>(41)</b> Публікація відомостей про заявку:	<b>10.02.2015, Бюл.№ 3</b>		
<b>(46)</b> Публікація відомостей про видачу патенту:	<b>10.04.2019, Бюл.№ 7</b>		
<b>(86)</b> Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ	<b>PCT/EP2013/059802,</b> <b>13.05.2013</b>		
<b>(72)</b> Винахідник(и): <b>Фінней Хелен Маргарет (GB),</b> <b>Лоусон Аластайр Девід Гріффітс (GB),</b> <b>Шоу Стівен Грехем (GB),</b> <b>Сміт Брайн Джон (GB),</b> <b>Тайсон Керрі Луїз (GB),</b> <b>Кеворкіан Лара (GB),</b> <b>Мейер Крістоф (GB),</b> <b>Саркар Каушій (GB),</b> <b>Атерфолд Поль Алан (GB)</b>			

**(54) АНТИ-FcRn АНТИТІЛО****(57)** Реферат:**UA 118954 C2**

Винахід стосується анти-FcRn антитіла, або його зв'язуючого фрагмента, аналізу для тестування здатності зазначеного антитіла блокувати активність FcRn людини, виділеної послідовності ДНК, вектора клонування або експресії, клітини-хазяїна, способу отримання такого антитіла, фармацевтичної композиції, способу лікування пацієнта від аутоімунних захворювань, опосередкованих FcRn.

Винахід відноситься до антитіл, специфічних до FcRn, композицій, що їх містять, використання кожного з них в терапії, до способів опису і, частково, розробки зазначених антитіл, ДНК розкодування антитіл і носіїв, що містять зазначену ДНК.

FcRn є нековалентний комплекс ланцюгів мембранних білків FcRn  $\alpha$  і -мікроглобуліну  $\beta$ 2 (β2M). У дорослих ссавців FcRn грає ключову роль у підтримці рівня сироваткових антитіл, виступаючи в якості рецептора, який зв'язує та зберігає антитіла ізотипу IgG. Молекули IgG є ендокитарними ендотеліальними клітинами і, якщо вони зв'язуються з FcRn, то повертаються в трансцитозні, наприклад, через циркуляцію. На противагу цьому молекули IgG, що не зв'язуються з FcRn, проникають в клітини й орієнтовані на лізосомний шлях, де вони руйнуються. Варіант IgG1, в якому His435 мутує в аланін, призводить до селективної втрати зв'язування з FcRn, і період напіврозпаду сироватки крові значно знижується (Firan in 2001, Міжнародна імунологія. 13: 993).

Висловлюється гіпотеза, що FcRn є потенційною терапевтичною мішенню для деяких аутоімунних розладів, викликаних, щонайменше частково, аутоантитілами. Сучасне лікування деяких таких розладів включає плазмаферез. Іноді плазмаферез використовується разом із імуносупресивною терапією для довгострокового лікування цієї хвороби. Плазмаферез пропонує найшвидшу короткострокову відповідь на видалення шкідливих аутоантитіл. Тим не менш, він також може бути бажаним, щоб придушити вироблення аутоантитіл імунною системою, наприклад, за допомогою лікарських препаратів, таких як преднізолон, циклофосфамід, циклоспорин, мікофенолят мофетіла, ритуксимаб або їх суміші.

Приклади захворювань, які можна лікувати плазмаферезом, включають: синдром Гієна-Барра; хронічні запальні демієлінізуючі полінейропатії; синдром Гудпасчера; синдроми гіперв'язкості; кріоглобулінемія; парапротеїнемія; макроглобулінемія Валденстрома; ускладнена міастенія; тромботичний тромбоцитопенічний пурпур (ТТП)/гемолітико-уремічний синдром; гранульоматоз Вегенера; синдром Ламберт-Ітона; антифосфоліпідний синдром антитіл (АФС або APS); мікроскопічні поліангіїти; рецидивуючий осередковий і сегментний гломерулосклероз у пересаджених нирках; синдром HELLPS; синдром PANDAS; хвороба Рефсума; синдром Бехчета; ВІЛ-пов'язана нейропатія; хвороба Грейвса у дітей та новонароджених; пухирчатка звичайна; розсіяний склероз, гострий некроз скелетних м'язів і алоїмунне захворювання.

Плазмаферез іноді використовується в якості терапії порятунку для видалення Fc вміщуючих препаратів, наприклад, в надзвичайних ситуаціях до зниження серйозних побічних ефектів.

Хоча плазмаферез корисний в деяких медичних умовах існують потенційні ризики й ускладнення, пов'язані з такою терапією. Введення досить великого внутрішньовенного катетера може призвести до кровотечі, пункції легенів (залежно від ділянки катетера), і, якщо катетер залишається у венах занадто довго, то це може призвести до інфекції та/або пошкодження вен, що обмежує можливість повторити процедуру.

Процедура має подальші ускладнення, пов'язані з нею, наприклад, коли кров пацієнта знаходиться поза тілом і проходить через інструмент плазмаферезу, тоді кров має тенденцію до звертання. Щоб зменшити цю тенденцію, в одному загальному протоколі, надають цитрат тоді, як кров тече через ланцюг плазмаферезу. Цитрат пов'язує кальцій в крові, який є суттєвим для запобігання згортання крові. Цитрат є дуже ефективним у запобіганні згортання крові, однак, його використання може призвести до загрозливо низького для життя рівню кальцію. Це може бути виявлено за допомогою симптомів Чвостек або Труссо. Щоб запобігти цьому ускладненню, кальцій надають внутрішньовенно в той самий час, як пацієнт проходить плазмаферез; крім того, добавки кальцію перорально також можуть бути надані.

Інші ускладнення процедури включають в себе: гіпотонію; потенціальний вплив на продукти крові, з ризиком реакцій на переливання, або захворювань, що передаються шляхом переливання, придушення імунної системи пацієнта та кровотечу або гематоми від розміщення голки.

Крім того засоби, які забезпечують плазмаферез, обмежені та процедура дуже дорога. Альтернативою плазмаферезу є внутрішньовенне введення імуноглобуліну (IVIG), який являє собою продукт крові, що містить варіант об'єднаного поліклонального IgG, екстрагованого з плазми більше як тисячі донорів крові. Препарати вводять внутрішньовенно та лікування триває від 2 тижнів до 3 місяців. Ускладнення при лікуванні ВВІГ включають головні болі, дерматит, вірусні інфекції від забруднення терапевтичного продукту, наприклад ВІЛ або гепатит, набряк легенів, алергічні реакції, гостру ниркову недостатність, тромбоз і асептичний менінгіт. Таким чином, існує значна незадоволена потреба в терапії для імунологічних та/або аутоімунних порушень, які менш інвазивні й які приводять пацієнтів до менших ускладнень. Відповідно агенти, які блокують або зменшують зв'язування IgG до FcRn, можуть бути корисні в лікуванні

або профілактиці таких аутоімунних і запальних захворювань. Анти-FcRn антитіла були описані раніше у WO2009/131702, WO2007/087289 і WO2006/118772.

Проте, залишається потреба у поліпшених анти-FcRn антитілах.

Опис винаходу

5 Таким чином, в одному з аспектів пропонується анти-FcRn антитіла, або їх зв'язані фрагменти, які включають довгі ланцюги або фрагменти довгих ланцюгів, що мають варіативну ділянку, яка відрізняється тим, що вказана варіативна ділянка включає один, два або три CDR, незалежно вибраних із SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 і SEQ ID NO: 3, наприклад, в якому CDR H1 є SEQ ID NO: 1, CDR H2 є SEQ ID NO: 2 і CDR H3 є SEQ ID NO: 3.

10 В іншому аспекті пропонується антитіло або його фрагмент, який містить послідовність, або комбінації послідовностей, як тут визначено, наприклад варіативну область споріднених пар.

Описані антитіла блокують зв'язування IgG до FcRn і, як вважається, можуть бути корисними в зниженні однієї або декількох біологічних функцій FcRn, в тому числі для зниження напіврозпаду циркулюючих антитіл. Це може бути корисним в тому, що дозволяє пацієнту швидше очиститися від антитіл, і таких як аутоантитіла.

15 Важливо відзначити, що антитіла даного винаходу здатні зв'язувати FcRn людини при обох значеннях, як pH 6, так і pH 7,4 з порівняно високою спорідненістю зв'язування. Переважно тому антитіла здатні продовжувати пов'язувати FcRn навіть з ендосомами, тим самим максимізуючи блокування зв'язування FcRn з IgG, дивись Фіг. 10, на якому показаний механізм.

20 В одному з варіантів антитіла, або зв'язуючі фрагменти відповідно до цього винаходу, містять короткі ланцюги, або короткі ланцюги фрагмента, що мають варіативну область, наприклад, включають один, два або три CDR, незалежно вибрані з SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 і SEQ ID NO: 6, зокрема, в якому CDR L1 є SEQ ID NO: 4, CDR L2 являє собою SEQ ID NO: 5, і CDR L3 є SEQ ID NO: 6.

25 В одному з варіантів цього винаходу антитіла або зв'язані фрагменти містять CDR послідовності SEQ ID NO: від 1 до 6, наприклад такі, які відрізняються наступним: CDR H1 є SEQ ID NO: 1, CDR H2 є SEQ ID NO: 2, CDR H3 є SEQ ID NO: 3, CDR L1 є SEQ ID NO: 4, CDR L2 являє собою SEQ ID NO: 5, і CDR L3 є SEQ ID NO: 6.

30 Винахід також поширюється на полінуклеотид, такий як ДНК, що кодує антитіло або його фрагмент, як описано тут.

Також запропоновано клітину-носія, що містить вказаний полінуклеотид.

Методи отримання антитіла або його фрагмента приведені в даному описі, також як і методи кон'югації антитіла або фрагмента з полімером, таким як ПЕГ.

35 Винахід також відноситься до фармацевтичних композицій, які містять зазначені антитіла та їх фрагменти.

В одному варіанті здійснення запропонований спосіб лікування, який включає введення терапевтично ефективної кількості антитіла, його фрагмента або композиції, як описано тут.

40 Винахід також поширюється на антитіло, їх фрагмент або композицію відповідно до цього опису для використання в лікуванні, зокрема, в лікуванні імунологічного та/або аутоімунного порушення. Таким чином, даний винахід забезпечує антитіла, їх фрагменти та методи для видалення патогенних IgG, яке досягається за рахунок прискорення природного механізму організму для каталізації IgG.

По суті антитіла та їх фрагменти відповідно до опису блокують систему, яка переробляє IgG в організмі.

45 Ця терапія може забезпечити заміну або доповнення для деяких захворювань, де лікуванням є плазмаферез або IVIg терапія, що є перевагою для пацієнтів.

Опис фігур

Фіг. 1 показує певні амінокислотні та полінуклеотидні послідовності.

Фіг. 2 показує вирівнювання окремих послідовностей.

50 Фіг. 3 показує порівняння зв'язку MDCK II людини до Fab-фрагмента відповідно до даного винаходу та його ПЕГ'ільованої версії.

Фіг. 4 показує Fab' фрагмент відповідно до цього винаходу і ПЕГ'ільовану версію інгібуючого IgG, що розчиняється в клітинах MDCK II.

55 Фіг. 5 показує ПЕГ'ільований Fab' фрагмент відповідно до цього винаходу, що інгібує апікальний та базолатеральний трансцитозис IgG в MDCK II клітинах.

Фіг. 6 показує порівняння зв'язування MDCK II собакоподібної мавпи для Fab' фрагмента відповідно до даного винаходу і його ПЕГ'ільованої версії.

Фіг. 7 показує ПЕГ'ільований Fab' фрагмент відповідно до даного винаходу, що інгібує IgG переробку в MDCK II клітинах для людини і собакоподібних мавп.



Фіг. 8 показує ефект одноразової дози ПЕГ'ільованої Fab' молекули відповідно до опису на рівні плазматичного IgG в макаках.

Фіг. 9 показує вплив чотирьох щотижневих доз ПЕГ'ільованої Fab' молекули на рівні IgG у плазмі відповідно до винаходу.

5 Фіг. 10 показує схематичне представлення функції рециркуляції антитіла FcRn інгібованого блокуючим білком.

Фіг. 11 показує аналіз проточної цитометрії основного блокуючого IgG людини з використанням очищених гамма 1 IgG антитіл.

10 Фіг. 12 показує IgG фармакодинаміку Fab' PEG одиночні/тимчасові дози IV мг/кг в дні 1 і 67, у нормальних собакоподібних мавп.

Фіг. 13 показує IgG Fab'PEG: фармакодинаміку при повторі IV доз в нормальних собакоподібних мавп 4 × 20 або 100 мг/кг на тиждень.

Фіг. 14 показує IgG фармакодинаміку Fab' PEG одиночні/тимчасові дози IV у нормальних собакоподібних мавп - 20 мг/кг і 100 мг/кг в дні 1 і 67.

15 Фіг. 15 показує рівні IgG плазми в 4 макаки після 2 IV доз 20 мг/кг 1519.g57 Fab' PEG.

Фіг. 16 показує рівні IgG плазми в 4 макаки, які отримують 10 IV дози 20 мг/кг 1519.g57 Fab' PEG один раз в 3 дні.

Фіг. 17 показує вплив двох 30 мг/кг внутрішньовенних доз 1519.g57 IgG4P на ендogenous IgG у плазмі макаки.

20 Фіг. 18 показує вплив дози 30 мг/кг 1519.g57 IgG, якщо після неї вводиться 41 добова доза 5 мг/кг 1519.g57 IgG4P на IgG у плазмі макаки.

Фіг. 19 показує результат щоденного дозування спеціального засобу на IgG плазми в макаки.

Фіг. 20 показує підвищений кліренс IV hIgG у плазмі hFcRn трансгенних мишей, що отримували CA170\_01519.g57 Fab' PEG або PBS IV.

25 Фіг. 21 показує підвищений кліренс IV hIgG у плазмі hFcRn трансгенних мишей, що отримували CA170\_01519.g57 IgG1, або IgG4, або PBS IV.

Фіг. 22 показує підвищений кліренс IV hIgG у плазмі hFcRn трансгенних мишей, що отримували CA170\_01519.g57 Fab' - сироватковий альбумін людини, або PBS IV.

30 Фіг. 23 показує підвищений кліренс IV hIgG у плазмі hFcRn трансгенних мишей, що отримували CA170\_01519.g57 FabFv, або PBS IV.

Фіг. 24 показує підвищений кліренс IV hIgG у плазмі hFcRn трансгенних мишей оброблених CA170\_01519.g57 Fab, або Fab'PEG, або PBS IV.

Фіг. 25 показує бі-специфічний білок злитих антитіл за даним винаходом, що далі розглядається як Fab-dsFv.

35 Детальний опис винаходу

Використаний тут FcRn відноситься до нековалентного комплексу між людським IgG рецептором альфа-ланцюга, також відомим як неонатальний рецептор Fc, амінокислотна послідовність якого знаходиться в UniProt під номером P55899, з мікроглобуліном  $\beta 2$  ( $\beta 2M$ ), амінокислотна послідовність якого знаходиться в UniProt під номером P61769.

40 Молекула антитіла, яка використана тут, відноситься до антитіла або його зв'язуючого фрагменту.

Термін "антитіло", який використовується тут, відноситься в цілому до інтактних (цілих) антитіл, тобто таких, що включають елементи двох довгих ланцюгів і двох коротких ланцюгів. Антитіло може також містити додаткові зв'язуючі домени, наприклад, як в молекулі DVD-Ig, як описано у WO 2007/024715, або так званий (FabFv)<sub>2</sub> Fc, описаний у WO2011/030107. Таким чином антитіло, яке працює тут, включає бі-, три-, або тетра-валентні антитіла повної довжини.

Зв'язуючі фрагменти антитіл включають одноланцюгові антитіла (тобто повна довжина важкого ланцюга та короткого ланцюга); Fab, модифікований Fab, Fab', модифікований Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fv, Fab-Fv, Fab-dsFv, однодоменні антитіла (наприклад, VH або VL, або VHH), ScFv, бі-, 50 три- або тетра-валентні антитіла, Bis-ScFv, діатіла, тритіла, триатіла, тетратіла й епітокси-зв'язуючі фрагменти будь-якого зі зазначених вище антитіл (наприклад, див Голігер і Хадсон, 2005, Nature Biotech 23 (9): 1126-1136; Адер і Лоусон, 2005, Drug Design Reviews-Online 2 (3), 209-217). Способи створення та виготовлення цих фрагментів антитіл добре відомі в цій галузі (дивись, наприклад, Верма та ін., 1998, Journal of Immunological Methods, 216, 165-181). Формат Fab-Fv був вперше розкритий у WO2009/040562 і дисульфід стабілізовані версії їх, Fab-dsFv 55 були вперше описані у WO2010/035012, див. також Фіг. 25. Інші фрагменти антитіл для використання в даному винаході включають Fab і фрагменти Fab', описані у міжнародних патентних заявках WO2005/003169, WO2005/003170 і WO2005/003171. Полівалентні антитіла можуть містити декілька особливостей, наприклад бути бі-специфічними, або можуть бути

моноспецифічними (дивись, наприклад, WO 92/22583 та WO05/113605). Одним із таких прикладів є Tri-Fab (або TFM), як описано у WO92/22583.

Типова молекула Fab' містить пару важкого та короткого ланцюгів, в якій важкий ланцюг містить варіабельну область VH, CH1 постійний домен та природну або модифіковану петлю, і легкий ланцюг містить варіабельну область VL і постійний домен CL.

В одному варіанті здійснення винаходу запропонований димер Fab' відповідно до даного винаходу, щоб створити  $F(ab')_2$ , наприклад, димеризація може здійснюватися через петлю.

В одному варіанті здійснення винаходу антитіло або його зв'язуючий фрагмент містить зв'язуючий домен. Зв'язуючий домен, як правило, включає в себе шість CDRs, три з важкого ланцюга та три з короткого ланцюга. В одному варіанті здійснення CDR обмежені та разом утворюють варіабельну ділянку. Таким чином, в одному варіанті здійснення антитіло або зв'язуючий фрагмент містить специфічний зв'язуючий домен для антигену, що містить змінну область короткого ланцюга, і варіабельну ділянку важкого ланцюга.

Слід мати на увазі, що одна або більше (наприклад, 1, 2, 3 або 4) амінокислотних замінів, додавань і/або видалень можуть бути зроблені до CDR, або інших послідовностей (наприклад, варіабельних доменів), що надаються відповідно до даного винаходу без значної зміни здатності антитіла до зв'язування з FcRn. Ефект будь-яких амінокислотних замінів, додавань і/або видалень може бути легко перевірений фахівцями в даній області техніки, наприклад, за допомогою методів, описаних в даному документі, зокрема, у Прикладах, щоб визначити FcRn.

Одна або більше (наприклад, 1, 2, 3 або 4) амінокислотних замінів, додавань і/або видалень можуть бути зроблені в обмеженій області, яка використовується в антитілі або фрагменті, що передбачені цим винаходом, який відрізняється тим, що в ньому спорідненість зв'язування з FcRn збережена або збільшена.

Залишки варіабельних доменів антитіл умовно пронумеровані відповідно до системи, розробленої Кабат та ін. Ця система викладена в Кабат та ін., 1987, в *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, US Department of Health and Human Services, NIH, USA (далі Кабат і ін. (supra)). Ця система нумерації використовується в даному описі, якщо не вказано інше.

Визначення KABAT залишків не завжди відповідають безпосередньо лінійній нумерації амінокислотних залишків. Фактична лінійна послідовність амінокислот може містити менше або додаткові амінокислоти, ніж в точній KABAT нумерації, відповідно до вкорочення або вставки до структурного компонента, обмеженої або гіперваріабельної області (CDR) основної змінної доменної структури. Правильна KABAT нумерація залишків може бути визначена для даного антитіла за допомогою вирівнювання гомології залишків у послідовності антитіл з "стандартної" KABAT пронумерованої послідовності.

CDR з варіабельного домену важкого ланцюга, розташованого в залишках 31-35 (CDR-H1), залишках 50-65 (CDR-H2) і залишках 95-102 (CDR-H3) відповідно до системи нумерації KABAT. Проте, відповідно до Chothia (Chothia, C і Lesk, AMJ Mol. Biol., 196, 901-917 (1987)) цикл, еквівалентний CDR-H1, простягається від залишку 26 до залишку 32. Таким чином, якщо не вказано інше CDR-H1, як використано тут, призначений для позначення залишків з 26 по 35, як описано за допомогою комбінації системі нумерації KABAT та визначення топологічної петлі Chothia.

CDR з варіабельного домену короткого ланцюга розташовані в залишках 24-34 (CDR-L1), залишках 50-56 (CDR-L2) і залишках 89-97 (CDR-L3) відповідно до системи нумерації KABAT.

Антитіла та фрагменти FcRn даного опису можуть, таким чином, запобігти його функціонуванню у переробці IgG. Блокування, яке використовується в даному описі, відноситься до фізичного блокування, такого як окклюзія рецептора, але буде також включати можливість того, що вказане антитіло, або його фрагменти, пов'язують епітоп, який викликає, наприклад, конформаційну зміну, яка означає, що природний ліганд більше не пов'яже рецептор. Молекули антитіл даного винаходу зв'язуються з FcRn і тим самим зменшують, або запобігають (наприклад, блокують) зв'язування FcRn з константною областю IgG. В одному варіанті здійснення антитіло або його фрагмент зв'язується з FcRn конкурентно по відношенню до IgG.

В одному прикладі антитіло або його зв'язуючий фрагмент діє як конкурентний інгібітор людського FcRn зв'язуючи людський IgG. В одному прикладі здійснення винаходу антитіло або його зв'язуючий фрагмент зв'язується з областю зв'язування IgG до FcRn. В одному прикладі здійснення антитіло або його зв'язуючий фрагмент не зв'язує  $\beta 2M$ .

Антитіла для застосування в даному опису можуть бути отримані з використанням будь-якого відповідного способу, відомого в даній галузі техніки. FcRn поліпептид/білок включає злиті білки, клітини (природні або рекомбіновані), експресуючі поліпептиди (наприклад, активовані Т-клітинами) можуть бути використані для отримання антитіл, які специфічно розпізнають FcRn.

Поліпептид може бути 'зрілим' поліпептидом, або біологічно активним фрагментом, або його похідною. Людський білок зареєстрований в Swiss-Prot під номером P55899. Позаклітинний домен людського FcRn альфа-ланцюга представлений в SEQ ID NO: 94. Послідовність  $\beta$ 2М представлена в SEQ ID NO: 95.

В одному варіанті здійснення винаходу антиген являє собою мутантну форму FcRn, яка сконструйована так, щоб представити FcRn на поверхні клітини, таким чином, щоб було мало або взагалі не було динамічної обробки, де FcRn інтерналізується в клітині, наприклад, це може бути досягнуто шляхом мутації в цитоплазматичній кінцевій частині FcRn альфа-ланцюга в якому ди-лейцин мутує в ді-аланін як зазначено (Ober в 2001 Міжнародна імунологія 13, 1551-1559).

Поліпептиди, які використовуються для імунізації клітини-хазяїна, можуть бути отримані за допомогою процесів добре відомих в даній галузі генетично модифікованих клітин-хазяїнів, що містять системи експресії, або вони можуть бути вилучені з природних біологічних джерел. В даній заявці термін "поліпептиди" включає пептиди, поліпептиди та білки. Вони використовуються як взаємозамінні, якщо не вказано інше. FcRn поліпептид може в деяких випадках бути частиною більш великого білка, такого як гібридний білок, наприклад злитого з спорідненою міткою або аналогічний.

Антитіла, отримані проти FcRn поліпептиду, можуть бути отримані, коли необхідна імунізація тварини, шляхом введення поліпептидів в організм тварини, переважно не людського, а тваринного походження, з використанням добре відомих і рутинних протоколів, дивись, наприклад, Довідник з експериментальної імунології, DM Вейр (ред.), том 4, Blackwell Scientific Publishers, Oxford, England, 1986). Багато теплокровних тварин, таких як кролики, миші, щури, вівці, корови, свині чи верблюди можуть пройти імунізацію. Проте, миші, кролі, свині та щури, як правило, найбільш придатні для цього.

Моноклональні антитіла можуть бути отримані будь-яким способом, відомих в даній області, таким як гібридні методи (Kohler & Milstein, 1975, Nature, 256: 495-497), триомний, техніка гібридних людських В-клітин (Kozbor та ін., 1983, Immunology Today, 4:72) і методом EBV-гібриду (Cole та ін., Моноклональні антитіла та лікуванню раку, pp77-96, Алан Р. Лісс, Inc., 1985).

Антитіла для застосування в даному винаході, також можуть бути отримані з використанням методів створення антитіл одиночних лімфоцитів, шляхом клонування та експресії імуноглобуліну в змінних ДНК областях, отриманих від окремих лімфоцитів, що вибрані для виробництва специфічних антитіл, наприклад, методами, описаними Babcook, J. і ін., 1996, Proc. Natl. Acad. Sci. США 93 (15): 7843-7848; WO92/02551; WO2004/051268 і Міжнародний номер заявки на патент WO2004/106377.

Скринінг на антитіла може бути виконаний з використанням аналізів для вимірювання зв'язування з FcRn людини та/або аналізів, щоб виміряти здатність блокувати IgG зв'язування з рецептором. Приклад аналізів зв'язування є ELISA, зокрема, з використанням злитого людського білка FcRn і Fc, який, іммобілізовано в чашках, і з використанням вторинного антитіла для виявлення анти-FcRn, пов'язаного зі злитим білком. Приклади підходящих антагоністів і блокуючих аналізів, описані тут у прикладах.

Гуманізовані антитіла (які включають в себе CDR-щеплені антитіла) є молекулами антитіл, що мають одну або більше компліментарних областей (CDR) з нелюдських видів і обмежену область з молекули імуноглобуліну людини (див., наприклад, США 5585089; WO91/09967). Слід мати на увазі, що це може бути необхідно тільки для того, щоб передати специфіку визначення залишків з CDR, а не весь CDR (див., наприклад, Кашмірі та ін., 2005, Methods, 36, 25-34). Гуманізовані антитіла можуть додатково містити один або декілька обмежених залишків, отриманих не з людських зразків, з яких походить CDR. Останні часто називають залишками донорів. Визначення, які використовуються в даному описі, призначені для позначення антитіл, що розпізнає тільки антиген, до якого вони специфічні або антитіло, яке має значно вищу спорідненість зв'язування з антигеном, до якого він специфічний порівняно з прив'язкою до антигенів, до яких це неспецифічно, наприклад таких, що мають принаймні в 5, 6, 7, 8, 9, 10 разів вищу зв'язуючу спорідненість. Спорідненість зв'язування (афінність) може бути виміряна за допомогою методик, таких як BIAcore, як описано тут нижче. В одному прикладі здійснення даного винаходу антитіло не зв'язує  $\beta$ 2 мікроглобулін ( $\beta$ 2M). В одному прикладі здійснення даного винаходу антитіло зв'язує FcRn собакоподібних мавп. В одному прикладі здійснення даного винаходу антитіло не зв'язує FcRn щурів або мишей.

Амінокислотні послідовності та полінуклеотидні послідовності певних антитіл відповідно до цього винаходу показані на фігурах.

В одному варіанті відповідно до винаходу антитіла або фрагменти є гуманізованими.

Як використовується тут, термін "гуманізувати молекулу антитіла" відноситься до молекули антитіла, в якій довгі/або короткі ланцюги містять один або декілька CDR, (в тому числі, якщо бажано, один або декілька модифікованих CDR) з донорного антитіла (наприклад, не-людського антитіла, таких як мишачі моноклональні антитіла), щеплені у довгі та/або короткі ланцюги варіабельні ділянки обмеженого акцепторного антитіла (наприклад, антитіла людини). Для огляду див. Vaughan та ін. *Nature Biotechnology*, 16, 535-539, 1998. В одному з варіантів здійснення, не всі CDR, які передаються, а тільки один або декілька з специфічно визначених залишків із будь-якого одного з CDR, описаних тут вище, переведені в рамки людського антитіла (див., наприклад, Кашмірі та ін., 2005, *Methods*, 36, 25-34). В одному варіанті тільки специфічність визначення залишків із одного або більше з CDR, описаних тут вище, переноситься в рамки людського антитіла.

В іншому варіанті здійснення тільки специфічно визначені залишки від кожної з CDR, описаних тут вище, переносяться в рамки людського антитіла.

Коли CDR, або специфічно визначені залишки прищеплені, любий відповідний акцептор послідовності варіабельної обмеженої області може бути використаний відносно до класу/типу донорського антитіла, з якого отримують CDR, в тому числі від обмежених областей мишей, приматів і людини.

Відповідно, гуманізоване антитіло даного винаходу має варіабельний домен, що включає акцепторні обмежені області людини, а також один або більше з CDR, передбачених в даному документі спеціально. Таким чином, в одному описі винаходу є блоковане гуманізоване антитіло, що зв'язується з FcRn людини, яке відрізняється тим, що варіабельний домен містить акцепторну обмежену область людини та нелюдські донорські CDR.

Приклади обмежених областей антитіла людини, які можуть бути використані в даному винаході, є KOL, NEWM, REI, EU, TUR, TEI, LAY і POM (Kabat та ін., вище). Наприклад, KOL і NEWM можна використовувати для важкого ланцюга, REI може використовуватися для короткого ланцюга та EU, LAY і POM можуть бути використані як для важкого ланцюга, так і для короткого ланцюга. Альтернативно, можуть бути використані послідовності зародкової лінії людини; вони доступні за адресою: <http://vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/>.

В гуманізованому антитілі даного винаходу акцептор довгих і коротких ланцюгів не обов'язково повинен бути отриманий з того самого антитіла і, якщо бажано, містить складові ланцюги, що мають обмежені ділянки, отримані з різних ланцюгів.

Один із таких придатних для обмеженої області важкий ланцюг гуманізованого антитіла даного винаходу отримують з людської підгрупи VH3 послідовності 1-3 3-07 разом із JH4 (SEQ ID NO: 56).

Відповідно, в одному прикладі застосоване гуманізоване антитіло, що містить послідовність, зазначену в SEQ ID NO: 1 для CDR-H1, послідовність, зазначену в SEQ ID NO: 2 для CDR-H2 і послідовність, зазначену в SEQ ID NO: 3 для CDRH3, яка відрізняється тим, що обмежена область важкого ланцюга походить від людської підгрупи VH3 послідовності 1-3 3-07 разом із JH4.

Послідовність людського JH4 полягає в наступному: (YFDY) WGQGTLVTVS (SEQ ID NO: 70). YFDY мотив є частиною CDR-H3 і не є частиною обмеженої області 4 (Ravetch, СП. І ін., 1981, *Cell*, 27, 583-591).

В одному прикладі варіабельний домен важкого ланцюга антитіла включає послідовність, зазначену в SEQ ID NO: 29.

Підходящою для обмеженої області короткого ланцюга гуманізованого антитіла даного винаходу є похідна від зародкової лінії людини підгрупи VK1 послідовності 2-1- (1) A30 разом із JK2 (SEQ ID NO: 54).

Відповідно, в одному прикладі винаходу застосоване гуманізоване антитіло, що містить послідовність, зазначену в SEQ ID NO: 4 для CDR-L1, послідовність, зазначену в SEQ ID NO: 5 для CDR-L2 і послідовність, зазначену в SEQ ID NO: 6 для CDRL3, де обмежена область короткого ланцюга походить від людської підгрупи VK1 послідовності 2-1- (1) A30 разом із JK2.

Послідовність JK2 наступна: (YT) FGQGTLKLEIK (SEQ ID NO: 71). YT мотив є частиною CDR-L3 і не є частиною обмеженої області 4 (Hieter, PA., І ін., 1982, *J. Biol. Chem.*, 257, 1516-1522).

В одному прикладі варіабельний домен короткого ланцюга антитіла включає послідовність, зазначену в SEQ ID NO: 15.

В гуманізованому антитілі даного винаходу обмежені області не повинні мати точно таку саму послідовність, що і такі самі з акцепторного антитіла. Наприклад, незвичайні залишки можуть бути замінені на залишки для цього ж класу, або типу акцептора ланцюга, що більш часто зустрічається. Альтернативно, вибрані залишки в обмеженій області акцептора можуть бути замінені таким чином, щоб вони відповідали залишку, знайденому в тому самому

положенні в донорському антитілі (див. Райхманн та ін., 1998, Nature, 332, 323-324). Такі заміни мають бути зведені до мінімуму, необхідному для відновлення спорідненості донорського антитіла. Протокол для вибору залишків в обмежених областях акцептора, які, можливо, мають бути замінені, викладено у WO91/09967.

5 Таким чином, в одному варіанті здійснення винаходу залишки 1, 2, 3, 4, або 5 в обмежених областях замінені на альтернативний амінокислотний залишок.

Відповідно, в одному прикладі винаходу застосовано гуманізоване антитіло, яке відрізняється тим, що щонайменше залишки в кожній з позицій 3, 24, 76, 93 і 94 варіабельного домену важкого ланцюга (Kabat нумерації) є донорськими залишками, дивись, наприклад, 10 послідовності, зазначені в SEQ ID NO: 29.

В одному варіанті здійснення винаходу залишок 3 важкого ланцюга варіабельного домену замінений на альтернативну амінокислоту, наприклад, глутамін.

В одному варіанті опису залишок 24 важкого ланцюга варіабельного домену замінений на альтернативну амінокислоту, наприклад, аланін.

15 В одному варіанті опису залишок 76 варіабельного домену важкого ланцюга замінений на альтернативну амінокислоту, наприклад, аспарагін.

В одному варіанті опису залишок 93 важкого ланцюга замінений на альтернативну амінокислоту, наприклад, аланін.

20 В одному варіанті опису залишок 94 важкого ланцюга замінений на альтернативну амінокислоту, наприклад, аргінін.

В одному варіанті опису залишок 3 є глутамін, залишок 24 є аланін, залишок 76 є аспаргін, залишок 93 є аланін і залишок 94 являє собою аргінін у варіабельній ділянці важкого ланцюга гуманізованого антитіла відповідно до даного винаходу.

25 Відповідно, в одному прикладі застосоване гуманізоване антитіло, яке відрізняється тим, що щонайменше залишки в кожній з позицій 36, 37 і 58 варіабельного домену короткого ланцюга (Kabat нумерації) є залишками донора, наприклад, див послідовність, наведену в SEQ ID NO: 15.

В одному варіанті здійснення винаходу залишок 36 варіабельного домену короткого ланцюга замінений на альтернативну амінокислоту, наприклад, тирозин.

30 В одному варіанті здійснення винаходу залишок 37 варіабельного домену короткого ланцюга замінений на альтернативну амінокислоту, наприклад, глутамін.

В одному варіанті здійснення винаходу залишок 58 варіабельного домену короткого ланцюга замінений на альтернативну амінокислоту, наприклад, валін.

35 В одному варіанті здійснення винаходу залишок 36 є тирозин, залишок 37 є глутамін і залишок 58 є валін, в гуманізованій варіабельній ділянці важкого ланцюга відповідно до даного винаходу.

40 В одному варіанті здійснення винаходу опис запроваджує послідовність антитіл, які на 80 % подібні або ідентичні послідовностям, розкритим у даному описі, наприклад 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % частини або всієї відповідної послідовності, наприклад послідовності варіабельного домену, послідовності CDR або послідовності варіабельного домену, за винятком CDR. В одному варіанті здійснення відповідна послідовність є SEQ ID NO: 15. В одному варіанті здійснення відповідна послідовність є SEQ ID NO: 29.

45 В одному варіанті здійснення даного винаходу застосована молекула антитіла, яка зв'язується з FcRn людини, що включає важкий ланцюг, який відрізняється тим, що варіабельний домен важкого ланцюга містить послідовність, що має щонайменше 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентичності або схожості з послідовністю, наведеною в SEQ ID NO: 29.

50 В одному варіанті здійснення даного винаходу застосована молекула антитіла, яка зв'язується з FcRn людини, що включає легкий ланцюг, який відрізняється тим, що варіабельний домен короткого ланцюга містить послідовність, що має щонайменше 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентичності або схожості з послідовністю, наведеною в SEQ ID NO: 15.

55 В одному варіанті здійснення даного винаходу застосована молекула антитіла, яка зв'язується з FcRn людини, яка відрізняється тим, що антитіло має варіабельний домен важкого ланцюга, який щонайменше на 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % подібний або ідентичний послідовності, зазначеній в SEQ ID NO: 29, але який відрізняється тим, що молекула антитіла має послідовності, зазначені в SEQ ID NO: 1 для CDR-H1, послідовності, зазначені в SEQ ID NO: 2 для CDR-H2 і послідовності, зазначені в SEQ ID NO: 3 для CDR-H3.

60 В одному варіанті здійснення даного винаходу застосована молекула антитіла, яка зв'язується з FcRn людини, яка відрізняється тим, що антитіло має варіабельний домен

короткого ланцюга, який щонайменше на 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % подібний або ідентичний послідовності, зазначений в SEQ ID NO: 15, але, яка відрізняється тим, що молекула антитіла має послідовності, зазначені в SEQ ID NO: 4 для CDR-L1, послідовності, зазначені в SEQ ID NO: 5 для CDR-L2 і послідовності, зазначені в SEQ ID NO: 6 для CDR-L3.

В одному варіанті здійснення даного винаходу застосована молекула антитіла, яка зв'язується з FcRn людини, яка відрізняється тим, що антитіло має варіабельний домен важкого ланцюга, який щонайменше на 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % подібний або ідентичний послідовності, зазначений в SEQ ID NO: 29 і варіабельний домен короткого ланцюга, який щонайменше на 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % подібний або ідентичний послідовності, зазначений в SEQ ID NO: 15, але який відрізняється тим, що молекула антитіла має послідовності, зазначені в SEQ ID NO: 1 для CDR-H1, послідовності, зазначені в SEQ ID NO: 2 для CDR-H2, послідовності, зазначені в SEQ ID NO: 3 для CDR-H3, послідовності, зазначені в SEQ ID NO: 4 для CDR-L1, послідовності, зазначені в SEQ ID NO: 5 для CDR-L2 і послідовності, зазначені в SEQ ID NO: 6 для CDR-L3.

Поняття "ідентичність", як воно використане тут, означає, що в будь-якому конкретному положенні зіставлених послідовностей, амінокислотний залишок ідентичний між послідовностями. Поняття "подібність", як воно використане тут, означає, що, в будь-якому конкретному положенні зіставлених послідовностей, амінокислотний залишок має подібний тип між послідовностями. Наприклад, лейцин може бути замінений на ізолейцин або валін. Інші амінокислоти, які часто можуть бути замінені одна на одну, включають, але не обмежуються наступними:

- Фенілаланін, тирозин і триптофан (амінокислоти, що мають ароматичні бічні ланцюги);
- лізин, аргінін і гістидин (амінокислоти, що мають основні бічні ланцюги);
- аспартат і глутамат (амінокислоти, що мають кислотні бічні ланцюги);
- аспарагін і глутамін (амінокислоти, що мають бічні ланцюги амідів); і
- цистеїн і метіонін (амінокислоти, що мають сірковмісні бічні ланцюги).

Ступені тотожності та схожості можна легко обчислити (Обчислювальна молекулярна біологія, Lesk, AM, вид., Oxford University Press, Нью-Йорк, 1988; Біо-обчислення Інформатика та геноми проєктів, Сміт, DW, Ед, Academic Press, Нью-Йорк, 1993; Комп'ютерний аналіз послідовності даних, частина 1, Гріффін, AM, і Гріффін, HG, ред. Humana Press, Нью-Джерсі., 1994; Аналіз послідовності в молекулярній біології, фон Heinje, G., Academic Press, 1987, Секвентування ґрунтовки, Грибсков, М. і Деверо Д., ред. М Стоктон Press, New York, 1991, Програмне забезпечення BLAST™ доступні з NCBI (Altschul, SF і ін. 1990, J. Mol Biol 215: .... 403-410; Гиш, W. & США, DJ 1993, Природа Жене 3: 266-272 Madden, TL та ін. 1996, Met Enzymol 266: ... 131-141; Altschul, SF і ін. 1997, Нуклеїнові кислоти Res 25: 3389-3402; Чжан, Дж. & Madden, TL 1997, Геном Res 7: 649-656).

Молекули антитіл даного винаходу можуть містити повну молекулу антитіла, що має довгі та короткі ланцюги або їх фрагменти, і можуть бути, але не обмежуються Fab, модифікований Fab, Fab', модифікований Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fv, антитіла одного домену (наприклад, VH або VL або VHH), ScFv, бі-, три- або тетра-валентні антитіла, біс-ScFv, діатіла, триатіла, тетратіла й епітоп-зв'язуючі фрагменти будь-якої зі зазначених вище молекул (див., наприклад, Holliger і Хадсон, 2005, Nature Biotech 23 (9): 1126-1136; Адер і Лоусон, 2005, Огляд дизайну медпрепаратів - Online 2 (3), 209-217). Способи створення та виготовлення цих фрагментів антитіл добре відомі в цій галузі (див., наприклад, Verma та ін., 1998, Журнал імунологічних методів, 216, 165-181). Інші фрагменти антитіл для використання в даному винаході включають Fab і фрагменти Fab', описані у міжнародних патентних заявках WO2005/003169, WO2005/003170 і WO2005/003171. Полівалентні антитіла можуть містити декілька особливостей, наприклад бути біспецифічними, або можуть бути моноспецифічними (див., наприклад, WO 92/22853, WO05/113605, WO2009/040562 і WO2010/035012).

В одному варіанті даного винаходу молекула антитіла є антитілом, фрагмент Fab', що містить варіабельні області, показані в SEQ ID NO: 15 і 29, наприклад, для короткого та важкого ланцюга відповідно. В одному варіанті молекула антитіла має легкий ланцюг, що містить послідовності, зазначені в SEQ ID NO: 22, і важкий ланцюг, що містить послідовності, зазначені в SEQ ID NO: 36.

В одному варіанті молекула антитіла даного винаходу являє собою повнорозмірне антитіло IgG1, що містить варіабельні області, показані в SEQ ID NO: 15 і 29, наприклад, для короткого та важкого ланцюга відповідно. В одному варіанті молекула антитіла має легкий ланцюг, що містить послідовності, зазначені в SEQ ID NO: 22, і важкий ланцюг, що містить послідовності, зазначені в SEQ ID NO: 72.

В одному варіанті молекула антитіла даного винаходу являє собою повний формат довжини IgG4, що містить варіабельні області, показані в SEQ ID NO: 15 і 29, наприклад, для короткого та важкого ланцюга відповідно. В одному варіанті молекула антитіла має легкий ланцюг, що містить послідовності, зазначені в SEQ ID NO: 22, і важкий ланцюг, що містить послідовності, зазначені в SEQ ID NO: 87.

В одному варіанті даного винаходу молекула антитіла являє собою повний формат довжини IgG4P і включає варіабельні області, показані в SEQ ID NO: 15 і 29, наприклад, для короткого та важкого ланцюга відповідно. В одному варіанті молекула антитіла має легкий ланцюг, що містить послідовності, зазначені в SEQ ID NO: 22, і важкий ланцюг, що містить послідовності, зазначені в SEQ ID NO: 43.

IgG4P, використаний тут, є мутацією дикого типу ізо типу IgG4, де амінокислота 241 замінена проліном, наприклад, де серин у положенні 241 був замінений на пролін, як описано в Angal та ін., *Molecular Immunology*, 1993, 30 (див. 1), 105-108.

В одному варіанті здійснення до даного винаходу антитіло застосоване як FcRn-зв'язане антитіло злитого білка, яке містить фрагмент імуноглобуліну, наприклад Fab або фрагмент Fab', і один або два однодоменних антитіла (dAb) прямо або опосередковано пов'язані з ним, наприклад, як описано у WO2009/040562, WO2010035012, WO2011/030107, WO2011/061492 і WO2011/086091, всі включені тут як посилання.

В одному варіанті здійснення злитий білок містить два домена антитіла, наприклад, у вигляді варіабельно важкого (VH) та варіабельного легкого (VL) спарювання, необов'язково пов'язані дисульфідним зв'язком.

В одному варіанті здійснення Fab або Fab' елемент злитого білка має таку саму або подібну специфічність антитіл одного домену або антитіл. В одному варіанті здійснення Fab або Fab' має різну специфічність до однодоменних антитіл або антитіла, яке повинно визначити, чи є злитий білок полівалентним. В одному варіанті здійснення полівалентний злитий білок відповідно до даного винаходу має область зв'язування альбуміну, наприклад пара VH/VL в ньому забезпечує область зв'язування альбуміну. В одному такому варіанті важкий ланцюг містить послідовності, зазначені в SEQ ID NO: 50, і легкий ланцюг, включає послідовності, зазначені в SEQ ID NO: 46 або SEQ ID NO: 78. Цей формат Fab-dsFv показано тут на Фіг. 25.

В одному варіанті здійснення Fab, або Fab' відповідно до цього винаходу, поєднуються з молекулою ПЕГ або альбуміном людської сироватки.

CA170\_01519g57 і 1519 і 1519.g57 використовуються в даному описі та незмінно використовуються для позначення конкретної пари варіабельних областей антитіла, які можуть бути використані в ряді різних форматів. Ці варіабельні області являють собою послідовності важкого ланцюга, наведені в SEQ ID NO: 29 і послідовності короткого ланцюга, наведені в SEQ ID NO: 15 (Фіг. 1).

Постійні області доменів молекул антитіла даного винаходу, якщо вони присутні, можуть бути вибрані з урахуванням запропонованої функції молекули антитіла, і, зокрема, ефекторної функції, яка може знадобитися. Наприклад, константні області доменів можуть бути доменами IgA, IgD, IgE, IgG або IgM людини. Зокрема, константні області доменів IgG людини можуть бути використані, зокрема з IgG1 і IgG3 ізо типів, коли молекула антитіла призначена для терапевтичних цілей і потрібні ефекторні функції антитіла. Як альтернатива, IgG2 і IgG4 ізо типи можуть бути використані, коли молекула антитіла призначена для терапевтичних цілей, і ефекторні функції антитіла не потрібні. Слід мати на увазі, що можуть бути також використані варіанти послідовностей цих константних областей доменів. Для молекул IgG4 може бути використаний приклад, в якому серин у положенні 241 був замінений на пролін, як описано в Angal та ін., *Molecular Immunology*, 1993, 30 (1), 105-108. Також фахівцю в цій області техніки буде зрозуміло, що антитіла можуть зазнавати різних пост трансляційних модифікацій. Тип і ступінь цих змін часто залежить від клітини-хазяїна лінії, яка використовується для експресії антитіла, а також умов культивування. Такі модифікації можуть включати зміни в глікозуванні, окисленні метіоніну, формування дикетопіперазину, аспартат ізомеризацію й аспарагін деамідатизацію. Часта модифікація веде до втрати карбокси-кінцевих основних залишків (наприклад, лізину або аргініну) у зв'язку з дією карбоксипептидази (як описано в Harris, RJ, *Журнал хроматографії*: 705. 129-134, 1995). Відповідно, С-кінцевий лізин важкого ланцюга антитіла може бути відсутнім.

В одному варіанті здійснення важкий ланцюг антитіла містить домен CH1 і легкий ланцюг антитіла містить домен C1, або каппа або лямбда.

В одному з варіантів здійснення легкий ланцюг має послідовність, представлену в SEQ ID NO: 22, і важкий ланцюг має послідовність, представлену в SEQ ID NO: 43.

В одному з варіантів здійснення легкий ланцюг має послідовність, представлену в SEQ ID NO: 22, і важкий ланцюг має послідовність, представлену в SEQ ID NO: 72.

В одному з варіантів здійснення С-кінцева амінокислота з молекулою антитіла розщеплюється в ході посттрансляційних модифікацій.

5 В одному варіанті здійснення N-кінцева амінокислота з молекулою антитіла розщеплюється в ході посттрансляційних модифікацій. Також цим винаходом передбачена спеціальна область, або епітоп людського FcRn, який пов'язаний з антитілом, передбаченим цим винаходом, зокрема, антитілом, що містить важкий ланцюг послідовності GH20 (SEQ ID NO: 29) та/або легкий ланцюг послідовності gL20 (SEQ ID NO: 15).

10 Ця спеціальна область, або епітоп поліпептиду FcRn людини, може бути ідентифікована за допомогою будь-якого відповідного способу картування епітопів, відомого в техніці, у поєднанні з будь-яким з антитіл, що застосовані згідно з цим винаходом. Приклади таких способів включають скринінг пептидів різної довжини, отриманих з FcRn для зв'язування з антитілом даного винаходу з найменшим фрагментом, який може специфічно зв'язуватися з антитілом, що  
15 містить послідовність епітопу, що розпізнається антитілом. FcRn пептиди можуть бути отримані синтетично або шляхом протеолітичного розщеплення поліпептиду FcRn. Пептиди, які пов'язують антитіло, можуть бути ідентифікованими за допомогою, наприклад, мас-спектрометричного аналізу. В іншому прикладі можуть бути використані ЯМР-спектроскопія та рентгенівська кристалографія, щоб ідентифікувати епітоп, пов'язаний з антитілом даного  
20 винаходу. Після ідентифікації фрагмент епітопів, який зв'язується з антитілом даного винаходу, може бути використаний, якщо це необхідно, в якості імуногена, щоб отримати додаткові антитіла, які зв'язуються з тим самим епітопом.

В одному варіанті здійснення антитіло даного винаходу зв'язує альфа-ланцюг людського FcRn у позаклітинній послідовності, як показано нижче:

25 AESHLSLLYH LTAVSSPAPG TPAFWVSGWL GPQQYLSYNS LRGEAEPCGA WVVWENQVSWY WEKETDRLI KEKLFLEAFK ALGGKGPYTL QGLLGCELGP DNTSVPTAKF ALNGEEFMNF DLKQGTWGGD WPEALAIQR WQQQDKAANK ELTFLFSCP HRLREHLERG RGNLEWKEPP SMRLKARPSS PGFSVLTCSA FSFYPELQL RFLRNLGAAG TGQGDFGPNS DGSFHASSSL TVKSGDENHY CCIVQHAGLA QPLRVELESPAKSS (SEQ ID NO: 94).

30 Підкреслені залишки є відомими як критичні для взаємодії FcRn людини з Fc-областю людського IgG і ті залишки, виділені жирним шрифтом, беруть участь у взаємодії з FcRn 1519 антитіла даного винаходу, що включає важкий ланцюг послідовності GH20 (SEQ ID NO: 29) і легкий ланцюг послідовності gL20 (SEQ ID NO: 15).

В одному прикладі здійснення даного винаходу застосована молекула анти-FcRn антитіла, яка зв'язується з епітопом людського FcRn, який містить щонайменше одну амінокислоту, вибрану з групи, що складається з залишків V105, P106, T107, A108 і K109 з SEQ ID NO: 94 і щонайменше один залишок, наприклад, щонайменше, один із залишків 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 або  
35 10, вибраних із групи, що складається з P100, E115, E116, F117, M118, F120, N119, D121, L122, K123, Q124, G128, G129, D130, W131, P132 і E133 з SEQ ID NO: 94.

40 В одному прикладі епітоп молекули антитіла визначається шляхом рентгенівської кристалографії з використанням FcRn альфа-ланцюга позаклітинної послідовності SEQ ID NO: 94 в комплексі з  $\beta$ 2M.

В одному прикладі здійснення даного винаходу застосована молекула анти-FcRn антитіла, яка зв'язується з епітопом людського FcRn, який містить щонайменше одну амінокислоту, вибрану з групи, що складається з залишків V105, P106, T107, A108 і K109 з SEQ ID NO: 94 і щонайменше один залишок, наприклад, щонайменше, один із залишків 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 або  
45 10, вибраних із групи, що складається з E115, E116, F117, M118, F120, N119, D121, L122, K123 і Q124 з SEQ ID NO: 94.

В одному прикладі здійснення даного винаходу застосована молекула анти-FcRn антитіла, яка зв'язується з епітопом людського FcRn, який містить щонайменше два, три, чотири або п'ять амінокислот, вибраних із групи, що складається з залишків V105, P106, T107, A108 і K109 з SEQ ID NO: 94 і щонайменше один залишок, вибраний з групи, що складається з E115, E116, F117, M118, F120, N119, D121, L122, K123 і Q124 з SEQ ID NO: 94.

В одному прикладі здійснення даного винаходу застосована молекула анти-FcRn антитіла, яка зв'язується з епітопом людського FcRn, який містить щонайменше одну амінокислоту, вибрану з групи, що складається з залишків V105, P106, T107, A108 і K109 з SEQ ID NO: 94 і щонайменше один залишок, вибраний з групи, що складається з P100, M118, F120, N119, D121, L122, K123, Q124 і G128 з SEQ ID NO: 94.

60 В одному прикладі здійснення даного винаходу застосована молекула анти-FcRn антитіла, яка зв'язується з епітопом людського FcRn, що містить залишки V105, P106, T107, A108 і K109 з



SEQ ID NO: 94, і щонайменше один залишок, вибраний з групи, що складається з P100, M118, N119, F120, D121, L122, K123, Q124 і G128 з SEQ ID NO: 94.

В одному прикладі здійснення даного винаходу застосована молекула анти-FcRn антитіла, яка зв'язується з епітопом людського FcRn, що містить залишки V105, P106, T107, A108 і K109 з SEQ ID NO: 94, і щонайменше один залишок, вибраний з групи, що складається з P100, E115, E116, F117, M118, N119, F120, D121, L122, K123, Q124, G128, G129, D130, W131, P132 і E133 з SEQ ID NO: 94.

В одному прикладі здійснення даного винаходу застосована молекула анти-FcRn антитіла, яка зв'язується з епітопом людського FcRn, що містить залишки P100, V105, P106, T107, A108 і K109 з SEQ ID NO: 94, і принаймні один залишок, вибраний з групи, що складається з E115, E116, F117, M118, N119, F120, D121, L122, K123, Q124, G128, G129, D130, W131, P132 і E133 в SEQ ID NO: 94.

В одному прикладі "принаймні один залишок" може бути 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 або 16 залишків.

В одному прикладі здійснення даного винаходу застосована анти-FcRn молекула антитіла, яка зв'язується з епітопом людського FcRn, що містить або складається з залишків 100, 105 до 109, від 115 до 124 і 129 до 133 з SEQ ID NO: 94.

Антитіла, які перехресно блокують зв'язування молекули антитіла за винаходом, зокрема, молекулу антитіла, що включає послідовність важкого ланцюга, наведену в SEQ ID NO: 29 і послідовність короткого ланцюга, наведену в SEQ ID NO: 15, можуть бути аналогічним чином корисні в блокуванні FcRn діяльності. Відповідно, даний винахід також стосується до анти-FcRn молекули антитіла, яка перехресно блокує зв'язування будь-якої однієї з молекул антитіл, описаних вище, до FcRn людини та/або перехресно блокує від зв'язування з FcRn людини за допомогою будь-якого з цих антитіл. В одному варіанті здійснення винаходу таке антитіло зв'язується з тим самим епітопом, що і антитіла, описані вище. В іншому варіанті здійснення крос-блоковане нейтралізоване антитіло зв'язується з епітопом, який межує та/або перекривається з епітопом зв'язаним із антитілом, описаним вище.

Перехресно блокуючі антитіла можуть бути ідентифіковані з використанням будь-якого відповідного способу в даній галузі техніки, наприклад, за допомогою конкуренції аналізів ELISA або BIAcore, де зв'язування крос-блокуючого антитіла до людського FcRn запобігає зв'язуванню антитіла даного винаходу, або навпаки. Такі крос-блокуючі аналізи можуть використовувати ізольовані природні або рекомбінантні FcRn, або підходящий злитий білок/поліпептид. В одному прикладі зв'язування та крос-блокування вимірюється за допомогою рекомбінантного позаклітинного домену людського FcRn (SEQ ID NO: 94). В одному прикладі рекомбінантний позаклітинний домен людського альфа-ланцюга FcRn використовується в комплексі з  $\beta$ 2-мікроглобуліну ( $\beta$ 2M) (SEQ ID NO: 95).

В одному варіанті здійснення винаходу застосована анти-FcRn молекула антитіла, яка блокує зв'язування FcRn до IgG і які перехресно блокують зв'язування важкого ланцюга антитіла, що містить послідовності, зазначені в SEQ ID NO: 29 і короткого ланцюга, який включає послідовності, зазначені в SEQ ID NO: 15 в людському FcRn. В одному варіанті здійснення винаходу крос-антитіла, застосовані за даним винаходом, інгібують зв'язування антитіла, що включає послідовність важкого ланцюга, наведену в SEQ ID NO: 29 і послідовність короткого ланцюга, наведену в SEQ ID NO: 15 більше ніж на 80 %, наприклад, більше ніж на 85 %, більше ніж на 90 %, зокрема більше ніж на 95 %. Альтернативно або на додаток, анти-FcRn антитіла відповідно до цього аспекту даного винаходу, можуть бути крос-заблокованими від зв'язування з FcRn людини за допомогою антитіла, що включає послідовність важкого ланцюга, наведену в SEQ ID NO: 29 і послідовність короткого ланцюга, наведену в SEQ ID NO: 15. Також передбачено, отже, що є анти-FcRn молекула антитіла, яка блокує зв'язування FcRn до IgG і якою є крос-заблокований від зв'язування з FcRn людини за допомогою антитіла, що включає послідовність важкого ланцюга, наведену в SEQ ID NO: 29 і послідовність короткого ланцюга, наведену в SEQ ID NO: 15. В одному варіанті здійснення анти-FcRn антитіла, забезпечені цим аспектом винаходу, блокують зв'язування з FcRn людини за допомогою антитіла, що включає послідовність важкого ланцюга, наведену в SEQ ID NO: 29 і послідовність короткого ланцюга, наведену в SEQ ID NO: 15 більше ніж на 80 %, наприклад, більше ніж на 85 %, наприклад, більше ніж на 90 %, зокрема, більше ніж на 95 %.

В одному варіанті здійснення винаходу крос-антитіла, що блокують за даним винаходом, є повністю людськими. В одному варіанті здійснення крос-антитіла, що блокують за даним винаходом, є гуманізованими. В одному варіанті здійснення крос-антитіла, що блокують за цим винаходом, мають спорідненість до людського FcRn з 100 pM або менше. В одному варіанті здійснення винаходу крос-антитіла, що блокують за цим винаходом, мають спорідненість до

людського FcRn з 50pM або менше. Спорідненість може бути виміряна за допомогою методів, описаних нижче. Біологічні молекули, такі як антитіла або фрагменти, містять кислотні та/або основні функціональні групи, таким чином даючи молекулі сумарний позитивний або негативний заряд. Сума загального "спостережуваного" заряду буде залежати від абсолютної амінокислотної послідовності суб'єкта, місцевого середовища заряджених груп в структурі 3D і умов навколишнього середовища молекули. Ізоелектричною точкою (PI) є pH, при якому молекули або розчинник, доступний на їх поверхні, не несе ніякого чистого електричного заряду. В одному прикладі здійснення винаходу антитіло FcRn і його фрагменти можуть бути сконструйовані так, щоб мати відповідні ізоелектричні точки. Це може привести до антитіл, та/або фрагментів з більш надійними властивостями, зокрема, відповідними розчинностями та/або профілями стабільності і/або поліпшеними характеристиками очищення.

Таким чином, в одному з аспектів даного винаходу застосоване антитіло, гуманізоване FcRn інженерією так, щоб мати ізоелектричну точку, відмінну від такої у попередньо ідентифікованому антитілі. Антитіло може, наприклад, бути сконструйоване шляхом заміни амінокислотного залишку, таким, як заміна кислотного залишку амінокислотним з одним або більше основних амінокислотних залишків. З іншого боку, можуть бути введені основні амінокислотні залишки, або залишки кислоти амінокислоти можуть бути видалені. Альтернативно, якщо молекула має неприйнятно високе значення pI кислотні залишки можуть бути введені для зниження pI, як це потрібно. Важливо, що при такому маніпулюванні повинен бути виконаний догляд за pI, щоб зберегти бажану активність антитіла або фрагмента. Таким чином, в одному варіанті інженерне антитіло або фрагмент має таку саму, або по суті таку саму активність, як "не модифіковане" антитіло або фрагмент.

Такі програми, як \*\*ExPASy [http://www.expasy.ch/tools/pi\\_tool.html](http://www.expasy.ch/tools/pi_tool.html), і [http://www.iut-arles.univ-mrs.fr/w3bb/d\\_abim/compo-p.html](http://www.iut-arles.univ-mrs.fr/w3bb/d_abim/compo-p.html), можуть бути використані для прогнозування ізоелектричної точки антитіла або фрагмента.

Молекули антитіла даного винаходу відповідно мають високу спорідненість зв'язування, зокрема в наномольному діапазоні. Спорідненість може бути виміряна з використанням будь-якого відповідного способу, відомого в даній галузі техніки, у тому числі BIAcore, як описано тут у прикладах, з використанням ізольованих природних або рекомбінантних FcRn, або підходящого злитого білка/поліпептиду. В одному прикладі даного винаходу спорідненість вимірюється за допомогою позаклітинного домену рекомбінантного людського FcRn, як описано тут у прикладах (SEQ ID NO: 94). В одному прикладі даного винаходу спорідненість вимірюється за допомогою позаклітинного домену рекомбінантного людського альфа-ланцюга FcRn (SEQ ID NO: 94), у поєднанні з  $\beta$ 2-мікроглобуліну ( $\beta$ 2M) (SEQ ID NO: 95). Відповідно, молекули антитіла даного винаходу, мають спорідненість зв'язування з ізольованим FcRn людини від приблизно 1 nM або нижче. В одному варіанті даного винаходу молекула антитіла має спорідненість зв'язування близько 500pM або нижче (тобто більш високу спорідненість). В одному варіанті даного винаходу молекула антитіла має спорідненість зв'язування близько 250pM або нижче. В одному варіанті даного винаходу молекула антитіла має спорідненість зв'язування близько 200pM або нижче. В одному варіанті даного винаходу застосовані анти-FcRn антитіла зі спорідненістю зв'язування про 100pM або нижче. В одному варіанті здійснення даного винаходу застосовані гуманізовані анти-FcRn антитіла зі спорідненістю зв'язування 100pM або нижче. В одному варіанті здійснення даного винаходу застосовані анти-FcRn антитіла зі спорідненістю зв'язування 50pM або нижче.

Важливо відзначити, що антитіла даного винаходу здатні зв'язуватися з FcRn людини як при pH 6, так і pH 7,4 з порівнянною спорідненістю зв'язування. Переважно тому антитіла здатні продовжувати пов'язувати FcRn навіть з ендосомами, тим самим максимально блокуючи зв'язування FcRn з IgG, Фіг. 10, на якій показаний цей механізм.

В одному варіанті здійснення даного винаходу застосовані анти-FcRn антитіла зі спорідненістю зв'язування 100pM або нижче при значеннях pH 6 і pH 7,4.

Спорідненість антитіла, або зв'язуючий фрагмент даного винаходу, а також ступінь, в якому сполучна речовина (така як антитіло) блокує зв'язування, можуть бути визначені фахівцем зі звичайною кваліфікацією в даній області з використанням загальноприйнятих методик, наприклад, таких, як описує Скетчарда та співавтори (Ann. KY. Acad. Sci. 51:660-672 (1949)), або за допомогою поверхневого плазмонного резонансу (SPR) з використанням системи, такої як BIAcore. Для поверхневого плазмонного резонансу, молекули-мішені іммобілізують на твердій фазі, і піддають дії лігандів у рухомій фазі, що проходить уздовж проточної кювети. Якщо зв'язування ліганду з іммобілізованою мішенню відбувається, місцеві рефракційні зміни індексу, що призводять до зміни кута SPR, можна відстежувати в реальному часі шляхом виявлення змін в інтенсивності відбитого світла. Темпи зміни SPR сигналу можуть бути проаналізовані для

отримання констант удаваної швидкості для етапів асоціації та дисоціації реакції зв'язування. Співвідношення цих величин дає очевидну константу рівноваги (спорідненість) (дивись, наприклад, Вольф та ін. *Cancer Res* 53: 2560-65 (1993)).

У цьому винаході спорідненість молекули тестованого антитіла, як правило, визначається за допомогою SPR наступним чином. Тестована молекула антитіла захоплюється в твердій фазі та позаклітинний домен людського FcRn альфа-ланцюга в нековалентному комплексі з  $\beta$ 2M протікає над захопленим антитілом у рухомій фазі та визначається спорідненість молекули антитіла випробуваного людського FcRn. Тестована молекула антитіла може бути захоплена на поверхні чіпа твердої фази з використанням будь-якого відповідного способу, наприклад, з використанням анти-Fc або анти Fab' специфічних агентів захоплення. В одному прикладі винаходу спорідненість визначається для pH 6. В другому прикладі винаходу спорідненість визначається для pH 7,4.

Слід мати на увазі, що спорідненість антитіл, застосованих відповідно до даного винаходу, може бути змінена за допомогою будь-якого відповідного способу, відомого в даній галузі техніки. Отже, даний винахід також відноситься до варіантів молекул антитіл, які мають поліпшену спорідненість до FcRn. Такі варіанти можуть бути отримані декількома протоколами дозрівання спорідненості, що включають мутації в CDR, (Янг та ін., *J. Mol. Biol.*, 254, 392-403, 1995), перестановки ланцюгів (Marks і співавт., *Bio/Technology*, 10, 779-783, 1992), використання штамів мутаторів кишкової палички (Лой і ін., *J. Mol. Biol.*, 250, 359-368, 1996), ДНК перетасовки (Паттенон та ін., *Curr. Opin. Biotechnol.*, 8, 724-733, 1997), дисплей факів (Томпсон та ін., *J. Mol. Biol.*, 256, 77-88, 1996) і гендерне PCR (Cramer та ін., *Nature*, 391, 288-291, 1998). Воган та ін. (вище) обговорює ці методи дозрівання спорідненості.

В одному варіанті здійснення даного винаходу молекули антитіл блокують діяльність людського FcRn. Аналізи, придатні для визначення здатності антитіла блокувати FcRn, описані тут у прикладах. Підходящі аналізи для визначення, чи є антитіло блокуючим взаємодію циркулюючих молекул FcRn з IgG, описано тут у прикладах. Підходящий аналіз для визначення здатності молекули антитіла IgG блокувати переробку *in vitro* описано тут нижче. При бажанні антитіло, застосоване в даному винаході, може бути з'єднаним з однією або більше ефекторними молекулами. Слід мати на увазі, що ефекторна молекула може містити одну або дві, або більше таких ефекторних молекул, пов'язаних так, що вони утворюють єдиний фрагмент, який може бути прикріплений до антитіла даного винаходу. Там, де бажано отримати фрагмент антитіла, пов'язаного з ефекторною молекулою, це може бути отримано за допомогою стандартних процедур хімічного або рекомбінантного ДНК, в яких фрагмент антитіла пов'язаний безпосередньо або через агента поєднання до ефекторної молекули. Методи поєднання таких ефекторних молекул антитіла добре відомі в цій галузі (див. Hellstrom et al., *Controlled Drug Delivery*, 2nd Ed., Robinson et al., eds., 1987, pp. 623-53; Thorpe et al., 1982, *Immunol. Rev.*, 62:119-58 and Dubowchik et al., 1999, *Pharmacology and Therapeutics*, 83, 67-123). Конкретні хімічні процедури включають, наприклад, ті, які описані у WO 93/06231, WO 92/22583, WO 89/00195, WO 89/01476 та WO 03/031581. Як альтернатива, в якому ефекторна молекула є білком або поліпептидом, зв'язок може бути досягнутий з використанням рекомбінантної ДНК, наприклад, як описано у WO 86/01533 та EP0392745.

Термін ефекторна молекула, який використовується тут, включає, наприклад, протипухлинні засоби, фармацевтичні препарати, токсини, біологічно активні білки, наприклад, ензими, інші антитіла або фрагменти антитіл, синтетичні або природно отримані полімери, нуклеїнові кислоти та їх фрагменти, наприклад, ДНК, РНК та їх фрагменти, радіонукліди, зокрема, йоду, радіоізотопи, хелатні метали, наночастинки і репортерні групи, такі як флуоресцентні сполуки або компаунди, які можуть бути виявлені за допомогою ЯМР або ЕПР спектроскопії. Приклади ефекторних молекул можуть включати цитотоксини або цитотоксичні агенти, включаючи будь-який агент, який є шкідливим для клітин (наприклад, вбиває їх). Приклади включають комбрестатини, доластатини, епотилони, стауроспорини, майтанзиноїди, спонжистатини, ризоксин, галіхондрин, рорідини, хеміастерини, таксол цитохалазин, граміцидин D, бромід етидію, еметин, мітоміцин, етопозид, тенопозид, вінкрисин, вінбластин, колхіцин, доксорубіцин, даунорубіцин, дигідроксіантрацин діон, мітоксантрон, мітраміцин, актиноміцин D, 1-дегідротестостерон, глюкокортикоїди, прокаїн, тетракаїн, лідокаїн, пропранолол і пуроміцин та їх аналоги або гомологи.

Ефекторні молекули можуть також включати в себе, але не обмежуватися ними, антиметаболіти (наприклад, метотрексат, 6-меркаптопурин, 6-тіоганін, цитарабін, 5-фторурацил декарбазин), алкілюючі агенти (наприклад, мехлоретамін, тіопа хлорамбуцил, мелфалан, кармустин (BSNU) і ломустин (CCNU), циклотосфамід, бусульфамід, дибромоманітол, стрептозоцин, мітоміцин C, і цис-дихлордіамін платини (II), (DDP) цисплатин), антрацикліни

(наприклад, даунорубіцин (раніше дауноміцин) і доксорубіцин), антибіотики (наприклад, дактиноміцин, раніше актиноміцин), блеоміцин, мітраміцин, антраміцин(АМС), каліхеаміцин або дуокарміцини) й антимітотичні агенти (наприклад, вінкрисин і вінбластин). Інші ефекторні молекули можуть включати хелатні радіонукліди, такі як  $^{111}\text{In}$  і  $^{90}\text{Y}$ ,  $^{177}\text{Lu}$ ,  $^{213}\text{Bi}$ ,  $^{252}\text{Cf}$ ,  $^{192}\text{Ir}$  і  $^{188}\text{Tg}$ / $^{188}\text{Re}$ ; або препарати, такі як, але не обмежуючись цим, аклілфосфохлорини, топоізомерази I, інгібітори таксоїдів і сурамін. Інші ефекторні молекули містять у собі білки, пептиди і ферменти. Ферменти включають, але не обмежуються ними, протеолітичні ферменти, гідролази, ліази, ізомерази, трансферази. Білки, поліпептиди і пептиди, включають, але не обмежуються ними, імуноглобуліни, токсини, такі як абрин, рицин А, екзотоксин *Pseudomonas*, або дифтерійний токсин, білок, такий як інсулін, фактор некрозу пухлини,  $\alpha$ -інтерферон,  $\beta$ -інтерферон, фактор росту нервів, тромбоцитарний фактор росту, або тканинний активатор плазміногена, тромботичний агент або анти-ангіогенний агент, наприклад, ангіостатин або ендостатин, або модифікатори біологічної відповіді, такі як лімфокін, інтерлейкін-1 (IL-1), інтерлейкін-2 (IL-2), гранулоцитарний колонієстимулюючий фактор макрофагів (GM-CSF), гранулоцитарний колонієстимулюючий фактор (G-CSF), фактор росту нервів (NGF) або іншого чинника росту та імуноглобуліни.

Інші ефекторні молекули можуть включати в себе речовини, які виявляються корисними, наприклад, в діагностиці. Приклади речовин, що визначаються, включають різні ферменти, простетичні групи, флуоресцентні матеріали, люмінесцентні матеріали, біоломінесцентні матеріали, радіонукліди, позитрон, що випускає метали (для використання у позитронно-емісійній томографії) та іони парамагнітних нерадіоактивних металів. Див. в цілому, патент США № 4741900 для іонів металів, які можуть бути поєднані з антитілами для використання в діагностиці. Підходящі ферменти включають пероксидазу хрону, лужну фосфатазу, бета-галактозидази, або ацетилхолінестерази; підходящі простетичні групи включають стрептавідин, авідин і біотин; підходящі флуоресцентні матеріали включають в себе умбеліферон, флуоресцеїн, ізотіоціанат флуоресцеїну, родамін, дихлоротриазиніламін, флуоресцеїн, дансилхлорид і фікоеритрин; підходящі люмінесцентні матеріали включають люмінол; підходящі біоломінесцентні матеріали включають люциферази, люциферин і екворин; і підходящі радіоактивні нукліди включають  $^{125}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ ,  $^{111}\text{In}$  та  $^{99}\text{Tc}$ .

В іншому прикладі ефекторна молекула може збільшити напіврозпад антитіла *in vivo* та/або знизити імуногенність антитіла, та/або посилити доставку антитіла через епітеліальний бар'єр до імунної системи. Приклади відповідних ефекторних молекул цього типу включають полімери, альбумін, альбумін зв'язуючі білки або альбумін зв'язуючі сполуки, такі як ті, що описані у WO05/117984.

В одному варіанті є вигідним забезпечення напіврозпаду ефекторною молекулою, яка є незалежною від  $\text{FcRn}$ . Там, де ефекторною молекулою є полімер, він може, загалом, бути синтетичним або зустрічатися у природі, наприклад, необов'язково заміщеним прямим або розгалуженим ланцюгом поліалкілену, поліалкіленового або поліоксіалкіленового полімеру, або розгалуженого або нерозгалуженого полісахариду, наприклад, гомо- чи гетеро- полісахариду.

Конкретні необов'язкові замітники, які можуть бути присутніми у вказаних вище синтетичних полімерах, включають один або більше гідрокси, метил або метокси груп. Конкретні приклади синтетичних полімерів включають необов'язково заміщені нерозгалуженими або розгалуженими ланцюгами полі- (етиленгліколі), полі- (пропіленгліколі), полі (вінілового спирту) або його похідні, особливо необов'язково заміщений полі-(етиленгліколь), такий як метокси полі (етиленгліколь) або його похідні. Конкретні природні полімери включають лактозу, амілози, декстран, глікоген або їх похідні.

В одному варіанті полімером є альбумін або його фрагмент, такий як сироватковий альбумін людини, або його фрагмент. Термін "похідні", як він використаний тут, призначений, щоб включати реакційноздатні похідні, наприклад тіол-селективні реакційноздатні групи, такі як малеїмід тощо. Реакційноздатна група може бути зв'язана безпосередньо або через лінкерні сегменти до полімеру. Слід мати на увазі, що залишок такої групи буде в деяких випадках утворювати частину продукту в ролі єднальної групи між фрагментом антитіла та полімером.

Розмір полімеру можна варіювати за бажанням, але як правило, він буде в інтервалі середньої молекулярної маси від ваги 500Da до 50000Da, наприклад від 5000 до 40000Da, наприклад, від 20000 до 40000Da. Розмір полімеру, зокрема, можна вибрати на основі передбачуваного використання продукту, наприклад здатності локалізуватися у певних тканинах, таких як пухлини, або продовжити напіврозпад в кровообігу (огляд див. Чепмен, 2002, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54, 531-545). Таким чином, наприклад, якщо продукт призначений, щоб залишити циркуляцію та проникати в тканини, наприклад, для застосування в лікуванні пухлин, може бути вигідно використовувати полімер невеликої молекулярної маси,

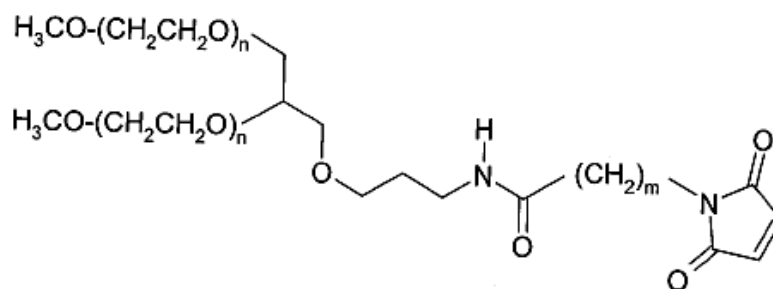
наприклад, з молекулярною масою близько 5000Da. Для застосувань там, де продукт залишається в обігу, може бути вигідно використовувати більш високу молекулярну масу полімеру, наприклад таку, що має молекулярну масу в діапазоні від 20000Da до 40000Da. Підходящі полімери включають поліалкіленовий полімер, такий як полі (етиленгліколь) або, особливо, метоксиполі (етиленгліколь) або його похідні, і особливо з молекулярною масою в інтервалі від близько 15000Da до приблизно 40000Da.

В одному прикладі для застосування в даному винаході антитіла приєднані до полі (етиленгліколю) (ПЕГ) фрагментами. В одному конкретному прикладі антитіло являє собою фрагмент антитіла та ПЕГ молекули, які можуть бути приєднаними через будь-який доступний амінокислотний бічний ланцюг або кінцеву амінокислотну функціональну групу, розташовану в фрагменті антитіла, наприклад будь-яку вільну аміно, іміно, тіол, гідроксил або карбоксил групу. Такі амінокислоти можуть з'являтися природним шляхом в антитілі або фрагменті, і можуть бути сконструйовані у фрагменті за допомогою рекомбінантних методів ДНК (дивись, наприклад, US 5219996; US 5667425; WO98/25971, WO2008/038024). В одному прикладі даного винаходу молекула антитіла являє собою модифікований Fab-фрагмент, який відрізняється тим, що модифікація є доповненням до С-кінця його важкого ланцюга однієї або декількох амінокислот, щоб дозволити прикріплення ефекторної молекули. Відповідно, додаткові амінокислоти утворюють модифіковану підвісну область, що містить один або більше залишків цистеїну, до якого може бути прикріплена ефекторна молекула. Кілька областей можуть бути використані для з'єднання двох або більше ПЕГ молекул.

Відповідно ПЕГ молекули ковалентно пов'язані через тіолові групи, принаймні, один залишок цистеїну, розташований в фрагменті антитіла. Кожна молекула полімеру, що прикріплена до модифікованого фрагмента антитіла, може бути ковалентно пов'язана з атомом сірки залишку цистеїну, розташованого у фрагменті. Ковалентний зв'язок, як правило, буде дисульфідним зв'язком або, зокрема, сірково-вуглецевим зв'язком. Там, де тіольну групу використовується в якості точки приєднання відповідним чином активованих ефекторних молекул, можуть бути використані, наприклад, тіолові селективні похідні, такі як малеїмід і похідні цистеїну. Активований полімер може бути використаний в якості вихідного матеріалу при отриманні полімерних фрагментів модифікованих антитіл, як описано вище. Активований полімер може бути будь-яким полімером, що містить тіольну реактивну групу, таку як  $\alpha$ -галогенкарбонові кислоти або складні ефіри, наприклад, йодацетаміду, імідні, наприклад малеїмід, вініл або дисульфід сульфону. Такі вихідні матеріали можуть бути отримані комерційним шляхом (наприклад, від Nektar, раніше Shearwater Polymers Inc., Huntsville, AL, USA) або можуть бути отримані з комерційно доступних вихідних матеріалів із використанням звичайних хімічних процедур. Молекули, особливо ПЕГ, включають 20K метоксі-ПЕГ-амін (одержаний від Nektar, раніше Shearwater; Rapp Polymere і SunBio) і м-ПЕГ-SPA (одержаний від Nektar, раніше Shearwater).

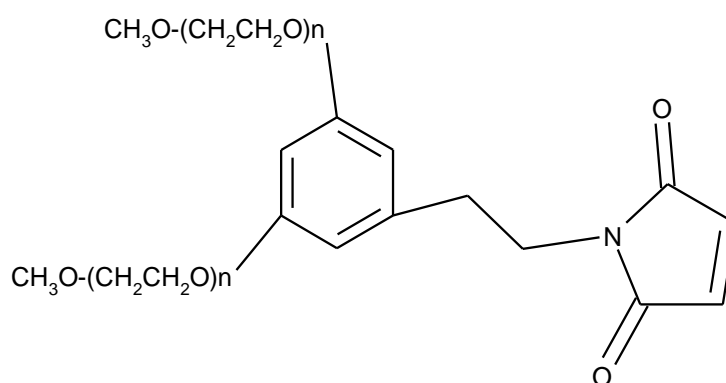
В одному варіанті здійснення винаходу антитіло являє собою модифікований Fab-фрагмент, Fab'-фрагмент, або diFab, який пегільований, тобто має ПЕГ (полі (етиленгліколь)), ковалентно приєднаний до нього, наприклад, у відповідності зі способом, описаним в EP 0948544 або EP1090037 [див. також "Полі (етиленгліколь) Хімія біотехнічних і біомедичних застосувань", 1992, J. Milton Hareppic (Ed), Пленум Пресс, Нью-Йорк, "Полі (етиленгліколь) Хімія та біологічні додатки", 1997, J. Milton Hareppic і С. Zalipsky (ред.), Американське хімічне товариство, Вашингтон і "Техніка біокон'югації зчеплення білка для біомедичних наук", 1998, М. Аслам і А. Дент, Grove Видавці, Нью-Йорк; Чепмен, А. 2002, Advanced Drug Delivery Reviews 2002, 54: 531-545]. В одному прикладі винаходу ПЕГ приєднаний до цистеїну в підвісній області. В одному прикладі ПЕГ, модифікований Fab-фрагментом, має малеїмідну групу, ковалентно пов'язану з однією тіольною групою в модифікованій підвісній області. Залишок лізину, може бути ковалентно пов'язаний з малеїмідною групою та для кожної з аміних груп на залишок лізину може бути прикріплений полімер метоксиполі (етиленгліколь), який має молекулярну масу приблизно 20,000Da. Тому загальна молекулярна маса ПЕГ, приєданого до Fab фрагменту, може бути приблизно 40,000Da.

Особливі ПЕГ молекули включають 2-[3-(N-малеїмідо)пропіонамідо]етиловий амід N,N'-біс(метоксиполі(етиленгліколь) MW 20000) модифікований лізин, також відомий як PEG2MAL40K (одержаний від Nektar, раніше Shearwater). Альтернативні джерела PEG зв'язуючих включають NOF, який поставляє GL2-400MA3 (де m у структурі нижче за 5) і GL2-400MA (де m становить 2) і n становить приблизно 450:



m is 2 or 5

- Тобто кожен ПЕГ становить близько 20,000Da. Таким чином, в одному варіанті ПЕГ є 2,3-біс(метилполіоксіетилен-окси)-1-[[3-(6-малеїмідо-1-оксогексил)аміно]пропілокси]гексан (2-х розгалужений ПЕГ,  $-(CH_2)_3NHCO(CH_2)_5-MAL$ , Mw 40000, відомий як Sunbright GL2-400MA3. Подальші альтернативні ефекторні ПЕГ молекули є наступного типу:



- що доступні від Dr Reddy, NOF і Jenkem.
- В одному варіанті здійснення винаходу забезпечується антитіло, яке пегільоване (наприклад, з ПЕГ, описаним тут), приєднане через цистеїн амінокислотного залишку до або приблизно до амінокислоти 226 в ланцюзі, наприклад, амінокислота 226 важкого ланцюга (шляхом послідовної нумерації), наприклад амінокислота 226 SEQ ID NO: 36.
- В одному варіанті здійснення даного винаходу застосована молекула Fab' PEG, що включає один або більше ПЕГ полімерів, наприклад 1 або 2 полімери, такі як полімер 40kDa або полімери.
- Молекули Fab'-ПЕГ відповідно до даного винаходу можуть бути особливо переважними у тому, що вони мають напіврозпад незалежного Fc фрагмента. В одному прикладі здійснення даного винаходу забезпечується спосіб лікування захворювання, кращий від блокування FcRn людини, що включає введення терапевтично ефективної кількості анти-FcRn антитіла, або зв'язуючого фрагмента, де антитіло, або його зв'язуючий фрагмент, має період напіврозпаду, що не залежить від зв'язування Fc- до FcRn.
- В одному варіанті здійснення винаходу забезпечується Fab' поєднаний з полімером, таким як ПЕГ молекули, молекули крохмалю або молекули альбуміну. В одному варіанті здійснення винаходу запропонований ScFv, поєднаний з полімером, таким як ПЕГ молекули, молекули крохмалю або молекули альбуміну.
- В одному варіанті здійснення винаходу антитіло, або фрагмент поєднані з молекулою крохмалю, наприклад, щоб збільшити період напіврозпаду. Методи з'єднання крохмалю з білком, як описано у патенті США 8017739, включені тут як посилання. В одному з варіантів винаходу застосована зв'язуюча молекула анти-FcRn, яка:
- Викликає зниження концентрації IgG у плазмі на 70 %,
  - Зменшує концентрації альбуміну плазми не більше 20 %, і/або
  - З можливістю повторення дозування для досягнення довгострокової підтримки низької концентрації IgG у плазмі.
- Винахід також відноситься до виділеної послідовності ДНК, що кодує важкий і/або легкий ланцюг (i) з молекули антитіла даного винаходу. Відповідно, послідовність ДНК кодує важкий або легкий ланцюг молекули антитіла даного винаходу. Послідовність ДНК даного винаходу

може містити синтетичну ДНК, наприклад, отриману шляхом хімічної обробки, сДНК, геномну ДНК або будь-які їх комбінації.

Послідовності ДНК, які кодують молекулу антитіла даного винаходу, можуть бути отримані способами, добре відомими фахівцям в даній області техніки. Наприклад, послідовності ДНК, що кодують частини або всі довгі та короткі ланцюги антитіл, можуть бути синтезовані за бажанням з певних послідовностей ДНК, або на підставі відповідних амінокислотних послідовностей.

ДНК, що кодує області акцепторних послідовностей, широко доступні фахівцям в даній області техніки та можуть бути легко синтезовані на основі їх відомих амінокислотних послідовностей.

Стандартні методи молекулярної біології можуть бути використані для отримання послідовностей ДНК, які кодують молекули антитіл даного винаходу. Бажані послідовності ДНК можуть бути синтезовані повністю або частково з використанням методів синтезу олігонуклеотидів. Спрямовані області мутагенезу і полімеразні ланцюгові реакції (ПЛР) можуть бути використані в разі потреби.

Приклади відповідних послідовностей ДНК наведені в даному документі.

Приклади відповідних послідовностей ДНК, які кодують варіабельні області 1519 короткого ланцюга, наведені в SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17 і SEQ ID NO: 90. Приклади відповідних послідовностей ДНК, які кодують варіабельні області 1519 важкого ланцюга, наведені в SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31 і SEQ ID NO: 92.

Приклади відповідних послідовностей ДНК, які кодують 1519 легкий ланцюг (варіабельні та константні) представлені в SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 75 і SEQ ID NO: 91.

Приклади відповідних послідовностей ДНК, що кодують 1519 важкий ланцюг (варіабельні та константні, залежно від формату) представлені в SEQ ID NO: 37, 38 і 76 (Fab'), SEQ ID NO: 72 або 85 (IgG1), SEQ ID NO: 44 або 93 (IgG4P) і SEQ ID: 88 (IgG4). Відповідно, один приклад здійснення даного винаходу відноситься до виділеної послідовності ДНК, що кодує важкий ланцюг Fab' фрагмента антитіла даного винаходу, який включає послідовності, зазначені в SEQ ID NO: 37. Також запропонована виділена послідовність ДНК, що кодує легкий ланцюг Fab' фрагмента антитіла даного винаходу, яка включає послідовності, зазначені в SEQ ID NO: 23.

Один приклад здійснення даного винаходу відноситься до виділеної послідовності ДНК, що кодує важкий ланцюг і легкий ланцюг IgG4 (P) антитіла даного винаходу, в якому ДНК, що кодує важкий ланцюг, містить послідовності, зазначені в SEQ ID NO: 44 або SEQ ID NO: 93, і ДНК, що кодує легкий ланцюг, включає послідовності, зазначені в SEQ ID NO: 75 або SEQ ID NO: 91. Один приклад здійснення даного винаходу відноситься до виділеної послідовності ДНК, що кодує важкий ланцюг і легкий ланцюг з Fab-dsFv антитіла даного винаходу, в якому ДНК, що кодує важкий ланцюг, містить послідовності, зазначені в SEQ ID NO: 51 або SEQ ID NO: 80 і ДНК, що кодує легкий ланцюг, включає послідовності, зазначені в SEQ ID NO: 47 або SEQ ID NO: 79.

Винахід також відноситься до клонування або вектора експресії, що містить одну або більше послідовностей ДНК даного винаходу. Відповідно, застосовується клонування або вектор експресії, що містить одну або декілька послідовностей ДНК, які кодують антитіло даного винаходу. Відповідно, клонування або вектор експресії містить дві послідовності ДНК, що кодують легкий ланцюг і важкий ланцюг молекули антитіла даного винаходу, відповідно, підходящі сигнальні послідовності. В одному прикладі винаходу вектор містить інтергенну послідовність між довгим і коротким ланцюгами (див. WO03/048208). Загальні методи, за допомогою яких вектори можуть бути сконструйовані, методи трансфекції та способи культивування, добре відомі фахівцям в даній області техніки. У зв'язку з цим, робиться посилання на "Актуальні протоколи в молекулярній біології", 1999, FM Ausubel (ред.), Wiley Interscience, New York і Ehe Maniatis Manual Cold, опубліковані Spring Harbor Publishing.

Винахід також відноситься до клітини-хазяїна, що містить один або декілька клонувань або векторів експресії, які містять один або більше послідовностей ДНК, що кодують антитіло даного винаходу. Будь-яка відповідна клітина-хазяїн/вектор система може бути використана для послідовностей експресії ДНК, які кодують молекулу антитіла за винаходом. Бактеріальні, наприклад, E.coli, і інші мікробні системи можуть бути використані або еукаріотичні, наприклад ссавців, системи також можуть бути використані як експресії клітини-хазяїна. Підходящі клітини-хазяїни ссавців включають CHO, клітини мієломи або гібридомні клітини.

Підходящі типи яєчника китайського хом'ячка (CHO-клітини), використані в даному винаході, можуть включати СНТ та клітини CHO-K1 в тому числі dhfr- CHO клітини, такі як CHO-DG44 клітини і CHO- DXB11 клітини, які можуть бути використані з можливістю вибору DHFR маркерів, або CHOK1-SV-клітин, які можуть бути використані з селективними маркерами

глутамінсинтетази. Інші типи клітин для експресії антитіл включають лімфоцитарні клітинні лінії, наприклад, НСО клітини мієломи та клітини SP2, клітини COS.

Даний винахід також стосується способу для виробництва молекул антитіла, що включає культивування клітини-хазяїна, який містить вектор даного винаходу в умовах, відповідних для експресії білка з ДНК, що кодує молекулу антитіла даного винаходу, і виділення молекули антитіла. Молекула антитіла може містити тільки довгі або короткі ланцюги поліпептиду, в цьому випадку тільки важкий ланцюг, або легкий ланцюг поліпептиду необхідно кодує послідовність, яку використовуватимуть для трансфекції клітин-хазяїнів. Для виробництва продукції, що містить як довгі, так і короткі ланцюги, клітинна лінія може бути трансфікована двома векторами, перший вектор кодує поліпептид короткого ланцюга, і другий вектор кодує поліпептид важкого ланцюга. Альтернативно, може бути використаний один вектор, який включає послідовності, що кодують легкий ланцюг і важкий ланцюг поліпептидів.

Антитіла та фрагменти відповідно до цього винаходу виражені на хороших рівнях у клітинах-хазяїнах. Таким чином, властивості антитіл і/або їх фрагментів підлягають комерційному обігу.

Таким чином, існує запропонований спосіб культивування клітини-хазяїна та створення антитіла або його фрагменту, виділення останнього і, при необхідності очищення його, щоб забезпечити виділене антитіло або фрагмент. В одному варіанті здійснення винаходу спосіб додатково включає стадію сполучення ефекторної молекули до виділеного антитіла або фрагменту, наприклад сполучення, зокрема, з ПЕГ полімером, як описано тут.

В одному варіанті здійснення винаходу забезпечується спосіб очищення антитіла (зокрема, антитіла або його фрагменту, відповідно до винаходу), який включає стадії: проведення аніонообмінної хроматографії у непов'язаному режимі таким чином, що домішки затримуються на колонці, а антитіло виділяється.

В одному варіанті здійснення очищення використовують споріднене захоплення FcRn на колонці.

В одному варіанті здійснення очищення використовують Cibacron синій або аналогічні препарати для очищення синтезованого альбуміну або сполучених молекул.

Відповідні іонообмінні смоли для використання в даному способі, включають Q.FF смоли (поставляється GE-Healthcare). Процес може, наприклад, бути виконаний при рН близько 8. Спосіб може додатково містити етап первинного захоплення, що використовує катіоно-обмінну хроматографію, і виконується, наприклад, при рН близько від 4 до 5, при такому як 4,5. Катіонообмінна хроматографія, може, наприклад, використовувати таку смолу, як CaptoS або SP Sepharose FF (поставлену GE-Healthcare). Антитіло або його фрагмент можна потім вилучити зі смоли, що забезпечується іонними солями, наприклад розчином хлориду натрію, наприклад, при концентрації 200 mM.

Таким чином, процес або процеси хроматографії, можуть включати в себе один або більше етапів відмивання, залежно від обставин.

Спосіб очищення може також включати одну або декілька стадій фільтрації, наприклад, стадію діалізації. Таким чином, в одному варіанті здійснення винаходу передбачене вживання очищеного анти-FcRn антитіла або фрагмента, наприклад, гуманізованого антитіла або фрагмента, зокрема, антитіла або його фрагмента, відповідно до винаходу, значною мірою очищеного від ендотоксину, або по суті такого, що не містить ендотоксину та/або клітинного білка або ДНК.

Очищені форми, як використовують вище, позначені, принаймні 90 % чистоти, наприклад, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 % мас./мас. або більш чисті.

Форми, що по суті не містять ендотоксину, як правило, маркуються включенням ендотоксину в кількості 1 EU на міліграм продукту антитіла або менше, наприклад, 0,5 або 0,1 EU на міліграм продукту.

По суті вільна від білка клітина-хазяїн або ДНК, як правило, маркується включенням клітинного білка і/або ДНК контенту в кількості 400 мкг на міліграм продукту антитіла або менше, такий як 100 мкг на мг або менше, зокрема 20 мкг на мг, залежно від обставин.

Молекула антитіла даного винаходу також може бути використана в діагностиці, наприклад при діагностиці в живих організмах, що включають з FcRn і візуалізацію хворобливих станів.

Антитіла даного винаходу є корисними як для лікування та/або профілактики патологічного стану, так і в фармацевтичних або діагностичних композиціях, що включають молекулу антитіла даного винаходу в комбінації з одним або більше фармацевтично прийнятним наповнювачем, розріджувачем або носієм. Відповідно до винаходу, молекули антитіла використовуються для отримання лікарських засобів.

Композиція, як правило, використовується в якості частини стерильної фармацевтичної композиції, яка включає фармацевтично прийнятний носій. Фармацевтична композиція за даним



винаходом може додатково містити фармацевтично прийнятні наповнювачі. Цей винахід також стосується способу отримання фармацевтичної або діагностичної композиції, що включає додавання та змішування молекули антитіла даного винаходу разом із одним або більше фармацевтично прийнятним наповнювачем, розріджувачем або носієм.

5 Молекула антитіла може бути єдиним активним інгредієнтом у фармацевтичній або діагностичній композиції, або може супроводжуватися іншими активними інгредієнтами, включаючи інші інгредієнти-антитіла, або без антитіл інгредієнтів, таких як стероїди або інші молекул ліків, зокрема молекули ліків, період напіврозпаду яких не залежить від FcRn зв'язування.

10 Фармацевтичні композиції відповідно містять терапевтично ефективну кількість антитіла за винаходом. Термін "терапевтично ефективна кількість", який використовується тут, відноситься до кількості терапевтичного агента, необхідного для лікування, запобігання або поліпшення цільового захворювання або стану, або для досягнення визначеного терапевтичного або профілактичного ефекту. Для будь-якого антитіла, терапевтично ефективна кількість може бути оцінена спочатку або в клітинних культурах, або в моделях на тваринах, зазвичай гризунах, кроликах, собаках, свинях або приматах. Модель тварини може бути також використана для визначення відповідного діапазону концентрацій і шляху введення. Така інформація може бути використана для визначення підходящих доз і способів їх введення людині. Точна терапевтично ефективна кількість для людини-суб'єкта залежатиме від тяжкості патологічного стану, загального стану здоров'я суб'єкта, віку, ваги та статі суб'єкта, дієти, часу і частоти введення, комбінації препаратів, реакції чутливості та переносимості/реакції на терапію. Ця кількість може бути визначена за допомогою звичайних експериментів і лікарем-клініцистом. Зазвичай терапевтично ефективна кількість становить від 0,01 мг/кг до 500 мг/кг, наприклад від 0,1 мг/кг до 200 мг/кг, наприклад, 100 мг/кг. Фармацевтичні композиції можуть бути зручно представлені у формі одиничних доз, що містять заздалегідь визначену кількість активного агента на дозу за винаходом. Терапевтичні дози антитіл відповідно до цього винаходу не проявляють будь-яких видимих ефектів токсикології у природних умовах.

В одному варіанті здійснення винаходу одноразова доза антитіла або фрагменту може забезпечити зниження циркулюючих рівнів IgG до 70 %.

30 Максимальний терапевтичний ефект зменшення циркулюючого IgG може спостерігатися приблизно через 1 тиждень після введення відповідної терапевтичної дози. Рівень IgG може відновитися протягом приблизно шести тижнів, якщо подальші терапевтичні дози не поставляються. Переважно, рівень IgG у природних умовах можна підтримувати на відповідному низькому рівні шляхом введення послідовних доз антитіла або фрагменту відповідно до винаходу. Композиції можна вводити окремо пацієнту, або вони можуть бути введені в комбінації (наприклад, одночасно, послідовно або роздільно) з іншими агентами, лікарськими засобами або гормонами.

В одному варіанті здійснення антитіла або фрагменти відповідно до цього винаходу, такі як стероїди, зокрема преднізолон, використовуються як імунодепресантна терапія.

40 В одному варіанті здійснення антитіла або фрагменти відповідно до цього винаходу використовуються з ритуксимабом або іншими В-клітинними препаратами.

В одному варіанті здійснення антитіла або фрагменти відповідно до цього винаходу використовуються з будь-яким В-клітинним або Т-клітинним модулюючим агентом або імуномодулятором. Приклади включають метотрексат, мікрофеноліат і азатіоприн.

45 Доза молекул антитіла, яку вводять за даним винаходом, залежить від природи захворювання, що підлягає лікуванню, ступені присутнього запалення та від того, чи використовується молекула антитіла профілактично, чи для лікування існуючого стану. Частота введення дози буде залежати від періоду напіврозпаду молекули антитіла та тривалості його впливу. Якщо молекула антитіла має легкий період напіврозпаду (наприклад, від 2 до 10 годин) може бути необхідно дати одну або декілька доз на день. Альтернативно, якщо молекула антитіла має важкий період напіврозпаду (наприклад, від 2 до 15 днів) і/або тривалий профіль фармакодинаміки (PD), то може бути необхідно давати дозу тільки один раз на день, раз на тиждень, або навіть один раз в 1 або 2 місяці. В одному варіанті винаходу доза вводиться раз на два тижні, тобто два рази на місяць. Період напіввиведення, який використаний в описі, 50 призначений для позначення тривалості звернення молекули в сироватці крові/плазми.

55 Фармакодинаміка, як використано тут, відноситься до профілю і, зокрема тривалості біологічної дії молекули відповідно до даного винаходу.

60 Фармацевтично прийнятний носій не повинен сам по собі викликати вироблення антитіл, шкідливих для суб'єкта, що одержує композицію, і не повинен бути токсичним. Підходящі носії можуть бути великими макромолекулами, що повільно метаболізуються, такими як білки,

поліпептиди, ліпосоми, полісахариди, полімолочні кислоти, полігліколеві кислоти, полімерні амінокислоти, співполімери амінокислот і неактивні вірусні частинки.

Можуть бути використані фармацевтично прийнятні солі, наприклад, солі мінеральних кислот, такі як гідрохлориди, гідроброміди, фосфати і сульфати, або солі органічних кислот, такі як ацетати, пропіонати, малонати і бензоати.

Фармацевтично прийнятні носії в терапевтичних композиціях можуть додатково містити такі рідини як вода, фізіологічний розчин, гліцерин і етанол. Крім того, допоміжні речовини, такі як змочувальні або емульгуючі агенти або рН-буферні речовини, можуть бути присутніми в таких композиціях. Такі носії дозволяють використовувати фармацевтичні композиції у вигляді таблеток, пігулок, драже, капсул, рідин, гелів, сиропів, суспензій для прийому пацієнтом усередину.

Підходящі форми для введення включають форми, придатні для парентерального введення, наприклад, шляхом ін'єкції або інфузії, наприклад, шляхом болюсної ін'єкції або безперервної інфузії. Там, де продукт призначений для ін'єкції або інфузії, він може мати форму суспензії, розчину або емульсії в масляних або водних несучих рідинах, і може містити допоміжні агенти, такі як суспендувачі, консерванти, стабілізуючі та/або диспергуючі агенти. Альтернативно, молекула антитіла може бути в сухому вигляді, для відновлення перед застосуванням з відповідною стерильною рідиною.

Після того, як композиції сформульовані за винаходом, вони можуть бути введені безпосередньо суб'єкту. Суб'єкти, які підлягають лікуванню, можуть бути тваринами. Проте, в одному або декільках варіантах здійснення винаходу композиції пристосовані для введення людським суб'єктам. Відповідно в складах даного винаходу, рН кінцевої композиції не схожа на значення ізоелектричної точки антитіла або фрагмента, наприклад, якщо рІ білка, знаходиться в діапазоні 8-9 або вище, то може бути доцільно формулювання з рН 7. Не пов'язуючи це з теорією вважається, що в кінцевому рахунку це може забезпечити кінцеві композиції з поліпшеною стабільністю, коли наприклад антитіло або фрагмент залишається в розчині. В одному прикладі фармацевтичний препарат при рН в діапазоні від 4,0 до 7,0, містить: від 1 до 200 мг/мл молекули антитіла відповідно до даного винаходу, від 1 до 100 мМ буфера, від 0,001 до 1 % поверхнево-активної речовини, а) від 10 до 500 мМ стабілізатора, б) від 10 до 500 мМ стабілізатора і від 5 до 500 мМ тонізуючого засобу, або в) від 5 до 500 мМ тонізуючого засобу. Фармацевтичні композиції даного винаходу можуть бути введені будь-яким шляхом, включаючи, але не обмежуючись, пероральним, внутрішньовенним, внутрішньом'язовим, внутрішньоартеріальним, інтрамедулярним, інтратекальним, інтравентрикулярним, трансдермальним, черезшкірним (наприклад, див. WO98/20734), підшкірним, внутрішньочеревинним, інтраназальним, ентральним, місцевим, сублінгвальним, інтравагінальним або ректальним шляхом. Безголкові способи також можуть бути використані для введення фармацевтичних композицій згідно з винаходом. Зазвичай терапевтичні композиції можуть бути приготовані у вигляді ін'єкцій, у вигляді рідких розчинів або суспензій. Тверді форми, які підходять для розчинення або суспендування в рідких носіях перед ін'єкцією, також можуть бути застосовані.

Пряма доставка композицій зазвичай може бути досягнута шляхом ін'єкції підшкірно, внутрішньочеревинно, внутрішньовенно або внутрішньом'язово, або доставлена в інтерстиціальний простір тканини. Композиції можна також вводити в ураження. Лікувальна доза може бути одноразовою, або складатися з дрібних доз.

Слід мати на увазі, що активним інгредієнтом в композиції буде молекула антитіла. Як така, вона буде схильна до деградації в шлунково-кишковому тракті. Таким чином, якщо композиція призначена для введення з використанням шлунково-кишкового тракту, в її склад потрібно буде вводити агенти, які захищають антитіло від деградації, але які вивільняють антитіло після їх всмоктування в шлунково-кишковому тракті.

Детальне обговорення фармацевтично прийнятних носіїв доступне в Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Company, N.J. 1991). В одному варіанті здійснення винаходу композиція надається у вигляді композиції для місцевого застосування, в тому числі для інгаляції. Підходящі інгаляційні препарати включають інгаляційні порошки, аерозолі, що містять металні гази або інгаляційні розчини, вільні від порохових газів. Інгаляційні порошки відповідно до винаходу, що містять активну речовину, можуть складатися тільки з вищезазначених активних речовин, або суміші зазначених вище активних речовин з фізіологічно прийнятним наповнювачем.

Ці порошки для інгаляції, можуть включати моносахариди (наприклад, глюкози або арабінози), дисахариди (наприклад, лактоза, сахароза, мальтоза), оліго- і полісахариди (наприклад, декстрини), поліспирти (наприклад, сорбіт, маніт, ксиліт), солі (наприклад, хлорид

натрію, карбонат кальцію), або їх суміші один з одним. Моно- або дисахариди можна використовувати підходящим чином зі застосуванням лактози або глюкози, зокрема, але не виключно, у формі їх гідратів. Частинки для осадження в легенях вимагають розмір частинок менший за 10 мкм, наприклад, 1-9 мкм, наприклад від 1 до 5 мкм. Розмір частинок активного інгредієнта (наприклад, антитіла або фрагмента) має першорядне значення. Пропелентні гази, які можуть бути використані для отримання інгаляційних аерозолів, відомі в даній галузі техніки. Підходящі гази пропелента вибрані з групи, що включає вуглеводні, такі як н-пропан, н-бутан або ізобутан і галогеновмісні вуглеводні, такі як хлоровані та/або фторовані похідні метану, етану, пропану, бутану, циклопропану або циклобутану. Зазначені пропелентні гази можуть бути використані самі по собі або у вигляді їх сумішей.

Особливо підходящими пропелентними газами є галогеновані похідні алканів, вибрані з TG 11, TG 12, TG 134a і TG227. З вищенаведених галогенованих вуглеводнів, TG134a (1,1,1,2-тетрафторетан) і TG227 (1,1,1,2,3,3,3-гептафторпропан) та їх суміші є особливо підходящими. В інгаляційні аерозолі, що містять пропелентні гази, можуть також додаватися інші інгредієнти, такі як співрозчинники, стабілізатори, поверхнево-активні речовини (ПАР), антиокислювачі, мастильні матеріали та засоби для регулювання рН. Всі ці інгредієнти відомі в даній області. Інгаляційні аерозолі, що містять пропелентні гази, відповідно до винаходу можуть містити активні речовини до 5 % за вагою. Аерозолі відповідно до винаходу містять, наприклад, від 0,002 до 5 % за вагою, від 0,01 до 3 % за вагою, від 0,015 до 2 % за вагою, від 0,1 до 2 % за вагою, від 0,5 до 2 % за вагою або від 0,5 до 1 % за вагою активного інгредієнта.

Як альтернатива місцевого застосування в легенях рідкого розчину або суспензії препарату також може бути введення, наприклад, з використанням такого пристрою, як небулайзер, наприклад, розпилювач, з'єднаний з компресором (наприклад, PARI LC-Jet Plus (R), розпилювач з'єднаний з компресором Pari Master (R) виробництва фірми Pari Respirator, Inc., Richmond, VA.).

Антитіла за винаходом можуть бути доставлені диспергованими в розчиннику, наприклад, у вигляді розчину або суспензії. Вони можуть бути стабілізовані у відповідному фізіологічному розчині, або іншому фармакологічно прийнятному розчиннику, або в буферному розчині. Буферні розчини, відомі в даній області, можуть містити від 0,05 мг до 0,15 мг динатрій едетату, від 8,0 мг до 9,0 мг NaCl, від 0,15 мг до 0,25 мг полісорбату, від 0,25 мг до 0,30 мг безводної лимонної кислоти та від 0,45 мг до 0,55 мг цитрату натрію на 1 мл води з тим, щоб досягти рН приблизно від 4,0 до 5,0. В суспензії можна використовувати, наприклад, ліофілізовані антитіла. Терапевтичні препарати, суспензії або розчини також можуть містити один або більше наповнювачів. Допоміжні речовини добре відомі в даній області та включають буфери (наприклад, цитратний буфер, фосфатний буфер, ацетатний буфер і бікарбонатний буфер), амінокислоти, сечовину, спирти, аскорбінову кислоту, фосфоліпіди, білки (наприклад, сироватковий альбумін), ЕДТА, хлорид натрію, ліпосоми, маніт, сорбіт, гліцерин та інше. Розчини або суспензії можуть бути закапсульзовані в ліпосоми або біодеградабельні мікросфери. Препарат, як правило, виготовляють з використанням стерильної форми і стерильних процесів виготовлення. Це може включати в себе виробництво та стерилізацію фільтруванням буферних розчинників/розчинів, використаних для розробки, асептичні стабілізації антитіл в стерильному забуференому розчині розчинника, і дозування препарату в стерильних посудинах, за допомогою методів, відомих фахівцям зі звичайною кваліфікацією в даній області.

Небулізована композиція за винаходом може бути передбачена, наприклад, в одноразовій дозі (наприклад, в запечатаних пластикових контейнерах або флаконах), упакованих в конверти з фольги. Кожен флакон містить стандартну дозу в об'ємі, наприклад, 2 мл, сольвенту/буферного розчину. Антитіла, описані тут, можуть бути придатні для доставки через розпилення. Передбачається також, що антитіла за даним винаходом можна вводити за допомогою генної терапії. Для того, щоб досягти цього, послідовності ДНК, які кодують важкий і легкий ланцюги молекул антитіла під контролем відповідних компонентів ДНК, вводять в тіло пацієнта таким чином, щоб антитіло ланцюга поєднувалося з ДНК-послідовностями, і збиралося in situ.

Винахід також забезпечує молекулу антитіла (або композицій, що містять їх) для використання в контролі аутоімунних захворювань, наприклад гострого розсіяного енцефаломієліту (ADEM), гострого геморагічного некротичного лейкоенцефаліту, хвороби Аддісона, агаммаглобулінемії, алопеції, амілоїдозу, ANCA-асоційованого васкуліту, хвороби Бехтерева, Анти-GBM/Анти-TBM нефриту, синдрому антифосфоліпіду (APS), аутоімунного набряку Квінке, аутоімунної апластичної анемії, аутоімунної дизавтономії, аутоімунного гепатиту, аутоімунної гіперліпідемії, аутоімунного імунодефіциту, аутоімунних внутрішніх захворювань вуха (AIED), аутоімунного міокардиту, аутоімунного панкреатиту, аутоімунної

ретинопатії, аутоімунного тромбоцитопенічного пурпуру (АТФ), аутоімунних захворювань щитовидної залози, аутоімунних уртикарній, аксонів і кінцевої невропатії, хвороби Бало, хвороби Бехчета, бульозного пемфігоїду, кардіоміопатії, хвороби Каслмена, червонпорожнинних хвороб, хвороби Шагаса, хронічної запальної демієлінізуючої полінейропатії (CIDP), хронічного рецидивного мультифокального остомієліту (CRMO), синдрому Чурга-Стросса, рубцевого пемфігоїду/доброякісної пухирчатки слизових оболонок, хвороби Крона, синдрому Коганса, холодної хвороби аглютинінів, вродженої блокади серця, міокардиту Коксакі, CREST хвороби, есенціально змішаної кріоглобулінемії, демієлінізуючої невропатії, герпетичного дерматиту, хвороби дерматоміозиту, хвороби Девіца (оптиконевромієліту), дилатаційної кардіоміопатії, дискоїдного червоного синдрому Дресслера, ендометріозу, еозинофільного ангіоцентричного фіброзу, еозинофільного фасціїту, еритеми, експериментального алергічного енцефаломієліту, синдрому Еванса, фіброзуючого альвеоліту, гігантського артеріїту (скроневого артеріїту), гломерулонефриту, синдрому Гудпасчера, гранулематозу з поліангіїтом (GPA) див. хворобу Вегенера, хворобу Грейвса, синдрому Гієна-Барра, енцефаліту Хашимото, аутоімунного тиреоїдиту, гемолітичної анемії, геморагічного васкуліту, герпесу вагітних, гіпогаммаглобулінемії, ідіопатичного гіпокомплементарного тубулоінтерстиціального нефриту, ідіопатичного тромбоцитопенічного пурпуру (ITP), IgA нефропатії, IgG4, пов'язаної з хворобою, IgG4, пов'язаної з захворюванням склерозу, імунорегуляторного ліпопротеїну, запальних аневризм аорти, запальних псевдопухлин, включення тіл міозиту, інсулінозалежного діабету (тип 1), інтерстиціального циститу, ювенільного артрити, ювенільного діабету, синдрому Кавасаки, пухлини Каттнера, синдрому Ламберта-Ітона, лейкоцитокласичного васкуліту, червоного плоского лишая, лишайнику склероатрофічного, деревного кон'юнктивіту, хвороби лінійного IgA (LAD), вовчаку (SLE), хвороби Лайма, хронічного фіброзу середостіння, хвороби Мен'єра, мікроскопічного поліангіїту, синдрому Мікуліча, змішаного захворювання сполучної тканини (MCTD), виразки Мурен, хвороби Муха-Хаберманна, мультифокального фіброзсклерозу, розсіяного склерозу, міастенії, міозиту, нарколепсії, оптиконевромієліту (Devic's), нейтропенії, очного рубцевого пемфігоїду, неврити зорового нерва, хвороби Ормонда (забрюшинного фіброзу), паліндрому ревматизма, PANDAS (дитячих аутоімунних психоневрологічних розладів, пов'язаних з стрептококом), паранеопластичної дегенерації мозочка, парапротейн- полінейропатії, пароксизмальної нічної гемоглобінурії (PNH), синдрому Паррі Ромберга, синдрому Парсоннаж-Тернера, Pars planitis (периферичного увеїту), пухирчатки звичайної, періаортитису, періартеріїту, периферичної нейропатії, перивенозного енцефаломієліту, згубної анемії, синдрому ROEMS, вузликового поліартриту, тип I, II, і III аутоімунних поліграндулярних синдромів, ревматичної поліміалгії, поліміозиту, синдрому після інфаркту міокарда, постперикардіотомічного синдрому, прогестеронного дерматиту, первинного біліарного цирозу печінки, первинного склерозуючого холангіїту, псоріазу, псоріатичного артрити, ідіопатичного легеневого фіброзу, гангренозної піодермії, чистої червоної аплазії, явища Рейнода, рефлексів симпатичної дистрофії, синдрому Рейтера, рецидивуючого поліхондриту, синдрому неспокійних ніг, заочеревинного фіброзу (хвороба Ормонда), ревматизму, ревматоїдного артрити, тиреоїдиту Ріделя, саркоїдозу, синдрому Шмідта, склериту, склеродермії, синдрому Шегрена, спермо-тестикулярних аутоімунних захворювань, синдрому м'язової скутості, підгострого бактеріального ендокардиту (SBE), синдрому Сушаца, симпатичної офтальмії, синдрому Такаюсу, тимчасового артеріїту/гігантського артеріїту, тромботично-тромбоцитопенічного пурпуру (TTP), синдрому Толоса-Ханта, поперечного мієліту, виразкового коліту, недиференційованого захворювання сполучної тканини (UCTD), увеїту, васкуліту, везикулобульозного дерматозу, вітіліго, макроглобулінемії Валденстрома, теплої ідіопатичної гемолітичної анемії та гранулематозу Вегенера (зараз називається Гранулематоз з поліангіїтом (GPA)).

В одному варіанті антитіла або фрагменти відповідно до винаходу використовують у лікуванні або профілактиці епілепсії або випадків. В одному варіанті антитіла або фрагменти відповідно до винаходу використовують у лікуванні або профілактиці розсіяного склерозу. У варіанті здійснення в описі винаходу антитіла та фрагменти використовуються в алоімунних захворюваннях/індикаціях, які включають в себе:

- трансплантацію донорської невідповідності через анти-HLA антитіла
- алоімунну тромбоцитопенію плода та неонатальну алоімунну тромбоцитопенію, FNAIT (або неонатальну алоімунну тромбоцитопенію, NAITP або NAIT, або NAT, або алоімунну тромбоцитопенію плода, FMAITP або FMAIT).

Додаткові показання включають: швидке розділення Fc-вміщуючих біофармацевтичних препаратів від хворих людей і поєднання анти-FcRn терапії з іншими методами лікування - ВВІГ,

Ритуксан, плазмаферез. Наприклад, анти-FcRn терапія може бути використана в наступній Ритуксантерапії. У варіанті здійснення в описі винаходу антитіла та фрагменти використовуються в неврологічних розладах, таких як:

- Хронічні запальні демієлінізуючі полінейропатії (CIPD) синдром Гієна-Барра
- парапротейн-полінейропатії
- оптиконевромієліт (розлади спектру NMO, NMO або NMO захворювання спектра), і
- міастенія.

У варіанті розкриття винаходу антитіла та фрагменти використовуються для таких дерматологічних розладів, таких як:

- бульозний пемфігоїд
- пухирчатка звичайна
- ANCA-асоційований васкуліт
- дилатаційна кардіоміопатія.

У варіанті розкриття винаходу антитіла та фрагменти застосовують в імунології, для гематологічних розладів, таких як:

- ідіопатична тромбоцитопенічна пурпура (ITP)
- тромботична тромбоцитопенічна пурпура (TTP)
- тепла ідіопатична гемолітична анемія
- синдром Гудпасчера
- трансплантація донорської невідповідності через анти-HLA антитіла.

В одному з варіантів розкриття винаходу вибрані розлади з міастенії, оптиконевромієліту, CIPD, синдрому Гієна-Барре, пара-протейнемічної полінейропатії, рефракторної епілепсії, ITP/TTP, гемолітичної анемії, синдрому Гудпасчера, ABO невідповідності, невротичного вовчаку, ниркового васкуліту, склеро-дерми, фіброзуючого альвеоліту, дилатаційної кардіоміопатії, хвороби Грейвса, діабету типу 1, аутоімунного діабету, пухирчатки, склеро-дерми, вовчака, ANCA васкуліту, дермо-міозиту, хвороби Шегрена та ревматоїдного артрити.

В одному з варіантів обрані розлади аутоімунного поліендокринного синдрому типів 1 (APCED або синдром Уітакера) і 2 (синдром Шмідта); алопеція; міастенічна криза; криза щитовидної залози; захворювання очей, пов'язані з щитовидною залозою; офтальмопатія щитовидної залози; аутоімунний діабет; енцефаліт та/або енцефалопатія пов'язані з аутоантитілами; пухирчатка фоліацеус; бульозний епідермоліз; герпетичний дерматит; хорея Сіденхама; гостра моторна нейропатія аксонів (AMAN); синдром Міллера-Фішера; мультифокальна моторна нейропатія (MMN); опсоклонус; запальна міопатія; синдром Ісаака (аутоімунна нейроміотонія), паранеопластичні синдроми та лімбічний енцефаліт.

Антитіла та фрагменти відповідно до даного винаходу можуть бути використані в лікуванні або профілактиці. Винахід також забезпечує спосіб зниження концентрації небажаних антитіл в індивідуума, що включає стадії введення індивідууму терапевтично ефективної дози анти-FcRn антитіла або зв'язуючого фрагмента, описаних тут.

В одному варіанті здійснення даного винаходу застосовані антитіла або їх фрагменти, як реагенти для діагностики, наприклад, пов'язані з молекулою-репортером. Таким чином, забезпечується антитіло або фрагмент відповідно до винаходу, які марковані.

В одному аспекті винаходу пропонується стовпець, що містить антитіло або його фрагмент відповідно до винаходу. Таким чином, забезпечується анти-FcRn антитіло або зв'язуючий фрагмент для використання його як реагенту для таких застосувань як:

1) очищення FcRn білка (або його фрагменту) - пов'язані з матрицею та використані як споріднена колонка, або (як модифікована форма анти-FcRn) як осаджуючий агент (наприклад, форма модифікована доменом, розпізнаним іншою молекулою, яка може бути модифікована шляхом додавання Fc (або отримана у вигляді повнорозмірного IgG), який необов'язково осаджують за допомогою реагенту анти-Fc)

2) виявлення та/або кількісне визначення FcRn на клітинах або в клітинах *in vitro*, або в тканині або в секціях клітини). Застосування цього може включати в себе підрахування кількості FcRn як біомаркеру, щоб простежити вплив анти-FcRn на лікування. Кандидат для цих цілей може бути використаний в модифікованій формі (наприклад, як шляхом додавання домену Fc, так і IgG повної довжини, або додавання якого-небудь іншого фрагменту, як генетичного злитого білка або хімічного з'єднання, наприклад, додавання флуоресцентної мітки, що використовується для цілей виявлення)

3) очищення або сортування FcRn-підвішених клітин, мічених шляхом зв'язування з кандидатом модифікованим способами, приклади яких наведені в (1) і (2).

Також в даному винаході запропонований аналіз, придатний для оцінки здатності випробуваної молекули, такої як молекули антитіла, блокувати активність FcRn і, зокрема, від

здатності клітин до IgG рециркуляції. Такий аналіз може бути корисним для ідентифікації інгібіторів активності FcRn, таких як молекули антитіл або невеликі молекули і, як такі, вони можуть бути також корисні в якості пакетного аналізу вивільнення такого інгібітора у виробництві. В одному аспекті пропонується за результатами аналізу вибір підходящої для оцінки здатності тест-молекули, такої як молекула антитіла, блокувати активність FcRn людини і, зокрема, здатність людського FcRn рециркулювати IgG, де спосіб відрізняється тим, що включає етапи, на яких:

а) покриття поверхні нелюдських клітин ссавців рекомбінантно експресує альфа-ланцюг людського FcRn і людський  $\beta 2$  мікроглобулін ( $\beta 2M$ ),

б) контактування клітин в слабокислому середовищі, такому де pH близько 5.9 з тест-молекулою та IgG відновлюється за допомогою клітини протягом періоду часу, достатнього для зв'язування тест-молекули та IgG до FcRn, необов'язково додаючи тест-молекулу перед тим, як IgG були рециркульовані й інкубовані протягом періоду часу, достатнього, щоб дозволити зв'язування тест-молекули з FcRn,

в) промивання злегка підкисленим буфером, і г) виявлення кількості IgG інтерналізованої та/або відновленої клітинами.

В одному аспекті пропонується за результатами аналізу вибір підходящої для оцінки здатності тест-молекули, такої як молекула антитіла, блокувати активність FcRn людини і, зокрема, здатність людського FcRn переробляти IgG, де спосіб відрізняється тим, що включає етапи, на яких:

а) покриття поверхні не людських клітин ссавців рекомбінантно експресує альфа-ланцюг людського FcRn і людський  $\beta 2$  мікроглобулін ( $\beta 2M$ ),

б) контактування клітин в слабокислому середовищі, такому де pH близько 5.9 з тест-молекулою та IgG відновлюється за допомогою клітини протягом періоду часу, достатнього для зв'язування тест-молекули та IgG до FcRn, необов'язково додаючи тест-молекули перед тим, як IgG були рециркульовані й інкубовані протягом періоду часу, достатнього, щоб дозволити зв'язування тест-молекули з FcRn, в) промивання злегка підкисленим буфером для видалення незв'язаного IgG і молекули тестованого антитіла, і

г) виявлення кількості IgG відновленої клітинами. В одному аспекті пропонується за результатами аналізу вибір підходящої для оцінки здатності тест-молекули, такої як молекула антитіла, блокувати активність FcRn людини і, зокрема, здатність людського FcRn переробляти IgG, де спосіб відрізняється тим, що включає етапи, на яких:

а) покриття поверхні не людських клітин ссавців рекомбінантно експресує альфа-ланцюг людського FcRn і людський  $\beta 2$  мікроглобулін ( $\beta 2M$ ),

б) контактування клітин в слабокислому середовищі, такому де pH близько 5.9 з тест-молекулою та IgG відновлюється за допомогою клітини протягом періоду часу, достатнього для зв'язування тест-молекули та IgG до FcRn, необов'язково додаючи тест-молекули перед тим, як IgG були рециркульовані й інкубовані протягом періоду часу, достатнього, щоб дозволити зв'язування тест-молекули з FcRn, в) промивання злегка підкисленим буфером для видалення незв'язаного IgG і молекули тестованого антитіла,

г) інкубування клітин в нейтральному буфері, де pH близько до 7,2, д) виявлення кількості IgG відновленої клітинами шляхом визначення кількості IgG випущених у супернатант.

Підходящі клітини включають клітини II нирок собаки Мадін-Дарбі (MDCK). Трансфекція клітин MDCKII з альфа-ланцюгом FcRn людини і людського  $\beta 2$ -мікроглобуліну ( $\beta 2M$ ) раніше була описана Клейпулом та ін., 2002, Journal of Biological Chemistry, 277, 31, 28038-28050. У цій статті також описана переробка IgG цими трансфікованими клітинами. Середовище для підтримки клітин під час тестування включає в себе повне середовище, що містить MEM (Gibco # 21090-022), 1 x не-замінні амінокислоти (Gibco #11140-035), 1 x піруват натрію (Gibco # 11360-039), і L-глутаміну (Gibco # 25030-024). Кислотні промивки можуть бути отримані шляхом прийняття HBSS + (PAA # H15-008) і не додаючи 1 M MES, поки досягається pH 5,9 +/- 0,5. БСА близько 1 %, також можуть бути додані (Sigma # A9647). Нейтральне відмивання може бути отримане шляхом прийняття HBSS + (PAA # H15-008) і досягається додаванням 10M HEPES pH 7,2 +/- 0,5. БСА близько 1 %, також можуть бути додані (Sigma # A9647). Відмивання клітини кислим буфером видаляє непов'язаний тест на антитіла та незв'язаний IgG і дозволяє виконати подальший аналіз. Кислотні умови, які використовують на стадії (б), стимулюють зв'язування IgG до FcRn та інтерналізацію та їх переробку.

Кількість тестованого антитіла або фрагмента IgG і тільки на поверхні клітин може бути визначена шляхом промивання клітин нейтральною промивкою та аналізування супернатанта/промивки для виявлення кількості тест-антитіла або IgG. Важливо, що буфер для лізису не використовується. Щоб визначити кількість IgG перероблених клітинами антитіл

можуть бути спочатку видалені з поверхні клітини нейтральною промивкою та клітини лізують в буфері для лізису, а потім аналізують внутрішній вміст. Щоб визначити кількість IgG, відновлюваних за допомогою клітин, їх інкубують в нейтральних умовах протягом відповідного періоду часу і аналізують навколишній буфер на вміст IgG. Якщо потрібно проаналізувати вміст

5 поверхні та внутрішніх клітин антитіла, то клітини можуть бути промиті кислотною промивкою, щоб підтримувати присутність антитіл на поверхні клітини, з наступним лізисом клітин і аналізом комбінованого матеріалу.

Там, де бажано вимірювати як інтерналізацію, так і переробку зразків IgG, це виконується в двох примірниках і тестується для інтерналізації та переробки окремо. Підходящий буфер для лізису включає 150 мМ NaCl, 20 мМ Tris, pH 7,5, 1 мМ EDTA, 1 мМ EGTA, 1 % Тритон-Х 100, для

10 кожних 10 мл додати інгібітори протеази/фосфатні інгібітори так, як описано в інструкціях виробника.

Зазвичай IgG, що призначені для переробки- марковані, в одному прикладі можуть бути використані біотинільовані людські IgG. IgG потім можуть бути виявлені з використанням, наприклад, сульфо-тег стрептавидину антитіла (наприклад, MSD # r32ad-5) 25 мл в 0.2 пг/мл блокуючого буфера MSD. Блокуючий буфер може містити 500 мМ Tris, pH 7,5, 1,5 М NaCl і 0,2 % Твін-20 і 1,5 % BSA. Як альтернатива IgG може бути попередньо промаркована флюорофором або аналогічним маркером.

15

В одному з варіантів підходящою поверхнею є пластикова пластина або планшет, такий, як 96-лунковий планшет або подібний, предметне скло, або мембрана. В одному прикладі клітини наносили на поверхню зі щільністю, що призводить до утворення моношару. В одному з варіантів аналізу, описаного в даному документі, аналіз не є вимірюванням трансцитозу в антитіла зверху до низу мембрани з поперечним градієнтом pH, наприклад кислотні умови на одній стороні мембрани і нейтральні умови на іншій стороні мембрани. В одному прикладі тест-

20 антитіло або фрагмент IgG може бути інкубованим з клітинами в стадії (б) протягом приблизно 1 години, наприклад, при комфортній температурі навколишнього середовища в кислих умовах для забезпечення зв'язування.

В одному прикладі тест-антитіло або фрагмент може бути інкубованими з клітинами в стадії (б) протягом приблизно 1 години, наприклад, при температурі навколишнього середовища в кислих умовах, для забезпечення зв'язування перед додаванням до IgG були відновлені. Згодом IgG, відновлені за допомогою клітини, можна інкубувати з клітинами на стадії (б) протягом приблизно 1 години, наприклад, при комфортній температурі навколишнього середовища в кислих умовах для забезпечення зв'язування.

25

Нейтральні умови полегшують вивільнення IgG у супернатант.

Склад в контексті даного опису означає вміст в тому числі.

30

Там, де технічно прийнятно, варіанти здійснення даного винаходу можуть бути об'єднані.

Варіанти здійснення, описані в даному документі, містять певні функції/елементи.

Винахід також поширюється на окремі варіанти, які включають або суттєво включають зазначені елементи/характеристики. Технічні посилання, такі як патенти і заявки, включені в

35 даний опис за допомогою посилань.

Даний винахід далі описаний за допомогою фігур тільки в наступних прикладах, які посилаються на додані фігури, на яких:

Фіг. 1 показує певні амінокислотні та полінуклеотидні послідовності.

Фіг. 2 показує вирівнювання окремих послідовностей.

Фіг. 3 показує порівняння зв'язку людського MDCK II і Fab' фрагмента відповідно до даного винаходу і його ПЕГільованої версії.

40

Фіг. 4 показує Fab' фрагмент відповідно до цього винаходу і версії його ПЕГільованої переробки інгібуючого IgG на клітинах MDCK II.

Фіг. 5 показує як ПЕГільований Fab' фрагмент відповідно до цього винаходу інгібує IgG транцитозис від апікального до базолатерального в MDCK клітині II.

45

Фіг. 6 показує порівняння зв'язування MDCK II собакоподібної мавпи для Fab' фрагмента відповідно до даного винаходу і його ПЕГільованої версії.

Фіг. 7 показує ПЕГільований Fab' фрагмент відповідно до цього винаходу, що інгібує переробку IgG на MDCK клітині II для людини та їх версій для собакоподібних мавп.

50

Фіг. 8 показує ефект одноразової дози ПЕГільованої Fab' молекули відповідно до опису на рівні плазматичного IgG в макаках.

Фіг. 9 показує вплив чотирьох щотижневих доз ПЕГільованої Fab' молекули відповідно до опису на рівень IgG у плазмі.

Фіг. 10 показує схематичне представлення функції рециркуляції антитіла FcRn, інгібованого блокуючим білком.

55

60

Фіг. 11 показує проточну цитометрію, засновану на аналізі IgG людини, що блокується з використанням очищених гамма 1 IgG антитіл.

Фіг. 12 показує Fab' PEG одиночні/тимчасові дози IV у нормальних собакоподібних мавп 20 мг/кг на день та фармакодинаміку 67 IgG.

5 Фіг. 13 показує IgG фармакодинаміку при Fab' PEG: повторних IV дозах у нормальних собакоподібних мавп - 4 × 20 або 100 мг/кг на тиждень.

Фіг. 14 показує IgG фармакодинаміку при Fab' PEG одиночних/тимчасових дозах IV у нормальних собакоподібних мавп -20 мг/кг і 100 мг/кг в дні 1 і 67.

Фіг. 15 показує рівні плазми IgG в 4 макак після 2 IV доз 20 мг/кг 1519.g 57 Fab' PEG.

10 Фіг. 16 показує рівні IgG плазми в 4 макак, які отримують 10 IV дози 20 мг/кг 1519.g57 Fab' PEG через кожні 3 дні.

Фіг. 17 показує ефект двох 30 мг/кг внутрішньовенних доз 1519.g57 IgG4P на ендогенний IgG плазми у собакоподібних мавп.

15 Фіг. 18 показує ефект 30 мг/кг з супроводженням 41 добових доз 5 мг/кг 1519.g57 IgG4P на IgG плазми у собакоподібних мавп.

Фіг. 19 показує результат щоденного дозування з несучою IgG плазмою у собакоподібних мавп.

Фіг. 20 показує підвищений кліренс IV hIgG у плазмі hFcRn трансгенних мишей, що отримували CA170\_01519.g57 Fab'PEG або PBS IV.

20 Фіг. 21 показує підвищений кліренс IV hIgG у плазмі hFcRn трансгенних мишей, що отримували CA170\_01519.g57 IgG1, або IgG4, або PBS IV.

Фіг. 22 показує збільшений кліренс IV hIgG у плазмі hFcRn трансгенних мишей, що отримували CA170\_01519.g57 Fab'-сироватковий альбумін людини або PBS IV.

25 Фіг. 23 показує збільшений кліренс IV hIgG у плазмі hFcRn трансгенних мишей, що отримували CA170\_01519.g57 FabFv або PBS IV.

Фіг. 24 показує підвищений кліренс IV hIgG у плазмі hFcRn трансгенних мишей, що отримували CA170\_01519.g57 Fab, або Fab' PEG, або PBS IV.

Фіг. 25 показує біспецифічні антитіла злитого білка даного винаходу, що згадуються як Fab-dsFv.

### 30 ПРИКЛАДИ

Наступні щеплення були проведені для того, щоб генерувати матеріал для культури клітин В і скринінг антитіл: Спрег Доулі щури були щеплені трьома дозами фібробластів NIH3T3 миші ко-експресуючим людським мутантним FcRn (L320A; L321A) (Обер та ін., 2001 Int Immunol 13, 1551-1559) і β2M миші з четвертим заключним підсиленням позаклітинним доменом людського FcRn. Сироватка контролюється як на зв'язування з мутантним FcRn на HEK-293 клітинах, так і за її здатністю запобігати зв'язуванню людського IgG міченого Alexafluor 488. Обидва методи проводились за допомогою проточної цитометрії. Для виявлення зв'язування IgG в сироватці були використані (PE) мічені вторинні реагенти фікоеритрину миші чи Fc щурів. В-клітинні культури були приготовлені з використанням способу, аналогічного тому, який описаний Zubler і співавт. (1985). Коротко кажучи, В-клітини при щільності приблизно 5000 клітин на лунку культивували штрих-кодом в 96-лункових тканинних культуральних планшетах з 200 Ір/лунку RPMI 1640 (Gibco BRL), доповненою 10 % FCS (PAA laboratories ltd), 2 % HEPES (Sigma Aldrich), 1 % L-глутаміну (Gibco BRL), 1 % розчин пеніциліну/стрептоміцину (Gibco BRL), 0,1 % β-меркаптоетанол (Gibco BRL), 2-5 % активованої супернатантної культури спленоцитів кролика та гамма-опромінені EL-4-B5 мишачі клітини Тимомма ( $5 \times 10^4$  /лунку) протягом семи днів при 37 °C в атмосфері 5 % CO<sub>2</sub>.

Наявність FcRn-специфічних антитіл в супернатантній клітинній культурі В була визначена з використанням гомогенної флуоресценції на основі зв'язування з використанням тимчасово трансфікованих клітин HEK-293 з мутантним FcRn (поверхнево-стабілізовані), як джерело антигену-мішені. Супернатант в об'ємі 10 мкл переносили з тканинної культури зі штрих-кодованих 96-лункових тканинних пластин в штрих-кодовані 384-лункові планшети з чорними стінками для аналізу, що містили 5000 трансфікованих клітин HEK-293 на лунку з використанням Matrix Platemate матриці для утримування рідини. Зв'язування було виявлено з IgG Fcy-специфічного Cy-5 кон'югату (Jackson) кози, анти-щура або миші. Планшети зчитували за допомогою Applied Biosystems 8200 системи стільникового детектування. В 3800 × 96-лункових культуральних планшетах, що представляли 38 різних імунізованих тварин, було ідентифіковано 9800 анти-людських FcRn сполук. Було підраховано, що у планшетах викладено скринінг приблизно 2,5 млрд В-клітин.

60 Після первинного скринінгу, позитивні супернатанти були об'єднані на штрих-кодованому майстер-планшеті з 96-лунками з використанням збираючого робота Aviso Onyx і заморожених



при -80 °C В-клітин у клітинній культурі пластин. Майстер-планшети потім просіювали за аналізом Віасоре, щоб ідентифікувати лунки, які містять антитіла з високою спорідненістю та ті, які інгібують зв'язування людського IgG до FcRn (див. нижче).

Біомолекулярний аналіз взаємодії був виконаний за допомогою технології поверхневого плазмонного резонансу (SPR), який проводили на системі BIAcore T200 (GE Healthcare). IgG, Fc-гамма кози, анти-щур (Chemicon International Inc.) в 10 mM NaAc, pH 5 буфері був іммобілізований на чіпі CM5 датчика через аміне хімічне поєднання до рівня захоплення приблизно 19500 одиниць (RU), використовуючи HBS-EP<sup>+</sup> буфер. 50 mM фосфат, pH 6+150 mM NaCl було використано як буфер аналізу спорідненості та блокування. Супернатантну культуру В-клітин розводили 1 до 5 в 200 mM фосфаті, pH 6+150 mM NaCl. Ін'єкція 600s розведеного супернатанта В-клітин в 5µl/хв була використана для захоплення іммобілізованим IgG, Fc анти-щур. FcRn людини на 100 nM упорскували в захоплену супернатантну культуру В-клітин для 180s на 30µl/хв з подальшою 360S дисоціацією. IgG людини (Jackson ImmunoResearch) упорскували для дисоціації від 60s до 180s при 30µl/хв. Дані були проаналізовані з використанням програмного забезпечення оцінки T200 (версія 1.0), щоб визначити константи спорідненості (KD) антитіл і визначити ті з них, які блокують зв'язування IgG.

В якості альтернативного аналізу також робили скринінг блокування супернатантів людського IgG на мастер-планшеті. Супернатант В-клітинної культури в об'ємі 25 мкл був доданий в 96-лунковий поліпропіленовий майстер-планшет з U-дном. Мутант hFcRn трансфікованих клітин HEK-293 (50000 клітин на лунку в 25 мкл PBS, pH 6/1 % FCS) потім додавали в кожну лунку й інкубували протягом 1 години при 4 °C. Клітини двічі промивали 150 мкл PBS середовищем. Потім клітини ресуспендували в 50 мкл/лунку PBS/FCS середовища, що містять людський IgG, мічений Alexafluor 488 або 649 на 7.5µg/мл, і інкубували 1 годину при 4 °C. Потім клітини промивали двічі в 150 мкл середовищі, а потім ресуспендували по 35 мкл/лунку з PBS/FCS середовищами, що містять 1 % формальдегіду як фіксатор. Планшети потім читали на проточному цитометрі FACS Canto 2. Приклад даних наведений на Фіг. 11. Щоб вилучити гени антитіл у варіабельній області вибраних лунок, що представляють інтерес, був виконаний крок деконволюції для того, щоб ідентифікувати антиген-специфічні В-клітини в даній лунці, що містять гетерогенну популяцію В-клітин. Це було досягнуто за допомогою методу флуоресцентної підсвітки. Коротко, секретуючі імуноглобулін В-клітини з позитивних лунок були змішані з кульками стрептавідину (New England Biolabs) з покриттям з біотинільованим людським FcRn і фінальним розчином 1: 1200 козячого, анти-щуриного, або мишачого γFc фрагмент-специфічного FITC кон'югату (Jackson). Після статичної інкубації при 37 °C протягом 1 години, антиген-специфічні В-клітини можуть бути ідентифіковані за рахунок присутності флуоресцентного галогену.

Антитіла варіабельної області генів були виділені з окремих клітин шляхом зворотної транскрипції полімеразної ланцюгової реакції (RT) -PCR з використанням специфічних праймерів та довгих і коротких ланцюгів варіабельної області. Два раунди PCR проводили з роботом для утримання рідини Aviso Onyx, з вкладеними 2° PCR включеннями областей рестрикції на 3 'і 5' кінцях, що дозволяє клонування варіабельних областей в γ1 IgG (VH) миші або (VL) експресуючого вектора ссавця миші каппа. Парні довгі та короткі ланцюги конструкції були спільно трансфіковані у HEK-293 клітин з використанням Fectin 293 (Invitrogen) і культивуванням в 48-лункових планшетах в об'ємі 1 мл. Після 5-7 днів експресування супернатанти й антитіла піддають подальшому скринінгу. Успішно відновлені довгі та короткі ланцюги PCR складають пари поодиноких В-клітин в 156 з вибраних лунок. Аналіз послідовності ДНК з клонуваних генів варіабельної області визначили ряд унікальних сімейств рекомбінантного антитіла. Після експресії перехідні супернатанти були досліджені як в блокуванні людського IgG FACS (описано вище), так і для переробки IgG. У деяких випадках був виготовлений очищений мишачий γ1IgG і також випробуваний (дані позначені відповідно).

Для аналізу на переробку використовували MDCK II клітини (клон 34, як описано у Прикладах 4 і 5 нижче) над-експресуючий людський FcRn і планшети з бета-2 мікроглобуліном, де висіювали по 25 000 клітин на лунку 96-лункового планшета. Їх інкубували протягом ночі при 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub>. Клітини промивали HBSS+Ca/Mg, pH 7,2+1 % BSA, а потім інкубували з 50 мкл різних концентрацій HEK-293 перехідного супернатанта або очищеного антитіла протягом 1 години при 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub>. Супернатантну рідину видаляли та додавали до клітин 500 нг/мл біотинільований людський IgG (Jackson) в 50 мкл HBSS+Ca/Mg pH 5,9+1 % BSA та інкубували протягом 1 години при 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub>. Потім клітини промивали три рази в HBSS+Ca/Mg pH 5,9 і 100 мкл HBSS+Ca/Mg, pH 7,2 додавали до клітин й інкубували при 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub> протягом 2 годин. Супернатантну рідину видаляли з клітин і аналізували на загальний IgG з використанням MSD аналізу з антитілами, виділеними з анти-людського IgG (Jackson) і стрептавідин-

сульфосаліциловим виділеним антитілом (MSD). Крива інгібування була проаналізована за допомогою нелінійної регресії, щоб визначити значення IC 50. За результатами роботи в цих аналізах було вибрано сімейство антитіл, що включає шість CDR, наведених в SEQ ID NO: 1 до 6. Антитіла CA170\_01519 мали кращу активність та були вибрані для гуманізації.

#### 5 Приклад 1. Метод гуманізації

Антитіла CA170\_01519 були гуманізовані шляхом щеплення CDR та V-областей з щурячого антитіла на зародкову лінію антитіл людини в рамках V-області. Для того, щоб відновити активність антитіла, кількість обмежених залишків V-областей від щурів були збережені в гуманізованій послідовності. Ці залишки були відібрані з використанням протоколу, викладеного

10 Адером та ін. (1991) (Гуманізація антитіла WO91/09967).

Послідовність поєднання V-області антитіла щурів (донора) з V-областю зародкової лінії людини (акцептор) показана на Фіг. 2A і 2B разом із проектною гуманізованою послідовністю. У CDR-щеплених від донора до послідовності акцептора є такі, як це визначено Kabat (Kabat та ін., 1987), за винятком CDR-H1, де використовується комбіноване визначення Chothia/Kabat (див. Adair та ін., 1991 Гуманізовані антитіла. WO91/09967). Людська V-область VK1 2-1- (1) A30

15 плюс JK2 J-область (V BASE, <http://vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/>) були вибрані як акцептор для короткого ланцюга CDR. Людська V-область VH3 1-3 3-07 плюс JH4 J-область (V BASE, <http://vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/>) були вибрані як акцептор для важкого CDR ланцюга.

Були розроблені гени, що кодують ряд варіантів довгих і коротких ланцюгів V-області послідовностей, і вони були побудовані за допомогою метода автоматизованого синтезу Entelechon GmbH. Подальші варіанти обох важкого та короткого ланцюгів V-областей були створені шляхом модифікації генів VH і VK за допомогою оліго-нуклеотидно спрямованого мутагенезу. Ці гени були клоновані в ряді векторів, щоб включити експресію гуманізованих 1519 Fab' ссавців і клітин E.coli. Можливий варіант ланцюга та їх комбінації були оцінені за їх експресію в E.coli, їх активності відносяться до вихідних антитіл, їх біофізичних властивостей та придатності для подальшої обробки, що призводить до вибору короткого ланцюга gL20

25 трансплантата та важкого ланцюга GH20 трансплантата. Остаточний вибір gL20 і GH20 щеплених послідовностей показаний на Фіг. 2A і 2B відповідно. Ця V-область спаровування була названа 1519.g57.

Виділені залишки короткого ланцюга у прищепленій gL20 всі походять з гена зародкової лінії людини, за винятком залишків 36, 37 і 58 (Kabat нумерація), де залишки донорів лейцину (L36), фенілаланіну (F37) та ізолейцину (I58) були збережені, відповідно. Збереження цих трьох залишків має важливе значення для повної потенції гуманізованого Fab'. Виділені залишки короткого ланцюга у прищепленій GH20 всі походять з гена зародкової лінії людини, за винятком залишків 3, 24, 76, 93 і 94 (Kabat нумерація), де залишки донорів проліну (P3), валіну (V24), серину (S76), треоніну (T93) і треоніну (T94) були збережені, відповідно. Збереження цих п'яти залишків було важливо для повної потенції гуманізованого Fab'.

Для експресії в E.coli, гуманізовані довгі та короткі ланцюги V-області гена клонували у вектор експресії UCB rTTOD, який містить ДНК, що кодує людську каппа С-константну область (K1m3 алотипи) і людський гамма-1 СН1-зв'язану область (G1m17 алотип). Ген E.coli FkpA був також введений в експресуючий плазмід тому, що ко-експресія цього білка, як було встановлено, поліпшила вихід гуманізованого Fab' в штам E.coli MXE016 (розкриті у WO2011/086136), протягом ферментації, підготовленої з використанням IPTG, щоб визвати експресію Fab'. Короткі та довгі ланцюги 1519 Fab' і FkpA поліпептиду були всі виділені від

45 одного мульти-цистрону під контролем IPTG-індукованого tac промотору.

Для експресії в клітинах ссавців гуманізовані короткі ланцюги V-області гена клонували в UCB-Celltech гуманізований легкий ланцюг вектора експресії rMhCK, який містить ДНК, що кодує людський каппа-ланцюг константної області (Km3 алотип). Гуманізований важкий ланцюг V-області гена клонували в людський гамма-4 важкий ланцюг вектора експресії UCB-Celltech rMhg4P FL, який містить ДНК, що кодує людську гамма-4 константну область важкого ланцюга з під'єднаною стабілізованою мутацією S241P (Angal ін., Mol Immunol 1993, 30 (1): 105-8). Ко-трансфекція коротких і довгих ланцюгів векторів у HEK293 суспензії клітин була досягнута за допомогою 293 Fectin (12347-019 Invitrogen), і цим була дана експресія гуманізованих рекомбінантних 1519 антитіл.

#### 55 Приклад 1A. Отримання 1519.g57 Fab'-ПЕГ кон'югату

Fab' виражені у періплазмі E.coli екстрагували з клітин шляхом відведення тепла. Fab', очищений за допомогою афінного очищення білком G з видаленням кислоти. Fab' зменшується та ПЕГілюється за допомогою 40 кДа ПЕГ (SUNBRIGHT GL2-400MA3). ПЕГ ковалентно зв'язується через малеїмідну групу з однією або більше тільними групами у фрагменті

60 антитіла. Ефективність ПЕГілювання була підтверджена SE-HPLC. Fab' PEG був відділений від

неПЕГільованого Fab' і диFab' шляхом катіонно-обмінної хроматографії. Фракції аналізували за допомогою SE-HPLC та SDS-PAGE. Об'єднання здійснюється для мінімізації рівнів забруднень. Кінцевий зразок концентрували та діалізували у потрібний буфер.

5 Приклад 1В Отримання 1519.g57 Fab' (не людський FcRn), поєднаний з людським сироватковим альбуміном

Не людський FcRn Fab'1519.g57 був хімічно поєднаний з людським сироватковим альбуміном (рекомбінантного походження), який потім був використаний для досліджень на тваринах:

10 • сироватковий альбумін людини: Рекомбумін від Novozyme (Cat No: 200-010), представлений у вигляді розчину 20 % маси/об'єм, отриманого рекомбінантним способом у *Saccharomyces cerevisiae*,

• 1519.g57Fab': 30 мг/мл представлений в 0,1 М фосфату натрію, 2 мМ ЕДТА, pH6.0 (буфер відновлення),

• 1,6-Бісмалеїмідогексан (BMH) від ThermoFisher (кат. № 22330).

15 Відновлення альбуміну:

Альбумін відновлювали з використанням свіжовиготовленого гідрохлориду цистеаміну (Sigma каталог №: 30078), який був підготовлений в буфері відновлення. До розчину альбуміну додавали в 10-кратному молярному надлишку гідрохлорид цистеаміну, а потім інкубували при 37 °C на водяній бані протягом 30 хвилин. Після відновлення розчин знесолювали за допомогою PD10 колонки (GE Healthcare каталог NO: 17-0851-01), щоб видалити зайвий відновлюючий реагент.

Додавання BMH лінкера:

25 Вихідний розчин 1,6-бісмалеїмідогексан був підготовлений в скляній пробірці з використанням диметилформаміду. Розчин перемішували, щоб забезпечити повне розчинення BMH. Розчин BMH був доданий в знесолений відновлений розчин альбуміну при 10-кратному молярному надлишку до концентрації альбуміну. Потім розчин інкубували при 37 °C протягом 30 хвилин з наступним інкубуванням протягом ночі при кімнатній температурі з роликовим змішувачем, щоб забезпечити належне перемішування. Білий осад, який виявився, відділяли з використанням лабораторної центрифуги. Після завершення реакції розчин знесолювали за допомогою колонки PD10.

Відновлення 1519.g57 Fab'

35 1519.g57 Fab' відновлювали з використанням свіжовиготовленого гідрохлориду цистеаміну (Sigma каталог №: 30078), який був підготовлений в буфері відновлення. Гідрохлорид цистеаміну був доданий в 10-кратному молярному надлишку в розчин 1519.g57 Fab', а потім розчин інкубували при 37 °C на водяній бані протягом 30 хвилин. Після відновлення розчин знесолювали за допомогою PD10 колонок (від GE Healthcare каталог NO: 17-0851-01), щоб видалити зайвий відновник.

Змішування відновленого Fab і BMH альбуміну

40 Додавали рівні кількості (у молярних термінах) відновленого Fab' і альбумін-лінкера та інкубували при кімнатній температурі протягом ночі на роликовому змішувачі.

Очищення спорідненості:

45 Вищевказану суміш потім піддавали очищенню спорідненості з використанням Blue Sepharose, який зв'язувався з альбуміном-Fab кон'югату і вільного альбуміну. Очищення проводили відповідно до інструкції виробника, яка коротко описана нижче: Blue Sepharose була перетворена в DPBS pH 7,4 і тричі промита з PBS. Після промивання суміші Fab і лінкера додавали пов'язаний альбумін та інкубували при кімнатній температурі протягом 1 години на роликовому змішувачі. Після інкубації матрицю знову промивали з PBS для видалення незв'язаного матеріалу і потім виділяли PBS7.4, що містить 2M KCl.

Очищення за розмірами:

50 Матеріал, що містить афінно очищений альбумін, поєднаний з Fab разом із деякою кількістю непрореагованого HSA. Це вимагає подальшого очищення та це було досягнуто за допомогою гель-хроматографії (S200 16 × 60 від GE Healthcare). Остаточні об'єднані фракції були представлені в DPBS pH 7,4. Кінцевий 1519.g57Fab-HSA кон'югат концентрували до 20 мг/мл в DPBS pH 7,4 і аналізували за допомогою аналітичної гель-хроматографії (Agilent Zorbax GF250 і GF450 в тандемі), причому було виявлено в основному мономірний кон'югат. Також проводили аналіз ендотоксину, і було виявлено, що зразок мав вміст ендотоксину нижче заданої нижньої межі.

Приклад 2. Скринінг Fab' і Fab' PEG молекул-кандидатів в аналізі переробки IgG

60 Для визначення здатності молекули-кандидата Fab' PEG блокувати FcRn активність у функціональному аналізі клітин молекули піддавали скринінгу в аналізі переробки IgG (більш

докладно описано у Прикладі 5). Коротко, 34 клітини MDCK II клону попередньо інкубували з кандидатом Fab' або Fab' PEG перед додаванням біотинільованого людського IgG в кислому буфері. Клітини промивали, щоб видалити надлишки IgG, і потім інкубували в нейтральному буфері pH, щоб полегшити вивільнення IgG в супернатанті. Кількість IgG, вивільнену в супернатанті, вимірювали за допомогою тесту MSD і значень розрахованого EC<sub>50</sub>. Значення EC<sub>50</sub> для гуманізованих молекул-кандидатів Fab' і Fab' PEG, які інгібують переробку IgG, наведені в таблиці нижче. Після ПЕГілювання є втрата потенції для всіх антитіл-кандидатів, однак ступінь цього варіюється залежно від кандидата.

Таблиця 1

Антитіла	Fab' EC <sub>50</sub> (nM)	(n)	Fab' PEG EC <sub>50</sub> (nM)	(n)	Зниження в рази EC <sub>50</sub> після пегілювання
CA170_0519.g63	1.91	3	5.25	3	2.7
CA170_0519.g57	2.06	7	6.64	6	3.2
CA170_0519.g2	4.22	2	11.01	4	2.6

Значення EC<sub>50</sub> для Fab' і молекул Fab' PEG в аналізі переробки IgG 34 клітини MDCK II клону стабільно трансфіковані людським FcRn і бета-2-мікроглобуліном, були розміщені по 25000 клітин на лунку в 96-лунковий планшет й інкубовані протягом ночі при 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub>. Клітини інкубували з кандидатом Fab' або Fab' PEG в HBSS<sup>+</sup> (Ca/Mg) pH 5.9+1 % BSA протягом 1 години при 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub> перед додаванням 500 нг/мл біотинільованого людського IgG (Jackson) й інкубували протягом ще 1 години. Клітини промивали HBSS + pH 5.9, а потім інкубували при 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub> протягом 2 годин в HBSS + pH 7.2. Супернататну рідину видаляли з клітин і аналізували на загальне IgG з використанням аналізу MSD (за допомогою нелюдського IgG антитіла захоплення (Jackson) і стрептавідин-сульфоновомічених антитіл (MSD)). Криву інгібування аналізували за допомогою нелінійної регресії (Graphpad PRISM®), щоб визначити EC<sub>50</sub>. Таблиця 1 представляє об'єднані дані від 2 до 7 експериментів.

Приклад 3. Спорідненість зв'язування hFcRn

Біомолекулярний аналіз взаємодії за допомогою технології поверхневого плазмонного резонансу (SPR) проводили на системі Biacore T200 (GE Healthcare) і визначали зв'язування з позаклітинним доменом людського FcRn. Позаклітинний домен людського FcRn був представлений в якості нековалентного комплексу між альфа-ланцюгом позаклітинного домену людського FcRn (SEQ ID NO: 94) і β2 мікроглобуліну (β2M) (SEQ ID NO: 95). Споріднено чистий F(ab')<sub>2</sub>-фрагмент козячого антитіла IgG, специфічний фрагмент F(ab')<sub>2</sub>- (для Fab'-ПЕГ поєднання), або специфічний фрагмент Fc (для IgG1 або IgG4 поєднання) (Jackson ImmunoResearch Lab, Inc.) в 10 mM NaAc, pH 5 буфері іммобілізували на датчику Chip CM5 за допомогою амінозахоплюючої реакції до рівня захоплення між 4000-5000 одиниць відгуку (RU) з використанням HBS-EP + (GE Healthcare), як у проточному буфері. 50 mM фосфат, pH6+150 mM NaCl+0,05 % P20 або HBS-P, pH 7,4 (GE Healthcare) був використаний як буфер для проточного аналізу спорідненості. Відповідні антитіла, або анти-hFcRn Fab'-PEG, IgG1, або IgG4P були розбавлені до 5μg/мл (Fab'-ПЕГ), 0.3μg/мл (IgG1), або 4μg/мл (IgG4) у проточному буфері. 60 ін'єкцій Fab'-ПЕГ, або IgG1, або IgG4 розчинені в 10μl/хв були використані для захоплення іммобілізованим нелюдським IgG, F(ab')<sub>2</sub>. Позаклітинний домен людського FcRn титрували від 20 нМ до 1.25 нМ над захопленим анти-FcRn антитілом (Fab'-PEG, IgG1 або IgG4) до 300 разів у 30μl/хв з подальшою 1200s дисоціацією. Поверхня регенерувала в 2 × 60s 50mM HClза 10μl/хв. Дані були проаналізовані з використанням T200 оцінки програмного забезпечення (версія 1.0).

Таблиця 2

Значення спорідненості для анти-hFcRn 1519.g57 Fab'-PEG при pH6

1519.g57Fab'-PEG	k <sub>a</sub> (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	k <sub>d</sub> (s <sup>-1</sup> )	KD (M)
1	4.37E+05	1.59E-05	3.63E-11
2	4.20E+05	2.01E-05	4.78E-11
3	4.35E+05	1.43E-05	3.29E-11
4	4.37E+05	2.75E-05	6.30E-11
5	4.33E+05	1.28E-05	2.97E-11
	4.32E+05	1.81E-05	4.19E-11

Таблиця 3

Значення спорідненості для анти-hFcRn 1519.g57 Fab'-PEG при pH7.4

1519.g57Fab'-PEG	$k_a$ ( $M^{-1}s^{-1}$ )	$k_d$ ( $s^{-1}$ )	$K_D$ (M)
1	3.40E+05	1.87E-05	5.49E-11
2	3.31E+05	1.85E-05	5.58E-11
3	3.25E+05	1.99E-05	6.13E-11
4	3.23E+05	1.52E-05	4.70E-11
5	3.20E+05	1.99E-05	6.21E-11
	3.28E+05	1.84E-05	5.62E-11

В цих експериментах Fab' PEG мав середнє значення спорідненості біля 42pM при pH6 і біля 56pM при pH7.4.

pH7.4

1519.g57	$k_a$ ( $M^{-1}s^{-1}$ )	$k_d$ ( $s^{-1}$ )	KD (M)	KD (pM)
IgG1	3.80E+05	1.25E-05	3.29E-11	33
IgG4P	3.68E+05	1.26E-05	3.43E-11	34

5

Таблиця 3А

Значення спорідненості для анти-hFcRn 1519.g57 як IgG1 і IgG4P при pH7.4 (Середнє значення трьох експериментів)

	pH6			
1519.g57	$k_a$ ( $M^{-1}s^{-1}$ )	$k_d$ ( $s^{-1}$ )	KD (M)	KD (pM)
IgG1	4.56E+05	1.01E-05	2.21E-11	22
IgG4P	4.43E+05	1.00E-05	2.26E-11	23

Таблиця 3В Значення спорідненості до анти-hFcRn 1519.g57 як IgG1 і IgG4P при pH6 (Середнє значення трьох експериментів)

У Таблицях 3А і 3В показана спорідненість повнорозмірних антитіл, яка відповідає тому, що можна спостерігати в Fab'-ПЕГ при pH6 і pH7.4.

Приклад 4. Клітинна активність

Клітинні аналізи були виконані з використанням нирки собаки Madin-Darby (MDCK), клітини II, які були стабільно трансфіковані людським FcRn і людським B2M подвійним вектором гена з селективним маркером генетицину. Був обраний стабільний клон клітин, який був здатен переробляти та трансцитувати людський IgG і він використовувався для всіх наступних досліджень. Він буде згадуватися як MDCK II клон 34.

Клітинна спорідненість CA170\_01519.g57 Fab' PEG для людського FcRn

Кількісні експерименти цитометрії потоку проводили з використанням MDCK II клон 34 клітин і AlexaFluor 488-мічених CA170\_01519.g57 Fab' або CA170\_01519.g57 Fab' PEG. Специфічне зв'язування антитіла з FcRn через діапазон концентрацій антитіл був використаний для визначення KD. Аналізи проводилися в нейтральних і кислих буферах, щоб визначити, чи є pH середовища порівняними зі знайденими (pH7.4) плазми крові або ендосом (pH6) і мають будь-який вплив на зв'язування антитіла. Фіг. 3 показує типові криві зв'язування для CA170\_01519.g57 Fab' (Фіг. 3а) і Fab' PEG (Фіг. 3б). Середні значення  $K_D$  (n=2 або 3) були 1.66 нМ і 6.5 нМ в нейтральному буфері, і 1.59 нМ і 5.42 нМ в кислому буфері відповідно (Таблиця 4).

Таблиця 4

Середнє значення величин  $K_D$  (нМ)  
для CA170\_01519.g57 Fab' і Fab' PEG на 34 клітинах MDCK II клону

Формат антитіла	Людське FcRn pH 7.4	Людське FcRn pH 6.0
1519.g57 Fab'	1.66	1.59
1519.g57 Fab'PEG	6.5	5.42

Фіг. 3 показує зв'язування CA170\_01519.g57 Fab' (A) і CA170\_01519.g57 Fab' PEG (B) на 34 клітинах MDCK II клону для кислого і нейтрального pH. 34 клітини MDCK II клону інкубували в FACS буфері (PBS з 0,2 % маса/об'єм BSA, 0,09 % маса/об'єм NaN<sub>3</sub>) протягом 30 хвилин перед додаванням Alexa-фтор 488 міченого CA170\_01519.g57 Fab' або Fab' PEG протягом 1 години в FACS буфері при будь-якому pH - 7.4 або pH 6. Остаточна концентрація антитіл варіювалася від 931 нМ до 0.002 нМ. Клітини промивали в охолодженому льодом буфері FACS і потім аналізували за допомогою проточної цитометрії з використанням проточного цитометра Guava (Millipore, UK). Також були отримані набори титрування даних для контролю ізотипа антитіл для кожного формату антитіла для визначення неспецифічного зв'язування. Число молей пов'язаного антитіла розраховували з використанням інтерпольованих значень зі стандартної кривої, отриманої з кількості кульок, що містять флуоресцентний барвник. Геометричні середні значення флуоресценції визначали аналізуючи клітини та кульки шляхом проточної цитометрії. Значення неспецифічного зв'язування віднімали від значень анти-антитіла FcRn і аналізували генеровану криву специфічного зв'язування за допомогою нелінійної регресії з використанням лінійного рівняння зв'язування (Graphpad PRISM®) для визначення  $K_D$ . Представлені дані експериментів 2 або 3.

CA170\_01519.g57 Fab' PEG може зв'язувати людське FcRn, що проявляється на клітинах як для кислих, так і для нейтральних pH, і певні значення  $K_D$  приблизно в 3,5-4 рази нижче нього для молекули еквівалентної Fab'.

Приклад 5. Аналізи на основі функціональної клітини інгібування переробки людського IgG з застосуванням CA170\_01519.g57 Fab' PEG

FcRn проявляється головним чином внутрішньоклітинно (Borvak J ін., 1998, Int. Immunol., 10 (9) 1289-98 і Cauza K та ін. 2005, J. Invest. Dermatol., 124 (1), 132-139), і пов'язане з ендосомальними і лізосомальними мембранами. Fc-частина IgG зв'язується з FcRn при кислому pH (<6,5), але не при нейтральному фізіологічному pH (7,4) (Rhaagavan M. та ін., 1995), і ця pH-залежність полегшує переробку IgG.

Після того, як воно прийняте піноцитозом і ввійшло в кислу ендосому, IgG пов'язане з FcRn буде повторно перероблено разом із FcRn на поверхні клітин, тоді як у фізіологічно нейтральному pH IgG воно виділиться. (Ober RJ та ін., 2004, The Journal of Immunology, 172, 2021-2029). Будь-який IgG, не пов'язаний з FcRn, виділиться шляхом лізосомальної деградації. Аналіз in vitro був створений з метою перевірки здатності CA170\_01519.g57 Fab' PEG або Fab' інгібувати можливість IgG переробляти FcRn. Коротко, 34 клітини MDCK II клону інкубували у присутності або за відсутності CA170\_01519.g57 Fab', або CA170\_01519.g57 Fab' PEG перед додаванням біотинільованого людського IgG в кислому буфері (pH 5.9), щоб дозволити зв'язування з FcRn. Весь надлишок антитіла був видалений і клітини інкубували в нейтральному буфері pH (pH 7.2), який дозволяє IgG, що пов'язаний в супернатанті й експонований на поверхні, вивільнитися. Слідом проводили аналіз інгібування FcRn з використанням MSD, щоб виявляти кількість вторинного IgG, що потрапив у супернатант.

Фіг. 4 показує як CA170\_01519.g57 інгібує IgG, що переробляється в 34 клітинах MDCK II клону. 34 клітини MDCK II клону висіювали по 25000 клітин на лунку в 96-лунковий планшет і інкубували протягом ночі при 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub>. Клітини інкубували з CA170\_01519.g57 Fab' або Fab' PEG в HBSS (Ca + Mg)/pH 5,9+1 % BSA протягом 1 години при 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub> перед додаванням 500 нг/мл біотинільованого людського IgG (Jackson) й інкубували протягом ще 1 години. Клітини промивали HBSS + pH 5,9 й інкубували при 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub> протягом 2 годин у HBSS + pH 7,2. Супернатант видаляли з клітин і аналізували на загальну кількість IgG з використанням аналізу MSD (за допомогою нелюдського IgG антитіла захоплення (Jackson) і стрептавідин-сульфонового маркування антитіла (MSD)). Криву інгібування аналізували за допомогою нелінійної регресії (Graphpad PRISM®), щоб визначити EC<sub>50</sub>. Графік представляє об'єднані дані з експериментів 6 або 7. Як показано на Фіг. 4 CA170\_01519.g57 Fab' і CA170\_01519.g57 Fab' PEG інгібують переробку IgG залежно від концентрації з середніми

значеннями  $EC_{50}$  ( $N=6$  або  $7$ )  $1.937$  нМ і  $6.034$  нМ відповідно. Тому CA170\_01519.g57 Fab' PEG приблизно в 3 рази менш потужний, ніж CA170\_01519.g57 Fab' в інгібуванні переробки IgG.

CA170\_01519.g57 Fab' PEG інгібує трансцитозу людського IgG

5 FcRn може направляти IgG до поляризованих шарів епітеліальних клітин в двох напрямках, як від апікального до базолатерального, так і від базолатерального до апікального і, таким чином, відіграє важливу роль у процесі видачі дозволів IgG для переміщення між циркуляцією та просвітом в слизових бар'єрах (Claypool *in.*, 2004 Mol Biol Cell 15 (4): 1746-59). Аналіз *in vitro* був створений з метою перевірки здатності CA170\_01519.g57 Fab' PEG інгібувати FcRn залежно від трансцитозу IgG. Коротко, 34 клітини MDCK II клону висіювали в 24-лункові пластини Transwell і дозволяли сформувати моношари протягом 3 днів. Потім клітини попередньо інкубували з CA170\_01519.g57 Fab' PEG на апікальній поверхні перед додаванням біотинільованого людського IgG в якості кислотного буфера, який полегшує зв'язування з FcRn. IgG людини переходить через клітини від апікальної до базолатеральної сторони, і виділяється в нейтральному буфері в нижній камері. Потім вимірювали рівні IgG на базолатеральній стороні 15 з використанням MSD аналізу.

Фіг. 5 показує як CA170\_01519.g57 Fab' PEG інгібує апікально-базолатеральну трансцитозу IgG в 34 клітинах MDCK II клону.

34 клітин MDCK II клону висіювали по 500000 клітин на лунку в 24-лункові Transwell планшети та інкубували протягом 3 днів при  $37^{\circ}C$ , 5 %  $CO_2$  до формування моношарів. 20 Значення pH апікальної сторони доводили до 5,9 і базолатеральної сторони до 7,2 в HBSS<sup>+</sup> (Ca/Mg) буфера + 1 % BSA. Клітини на апікальній стороні попередньо інкубували з CA170\_01519.g57 Fab' PEG протягом 1 години перед додаванням 2,5 мкг/мл біотинільованого людського IgG (Jackson) у зазначених концентраціях протягом 4 годин при  $37^{\circ}C$ , 5 %  $CO_2$ . Базолатеральне середовище потім збирали та вимірювали загальне IgG за допомогою MSD аналізу (з використанням нелюдського IgG антитіла захоплення (Jackson) і стрептавідин-сульфонового маркованого антитіла (MSD)). Криву інгібування аналізували за допомогою нелінійної регресії (Graphpad PRISM®), щоб визначити  $EC_{50}$ . Графік представляє об'єднані дані з 3 експериментів. Таким чином Фіг.5 показує, що CA170\_01519.g57 Fab' PEG може інгібувати апікально- базолатеральну трансцитозу людського IgG залежно від концентрації при величині 30  $EC_{50}$  25.5 нМ ( $n=3$ ).

Резюме впливу *in vitro* CA170\_01519.g57 Fab' PEG

CA170\_01519.g57 Fab' PEG інгібує переробку та трансцитозу IgG. Значення  $EC_{50}$  при 6нМ, що досягнуті в аналізі переробки IgG, можна порівняти з даними спорідненості зв'язування, де були отримані значення  $K_D$  при 6.5 нМ в нейтральних буферах і 5.42 нМ в кислому буфері. 35 CA170\_01519.g57 Fab' PEG дійсно показує невелике зниження потенції тільки у порівнянні з Fab', але у порівнянні з багатьма іншими молекулами-кандидатами він показав найнижчий спад активності між двома форматами (див. вище). В аналізі трансцитози IgG була отримана  $EC_{50}$  при 25.5 нМ. Дані в цьому розділі, ясно показали, що CA170\_01519.g57 Fab' PEG може пригнічувати функцію людського FcRn.

40 Приклад 6. Перехресна реактивність CA170\_01519.g57 Fab' PEG з нелюдським FcRn приматів.

Відносна спорідненість та функціональна ефективність FcRn собакоподібних мавп були розглянуті для перевірки використання CA170\_01519.g57 Fab' PEG в дослідженні нелюдського РК/PD приматів і його попередньої клінічної токсикології. Були використані клітини MDCK II 45 собакоподібних мавп, стабільно трансфіковані за допомогою FcRn і B2M (MDCKII (см)), для наступних досліджень поряд із раніше описаними клітинами MDCK II, стабільно трансфікованими людським FcRn і B2M (34 клітини MDCK II клону).

Клітинна спорідненість CA170\_01519.g57 Fab' PEG до FcRn макак

Для визначення клітинної спорідненості зв'язування CA170\_01519.g57 Fab' PEG для FcRn макак проводили кількісні експерименти проточної цитометрії з використанням MDCK II (см) 50 клітини і AlexaFluor 488-мічених CA170\_01519.g57 Fab' або Fab' PEG. Було використане специфічне зв'язування антитіла з FcRn собакоподібних мавп через діапазон концентрацій антитіл для визначення  $K_D$ . Зв'язування антитіл проводили як в нейтральному, так і в кислому pH, щоб визначити ефект зв'язування з FcRn в нейтральній плазмі крові або в кислих ендосомах і, отже, визначити, який вплив може мати pH для CA170\_01519.g57 зв'язування з FcRn 55 собакоподібних мавп.

Фіг. 6 показує CA170\_01519.g57 Fab' (A) і CA170\_01519.g57 Fab' PEG (B) зв'язування MDCK II (см) клітин в кислих і нейтральних pH. MDCK II (см) клітини інкубували в буфері FACS (PBS з 0,2 % маса/об'єм BSA, 0,09 % маса/об'єм NaN<sub>3</sub>) протягом 30 хвилин перед додаванням Alexa Fluor-488 мічених CA170\_01519.g57 Fab' або Fab' PEG протягом 1 години в FACS буфері при pH 60

7.4 або pH 6. Остаточна концентрація антитіл варіювалася від 931 нМ до 0.002 нМ. Клітини промивали в охолодженому льодом буфері FACS і потім аналізували за допомогою проточної цитометрії з використанням проточного цитометра Guava (Millipore, UK). Також були отримані набори титрування даних для контролю ізотипа антитіл для кожного формату антитіла для визначення неспецифічного зв'язування. Число молей зв'язаного антитіла розраховували з використанням інтерпольованих значень зі стандартної кривої, отриманої з кульок, несучих різні кількості флуоресцентного барвника. Геометричні середні значення флуоресценції визначали в аналізі проточної цитометрії клітин і кульок. Значення неспецифічного зв'язування віднімали від значення анти- FcRn антитіла та генеровану криву специфічного зв'язування аналізували за допомогою нелінійної регресії з використанням лінійного рівняння зв'язування (Graphpad PRISM®) для визначення  $K_D$ . Репрезентативні дані експериментів 2 і 3 представлені.

Таблиця 5

Середні значення  $K_D$  (нМ) для CA170\_01519.g57 Fab' і Fab' PEG на клітинах MDCK II (см)

Формат антитіла	FcRn pH 7.4 макак	FcRn pH 6.0 макак
1519.g57 Fab'	1.16	1.09
1519.g57 Fab'PEG	8.15	5.01

Фіг. 6 показує типові криві зв'язування між CA17001519.g57 Fab' (Фіг. 6A) і Fab' PEG (Фіг. 6B) і FcRn собакоподібних макак. Середні значення  $K_D$ , отримані для CA17001519.g57 Fab' і Fab' PEG, показані в Таблиці 5. Ці значення можна порівняти зі значеннями, отриманими для  $K_D$  CA170\_01519.g57 Fab' і Fab' PEG зв'язування з людським FcRn (див. Таблицю 4).

Щоб визначити, чи є CA170\_01519.g57 Fab' PEG функціонально активним у блокуванні FcRn макак, були використані клітини MDCK II (см) для перевірки здатності CA170\_01519.g57 Fab' PEG інгібувати переробку IgG собакоподібних макак, як описано раніше для аналізу FcRn людини. Аналіз проводили разом із репрезентативними аналізами, щоб провести порівняння між ними. Коротко, клітини MDCK II (клон 34 або см) попередньо інкубували з CA170\_01519.g57 Fab' PEG перед додаванням біотинільованими IgG людини (h) або IgG собакоподібних макак(с) в кислому буфері, щоб провести зв'язування з FcRn. Весь надлишок CA170\_01519.g57 Fab' PEG і біотинільованого IgG видаляли та клітини інкубували в нейтральному буфері pH, щоб дозволити виділити IgG в супернатант. Інгібування FcRn оцінювали шляхом визначення кількості присутнього IgG в супернатанті за MSD аналізом і відсотком розрахованого інгібування.

Як показано на Фіг. 7, CA170\_01519.g57 Fab' PEG може інгібувати переробку як IgG людини, так і IgG собакоподібних макак залежно від концентрації, з  $EC_{50}$  значеннями 8.448 нМ і 5.988 нМ відповідно. Аналізи інгібування FcRn за допомогою CA170\_01519.g57 Fab' PEG в людини і у собакоподібних макак є порівнюваними, хоча воно здається, трохи більш потужне проти FcRn собакоподібних макак.

Таблиця 6

	1519.g57 Fab' PEG hF cRn:hlqG	1519.g57 Fab' PEG cF cRn:clgG
$EC_{50}$ (нМ)	8 448	5 988
95 % CI(nM)	6.560 to 10 83	5 383 to 6 561

Фіг. 7 показує, що CA170\_01519.g57 інгібує переробку IgG в MDCK II клону 34 клітин і MDCK II (см) клітин. Клон 34 MDCK II і клітини MDCK II (см) висівали по 25000 клітин на лунку в 96-лунковий планшет і інкубували протягом ночі при 37 °C, 5 %  $CO_2$ . Клітини попередньо інкубували з CA170\_01519.g57 Fab' або Fab' PEG в HBSS<sup>+</sup> (Ca/Mg)/pH 5.9+1 % BSA протягом 1 години при 37 °C, 5 %  $CO_2$  перед додаванням 500 нг/мл біотинільованого людського IgG або IgG макак і інкубували протягом ще 1 години. Потім клітини промивали HBSS + pH 5.9, і інкубували при 37 °C, 5 %  $CO_2$  протягом 2 годин в HBSS<sup>+</sup> pH 7.2. Супернатантну рідину видаляли з клітин і аналізували на загальне IgG з використанням аналізу MSD (за допомогою захоплення анти-людського IgG антитіла (Jackson) і стрептавідин-сульфонового маркованого антитіла (MSD)). Криву інгібування аналізували за допомогою нелінійної регресії (Graphpad PRISM®), щоб визначити  $EC_{50}$ . Графік представляє об'єднані дані з 2 експериментів.

Приклад 7. Вплив 01519g Fab ПЕГ у собакоподібних мавп

Було виконано дослідження впливу введення 01519g Fab ПЕГ собакоподібним мавпам при



- 5 одиничних, тимчасових або повторних режимах дозування. Шляхом внутрішньовенної інфузії вводили 01519g Fab ПЕГ у вигляді разової дози, або у повторних дозах до груп із чотирьох макак, як зазначено в Таблиці 7. Були контрольовані IgG плазми та фармакокінетика 01519g Fab ПЕГ за допомогою імуноферментного аналізу (див. Таблиця 7A для методів імуноаналізу) і LC-MS/MS. Аналіз альбуміну плазми було проведено в Covance.

Таблиця 7

Доза груп в дослідженні NCD2241. Дозування шляхом внутрішньовенної інфузії.  
Передозування було таким самим, як у першій дозі в кожному конкретному випадку.  
Повторні дози (з 4) були щотижнево

Фаза	Група	Антитіло	Доза (мг/кг)	Режими дозування	Коментарі
I	1	Контроль	0	одноразова доза	Передозування на 67 днів
	2	Fab PEG	20	одноразова доза	Передозування на 67 днів
	3	Fab PEG	100	одноразова доза	Передозування на 67 днів
II	4	Контроль	0	повторна доза	
	5	Fab PEG	20	повторна доза	
	6	Fab PEG	100	повторна доза	

Таблиця 7A

Плазма IgG, PK та ADA методи імуноаналізу

Тип аналізу	Імуноаналіз	Метод
PD	Всього IgG у плазмі	1) Закрита пластина імуноаналізу з F(ab') <sub>2</sub> козячого нелюдського Fcγ. 2) Інкубація зі зразком. 3) Виявлення кон'югованого F(ab') <sub>2</sub> козячого антитіла проти людського IgG F(ab') <sub>2</sub> з пероксидазою хрому і додаванням субстрату TMB.
PK	Fab PEG PK	1) Закрита пластина імуноаналізу з FcRn. 2) Інкубація зі зразком. 3) Виявлення кон'югованого мишачого IgG1 анти-ПЕГ антитіла з кон'югатом стрептавідин-пероксидази хрому і додаванням субстрату TMB в якості альтернативи виявлення з MSD сульфо-міченим козячим не людським каппа антитілом та додаванням MSD буфера.

Вплив на концентрацію IgG у плазмі

- 10 Імунологічний аналіз та дані LC-MS/MS IgG плазми знаходяться в добрій відповідності. IgG плазми було знижено введенням Fab ПЕГ (див. Фіг. 12 і Фіг. 14). Для обох Фаз I дозування групи, одинична доза Fab ПЕГ зменшує IgG плазми приблизно на 70-80 %, досягнувши найнижчої точки приблизно через 7 днів і повертається до попереднього рівня перед дозуванням на 63 день. Передозуванням в 67 день досягаються аналогічні результати.

- 15 Для обох груп дози Фаза II, 4 щотижневі дози Fab ПЕГ зменшує IgG плазми приблизно на 70-80 %, знову досягнувши найнижчої точки близько 7 днів після першої дози. Результати показані на Фіг. 13.

Приклад 8. Вплив CA170\_01519.g57 Fab' PEG і CA170\_01519.g57 на IgG4P у собакоподібних мавп

- 20 Визначали вплив CA170\_01519g.57 Fab' PEG і CA170\_01519g.57 IgG4P на ендогенез IgG плазми у собакоподібних мавп. Тварин дозували, як зазначено в Таблиці 8, з 4 тваринами у кожній групі обробки. IgG плазми та фармакокінетика анти-FcRn учасників були перевірені за допомогою імунологічного аналізу (див. Таблиця 8A для методів імуноаналізу) і LC-MS/MS.

Таблиця 8

## Режими дозування при лікуванні собакоподібних мавп

Анти-FcRn	Доза(мг/кг)	Режими дозування	Шлях	Фіг.
Fab' PEG	20	Дні 0 і 65	i.v.	15
Fab' PEG	20	Кожні 3 дні, день 0-27	i.v.	16
IgG4P	30	Дні 0 і 63	i.v.	17
IgG4P	30 і 5	30 мг/кг в день 0, 5 мг/кг щоденно у дні 1-41	i.v.	18
Контроль	0	Щоденно у дні 0-41	i.v.	19

Таблиця 8А

## Імунологічний аналіз IgG і PK плазми

Тип аналізу	Імунологічний аналіз	Метод
PD	Всього IgG у плазмі	1) Закрита пластина імуноаналізу з F(ab') <sub>2</sub> козячого нелюдського Fcγ. 2) Інкубація зі зразком. 3) Виявлення кон'югованого F(ab') <sub>2</sub> козячого антитіла проти людського IgG F(ab') <sub>2</sub> з пероксидазою хрому та додаванням субстрату TMB.
PK	Fab" PEG PK	1) Закрита MSD стрептовідинова пластина з біотинільованим FcRn. 2) Інкубація зі зразком. 3) Виявлення козячого нелюдського каппа з додаванням MSD сульфо-міченого буфера та додаванням MSD буфера.

## Вплив на концентрацію IgG у плазмі

- 5 Імунологічний аналіз та дані LC-MS/MS IgG плазми знаходяться в добрій відповідності. IgG плазми було знижено введенням анти-FcRn Fab' PEG або анти-FcRn IgG4P (див. Фіг. 15 і 16 і на Фіг. 17 і 18 відповідно, див. Фіг. 19 для контролю). Для обох анти-FcRn препаратів одноразова доза зменшує IgG плазми приблизно на 70-80 %, досягнувши найнижчої точки приблизно через 7 днів і повернення до попередньо дозованого рівня від дня 62. Передозування в день 63 або в

- 10 день 65, як описано, виявляє аналогічні результати.  
Повторне дозування анти-FcRn Fab' PEG або IgG4P зменшує IgG плазми приблизно на 60-80 % і підтримує рівень IgG до тривалості періоду дози. Знову ж таки, найнижча точка була досягнута приблизно на 7 день після першої дози. Результати показані на Фіг. 16 і 18.

- 15 Приклад 9. Вплив CA170\_01519.g57 Fab' PEG, CA170\_01519.g57 IgG1, CA170\_01519.g57 IgG4P, CA170\_01519.g57 Fab' HSA, CA170\_01519.g57 FabFv і CA170\_01519.g57 Fab на hFcRn трансгенних мишей

- 20 Вплив різних форматів антитіла CA170\_01519.g57 на кліренс людського IVIG було визначено на людському FcRn у трансгенних мишей. Тестованими форматами були CA170\_01519.g57 Fab' PEG, CA170\_01519.g57 IgG1, CA170\_01519.g57 IgG4P, CA170\_01519.g57 Fab' HSA, CA170\_01519.g57 FabFv і CA170\_01519.g57 Fab і результати показані на Фіг. 20, 21, 22, 23 і 24 відповідно. Окремі дози активних сполук показані на фігурах. Для того, щоб виявити їх вплив на кліренс людського IgG (IVIG), мишам вводили 500 мг/кг людського IVIG, який був обчислений за допомогою LCMSMS в серійних зразках плазми, витягнутих з хвостів мишей з інтервалами. Спостерігалось блокування hFcRn кожного з різних форматів антитіл,

- 25 протестованих в результаті прискореного оформлення hIVIG і більш низькі концентрації загального IgG у порівнянні з контрольними мишами.  
Anti-FcRn лікування підвищує кліренс hIgG в hFcRn трансгенних мишей  
Гуманізований FcRn трансгенних мишей (B6.Cg-Fcgrt<sup>tm1Dcr</sup> Tg(FcGRT)32Dcr/DcrJ, JAX Mice) був введений внутрішньовенно в дозі 500 мг/кг ваги людського IgG (Human IgG 10 % Gamunex-c, Talecris Biotherapeutics). 24 годинами пізніше тваринам вводили керовані носії (PBS) або анти-FcRn внутрішньовенно у вигляді одиничної дози. Зразки крові з хвоста були взяті після 24, 8, 24, 48, 72, 144 і 192 годин по відношенню до анти-FcRn лікування. Сироваткові рівні людського IgG

в hFcRn миші та фармакокінетику інгібіторів FcRn визначали за допомогою LC-MS/MS. Дані, представлені на Фіг. 20 до Фіг. 24 є середніми  $\pm$  SEM з 3-6 мишей у групі лікування.

Кількісне визначення IgG людини, ендегену собакоподібних мавп IgG і FcRn інгібіторів методом LC-MS/MS.

5 IgG людини, IgG собакоподібних мавп і FcRn інгібітори (1519.g57 Fab' PEG, 1519.g57 IgG4P, 1519.g57 IgG1, 1519.g57 FabFv, 1519.g57 Fab і 1519.g57 Fab' HAS) були порашовані за допомогою рідинної хроматографії разом із мас-спектрометричним аналізом (LC-MS/MS) з наступним трипсином перетравлення.

10 Кількісне визначення досягалося за допомогою порівняння з автентичним стандартним матеріалом вприснутим у відомих концентраціях у порожню матрицю, вприскування кінського міоглобіну використовувався в якості внутрішнього стандарту.

Унікальні ("протеотипові") пептиди для всіх досліджуваних аналізів були відібрані, і як зразки, так і калібрувальні зразки були триптично перетравлені, як описано нижче.

15 Коротше кажучи, проводили розщеплення трипсином 5 зразків сироватки по 5 мл протягом ночі з використанням Sequencing Grade модифікованого трипсину (Promega, Southampton, UK) з наступною денатурацією за допомогою ацетонітрилу/трис(2-карбоксіетил)фосфіну і карбамідо-метилування з йодоацетамідом (всі з Sigma-Aldrich, Poole, UK). Аналізи були відокремлені з використанням колонки Onyx Monolithic C18 (100  $\times$  4.6 мм, Phenomenex, Macclesfield, UK) з градієнтом від 2 до 95 % (об./об.) вода/ацетонітрил (0,1 % мурашина кислота), доданої в 20 кількості 1,5 мл/хв протягом 6 хвилин.

Об'єм ін'єкції був 10 мкл; всі розчинники були введенні в мас-спектрометр.

Температура джерела мас-спектрометра підтримувалась при 600 °C та інші параметри джерела (наприклад, енергія удару, потенціал декластеризації, зворотній тиск газу тощо) були оптимізовані для досягнення максимальної чутливості для кожного з пептидів, що представляли 25 інтерес. Були перевірені вибрані переходи для кожного з протеотипних пептидів, що представляли інтерес.

Приклад 10: Кристалографія й епітоп

Кристалічна структура 1519g57 Fab' і деглікозований позаклітинний домен людського FcRn (позаклітинний домен альфа-ланцюга (SEQ ID NO: 94) у поєднанні з бета 2-мікроглобуліном SEQ ID NO: 95) були визначені, причому олігосахариди FcRn були виключені, щоб полегшити кристалізацію. 1519.g57 Fab' реагував з 10-кратним молярним надлишком N-етил-малеїмиду, щоб запобігти утворенню диFab', і будь-які існуючі диFab' були видалені за допомогою SEC (S200 на Akta FPLC). Позаклітинний домен FcRn людини був оброблений за допомогою PNGaseF, щоб видалити N-зв'язані цукри. Для цього концентрацію зразка FcRn доводили за допомогою PBS (pH 7,4) до 5 мг/мл і в загальному об'ємі 1 мл. 200 одиниць PNGaseF (Roche) були додані до цього розчину людського FcRn. Його інкубували при 37 °C протягом 18 годин, після чого ступінь деглікозування була перевірена за допомогою SDS-PAGE. Після завершення реакції деглікозування FcRn буфер замінювали на 50mM Sodium Acetate, 125mM NaCl, pH6.0. Комплекс був сформований шляхом інкубації суміші реагентів (Fab': FcRn: 1,2: 1, мас./мас.) при кімнатній температурі протягом 60 хвилин, а потім очищений за допомогою SEC (S200 за допомогою Akta FPLC). Скринінг проводили з використанням різних умов, які були доступні від Qiagen (приблизно 2000 умов). Інкубація та візуалізація зображень була виконана Formulatrix Rock Imager 1000 (для загального інкубаційного періоду 21 днів). Результати скринінгу показані в Таблицях 9, 10 і 11.

45

Таблиця 9

Результати скринінгу кристалізації, що показує кристал, який використовується для рентгеноструктурного аналізу

Тип експерименту кристалізації		Крапля, що знаходиться в стані спокою, дифузія, випаровування	
Стан кристалізації	0.1M Цитрат натрію pH 5.5, 11 % PEG6000		
Концентрація білка	10 мг/кг	Відносний об'єм краплі	0.4ul Протеїн + 0.4ul Резервуар
Час зростання кристалу	8-21 днів		
Кріозахист	Кристали збирали з краплі, передавали до кріозахисного буферу (70 % резервуара + 30 % етиленгліколю) і швидко заморожували в рідкому азоті (-180 °C) протягом 10 секунд.		
Коментарі			
	Фото кристалів з краплі	Фото кристала замороженого у петлі (червона область це рентгенівський промінь)	

Таблиця 10

Умови для збирання й обробки даних рентгеноструктурного аналізу

Джерело рентгенівського променя	Diamond Light Source, Beamline I04		
Тип експерименту	Одинична довжина хвилі	Довжина хвилі	0.9795 Å
Програмне забезпечення	Mosflm/Scala		
Границі чутливості	35.00-2.90	Просторова група	P3 <sub>2</sub> 2 1
Параметри установки	a =150.10 Å	b =150.10 Å	c =89.15 Å
	α =90.00°	β =90.00°	γ =120.00°
Комплектність	99.9 % (100.0 %)	множинність	6.7 (6.8)
I/σ(I)	13.4 (4.8)	R <sub>merge</sub>	9.2 % (36.3 %)
Кількість знімків	172724 (25602)	Кількість унікальних знімків	25967 (3760)
Коментарі			

Примітка: Цифри в дужках відносяться до верхньої границі чутливості.

## Структура визначення та уточнення

Метод визначення структури	Молекулярна заміна	Використана програма(ми)	Фазер
Шаблон структури	Структура FcRn-рецептора з PDB 3M17 і раніше визначений Fab-3DVN		
Програма уточнення	Refmac5	Ліміт чутливості	30.00-2.9
R-фактор	23.2 %	Вільний R фактор	28.4 %
Кількість неводневих атомів		- 6125 атомів білка - 2 іонів кислоти (4 атоми на кожний) - 27 вод в AU - 2 Cl <sup>-</sup> іонів - 2 Na <sup>+</sup> іонів	
RMSD довжина границі	0.009 Å	RMSD bond angle	1.338°
Рамачандран дозвіл	98.6 %	Рамачандран викиди	1.4 %
Коментарі	Побудовано користуючись CCP4/Coot.		

Не було очевидної зміни в структурі FcRn при зв'язуванні з 1519g57 Fab' (порівнюючи цей комплекс з опублікованими структурами FcRn). З кристалічної структури був розрахований другий вміст структури як:  $\alpha$ -спіраль 9,4%;  $\beta$ -лист 45,2%; 3-10 згорток 2,5%.

Залишки взаємодіють з 1519g57 Fab', де всі  $\alpha$  ланцюги в FcRn (не в  $\beta$ 2M) зазначені нижче жирним шрифтом. Цікаві залишки охоплюють все, але один із залишків, важливих для зв'язування Fc. 1519g57, пов'язаний в області, яка перекриває Fc-зв'язуючу область, припускаючи, що блокада FcRn за допомогою 1519g57 Fab' є простою конкуренцією, і анти-FcRn був ефективним в силу його високої спорідненості.

AESHLSELLYH LTAVSSPAPG TPAFWVSGWL GPQQYLSYNS LRGEAEPCGA WWWWENQVSWY  
 WEKETDLRI KEKLFLEAFK ALGGKGPYTL QLLGCELGP DNTSVPTAKF ALNG**EEFMNF**  
**DLKQGTWGGD WPE**ALAISQR WQQQDKAANK ELTFLLFSCP HRLREHLERG RGNLEWKEPP  
 SMRLKARPSS PGFSVLTCSA FSFYPPPELQL RFLRNGLAAG TGQGDFGPNS DGSFHASSSL  
 TVKSGDENHY CCIVQHAGLA QPLRVELESPAKSS

Послідовність FcRn  $\alpha$  ланцюга показує залишки, які беруть участь у взаємодії з 1519g57 Fab' (виділено жирним шрифтом) і залишки, критичні для взаємодії Fc з IgG (підкреслено). Все, крім 1 останнього включені у попереднє.

Перелік послідовностей

<110> ЮСБ Фарма С.А.

<120> Anti-FcRn Антитіла

<130> G0165

<150> GB1208370.5

<151> 2012-05-14

<160> 95

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 10

<212> PRT

<213> Штучний

<220>

<223> CA170\_1519 CDRH1

<400> 1

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

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> Штучний

<220>

<223> CA170\_1519 CDRH2

<400> 2

Tyr	Ile	Asp	Ser	Asp	Gly	Asp	Asn	Thr	Tyr	Tyr	Arg	Asp	Ser	Val	Lys
1				5					10					15	

Gly

<210> 3

<211> 8

<212> PRT

<213> Штучний

<220>

<223> CA170\_1519 CDRH3

<400> 3

Gly Ile Val Arg Pro Phe Leu Tyr  
1 5

<210> 4

<211> 16

<212> PRT

<213> Штучний

<220>

<223> CA170\_1519 CDRL1

<400> 4

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Val Gly Ala Ser Gly Lys Thr Tyr Leu Tyr  
1 5 10 15

<210> 5

<211> 7

<212> PRT

<213> Штучний

<220>

<223> CA170\_1519 CDRL2

<400> 5

Leu Val Ser Thr Leu Asp Ser  
1 5

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> Штучний

<220>

<223> CA170\_1519 CDRL3

<400> 6

Leu Gln Gly Thr His Phe Pro His Thr  
1 5

<210> 7

<211> 112  
<212> PRT  
<213> Штучний

<220>  
<223> Щуряча Ab 1519 VL область

<400> 7

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Val Gly Ala  
20 25 30

Ser Gly Lys Thr Tyr Leu Tyr Trp Leu Phe Gln Arg Ser Gly Gln Ser  
35 40 45

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

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

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

Thr His Phe Pro His Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys  
100 105 110

<210> 8  
<211> 336  
<212> ДНК  
<213> Штучний

<220>  
<223> Щуряча Ab 1519 VL область

<400> 8

gatgttgtga tgaccagac tccactgtct ttgtcggttg cccttggaca accagcctcc 60  
atctcttgca agtcaagtca gagcctcgta ggtgctagtg gaaagacata tttgtattgg 120  
ttatttcaga ggtccggcca gtctccaaag cgactaatct atctggtgtc cacactggac 180



tctggaattc ctgatagggt cagtggcagt ggagcagaga cagattttac tcttaaaatc 240  
 cgcagagtgg aagccgatga ttggggagtt tattactgct tgcaaggtag acattttcct 300  
 cacacgtttg gagctgggac caagctggaa ttgaaa 336

<210> 9

<211> 132

<212> PRT

<213> Штучний

<220>

<223> Щуряча Ab 1519 VL область з сигнальною послідовністю

<400> 9

Met Met Ser Pro Ala Gln Phe Leu Phe Leu Leu Met Leu Trp Ile Gln  
 1 5 10 15

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

Val Ala Leu Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser  
 35 40 45

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

Ser Gly Gln Ser Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Thr Leu Asp  
 65 70 75 80

Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ala Glu Thr Asp Phe  
 85 90 95

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

Cys Leu Gln Gly Thr His Phe Pro His Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys  
 115 120 125

Leu Glu Leu Lys  
 130

<210> 10  
 <211> 396  
 <212> ДНК  
 <213> Штучний

<220>

<223> Щуряча Ab 1519 VL область з сигнальною послідовністю

<400> 10

```
atgatgagtc ctgccagtt cctgtttctg ctgatgctct ggattcaggg aaccagtggc      60
gatgttgatga tgaccagac tccactgtct ttgtcgggtg cccttggaca accagcctcc      120
atctcttgca agtcaagtca gaggctcgta ggtgctagtg gaaagacata tttgtattgg      180
ttatttcaga ggtccggcca gtctccaaag cgactaatct atctgggtgtc cacactggac      240
tctggaattc ctgatagggt cagtggcagt ggagcagaga cagattttac tcttaaaatc      300
cgcagagtgg aagccgatga tttgggagtt tattactgct tgcaaggtag acattttcct      360
cacacgtttg gagctgggac caagctggaa ttgaaa                                396
```

<210> 11  
 <211> 116  
 <212> PRT  
 <213> Штучний

<220>

<223> Щуряча Ab 1519 VH область

<400> 11

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

Ser Met Lys Leu Ser Cys Val Val Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
          20          25          30

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

Ala Tyr Ile Asp Ser Asp Gly Asp Asn Thr Tyr Tyr Arg Asp Ser Val
50          55          60
```

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

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

Thr Thr Gly Ile Val Arg Pro Phe Leu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr  
100 105 110

Val Thr Val Ser  
115

<210> 12  
<211> 348  
<212> ДНК  
<213> Штучний

<220>  
<223> Щуряча Ab 1519 VH область

<400> 12  
gaggtgccgc tgggtggagtc tgggggaggc tcagtgcagc ctgggaggct catgaaactc 60  
tcctgtgtag tctcaggatt cactttcagt aattatggca tggctctgggt ccgccaggct 120  
ccaaagaagg gtctggagtg ggtcgcatat attgattctg atggtgataa tacttactac 180  
cgagattccg tgaagggccg attcactatc tccagaaata atgcaaaaag caccctatat 240  
ttgcaaattg acagtctgag gtctgaggac acggccactt attactgtac aacagggatt 300  
gtccggccct ttctctattg gggccaagga accacgggtca ccgtctcg 348

<210> 13  
<211> 135  
<212> PRT  
<213> Штучний

<220>  
<223> Щуряча Ab 1519 VH область з сигнальною послідовністю

<400> 13

Met Asp Ile Ser Leu Ser Leu Ala Phe Leu Val Leu Phe Ile Lys Gly  
1 5 10 15

Val	Arg	Cys	Glu	Val	Pro	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Ser	Val	Gln	
			20					25					30			
Pro	Gly	Arg	Ser	Met	Lys	Leu	Ser	Cys	Val	Val	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	
		35					40					45				
Ser	Asn	Tyr	Gly	Met	Val	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Lys	Lys	Gly	Leu	
	50					55					60					
Glu	Trp	Val	Ala	Tyr	Ile	Asp	Ser	Asp	Gly	Asp	Asn	Thr	Tyr	Tyr	Arg	
65					70					75					80	
Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asn	Asn	Ala	Lys	Ser	
			85						90					95		
Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asp	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Thr	
			100					105					110			
Tyr	Tyr	Cys	Thr	Thr	Gly	Ile	Val	Arg	Pro	Phe	Leu	Tyr	Trp	Gly	Gln	
		115					120					125				
Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser										
	130					135										
<210> 14																
<211> 405																
<212> ДНК																
<213> Штучний																
<220>																
<223> Щуряча Ab 1519 VH область з сигнальною послідовністю																
<400> 14																
atggacatca	gtctcagctt	ggctttcctt	gtccttttca	taaaagggtgt	ccgggtgtgag											60
gtgccgctgg	tggagtctgg	gggcggctca	gtgcagcctg	ggaggtccat	gaaactctcc											120
tgtgtagtct	caggattcac	tttcagtaat	tatggcatgg	tctgggtccg	ccaggctcca											180
aagaagggtc	tggagtgggt	cgcataatatt	gattctgatg	gtgataatac	ttactaccga											240
gattccgtga	agggccgatt	cactatctcc	agaaataatg	caaaaagcac	cctatatattg											300
caaatggaca	gtctgaggtc	tgaggacacg	gccacttatt	actgtacaac	agggattgtc											360

cggccctttc tctattgggg ccaaggaacc acggtcaccg tctcg

405

<210> 15  
<211> 112  
<212> PRT  
<213> Штучний

<220>  
<223> 1519 gL20 V-область

<400> 15

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Val Gly Ala  
20 25 30

Ser Gly Lys Thr Tyr Leu Tyr Trp Leu Phe Gln Lys Pro Gly Lys Ala  
35 40 45

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

Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile  
65 70 75 80

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

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

<210> 16  
<211> 336  
<212> ДНК  
<213> Штучний

<220>  
<223> 1519 gL20 V-область (E. coli експресія)

<400> 16

gatatccaga tgaccagag tccaagcagt ctctccgcca gcgtaggcga tcgtgtgact

60

```

attacctgta aaagctccca gtccctgggtg ggtgcaagcg gcaaaaccta cctgtactgg      120
ctcttccaga aaccgggcaa agctccgaaa cgctgatct atctgggtgtc taccctggat      180
agcgggtattc cgtctcgttt ctccggtagc ggtagcggta ccgaattcac gctgaccatt      240
agctccctcc agccggagga ctttgctacc tattactgcc tccagggcac tcattttccg      300
cacactttcg gccagggtac caaactggaa atcaaa      336

```

<210> 17  
 <211> 336  
 <212> ДНК  
 <213> Штучний

<220>  
 <223> 1519 gL20 V-область (експресія ссавців)

```

<400> 17
gatatccaga tgacccagag cccatctagc ttatccgctt ccgttgggtga tcgcgtgaca      60
attacctgta agagctccca atctctcgtg ggtgcaagtg gcaagaccta tctgtactgg      120
ctctttcaga agcctggcaa ggcaccaaaa cggctgatct atctgggtgtc tacccttgac      180
tctgggatac cgtcacgatt ttccggatct gggagcggaa ctgagttcac actcacgatt      240
tcacgcgtgc aacccgagga ctttgctacc tactactgcc tgcaaggcac tcatttcct      300
cacactttcg gccaggggac aaaactcgaa atcaaa      336

```

<210> 18  
 <211> 133  
 <212> PRT  
 <213> Штучний

<220>  
 <223> 1519 gL20 V-область з сигнальною послідовністю (E. coli експресія)

<400> 18

```

Met Lys Lys Thr Ala Ile Ala Ile Ala Val Ala Leu Ala Gly Phe Ala
1           5           10           15

```

```

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

```

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

Ser Leu Val Gly Ala Ser Gly Lys Thr Tyr Leu Tyr Trp Leu Phe Gln  
50 55 60

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

Asp Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu  
85 90 95

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

Tyr Cys Leu Gln Gly Thr His Phe Pro His Thr Phe Gly Gln Gly Thr  
115 120 125

Lys Leu Glu Ile Lys  
130

<210> 19

<211> 399

<212> ДНК

<213> Штучний

<220>

<223> 1519 gL20 V-область з сигнальною послідовністю (E. coli експресія)

<400> 19

atgaaaaaga cagctatcgc aattgcagtg gccttggctg gtttcgctac cgtagcgcaa	60
gctgatatcc agatgaccca gagtccaagc agtctctccg ccagcgtagg cgatcgtgtg	120
actattacct gtaaaagctc ccagtccttg gtgggtgcaa gcggcaaaac ctacctgtac	180
tggctcttcc agaaaccggg caaagctccg aaacgcctga tctatctggt gtctaccctg	240
gatagcggta ttccgtctcg tttctccggt agcggtagcg gtaccgaatt cacgctgacc	300
attagctccc tccagccgga ggactttgct acctattact gcctccaggg cactcathtt	360
ccgcacactt tcggccaggg taccaaactg gaaatcaaa	399

<210> 20  
 <211> 132  
 <212> PRT  
 <213> Штучний  
  
 <220>  
 <223> 1519 gL20 V-область з сигнальною послідовністю (експресія ссавців)  
  
 <400> 20  
  
 Met Ser Val Pro Thr Gln Val Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr  
 1 5 10 15  
  
 Asp Ala Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser  
 20 25 30  
  
 Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser  
 35 40 45  
  
 Leu Val Gly Ala Ser Gly Lys Thr Tyr Leu Tyr Trp Leu Phe Gln Lys  
 50 55 60  
  
 Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Thr Leu Asp  
 65 70 75 80  
  
 Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe  
 85 90 95  
  
 Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr  
 100 105 110  
  
 Cys Leu Gln Gly Thr His Phe Pro His Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys  
 115 120 125  
  
 Leu Glu Ile Lys  
 130  
  
 <210> 21  
 <211> 396  
 <212> ДНК  
 <213> Штучний  
  
 <220>



<223> 1519 gL20 V-область з сигнальною послідовністю (експресія ссавців)

<400> 21

```
atgtctgtcc ccaccaagt cctcggactc ctgctactct ggcttacaga tgccagatgc      60
gatatccaga tgaccagag cccatctagc ttatccgctt ccgttggtga tcgcgtgaca      120
attacgtgta agagctccca atctctcgtg ggtgcaagtg gcaagaccta tctgtactgg      180
ctctttcaga agcctggcaa ggcacaaaaa cggctgatct atctggtgtc tacccttgac      240
tctgggatac cgtcacgatt ttccggatct gggagcggaa ctgagttcac actcacgatt      300
tcacgctgc aacccgagga ctttgctacc tactactgcc tgcaaggcac tcatttcctt      360
cacactttcg gccaggggac aaaactcgaa atcaaa                                396
```

<210> 22

<211> 219

<212> PRT

<213> Штучний

<220>

<223> 1519 gL20 легкий ланцюг (V + постійний)

<400> 22

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

```
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Val Gly Ala
          20           25           30
```

```
Ser Gly Lys Thr Tyr Leu Tyr Trp Leu Phe Gln Lys Pro Gly Lys Ala
          35           40           45
```

```
Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Thr Leu Asp Ser Gly Ile Pro
          50           55           60
```

```
Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile
65           70           75           80
```

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

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

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu  
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe  
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln  
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser  
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu  
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser  
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
210 215

<210> 23

<211> 657

<212> ДНК

<213> Штучний

<220>

<223> 1519 gL20 легкий ланцюг (V + постійний, E. coli експресія)

<400> 23

gatatccaga tgaccagag tccaagcagt ctctccgcca gcgtaggcga tcgtgtgact 60

attacctgta aaagctccca gtccctggtg ggtgcaagcg gcaaaacctta cctgtactgg 120

ctcttccaga aaccgggcaa agctccgaaa cgcctgatct atctggtgtc taccctggat 180

agcgggtattc cgtctcgttt ctccggtagc ggtagcggta ccgaattcac gctgaccatt 240

agctccctcc agccggagga ctttgctacc tattactgcc tccagggcac tcattttccg 300

cacactttcg gccagggtac caaactggaa atcaaacgta cggtagcggc cccatctgtc 360

ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg	420
ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtggg aggtggataa cgccctccaa	480
tcgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc	540
agcagcacc tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa	600
gtcaccatc agggcctgag ctcaccagta aaaaaagtt ttaatagagg ggagtgt	657

<210> 24  
 <211> 657  
 <212> ДНК  
 <213> Штучний

<220>  
 <223> 1519 gL20 легкий ланцюг (V + постійний, експресія ссавців)

<400> 24	
gatatccaga tgacccagag tccaagcagt ctctccgcca gcgtaggcga tcgtgtgact	60
attacctgta aaagctccca gtccctgggtg ggtgcaagcg gcaaaacctta cctgtactgg	120
ctcttccaga aaccgggcaa agctccgaaa cgcctgatct atctgggtgtc taccctggat	180
agcggatttc cgtctcgttt ctccggtagc ggtagcggta ccgaattcac gctgaccatt	240
agctccctcc agccggagga ctttgctacc tattactgcc tccagggcac tcattttccg	300
cacactttcg gccagggtac caaactggaa atcaaacgta cggtagcggc cccatctgtc	360
ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg	420
ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtggg aggtggataa cgccctccaa	480
tcgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc	540
agcagcacc tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa	600
gtcaccatc agggcctgag ctgcccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgt	657

<210> 25  
 <211> 240  
 <212> PRT  
 <213> Штучний

<220>  
 <223> 1519 gL20 легкий ланцюг з сигнальною послідовністю (E. coli експресія)

<400> 25

Met Lys Lys Thr Ala Ile Ala Ile Ala Val Ala Leu Ala Gly Phe Ala  
1 5 10 15

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

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

Ser Leu Val Gly Ala Ser Gly Lys Thr Tyr Leu Tyr Trp Leu Phe Gln  
50 55 60

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

Asp Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu  
85 90 95

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

Tyr Cys Leu Gln Gly Thr His Phe Pro His Thr Phe Gly Gln Gly Thr  
115 120 125

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

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

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

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

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

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

Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
225 230 235 240

<210> 26

<211> 720

<212> ДНК

<213> Штучний

<220>

<223> 1519 gL20 легкий ланцюг з сигнальною послідовністю (E. coli експресія)

<400> 26

atgaaaaaga cagctatcgc aattgcagtg gccttggctg gtttcgctac cgtagcgcaa	60
gctgatatcc agatgaccca gagtccaagc agtctctccg ccagcgtagg cgatcgtgtg	120
actattacct gtaaaagctc ccagtccttg gtgggtgcaa gcggcaaaac ctacctgtac	180
tggctcttcc agaaacggg caaagctccg aaacgcctga tctatctggg gtctaccctg	240
gatagcggta ttccgtctcg tttctccggg agcggtagcg gtaccgaatt cacgctgacc	300
attagctccc tccagccgga ggactttgct acctattact gcctccaggg cactcatttt	360
ccgcacactt tcggccaggg taccaaactg gaaatcaaac gtacggtagc ggccccatct	420
gtcttcatct tcccgccatc tgatgagcag ttgaaatctg gaactgcctc tgttgtgtgc	480
ctgctgaata acttctatcc cagagaggcc aaagtacagt ggaagggtgga taacgccctc	540
caatcgggta actcccagga gagtgtcaca gagcaggaca gcaaggacag cacctacagc	600
ctcagcagca ccctgacgct gagcaaagca gactacgaga aacacaaagt ctacgcctgc	660
gaagtcaccc atcagggcct gagctcacca gtaacaaaaa gttttaatag aggggagtg	720

<210> 27

<211> 239

<212> PRT

<213> Штучний

<220>

<223> 1519 gL20 легкий ланцюг з сигнальною послідовністю (ссавців експресія)

<400> 27

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

Asp Ala Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser  
20 25 30

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

Leu Val Gly Ala Ser Gly Lys Thr Tyr Leu Tyr Trp Leu Phe Gln Lys  
50 55 60

Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Thr Leu Asp  
65 70 75 80

Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe  
85 90 95

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

Cys Leu Gln Gly Thr His Phe Pro His Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys  
115 120 125

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

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

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

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

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

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

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

<210> 28

<211> 717

<212> ДНК

<213> Штучний

<220>

<223> 1519 gL20 легкий ланцюг з сигнальною послідовністю (експресія ссавців)

<400> 28

```
atgtctgtcc ccaccaagt cctcggactc ctgctactct ggcttacaga tgccagatgc      60
gatatccaga tgaccagag cccatctagc ttatccgctt ccgttggtga tcgcgtgaca      120
attacgtgta agagctcca atctctcgtg ggtgcaagtg gcaagaccta tctgtactgg      180
ctctttcaga agcctggcaa ggcacaaaaa cggctgatct atctgggtgtc tacccttgac      240
tctgggatac cgtcacgatt ttccggatct gggagcggaa ctgagttcac actcacgatt      300
tcatcgctgc aaccgagga ctttgctacc tactactgcc tgcaaggcac tcatttcctt      360
cacactttcg gccaggggac aaaactcgaa atcaaacgta cggtagcggc cccatctgtc      420
ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg      480
ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa      540
tcgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc      600
agcagcaccc tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgctgacgaa      660
gtcacccatc agggcctgag ctcgcccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgt      717
```

<210> 29

<211> 116

<212> PRT

<213> Штучний

<220>

<223> 1519 gH20 V-область

<400> 29

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

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

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

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

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

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

Thr Thr Gly Ile Val Arg Pro Phe Leu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
100 105 110

Val Thr Val Ser  
115

<210> 30

<211> 348

<212> ДНК

<213> Штучний

<220>

<223> 1519 gH20 V-область (E. coli експресія)

<400> 30

gaggttccgc tggtcgagtc tggaggcggg cttgtccagc ctggagggag cctgcgtctc 60

tcttgtgcag tatctggctt cacgttctcc aactacggta tgggtgtgggt tcgtcaggct 120



ccaggtaaag gtctggaatg ggtggcgtat attgactccg acggcgacaa cacctactat 180  
 cgcgactctg tgaaagggtcg cttcaccatt tcccgcgata acgccaatc cagcctgtac 240  
 ctgcagatga acagcctgcg tgctgaagat actgcggtgt actattgcac cactggcatc 300  
 gtgcgtccgt ttctgtattg gggtcagggt accctcgta ctgtctcg 348

<210> 31

<211> 348

<212> ДНК

<213> Штучний

<220>

<223> 1519 gH20 V-область (експресія ссавців)

<400> 31

gagggtaccac ttgtggaaag cggaggaggt cttgtgcagc ctggaggaag ttacgtctc 60

tcttgtgctg tgtctggctt caccttctcc aattacggaa tggctctgggt cagacaagca 120

cctggaaagg gtcttgaatg ggtggcctat attgactctg acggggacaa cacctactat 180

cgggattccg tgaaaggacg cttcacaatc tcccgagata acgccaagag ctactgtac 240

ctgcagatga atagcctgag agccgaggat actgccgtgt actattgcac aacgggaatc 300

gttaggcctt ttctgtactg gggacagggc accttggtta ctgtctcg 348

<210> 32

<211> 137

<212> PRT

<213> Штучний

<220>

<223> 1519 gH20 V-область (E. coli експресія)

<400> 32

Met Lys Lys Thr Ala Ile Ala Ile Ala Val Ala Leu Ala Gly Phe Ala  
 1 5 10 15

Thr Val Ala Gln Ala Glu Val Pro Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu  
 20 25 30

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe  
 35 40 45

Thr Phe Ser Asn Tyr Gly Met Val Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys  
50 55 60

Gly Leu Glu Trp Val Ala Tyr Ile Asp Ser Asp Gly Asp Asn Thr Tyr  
65 70 75 80

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

Lys Ser Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr  
100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Thr Gly Ile Val Arg Pro Phe Leu Tyr Trp  
115 120 125

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser  
130 135

<210> 33  
<211> 411  
<212> ДНК  
<213> Штучний

<220>  
<223> 1519 gH20 V-область (E. coli експресія)

<400> 33  
atgaagaaga ctgctatagc aattgcagtg gcgctagctg gtttcgccac cgtggcgcaa 60  
gctgagggttc cgctggtcga gtctggaggc gggcttgtcc agcctggagg gagcctgcgt 120  
ctctcttgtg cagtatctgg cttcacgttc tccaactacg gtatggtgtg gggtcgtcag 180  
gctccaggta aaggctctgga atgggtggcg tatattgact cgcacggcga caacacctac 240  
tatcgcgact ctgtgaaagg tcgcttcacc atttcccgcg ataacgcaa atccagcctg 300  
tacctgcaga tgaacagcct gcgtgctgaa gatactgcgg tgtactattg caccactggc 360  
atcgtgcgtc cgtttctgta ttggggtcag ggtaccctcg ttactgtctc g 411

<210> 34  
<211> 135  
<212> PRT

<213> Штучний

<220>

<223> 1519 gH20 V-область (ссавців експресія)

<400> 34

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

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

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

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

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

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

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

Tyr Tyr Cys Thr Thr Gly Ile Val Arg Pro Phe Leu Tyr Trp Gly Gln  
115 120 125

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser  
130 135

<210> 35

<211> 405

<212> ДНК

<213> Штучний

<220>

<223> 1519 gH20 V-область з сигнальною послідовністю (експресія ссавців)

<400> 35

```

atggaatgga gctgggtctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctacaggagt ccattctgag      60
gtaccacttg tggaaagcgg aggaggtctt gtgcagcctg gaggaagttt acgtctctct      120
tgtgctgtgt ctggcttcac cttctccaat tacggaatgg tctgggtcag acaagcacct      180
ggaaagggtc ttgaatgggt ggcctatatt gactctgacg gggacaacac ctactatcgg      240
gattccgtga aaggacgctt cacaatctcc cgagataacg ccaagagctc actgtacctg      300
cagatgaata gcctgagagc cgaggatact gccgtgtact attgcacaac gggaatcgtt      360
aggccttttc tgtactgggg acagggcacc ttggttactg tctcg                        405

```

<210> 36

<211> 228

<212> PRT

<213> Штучний

<220>

<223> 1519gH20 Fab' важкий ланцюг (V + людський гамма-1 CH1 + шарнір)

<400> 36

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

Thr Thr Gly Ile Val Arg Pro Phe Leu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
          100          105          110

```

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn  
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His  
210 215 220

Thr Cys Ala Ala  
225

<210> 37

<211> 684

<212> ДНК

<213> Штучний

<220>

<223> 1519gH20 Fab' важкий ланцюг (V + людський гамма-1 CH1 + шарпір,  
E.coli експресія)

<400> 37

gaggttccgc tggctcagtc tggaggcggg cttgtccagc ctggagggag cctgcgtctc 60

tcttgtgcag tatctggctt cacgttctcc aactacggta tgggtgtgggt tcgtcaggct 120

ccaggtaaag gtctggaatg ggtggcgtat attgactccg acggcgacaa cacctactat 180

cgcgactctg tgaaaggctc cttcaccatt tcccgcgata acgccaatc cagcctgtac 240

ctgcagatga acagcctgcg tgctgaagat actgcggtgt actattgcac cactggcatc 300

```

gtgcgtccgt ttctgtattg gggtcagggt accctcgta ctgtctcgag cgcttctaca 360
aaggggcccat cgggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 420
gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgtc gtggaactca 480
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac 540
tccctcagca gcgtgggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc 600
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtcgacaaga aagttgagcc caaatcttgt 660
gacaaaactc acacatgcgc cgcg 684

```

<210> 38

<211> 684

<212> ДНК

<213> Штучний

<220>

<223> 1519gH20 Fab' важкий ланцюг (V + людський гамма-1 CH1 + шарнір, експресія ссавців)

<400> 38

```

gaggtagaac ttgtggaaag cggaggaggt cttgtgcagc ctggaggaag tttagctctc 60
tcttgtgttg tgtctggctt caccttctcc aattacggaa tggctctgggt cagacaagca 120
cctggaaagg gtcttgaatg ggtggcctat attgactctg acggggacaa cacctactat 180
cgggattccg tgaaaggacg cttcacaatc tcccgagata acgccaagag ctactgtac 240
ctgcagatga atagcctgag agccgaggat actgccgtgt actattgcac aacgggaatc 300
gttaggcctt ttctgtactg gggacagggc accttggtta ctgtctcgag cgcttctaca 360
aaggggcccat cgggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 420
gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgtc gtggaactca 480
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac 540
tccctcagca gcgtgggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc 600
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtcgacaaga aagttgagcc caaatcttgt 660
gacaaaactc acacatgcgc cgcg 684

```

<210> 39

<211> 249

<212> PRT

<213> Штучний

<220>

<223> 1519 gH20 Fab' важкий ланцюг з сигнальною послідовністю (E. coli експресія)

<400> 39

Met Lys Lys Thr Ala Ile Ala Ile Ala Val Ala Leu Ala Gly Phe Ala  
1 5 10 15

Thr Val Ala Gln Ala Glu Val Pro Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu  
20 25 30

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe  
35 40 45

Thr Phe Ser Asn Tyr Gly Met Val Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys  
50 55 60

Gly Leu Glu Trp Val Ala Tyr Ile Asp Ser Asp Gly Asp Asn Thr Tyr  
65 70 75 80

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

Lys Ser Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr  
100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Thr Gly Ile Val Arg Pro Phe Leu Tyr Trp  
115 120 125

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro  
130 135 140

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr  
145 150 155 160

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr  
165 170 175

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro  
180 185 190

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr  
195 200 205

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn  
210 215 220

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser  
225 230 235 240

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Ala Ala  
245

<210> 40

<211> 747

<212> ДНК

<213> Штучний

<220>

<223> 1519 gH20 Fab' важкий ланцюг з сигнальною послідовністю (E. coli експресія)

<400> 40

```
atgaagaaga ctgctatagc aattgcagtg gcgctagctg gtttcgccac cgtggcgcaa      60
gctgagggttc cgctggtcga gtctggaggc gggcttgtcc agcctggagg gagcctgcgt      120
ctctcttgtg cagtatctgg cttcacgttc tccaactacg gtatggtgtg gggttcgtcag      180
gctccaggta aaggcttgga atgggtggcg tatattgact ccgacggcga caacacctac      240
tatcgcgact ctgtgaaagg tcgcttcacc atttcccgcg ataacgcaa atccagcctg      300
tacctgcaga tgaacagcct gcgtgctgaa gatactgcgg tgtactattg caccactggc      360
atcgtgcgtc cgtttctgta ttgggggtcag ggtaccctcg ttactgtctc gagcgcttct      420
acaaagggcc catcgggtctt ccccttgga cctcctcca agagcacctc tgggggcaca      480
gcggccctgg gctgcctggt caaggactac ttccccgaac cggtgacggt gtcgtggaac      540
tcaggcgcgc tgaccagcgg cgtgcacacc ttcccggtg tcctacagtc ctcaggactc      600
```



tactccctca gcagcgtggt gaccgtgccc tccagcagct tgggcaccca gacctacatc 660  
 tgcaacgtga atcacaagcc cagcaacacc aaggtcgaca agaaaagttga gcccaaattct 720  
 tgtgacaaaa ctcacacatg cgccgcg 747

<210> 41

<211> 247

<212> PRT

<213> Штучний

<220>

<223> 1519 gH20 Fab' важкий ланцюг з сигнальною послідовністю (експресія ссавців)

<400> 41

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

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

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

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

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

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

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

Tyr Tyr Cys Thr Thr Gly Ile Val Arg Pro Phe Leu Tyr Trp Gly Gln  
 115 120 125

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val  
 130 135 140

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala  
145 150 155 160

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser  
165 170 175

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val  
180 185 190

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro  
195 200 205

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys  
210 215 220

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp  
225 230 235 240

Lys Thr His Thr Cys Ala Ala  
245

<210> 42

<211> 741

<212> ДНК

<213> Штучний

<220>

<223> 1519 gH20 Fab' важкий ланцюг з сигнальною послідовністю (експресія ссавців)

<400> 42

```
atggaatgga gctgggtctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctacaggagt ccattctgag      60
gtaccacttg tggaaagcgg aggaggtctt gtgcagcctg gaggaagttt acgtctctct      120
tgtgctgtgt ctggcttcac cttctccaat tacggaatgg tctgggtcag acaagcacct      180
ggaaagggtc ttgaatgggt ggcctatatt gactctgacg gggacaacac ctactatcgg      240
gattccgtga aaggacgctt cacaatctcc cgagataacg ccaagagctc actgtacctg      300
cagatgaata gcctgagagc cgaggatact gccgtgtact attgcacaac gggaatcggt      360
```

```

aggccttttc tgtactgggg acagggcacc ttggttactg tctcgagcgc ttctacaaag      420
ggcccatcgg tcttccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc      480
ctgggctgcc tggtaagga ctacttcccc gaaccggtga cggtgtcgtg gaactcaggc      540
gccctgacca gcggcgtgca caccttcccg gctgtcctac agtcctcagg actctactcc      600
ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagacctt catctgcaac      660
gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggct gacaagaaag ttgagcccaa atcttgtgac      720
aaaactcaca catgcgccgc g                                     741

```

<210> 43

<211> 444

<212> PRT

<213> Штучний

<220>

<223> 1519gH20 IgG4 важкий ланцюг (V + людський гамма-4P постійний)

<400> 43

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

Thr Thr Gly Ile Val Arg Pro Phe Leu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
          100          105          110

```



Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala  
325 330 335

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln  
340 345 350

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly  
355 360 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro  
370 375 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser  
385 390 395 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu  
405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His  
420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys  
435 440

<210> 44

<211> 1939

<212> ДНК

<213> Штучний

<220>

<223> 1519gH20 IgG4 важкий ланцюг (V + людський гамма-4P постійний з екзонами)

<400> 44

gaggtaccac ttgtggaaag cggaggaggt cttgtgcagc ctggaggaag ttacgtctc 60

tcttgtgctg tgtctggctt caccttctcc aattacggaa tggctctgggt cagacaagca 120

cctggaaagg gtcttgaatg ggtggcctat attgactctg acggggacaa cacctactat 180

cgggattccg tgaaaggacg cttcacaatc tcccagata acgccaagag ctactgtac 240

ctgcagatga atagcctgag agccgaggat actgccgtgt actattgcac aacgggaatc 300

gtaggcctt ttctgtactg gggacagggc accttggtta ctgtctcgag cgcttctaca	360
aagggcccat ccgtcttccc cctggcgccc tgctccagga gcacctccga gagcacagcc	420
gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgtc gtggaactca	480
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtccctc aggactctac	540
tccctcagca gcgtgggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacgaagac ctacacctgc	600
aacgtagatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga gagttgggtga gaggccagca	660
cagggagggga ggggtgtctgc tggaaagccag gctcagccct cctgcctgga cgcaccccgg	720
ctgtgcagcc ccagcccagg gcagcaaggc atgccccatc tgtctcctca cccggaggcc	780
tctgaccacc ccactcatgc ccagggagag ggtcttcttg atttttccac caggctccgg	840
gcagccacag gctggatgcc cctaccccag gccctgcgca tacaggggca ggtgctgcgc	900
tcagacctgc caagagccat atccgggagg accctgcccc tgacctaaagc ccacccaaa	960
ggccaaactc tccactccct cagctcagac accttctctc ctcccagatc tgagtaactc	1020
ccaatcttct ctctgcagag tccaaatatg gtcccccatg cccaccatgc ccaggtaagc	1080
caaccagggc ctgccttcc agctcaaggc gggacagggtg ccctagagta gcctgcatcc	1140
agggacaggc cccagccggg tgctgacgca tccacctcca tctcttcctc agcacctgag	1200
ttcctggggg gaccatcagt ctctctgttc cccccaaaac ccaaggacac tctcatgatc	1260
tcccggaacc ctgaggtcac gtgcgtgggtg gtggacgtga gccaggaaga ccccgaggtc	1320
cagttcaact ggtacgtgga tggcgtggag gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag	1380
gagcagttca acagcacgta ccgtgtgggtc agcgtcctca ccgtcctgca ccaggactgg	1440
ctgaacggca aggagtacaa gtgcaagggtc tccaacaaag gcctcccgtc ctccatcgag	1500
aaaaccatct ccaaagccaa aggtgggacc cacgggggtgc gagggccaca tggacagagg	1560
tcagctcggc ccacctctg ccctgggagt gaccgctgtg ccaacctctg tccctacagg	1620
gcagccccga gagccacagg tgtacacctt gcccccatcc caggaggaga tgaccaagaa	1680
ccaggtcagc ctgacctgcc tgggtcaaagg cttctacccc agcgacatcg ccgtggagtg	1740
ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccacg cctcccgtgc tggactccga	1800
cggctccttc ttctctaca gcaggctaac cgtggacaag agcagggtggc aggaggggaa	1860

tgtctttctca tgctccgtga tgcatgaggc tctgcacaac cactacacac agaagagcct 1920  
ctccctgtct ctgggtaaa 1939

<210> 45

<211> 1996

<212> ДНК

<213> Штучний

<220>

<223> 1519gH20 IgG4 важкий ланцюг (V + людський гамма-4Р постійний) з сигнальною послідовністю

<400> 45

atggaatgga gctgggtctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctacaggagt ccattctgag 60  
gtaccacttg tggaagcgaggagggtctt gtgcagcctg gaggaagttt acgtctctct 120  
tgtgctgtgt ctggcttcac cttctccaat tacggaatgg tctgggtcag acaagcacct 180  
ggaaagggtc ttgaatgggt ggccctatatt gactctgacg gggacaacac ctactatcgg 240  
gattccgtga aaggacgctt cacaatctcc cgagataacg ccaagagctc actgtacctg 300  
cagatgaata gcctgagagc cgaggatact gccgtgtact attgcacaac gggaatcggt 360  
aggccttttc tgtactgggg acagggcacc ttggttactg tctcgagcgc ttctacaaag 420  
ggcccatccg tcttccccct ggcgccctgc tccaggagca cctccgagag cacagccgcc 480  
ctgggctgcc tgggtcaagga ctacttcccc gaaccgggtga cgggtgtcgtg gaactcaggc 540  
gccctgacca gcggcgtgca caccttcccc gctgtcctac agtcctcagg actctactcc 600  
ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cgaagaccta cacctgcaac 660  
gtagatcaca agcccagcaa caccaagggtg gacaagagag ttgggtgagag gccagcacag 720  
ggagggaggg tgtctgctgg aagccaggct cagccctcct gcctggacgc accccggctg 780  
tgcagcccca gccagggca gcaaggcatg ccccatctgt ctctcaccg ggaggcctct 840  
gaccaccca ctcatgcca gggagagggt cttctggatt tttccaccag gctccgggca 900  
gccacaggct ggatgccct accccaggcc ctgcgcatac aggggcagggt gctgcgtca 960  
gacctgcca gagccatatt cgggaggacc ctgcccctga cctaagccca ccccaaaggc 1020  
caaactctcc actccctcag ctcagacacc ttctctctc ccagatctga gtaactccca 1080

```

atctttcttc tgcagagtcc aaatatggtc ccccatgccc accatgccc ggtaagccaa 1140
cccaggcctc gccctccagc tcaaggcggg acaggtgccc tagagtagcc tgcattccagg 1200
gacaggcccc agccgggtgc tgacgcatcc acctccatct cttcctcagc acctgagttc 1260
ctgggggggac catcagtctt cctgttcccc ccaaaaccca aggacactct catgatctcc 1320
cggacccttg aggtcacgtg cgtgggtggtg gacgtgagcc aggaagaccc cgaggtccag 1380
ttcaactggt acgtggatgg cgtggaggtg cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag 1440
cagttcaaca gcacgtaccg tgtggtcagc gtcctcaccg tcctgcacca ggactggctg 1500
aacggcaagg agtacaagtg caaggtctcc aacaaaggcc tcccgtcctc catcgagaaa 1560
accatctcca aagccaaagg tgggaccac ggggtgagcagg ggccacatgg acagaggtca 1620
gctcggccca ccctctgccc tgggagtgac cgctgtgcca acctctgtcc ctacagggca 1680
gccccgagag ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccag gaggagatga ccaagaacca 1740
ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctaccccagc gacatcgccg tggagtggga 1800
gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct cccgtgctgg actccgacgg 1860
ctccttcttc ctctacagca ggctaaccgt ggacaagagc aggtggcagg aggggaatgt 1920
cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacacacaga agagcctctc 1980
cctgtctctg ggtaaa 1996

```

<210> 46

<211> 347

<212> PRT

<213> Штучний

<220>

<223> 1519gL20 FabFv легкий ланцюг

<400> 46

```

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

```

```

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Val Gly Ala
          20           25           30

```

```

Ser Gly Lys Thr Tyr Leu Tyr Trp Leu Phe Gln Lys Pro Gly Lys Ala

```



	35		40		45												
Pro	Lys	Arg	Leu	Ile	Tyr	Leu	Val	Ser	Thr	Leu	Asp	Ser	Gly	Ile	Pro		
	50					55					60						
Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Glu	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile		
65					70					75					80		
Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Leu	Gln	Gly		
				85					90					95			
Thr	His	Phe	Pro	His	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys		
			100					105					110				
Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu		
		115					120					125					
Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe		
	130					135					140						
Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln		
145					150					155					160		
Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser		
				165					170					175			
Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu		
			180					185					190				
Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser		
		195					200					205					
Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly		
	210					215					220						
Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp	Ile	Gln	Met	Thr		
225					230					235					240		
Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Val	Ser	Ala	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile		

	245		250		255										
Thr	Cys	Gln	Ser	Ser	Pro	Ser	Val	Trp	Ser	Asn	Phe	Leu	Ser	Trp	Tyr
			260					265					270		
Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Glu	Ala	Ser
		275					280					285			
Lys	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly
	290					295					300				
Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala
305					310					315					320
Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gly	Gly	Gly	Tyr	Ser	Ser	Ile	Ser	Asp	Thr	Thr	Phe
				325					330					335	
Gly	Cys	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr					
			340					345							

<210> 47

<211> 1041

<212> ДНК

<213> Штучний

<220>

<223> 1519gL20 FabFv легкий ланцюг

<400> 47

gatatccaga tgaccagag cccatctagc ttatccgctt ccgttggtga tcgcgtgaca	60
attacgtgta agagctccca atctctcgtg ggtgcaagtg gcaagaccta tctgtactgg	120
ctctttcaga agcctggcaa ggcacaaaaa cggctgatct atctgggtgtc tacccttgac	180
tctgggatac cgtcacgatt ttccggatct gggagcggaa ctgagttcac actcacgatt	240
tcatcgctgc aaccgagga ctttgctacc tactactgcc tgcaaggcac tcatttcctt	300
cacactttcg gccaggggac aaaactcgaa atcaaacgta cggtagcggc cccatctgtc	360
ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg	420
ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtggg aggtggataa cgccctccaa	480

```

tcgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctg      540
agcagcaccc tgacgctgtc taaagcagac tacgagaaac acaaagtgtc cgcctgcgaa      600
gtcaccatc agggcctgag ctcaccagta aaaaaagtt ttaatagagg ggagtgtagc      660
ggtaggcgggtg gcagtgggtg gggaggctcc ggaggtggcg gttcagacat acaaatgacc      720
cagagtcctt catcggtatc cgcgtccgtt ggcgataggg tgactattac atgtcaaagc      780
tctcctagcg tctggagcaa ttttctatcc tggatcaac agaaaccggg gaaggctcca      840
aaacttctga tttatgaagc ctcgaaactc accagtggag ttccgtcaag attcagtggc      900
tctggatcag ggacagactt cacgttgaca atcagttcgc tgcaaccaga ggactttgcg      960
acctactatt gtggtggagg ttacagtagc ataagtata cgacatttgg gtgcggtact     1020
aaggtggaaa tcaaacgtac c                                     1041

```

<210> 48  
 <211> 367  
 <212> PRT  
 <213> Штучний

<220>  
 <223> 1519gL20 FabFv легкий ланцюг з сигнальною послідовністю  
 <400> 48

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

Asp Ala Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser  
 20 25 30

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

Leu Val Gly Ala Ser Gly Lys Thr Tyr Leu Tyr Trp Leu Phe Gln Lys  
 50 55 60

Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Thr Leu Asp  
 65 70 75 80

Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe

				85					90					95					
Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr				
			100					105					110						
Cys	Leu	Gln	Gly	Thr	His	Phe	Pro	His	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys				
		115					120					125							
Leu	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro				
	130					135					140								
Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu				
145					150					155					160				
Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp				
				165					170					175					
Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp				
			180					185					190						
Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys				
		195					200					205							
Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln				
	210					215					220								
Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys	Ser				
225					230					235					240				
Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp				
				245					250					255					
Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Val	Ser	Ala	Ser	Val	Gly	Asp				
			260					265					270						
Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Gln	Ser	Ser	Pro	Ser	Val	Trp	Ser	Asn	Phe				
		275					280					285							
Leu	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile				

290		295		300
Tyr Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly				
305		310	315	320
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro				
	325	330		335
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser				
	340	345		350
Asp Thr Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr				
	355	360	365	

<210> 49

<211> 1101

<212> ДНК

<213> Штучний

<220>

<223> 1519gL20 FabFv легкий ланцюг з сигнальною послідовністю

<400> 49

atgtctgtcc ccaccaagt cctcggactc ctgctactct ggcttacaga tgccagatgc	60
gatatccaga tgaccagag cccatctagc ttatccgctt ccgttggtga tcgcgtgaca	120
attacgtgta agagctccca atctctcgtg ggtgcaagt gcaagaccta tctgtactgg	180
ctctttcaga agcctggcaa ggcacaaaaa cggctgatct atctgggtgtc tacccttgac	240
tctgggatac cgtcacgatt ttccggatct gggagcggaa ctgagttcac actcacgatt	300
tcatcgctgc aaccagagga ctttgctacc tactactgcc tgcaaggcac tcatttcct	360
cacactttcg gccaggggac aaaactcgaa atcaaacgta cggtagcggc cccatctgtc	420
ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg	480
ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtggg aggtggataa cgccctccaa	540
tcgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctg	600
agcagcacc tgacgctgtc taaagcagac tacgagaaac acaaagtgtc cgcctgcgaa	660
gtcaccatc agggcctgag ctaccagta acaaaaagtt ttaatagagg ggagtgtagc	720

```

ggtggcgggtg gcagtgggtgg gggagggtccc ggagggtggcg gttcagacat acaaatgacc 780
cagagtcctt catcgggtatc cgcgtccgtt ggcgataggg tgactattac atgtcaaagc 840
tctcctagcg tctggagcaa ttttctatcc tggatatcaac agaaaccggg gaaggctcca 900
aaacttctga tttatgaagc ctcgaaactc accagtggag ttccgtcaag attcagtggc 960
tctggatcag ggacagactt cacgttgaca atcagttcgc tgcaaccaga ggactttgcg 1020
acctactatt gtgggtggagg ttacagtagc ataagtgata cgacatttgg gtgcggtact 1080
aaggtggaaa tcaaacgtac c 1101

```

<210> 50

<211> 357

<212> PRT

<213> Штучний

<220>

<223> 1519gH20 FabFv важкий ланцюг

<400> 50

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

Thr Thr Gly Ile Val Arg Pro Phe Leu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100          105          110

```

Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu
		115					120					125			
Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys
		130				135					140				
Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser
145					150					155					160
Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser
				165					170					175	
Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser
			180					185					190		
Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn
		195					200					205			
Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Ser	Gly	Gly	Gly
		210				215					220				
Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Thr	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu
225					230					235					240
Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu
				245					250					255	
Ser	Cys	Ala	Val	Ser	Gly	Ile	Asp	Leu	Ser	Asn	Tyr	Ala	Ile	Asn	Trp
			260					265					270		
Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Cys	Leu	Glu	Trp	Ile	Gly	Ile	Ile	Trp
		275					280					285			
Ala	Ser	Gly	Thr	Thr	Phe	Tyr	Ala	Thr	Trp	Ala	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr
		290				295					300				
Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Val	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser
305					310					315					320

Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr Val Pro  
325 330 335

Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
340 345 350

Val Thr Val Ser Ser  
355

<210> 51

<211> 1071

<212> ДНК

<213> Штучний

<220>

<223> 1519gH20 FabFv важкий ланцюг

<400> 51

gaggtaccac ttgtggaaag cggaggaggt cttgtgcagc ctggaggaag tttacgtctc	60
tcttgtgctg tgtctggctt caccttctcc aattacggaa tggctctgggt cagacaagca	120
cctggaaagg gtcttgaatg ggtggcctat attgactctg acggggacaa cacctactat	180
cgggattccg tgaaaggacg cttcacaatc tcccagata acgccaagag ctactgtac	240
ctgcagatga atagcctgag agccgaggat actgccgtgt actattgcac aacgggaatc	300
gttaggcctt ttctgtactg gggacagggc accttggtta ctgtctcgag cgcgtccaca	360
aagggcccat cggctttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg	420
gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgaaccag tgacggtgtc gtggaactca	480
ggtgccctga ccagcggcgt tcacaccttc ccggctgtcc tacagtcttc aggactctac	540
tccctgagca gcgtgggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc	600
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtcgataaga aagttgagcc caaatcttgt	660
agtggaggtg ggggctcagg tggaggcggg accggtggag gtggcagcga ggttcaactg	720
cttgagtctg gaggaggcct agtccagcct ggaggagacc tgcgtctctc ttgtgcagta	780
agcggcatcg acctgagcaa ttacgccatc aactgggtga gacaagctcc ggggaagtgt	840
ttagaatgga tcggtataat atgggccagt gggacgacct tttatgctac atgggcgaaa	900



ggaagggttta caattagccg ggacaatagc aaaaacaccg tgtatctcca aatgaactcc 960  
 ttgcgagcag aggacacggc ggtgtactat tgtgctcgca ctgtcccagg ttatagcact 1020  
 gcaccctact tcgatctgtg gggacaaggg accctggtga ctgtttcaag t 1071

<210> 52  
 <211> 376  
 <212> PRT  
 <213> Штучний

<220>  
 <223> 1519gH20 FabFv важкий ланцюг з сигнальною послідовністю

<400> 52

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

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

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

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

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

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

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

Tyr Tyr Cys Thr Thr Gly Ile Val Arg Pro Phe Leu Tyr Trp Gly Gln  
 115 120 125

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val  
 130 135 140

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala  
145 150 155 160

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser  
165 170 175

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val  
180 185 190

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro  
195 200 205

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys  
210 215 220

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Ser  
225 230 235 240

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Gly Gly Gly Ser Glu  
245 250 255

Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser  
260 265 270

Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala  
275 280 285

Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Ile Gly  
290 295 300

Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly  
305 310 315 320

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln  
325 330 335

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg  
340 345 350

Thr Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln  
355 360 365

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
370 375

<210> 53  
<211> 1128  
<212> ДНК  
<213> Штучний

<220>  
<223> 1519gH20 FabFv важкий ланцюг з сигнальною послідовністю

<400> 53  
atggaatgga gctgggtctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctacaggagt ccattctgag 60  
gtaccacttg tggaagcgg aggaggtctt gtgcagcctg gaggaagttt acgtctctct 120  
tgtgctgtgt ctggcttcac cttctccaat tacggaatgg tctgggtcag acaagcacct 180  
ggaaagggtc ttgaatgggt ggcctatatt gactctgacg gggacaacac ctactatcgg 240  
gattccgtga aaggacgctt cacaatctcc cgagataacg ccaagagctc actgtacctg 300  
cagatgaata gcctgagagc cgaggatact gccgtgtact attgcacaac gggaatcggt 360  
aggccttttc tgtactgggg acagggcacc ttggttactg tctcgagcgc gtccacaaag 420  
ggcccatcgg tcttccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc 480  
ctgggctgcc tgggtcaagga ctacttcccc gaaccagtga cgggtgtcgtg gaactcaggt 540  
gccctgacca gcggcggtca caccttcccc gctgtcctac agtcttcagg actctactcc 600  
ctgagcagcg tggtagaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac 660  
gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtc gataagaaag ttgagcccaa atctttagt 720  
ggaggtgggg gctcaggtgg aggcgggacc ggtggaggtg gcagcgaggt tcaactgctt 780  
gagtctggag gaggcctagt ccagcctgga gggagcctgc gtctctcttg tgcagtaagc 840  
ggcatcgacc tgagcaatta cgccatcaac tgggtgagac aagctccggg gaagtgttta 900  
gaatggatcg gtataatatg ggccagtggg acgacctttt atgctacatg ggcgaaagga 960  
aggtttacaa ttagccggga caatagcaaa aacaccgtgt atctccaaat gaactccttg 1020

cgagcagagg acacggcggg gtactattgt gctcgactg tcccagggtta tagcactgca 1080  
ccctacttcg atctgtgggg acaagggacc ctgggtgactg tttcaagt 1128

<210> 54  
<211> 107  
<212> PRT  
<213> Штучний

<220>  
<223> Людський VK1 2-1-(1) A30 JK2 акцепторні каркаси

<400> 54

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

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

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
100 105

<210> 55  
<211> 321  
<212> ДНК  
<213> Штучний

<220>  
<223> Людський VK1 2-1-(1) A30 JK2 акцепторні каркаси

<400> 55

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60  
 atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggatatca gcagaaacca 120  
 gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180  
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct 240  
 gaagattttg caacttatta ctgtctacag cataatagtt acccttacac ttttggccag 300  
 gggaccaagc tggagatcaa a 321

<210> 56

<211> 112

<212> PRT

<213> Штучний

<220>

<223> Людський VH3 1-3 3-07 JH4 акцепторні каркаси

<400> 56

Glu Val Gln Leu Val 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

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

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

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

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

Ala Arg Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser  
 100 105 110

<210> 57

<211> 336

<212> ДНК

<213> Штучний

<220>

<223> Людський VH3 1-3 3-07 JH4 акцепторні каркаси

<400> 57

```

gagggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggggtc cctgagactc      60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttagt agctattgga tgagctgggt ccgccaggct      120
ccagggaagg ggctggagtg ggtggccaac ataaagcaag atggaagtga gaaatactat      180
gtggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctactgtat      240
ctgcaaataa acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagatacttt      300
gactactggg gccagggaac cctgggtcacc gtctcc      336

```

<210> 58

<211> 112

<212> PRT

<213> Штучний

<220>

<223> Щуряча Ab 1548 VL область

<400> 58

```

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Val Gly Ala
          20          25          30

Ser Gly Lys Thr Tyr Leu Tyr Trp Leu Phe Gln Arg Ser Gly Gln Ser
          35          40          45

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

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

```

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

Thr His Phe Pro His Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
100 105 110

<210> 59

<211> 336

<212> ДНК

<213> Штучний

<220>

<223> Щуряча Ab 1548 VL область

<400> 59

gatgttgatga tgaccagac tccactgtct ttgtcgggtg cccttggaca accagcctcc 60  
atctcttgca agtcaagtca gaggctcgta ggtgctagt gaaagacata tttgtattgg 120  
ttatttcaga ggtccggcca gtctccaaag cgactaatct atctgggtgtc cacactggac 180  
tctggaattc ctgatagggt cagtggcagt ggagcagaga cagattttac tcttaaaatc 240  
cgcagagtgg aagccgatga tttgggagtt tattactgct tgcaagggtac acattttcct 300  
cacacgtttg gagctgggac caagctggaa ataaaa 336

<210> 60

<211> 116

<212> PRT

<213> Штучний

<220>

<223> Щуряча Ab 1548 VH область

<400> 60

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

Ser Met Lys Leu Ser Cys Val Val Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr  
20 25 30

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

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

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

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

Thr Thr Gly Ile Val Arg Pro Phe Leu Tyr Trp Gly Gln Gly Val Met  
100 105 110

Val Thr Val Ser  
115

<210> 61  
<211> 348  
<212> ДНК  
<213> Штучний

<220>  
<223> Щуряча Ab 1548 VH область

<400> 61  
gaggtgccgc tgggtggagtc tgggggcggc tcagtgcagc ctgggaggtc catgaaactc 60  
tcctgtgtag tctcaggatt cactttcagt aattatggca tgggtctgggt ccgccaggct 120  
ccaaagaagg gtctggagtg ggtcgcatac attgattctg atggtgataa tacttactac 180  
cgagattccg tgaagggccg attcactatc tccagaaata atgcaaaaag caccctatat 240  
ttgcaaattgg acagtctgag gtctgaggac acggccactt attactgtac aacagggatt 300  
gtccggccct ttctctattg gggccaagga gtcattggta cagtctcg 348

<210> 62  
<211> 112  
<212> PRT  
<213> Штучний

<220>  
<223> Щуряча Ab 1644 VL область

<400> 62



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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Val Gly Ala  
20 25 30

Ser Gly Lys Thr Tyr Leu Tyr Trp Leu Phe Gln Arg Ser Gly Gln Ser  
35 40 45

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

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

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

Thr His Phe Pro His Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys  
100 105 110

<210> 63

<211> 336

<212> ДНК

<213> Штучный

<220>

<223> Щуряча Ab 1644 VL область

<400> 63

gatgttgatga tgaccagac tccactgtct ttgtcggttg ccattggaca accagcctcc 60

atctcttgca agtcaagtca gaggctcgta ggtgctagtg gaaagacata tttgtattgg 120

ttatttcaga ggtccggcca gtctccaaag cgactaatct atctgggtgtc cacactggac 180

tctggaattc ctgatagggtt cagtggcagt ggagcagaga cagattttac tcttaaaatc 240

cgcagagtgg aagccgatga tttgggagtt tattactgct tgcaaggtag acattttcct 300

cacacgtttg gagctgggac caagctggaa ctgaaa 336

<210> 64

<211> 116

<212> PRT

<213> Штучний

<220>

<223> Щуряча Ab 1644 VH область

<400> 64

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

Ser Thr Lys Leu Ser Cys Val Val Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr  
20 25 30

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

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

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

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

Thr Thr Gly Ile Val Arg Pro Phe Leu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr  
100 105 110

Val Thr Val Ser  
115

<210> 65

<211> 348

<212> ДНК

<213> Штучний

<220>

<223> Щуряча Ab 1644 VH область

<400> 65

gagggtgccgc tgggtggagtc tggggggcggc tcagtgcagc ctgggaggtc cacgaaactc 60

tcctgtgtag tctcaggatt cactttcagt aactatggca tggctctgggt ccgccaggct 120

ccaaagaagg gtctggagtg ggtcgcatat attggttctg atggtgataa tatttactac 180  
cgagattccg tgaagggtcg attcactatc tccagaaata atgcaaaaag caccctatat 240  
ttgcaaattg acagtctgag gtctgaggac acggccactt attactgtac aacagggatt 300  
gtccggccct ttctctactg gggccaagga accacggtca ccgtctcg 348

<210> 66

<211> 112

<212> PRT

<213> Штучний

<220>

<223> Щуряча Ab 1496 VK область

<400> 66

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Val Gly Ala  
20 25 30

Ser Gly Lys Thr Tyr Leu Tyr Trp Leu Phe Gln Arg Ser Gly Gln Ser  
35 40 45

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

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

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

Thr His Phe Pro His Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys  
100 105 110

<210> 67

<211> 336

<212> ДНК

<213> Штучний

<220>

<223> Щуряча Ab 1496 VK область

<400> 67

```

gatgttgatga tgaccagac tccactgtct ttgtcggttg cccttgagaca accagcctcc      60
atctcttgca agtcaagtca gagcctcgta ggtgctagtg gaaagacata ttgtatttgg      120
ttatttcaga ggtccggcca gtctccaaag cgactaatct atctggtgtc cacactggac      180
tctggaattc ctgatagggt cagtggcagt ggagcagaga cagattttac tcttaaaatc      240
cgagagatgg aagccgatga ttggggaggt tattactgct tgcaaggtac acattttcct      300
cacacgtttg gagctgggac caagctggaa ctgaaa      336

```

<210> 68

<211> 116

<212> PRT

<213> Штучний

<220>

<223> Щуряча Ab 1496 VH область

<400> 68

```

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

Ser Met Lys Leu Ser Cys Val Val Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20           25           30

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

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

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

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

```

Thr Thr Gly Ile Val Arg Pro Phe Leu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Met  
 100 105 110

Val Thr Val Ser  
 115

<210> 69

<211> 348

<212> ДНК

<213> Штучний

<220>

<223> Щуряча Ab 1496 VH область

<400> 69

gaggtgctgc tgggtggagtc tgggggaggc tcagtgcagc ctgggagggtc catgaaactc 60

tcctgtgtag tctcaggatt cactttcagt aattatggca tgggtctgggt ccgccaggct 120

ccaaagaagg gtctggagtg ggtcgcatat attgattctg atgggtgataa tacttactac 180

cgagattccg tgaagggccg attcactatc tccagaaata atgcaaaaag caccctatat 240

ttgcaaattg acagtctgag gtctgaggac acggccactt attactgtac aacagggatt 300

gtccggccct ttctctattg gggccaagga accatgggtca ccgtctcg 348

<210> 70

<211> 14

<212> PRT

<213> Штучний

<220>

<223> каркас

<400> 70

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

<210> 71

<211> 12

<212> PRT

<213> Штучний

<220>

<223> каркас

<400> 71

Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
1 5 10

<210> 72

<211> 447

<212> PRT

<213> Штучний

<220>

<223> 1519gH20 IgG1 важкий ланцюг (V + людський гамма-1 постійний)

<400> 72

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

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

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

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

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

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

Thr Thr Gly Ile Val Arg Pro Phe Leu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn  
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His  
210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val  
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr  
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu  
260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys  
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser  
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys  
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile  
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro  
340 345 350

Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu  
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn  
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser  
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg  
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu  
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
435 440 445

<210> 73

<211> 1947

<212> ДНК

<213> Штучний

<220>

<223> 1519gH20 IgG1 важкий ланцюг (V + людський гамма-1 постійний з екзонами)

<400> 73

gagggtaccac ttgtggaaag cggaggaggt cttgtgcagc ctggaggaag tttagctctc	60
tcttgtgctg tgtctggcctt caccttctcc aattacggaa tggctctgggt cagacaagca	120
cctggaaagg gtcttgaatg ggtggcctat attgactctg acggggacaa cacctactat	180
cgggattccg tgaaaggacg cttcacaatc tcccgagata acgccaagag ctactgtac	240
ctgcagatga atagcctgag agccgaggat actgccgtgt actattgcac aacgggaatc	300
gttaggcctt ttctgtactg gggacagggc accttggtta ctgtctcgag cgcttctaca	360
aagggcccat cggctttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg	420
gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca	480
ggcgcctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac	540



```

tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc      600
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtcgacaaga aagttggtga gaggccagca      660
caggaggagga ggggtgtctgc tggaaaccag gctcagcgct cctgcctgga cgcattcccgg      720
ctatgcagcc ccagtccagg gcagcaaggc aggccccgtc tgcctcttca cccggaggcc      780
tctgcccgcc ccactcatgc tcaggagag ggtcttctgg ctttttcccc aggctctggg      840
caggcacagg ctaggtgccc ctaaccagg ccctgcacac aaaggggcag gtgctgggct      900
cagacctgcc aagagccata tccgggagga ccctgcccct gacctaaagg cccccaaaag      960
gccaaactct ccactccctc agctcggaca ctttctctcc tcccagatct gagtaactcc     1020
caatcttctc tctgcagagc ccaaactctg tgacaaaact cacacatgcc caccgtgccc     1080
aggtaagcca gccagggcct cggcctccag ctcaaggcgg gacagggtgcc ctagagtagc     1140
ctgcatccag ggacaggccc cagccgggtg ctgacacgtc cacctccatc tcttctcag      1200
cacctgaact cctggggggga ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc     1260
tcatgatctc ccggaccctt gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc     1320
ctgagggtcaa gttcaactgg tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc     1380
cgcgaggagga gcagtacaac agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc     1440
aggactggct gaatggcaag gagtacaagt gcaagggtctc caacaaagcc ctcccagccc     1500
ccatcgagaa aaccatctcc aaagccaaag gtgggacccg tggggtgcga gggccacatg     1560
gacagaggcc ggctcggccc accctctgcc ctgagagtga ccgctgtacc aacctctgtc     1620
cctacagggc agccccgaga accacagggtg tacaccctgc ccccatcccg ggatgagctg     1680
accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc     1740
gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccggtgctg     1800
gactccgacg gctccttctt cctctacagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag     1860
caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag     1920
aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa      1947

```

<210> 74  
 <211> 2004  
 <212> ДНК

<213> Штучний

<220>

<223> 1519gH20 IgG1 важкий ланцюг (V + людський гамма-1 постійний) з сигнальною послідовністю

<400> 74

atggaatgga gctgggtcctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctacaggagt ccattctgag	60
gtaccacttg tggaaagcgg aggaggtcctt gtgcagcctg gaggaagttt acgtctctct	120
tgtgctgtgt ctggcttcac cttctccaat tacggaatgg tctgggtcag acaagcacct	180
ggaaagggtc ttgaatgggt ggcctatatt gactctgacg gggacaacac ctactatcgg	240
gattccgtga aaggacgctt cacaatctcc cgagataacg ccaagagctc actgtacctg	300
cagatgaata gcctgagagc cgaggatact gccgtgtact attgcacaac gggaatcggt	360
aggccttttc tgtactgggg acagggcacc ttgggttactg tctcgagcgc ttctacaaag	420
ggcccatcgg tcttccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc	480
ctgggctgcc tgggtcaagga ctacttcccc gaaccgggtga cgggtgtcgtg gaactcaggc	540
gccctgacca gcggcgtgca caccttcccc gctgtcctac agtcctcagg actctactcc	600
ctcagcagcg tgggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagacctc catctgcaac	660
gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggct gacaagaaag ttgggtgagag gccagcacag	720
ggagggaggg tgtctgctgg aagccaggct cagcgtcctt gcctggacgc atcccggcta	780
tgcagcccca gtccagggca gcaaggcagg ccccgctctgc ctcttcaccc ggaggcctct	840
gcccgcacca ctcatgctca gggagagggt cttctggctt tttcccagg ctctgggcag	900
gcacaggcta ggtgccccta acccaggccc tgcacacaaa ggggcagggtg ctgggctcag	960
acctgccaag agccatatcc gggaggacct tgccttgac ctaagccac cccaaaggcc	1020
aaactctcca ctccctcagc tcggacacct tctctctctc cagatctgag taactcccaa	1080
tcttctctct gcagagccca aatcttgtga caaaactcac acatgccac cgtgcccagg	1140
taagccagcc caggcctcgc cctccagctc aaggcgggac aggtgcccta gagtagcctg	1200
catccaggga caggccccag ccgggtgctg acacgtccac ctccatctct tcctcagcac	1260
ctgaactcct ggggggaccg tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca	1320
tgatctcccg gaccctgag gtcacatgcg tgggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg	1380

```

agg tcaagtt caactggtac gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc      1440
gggaggagca gtacaacagc acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg      1500
actggctgaa tggcaaggag tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagccccc      1560
tcgagaaaac catctccaaa gccaaagggtg ggacccgtgg ggtgcgaggg ccacatggac      1620
agaggccggc tcggcccacc ctctgccctg agagtgaccg ctgtaccaac ctctgtccct      1680
acagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catcccggga tgagctgacc      1740
aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg      1800
gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac      1860
tccgacggct ctttcttct ctacagcaag ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag      1920
gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag      1980
agcctctccc tgtctccggg taaa                                             2004

```

<210> 75

<211> 657

<212> ДНК

<213> Штучний

<220>

<223> 1519 gL20 легкий ланцюг (V + постійний, альтернативна експресія ссавців)

<400> 75

```

gatatccaga tgaccagag cccatctagc ttatccgctt ccgttggtga tcgcgtgaca      60
attacgtgta agagctccca atctctcgtg ggtgcaagtg gcaagacctt tctgtactgg      120
ctctttcaga agcctggcaa ggcacaaaaa cggctgatct atctggtgtc tacccttgac      180
tctgggatac cgtcacgatt ttccggatct gggagcggaa ctgagttcac actcacgatt      240
tcatcgctgc aaccgagga ctttgctacc tactactgcc tgcaaggcac tcatttcctt      300
cacactttcg gccaggggac aaaactcgaa atcaaacgta cggtagcggc cccatctgtc      360
ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg      420
ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa      480
tcgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc      540

```

agcagcacc c tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa 600  
gtcaccatc agggcctgag ctgcccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgt 657

<210> 76  
<211> 684  
<212> ДНК  
<213> Штучний

<220>  
<223> 1519gH20 Fab' важкий ланцюг (V + людський гамма-1 CH1 + шарпір, одна базова зміна експресії ссавців від SEQ ID NO: 38)

<400> 76  
gaggtaccac ttgtggaaag cggaggaggt cttgtgcagc ctggaggaag ttacgtctc 60  
tcttgtgctg tgtctggctt caccttctcc aattacggaa tggcttgggt cagacaagca 120  
cctggaaagg gtcttgaatg ggtggcctat attgactctg acggggacaa cacctactat 180  
cgggattccg tgaaaggacg cttcacaatc tcccgagata acgccaagag ctactgtac 240  
ctgcagatga atagcctgag agccgaggat actgccgtgt actattgcac aacgggaatc 300  
gttaggcctt ttctgtactg gggacagggc accttggta ctgtctcgag cgcttctaca 360  
aagggcccat cggcttctcc cctggcacc tctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 420  
gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgtc gtggaactca 480  
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac 540  
tccctcagca gcgtgggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcaccagac ctacatctgc 600  
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt 660  
gacaaaactc acacatgcgc cgcg 684

<210> 77  
<211> 741  
<212> ДНК  
<213> Штучний

<220>  
<223> 1519 gH20 Fab' важкий ланцюг з сигнальною послідовністю (одна базова зміна експресії ссавців від SEQ ID NO: 42)

<400> 77  
atggaatgga gctgggtctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctacaggagt ccattctgag 60

```

gtaccacttg tggaaagcgg aggaggtctt gtgcagcctg gaggaagttt acgtctctct 120
tgtgctgtgt ctggcttcac cttctccaat tacggaatgg tctgggtcag acaagcacct 180
ggaaagggtc ttgaatgggt ggcctatatt gactctgacg gggacaacac ctactatcgg 240
gattccgtga aaggacgctt cacaatctcc cgagataacg ccaagagctc actgtacctg 300
cagatgaata gcctgagagc cgaggatact gccgtgtact attgcacaac gggaatcggt 360
aggccttttc tgtactgggg acagggcacc ttggttactg tctcgagcgc ttctacaaag 420
ggcccatcgg tcttccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc 480
ctgggctgcc tggtaagga ctacttcccc gaaccgggtga cgggtgctgtg gaactcaggc 540
gccctgacca gcggcgtgca caccttcccc gctgtcctac agtcctcagg actctactcc 600
ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagacctt catctgcaac 660
gtgaatcaca agcccagcaa caccaagggtg gacaagaaag ttgagcccaa atcttgtgac 720
aaaactcaca catgcgccgc g 741

```

<210> 78

<211> 346

<212> PRT

<213> Штучний

<220>

<223> 1519gL20 FabFv легкий ланцюг (альтернативна послідовність до SEQ ID NO: 46)

<400> 78

```

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

```

```

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Val Gly Ala
          20           25           30

```

```

Ser Gly Lys Thr Tyr Leu Tyr Trp Leu Phe Gln Lys Pro Gly Lys Ala
          35           40           45

```

```

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

```

Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile  
 65 70 75 80  
 Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Gly  
 85 90 95  
 Thr His Phe Pro His Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
 100 105 110  
 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu  
 115 120 125  
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe  
 130 135 140  
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln  
 145 150 155 160  
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser  
 165 170 175  
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu  
 180 185 190  
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser  
 195 200 205  
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser  
 210 215 220  
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln  
 225 230 235 240  
 Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr  
 245 250 255  
 Cys Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser Trp Tyr Gln  
 260 265 270

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Glu Ala Ser Lys  
275 280 285

Leu Thr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr  
290 295 300

Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr  
305 310 315 320

Tyr Tyr Cys Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr Phe Gly  
325 330 335

Cys Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
340 345

<210> 79

<211> 1038

<212> ДНК

<213> Штучний

<220>

<223> 1519gL20 FabFv легкий ланцюг (альтернативна послідовність до SEQ ID NO: 47)

<400> 79

gacatccaga tgacccagtc cccctccagc ctgtccgcct ccgtgggcga cagagtgacc	60
atcacatgca agtcctccca gtccctgggtc ggagcctccg gcaagaccta cctgtactgg	120
ctgtttccaga agcccggcaa ggcccccaag cggctgatct acctgggtgtc taccctggac	180
tccggcatcc cctcccgggt ctccgggtct ggctctggca ccgagttcac cctgaccatc	240
tccagcctgc agcccaggga cttcgccacc tactactgtc tgcaaggcac ccacttcccc	300
cacaccttcg gccagggcac caagctggaa atcaagcgga ccgtagcggc cccatctgtc	360
ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg	420
ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa	480
tcgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc	540
agcagcacc tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcttgcgaa	600
gtcacccatc agggcctgag ctgccccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgtggt	660

```

ggaggtggct ctggcgggtgg tggctccgga ggcggaggaa gcgacatcca gatgacccag      720
agcccttcct ctgtaagcgc cagtgtcgga gacagagtga ctattacctg ccaaagctcc      780
ccttcagtct ggtccaattt tctatcctgg tatcagcaaa agcccggaaa ggctcctaaa      840
ttgctgatct acgaagcaag caaactcacc agcggcgtgc ccagcaggtt cagcggcagt      900
gggtctggaa ctgactttac cctgacaatc tcctcactcc agcccaggga cttcgccacc      960
tattactgcg gtggagggtta cagtagcata agtgatacga catttggatg cggcactaaa     1020
gtggaaatca agcgtacc                                     1038

```

<210> 80

<211> 1071

<212> ДНК

<213> Штучний

<220>

<223> 1519gH20 FabFv важкий ланцюг (альтернативна послідовність до SEQ ID NO: 51)

<400> 80

```

gaggtgcccc tgggtggaatc tggcggcgga ctgggtgcagc ctggcggctc cctgagactg      60
tcttgcgccg tgtccggctt caccttctcc aactacggca tggctctgggt ccgacaggct     120
cctggcaagg gactggaatg ggtggcctac atcgactccg acggcgacaa cacctactac     180
cgggactccg tgaagggccg gttcaccatc tcccgggaca acgccaagtc ctccctgtac     240
ctgcagatga actccctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcac caccggcatc     300
gtgcggccct ttctgtactg gggccagggc accctgggtca ccgtgtcctc tgcttctaca     360
aagggcccat cgggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg     420
gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgtc gtggaactca     480
ggcggccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcttc tggactctac     540
tccctcagca gcgtgggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc     600
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt     660
tccggagggtg gcggttccgg aggtggcggg acagggtggcg gtgggtccga agtccagctg     720
cttgaatccg gaggcggact cgtgcagccc ggaggcagtc ttcgcttgct ctgcgctgta     780
tctggaatcg acctgagcaa ttacgccatc aactgggtga gacaggcacc tgggaaatgc     840

```



ctcgaatgga tcggcattat atgggctagt gggacgacct tttatgctac atgggcgaag 900  
 ggtagattca caatctcacg ggataatagt aagaacacag tgtacctgca gatgaactcc 960  
 ctgcgagcag aggataaccgc cgtttactat tgtgctcgca ctgtcccagg ttatagcact 1020  
 gcaccctact ttgatctgtg ggggcagggc actctggtca ccgtctcgtc c 1071

<210> 81

<211> 112

<212> PRT

<213> Штучний

<220>

<223> Щуряча Ab 1548 VL область (альтернативна послідовність до SEQ ID NO: 58)

<400> 81

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Ser Lys Ser Ser Gln Ser Leu Val Gly Ala  
 20 25 30

Gly Gly Lys Thr Tyr Leu Tyr Trp Leu Leu Gln Arg Ser Gly Gln Ser  
 35 40 45

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

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

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

Thr His Phe Pro His Thr Phe Gly Ala Gly Thr Asn Leu Glu Ile Lys  
 100 105 110

<210> 82

<211> 336

<212> ДНК

<213> Штучний

<220>

<223> Щуряча Ab 1548 VL область (альтернативна послідовність до SEQ ID NO: 59)

<400> 82

```

gatgtttgtga tgacccagac tccactgtct ttgtcggttg ccattggaca accagcctcc      60
atctcttcta agtcaagtca gaggcctcgta ggtgctgggtg gaaagacata ttgtatttgg      120
ttattacaga ggtccggcca gtctccaaag cgactaatct atctgggtgtc cacactggac      180
tctggaattc ctgataggtt cagtggcagt ggagcagaga cagattttac tcttaaaatc      240
cgcagagtgg aagccgatga tttgggagtt tattactgct tgcaaggtag acattttcct      300
cacacgtttg gagctgggac caacctggaa ataaaa                                   336

```

<210> 83

<211> 116

<212> PRT

<213> Штучний

<220>

<223> Щуряча Ab 1548 VH область (альтернативна послідовність до SEQ ID NO: 60)

<400> 83

```

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

Ser Met Lys Leu Ser Cys Val Val Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
          20          25          30

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

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

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

```

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

Thr Thr Gly Ile Val Arg Pro Phe Leu Tyr Trp Gly Gln Gly Val Met  
100 105 110

Val Thr Val Ser  
115

<210> 84  
<211> 348  
<212> ДНК  
<213> Штучний

<220>  
<223> Щуряча Ab 1548 VH область (альтернативна послідовність до SEQ ID NO: 61)

<400> 84  
gaggtgccgc tgggtggagtc tgggggcggc tcagtgcagc ctgggaggtc catgaaactc 60  
tcctgtgtag tctcaggatt cactttcagt aactatggca tggctctgggt ccgccaggct 120  
ccaaagaagg gtctggagtg ggctgcatat attggttctg atggtgataa tacttactac 180  
cgagattccg tgaagggccg attcactatc tccagaaata atgcaaaaag caccctatat 240  
ttgcaaatgg acagtctgag gtctgaggac acggccactt attactgtac aacagggatt 300  
gtccggccct ttctctactg gggccaagga gtcattggtca cagtctcg 348

<210> 85  
<211> 1947  
<212> ДНК  
<213> Штучний

<220>  
<223> 1519gH20 IgG1 важкий ланцюг (V + людський гамма-1 постійна з екзонами одна базова зміна на SEQ ID NO: 71)

<400> 85  
gaggtaccac ttgtggaaag cggaggaggt cttgtgcagc ctggaggaag ttacgtctc 60  
tcttgtgctg tgtctggctt cactttctcc aattacggaa tggctctgggt cagacaagca 120  
cctggaaagg gtcttgaatg ggtggcctat attgactctg acggggacaa cacctactat 180  
cgggattccg tgaaggagcg cttcacaatc tcccagata acgccaagag ctactgtac 240

ctgcagatga atagcctgag agccgaggat actgccgtgt actattgcac aacgggaatc	300
gtaggcctt ttctgtactg gggacagggc accttggtta ctgtctcgag cgcttctaca	360
aagggcccat cggctttccc cctggcacc cctccaaga gcacctctgg gggcacagcg	420
gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgtc gtggaactca	480
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac	540
tccctcagca gcgtgggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc	600
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgggtga gaggccagca	660
caggagagga ggggtgtctgc tgggaagccag gctcagcgct cctgcctgga cgcattcccgg	720
ctatgcagcc ccagtcagg gcagcaaggc agggcccgct tgcctcttca cccggaggcc	780
tctgcccgcc ccactcatgc tcaggagagag ggtcttctgg ctttttcccc aggtcttggg	840
caggcacagg ctaggtgccc ctaacccagg ccctgcacac aaaggggcag gtgctgggct	900
cagacctgcc aagagccata tccgggagga ccctgcccc gacctaaagg cccccaaag	960
gccaaactct ccactccctc agctcggaca cttctctctc tcccagatct gagtaactcc	1020
caatcttctc tctgcagagc ccaaactctg tgacaaaact cacacatgcc caccgtgccc	1080
aggtaagcca gcccaggcct cgccctccag ctcaaggcgg gacagggtgcc ctagagtagc	1140
ctgcatccag ggacaggccc cagccgggtg ctgacacgtc cacctccatc tcttctcag	1200
cacctgaact cctgggggga ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc	1260
tcatgatctc ccggaccctt gaggtcacat gcgtgggtgg ggacgtgagc cacgaagacc	1320
ctgagggtcaa gttcaactgg tacgtggacg gcgtggagggt gcataatgcc aagacaaagc	1380
cgcgggagga gcagtacaac agcacgtacc gtgtgggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc	1440
aggactggct gaatggcaag gagtacaagt gcaaggcttc caacaaagcc ctcccagccc	1500
ccatcgagaa aaccatctcc aaagccaaag gtgggacccg tgggggtgcga gggccacatg	1560
gacagaggcc ggctcggccc accctctgcc ctgagagtga ccgtgtacc aacctctgtc	1620
cctacagggc agccccgaga accacagggtg tacaccctgc ccccatcccg ggatgagctg	1680
accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc	1740
gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg	1800

gactccgacg gctccttctt cctctacagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 1860  
caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag 1920  
aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa 1947

<210> 86  
<211> 2004  
<212> ДНК  
<213> Штучний

<220>  
<223> 1519gH20 IgG1 важкий ланцюг (V + людський гамма-1 постійний) з сигнальною послідовністю (одна базова зміна від SEQ ID NO:72)

<400> 86  
atggaatgga gctgggtctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctacaggagt ccattctgag 60  
gtaccacttg tggaaagcgg aggaggtctt gtgcagcctg gaggaagttt acgtctctct 120  
tgtgctgtgt ctggcttcac cttctccaat tacggaatgg tctgggtcag acaagcacct 180  
ggaaagggtc ttgaatgggt ggcctatatt gactctgacg gggacaacac ctactatcgg 240  
gattccgtga aaggacgctt cacaatctcc cgagataacg ccaagagctc actgtacctg 300  
cagatgaata gcctgagagc cgaggatact gccgtgtact attgcacaac gggaatcggt 360  
aggccttttc tgtactgggg acagggcacc ttgggttactg tctcgagcgc ttctacaaag 420  
ggcccatcgg tcttccccct ggcacccctc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc 480  
ctgggctgcc tgggtcaagga ctacttcccc gaaccggtga cggtgtcgtg gaactcaggc 540  
gccctgacca gcggcgtgca caccttcccc gctgtcctac agtcctcagg actctactcc 600  
ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagacctt catctgcaac 660  
gtgaatcaca agcccagcaa caccaagggtg gacaagaaag ttgggtgagag gccagcacag 720  
ggagggaggg tgtctgctgg aagccaggct cagcgctcct gcctggacgc atcccggcta 780  
tgcagcccca gtccagggca gcaaggcagg ccccgctctgc ctcttcaccc ggaggcctct 840  
gcccgcccc ctcatgctca gggagaggggt cttctggctt tttccccagg ctctgggcag 900  
gcacaggcta ggtgccccta acccaggccc tgcacacaaa ggggcagggtg ctgggctcag 960  
acctgccaag agccatatcc gggaggagccc tgcccctgac ctaagcccac cccaaaggcc 1020

```

aaactctcca ctccctcagc tcggacacct tctctctctcc cagatctgag taactcccaa      1080
tcttctctct gcagagccca aatcttgtga caaaactcac acatgccac cgtgccagg      1140
taagccagcc caggcctcgc cctccagctc aaggcgggac aggtgcccta gagtagcctg      1200
catccaggga caggccccag ccgggtgctg acacgtccac ctccatctct tcctcagcac      1260
ctgaactcct ggggggaccg tcagtcttcc tcttcccccc aaaaccaag gacaccctca      1320
tgatctcccg gaccctgag gtcacatgcg tgggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg      1380
aggtcaagtt caactggtac gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc      1440
gggaggagca gtacaacagc acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg      1500
actggctgaa tggcaaggag tacaagtgcg aggtctccaa caaagccctc ccagccccca      1560
tcgagaaaac catctccaaa gccaaagggtg ggacccgtgg ggtgagaggg ccacatggac      1620
agaggccggc tcggcccacc ctctgccctg agagtgaccg ctgtaccaac ctctgtccct      1680
acagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catccggga tgagctgacc      1740
aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg      1800
gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac      1860
tccgacggct ccttcttcct ctacagcaag ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag      1920
gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggtctctgc acaaccacta cacgcagaag      1980
agcctctccc tgtctccggg taaa                                             2004

```

<210> 87

<211> 444

<212> PRT

<213> Штучний

<220>

<223> 1519gH20 IgG4 важкий ланцюг (V + людський гамма-4 постійний без Р мутацій)

<400> 87

```

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

```

```

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

```

Gly	Met	Val	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
35						40						45			
Ala	Tyr	Ile	Asp	Ser	Asp	Gly	Asp	Asn	Thr	Tyr	Tyr	Arg	Asp	Ser	Val
50						55				60					
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Ser	Ser	Leu	Tyr
65				70						75				80	
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85				90						95	
Thr	Thr	Gly	Ile	Val	Arg	Pro	Phe	Leu	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu
		100						105				110			
Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu
		115				120						125			
Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys
130						135				140					
Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser
145				150						155				160	
Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser
				165				170						175	
Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser
		180						185				190			
Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn
		195				200						205			
Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro
210						215				220					
Ser	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe
225				230						235				240	

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val  
245 250 255

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe  
260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro  
275 280 285

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr  
290 295 300

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val  
305 310 315 320

Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala  
325 330 335

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln  
340 345 350

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly  
355 360 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro  
370 375 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser  
385 390 395 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu  
405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His  
420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys  
435 440



&lt;210&gt; 88

&lt;211&gt; 1939

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Штучний

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 1519gH20 IgG4 важкий ланцюг (V + людський гамма-4 постійний з екзонами без Р мутацій)

&lt;400&gt; 88

```

gagggtaccac ttgtggaaag cggaggaggt cttgtgcagc ctggaggaag ttacgtctc      60
tcttgtgctg tgtctggctt caccttctcc aattacggaa tggctctgggt cagacaagca      120
cctggaaagg gtcttgaatg ggtggcctat attgactctg acggggacaa cacctactat      180
cgggattccg tgaaaggacg cttcacaatc tcccagagata acgccaagag ctactgtac      240
ctgcagatga atagcctgag agccgaggat actgccgtgt actattgcac aacgggaatc      300
gttaggcctt ttctgtactg gggacagggc accttggtta ctgtctcgag cgcttctaca      360
aaggggcccat ccgtcttccc cctggcgccc tgctccagga gcacctccga gagcacagcc      420
gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgtc gtggaactca      480
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc cggctgttcc tacagtcctc aggactctac      540
tccctcagca gcgtgggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacgaagac ctacacctgc      600
aacgtagatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga gagttgggtga gaggccagca      660
cagggaggga ggggtgtctgc tggaagccag gctcagccct cctgcctgga cgcaccccgg      720
ctgtgcagcc ccagcccagg gcagcaaggc atgccccatc tgtctcctca cccggaggcc      780
tctgaccacc ccactcatgc ccaggagag ggtcttcttg atttttccac caggctccgg      840
gcagccacag gctggatgcc cctaccccag gccctgcgca tacaggggca ggtgctgcgc      900
tcagacctgc caagagccat atccgggagg accctgcccc tgacctaaag ccacccaaa      960
ggccaaactc tccactccct cagctcagac accttctctc ctcccagatc tgagtaactc     1020
ccaatcttct ctctgcagag tccaaatatg gtcccccatg cccatcatgc ccaggtaagc     1080
caaccaggc ctcgccctcc agctcaaggc gggacagggt ccctagagta gcctgcatcc     1140
agggacaggc cccagccggg tgctgacgca tccacctcca tctcttctc agcacctgag     1200

```

tctctggggg gaccatcagt cttcctgttc cccccaaaac ccaaggacac tctcatgac	1260
tcccggaccc ctgagggtcac gtgcgtgggtg gtggacgtga gccaggaaga ccccgaggtc	1320
cagttcaact ggtacgtgga tggcgtggag gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag	1380
gagcagttca acagcacgta ccgtgtgggtc agcgtcctca ccgtcctgca ccaggactgg	1440
ctgaacggca aggagtacaa gtgcaagggtc tccaacaaag gcctcccgtc ctccatcgag	1500
aaaaccatct ccaaagccaa aggtggggacc cacgggggtgc gagggccaca tggacagagg	1560
tcagctcggc ccaccctctg ccctgggagt gaccgctgtg ccaacctctg tccctacagg	1620
gcagccccga gagccacagg tgtacaccct gcccccatcc caggaggaga tgaccaagaa	1680
ccaggtcagc ctgacctgcc tgggtcaaagg cttctacccc agcgacatcg ccgtggagtg	1740
ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccacg cctcccgtgc tggactccga	1800
cggctccttc ttcctctaca gcaggctaac cgtggacaag agcaggtggc aggaggggaa	1860
tgtcttctca tgctccgtga tgcattgaggc tctgcacaac cactacacac agaagagcct	1920
ctccctgtct ctgggtaaa	1939

<210> 89

<211> 1996

<212> ДНК

<213> Штучний

<220>

<223> 1519gH20 IgG4 важкий ланцюг (V + людський гамма-4 постійний) з сигнальною послідовністю - без Р мутацій

<400> 89

atggaatgga gctgggtctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctacaggagt ccattctgag	60
gtaccacttg tggaagcgg aggaggtctt gtgcagcctg gaggaagttt acgtctctct	120
tgtgctgtgt ctggcttcac cttctccaat tacggaatgg tctgggtcag acaagcacct	180
ggaaagggtc ttgaatgggt ggcctatatt gactctgacg gggacaacac ctactatcgg	240
gattccgtga aaggacgctt cacaatctcc cgagataacg ccaagagctc actgtacctg	300
cagatgaata gcctgagagc cgaggatact gccgtgtact attgcacaac gggaatcgtt	360
aggccttttc tgtactgggg acagggcacc ttgggttactg tctcgagcgc ttctacaaag	420
ggcccatccg tcttccccct ggcgccctgc tccaggagca cctccgagag cacagccgcc	480

ctgggctgcc	tggtcaagga	ctacttcccc	gaaccggtga	cggtgtcgtg	gaactcaggc	540
gccctgacca	gcggcgtgca	caccttcccc	gctgtcctac	agtcctcagg	actctactcc	600
ctcagcagcg	tggtgaccgt	gccctccagc	agcttgggca	cgaagaccta	cacctgcaac	660
gtagatcaca	agcccagcaa	caccaagggtg	gacaagagag	ttggtgagag	gccagcacag	720
ggagggaggg	tgtctgctgg	aagccaggct	cagccctcct	gcctggacgc	accccggctg	780
tgcagcccca	gcccagggca	gcaaggcatg	ccccatctgt	ctcctcacc	ggaggcctct	840
gaccaccca	ctcatgcca	gggagagggt	cttctggatt	tttccaccag	gctccgggca	900
gccacaggct	ggatgcccct	accccaggcc	ctgcgcatac	aggggcagggt	gctgcgctca	960
gacctgcaa	gagccatatt	cgggaggacc	ctgcccctga	cctaagccca	ccccaaaggc	1020
caactctcc	actccctcag	ctcagacacc	ttctctctc	ccagatctga	gtaactcca	1080
atcttctctc	tgcagagtcc	aaatatgggtc	ccccatgccc	atcatgcca	ggtaagccaa	1140
cccaggcctc	gccctccagc	tcaaggcggg	acagggtgcc	tagagtagcc	tgcattccagg	1200
gacaggcccc	agccgggtgc	tgacgcatcc	acctccatct	cttcctcagc	acctgagttc	1260
ctggggggac	catcagtctt	cctgttcccc	ccaaaacca	aggacactct	catgatctcc	1320
cggacccttg	aggtcacgtg	cgtgggtggg	gacgtgagcc	aggaagacc	cgagggtccag	1380
ttcaactgg	acgtggatgg	cgtggagggtg	cataatgcca	agacaaagcc	gcgggaggag	1440
cagttcaaca	gcacgtaccg	tgtggtcagc	gtcctcaccg	tcctgcacca	ggactggctg	1500
aacggcaagg	agtacaagt	caaggctctcc	aacaaaggcc	tccgctctc	catcgagaaa	1560
accatctcca	aagccaaagg	tgggaccac	gggggtgcgag	ggccacatgg	acagagggtca	1620
gctcggcca	ccctctgccc	tgggagtgac	cgctgtgcca	acctctgtcc	ctacagggca	1680
gccccgagag	ccacagggtgt	acaccctgcc	cccatcccag	gaggagatga	ccaagaacca	1740
ggtcagcctg	acctgcctgg	tcaaaggctt	ctaccccagc	gacatcgccg	tggagtggga	1800
gagcaatggg	cagccggaga	acaactacaa	gaccacgcct	cccgtgctgg	actccgacgg	1860
ctccttcttc	ctctacagca	ggctaaccgt	ggacaagagc	aggtggcagg	aggggaatgt	1920
cttctcatgc	tccgtgatgc	atgaggctct	gcacaaccac	tacacacaga	agagcctctc	1980
cctgtctctg	ggtaaa					1996

<210> 90  
 <211> 336  
 <212> ДНК  
 <213> Штучний

<220>

<223> 1519 gL20 V-область (альтернативна експресія ссавців to SEQ ID NO:17)

<400> 90

```
gacatccaga tgacccagtc cccctccagc ctgtccgcct ccgtgggcga cagagtgacc      60
atcacatgca agtcctccca gtccctgggtc ggagcctccg gcaagaccta cctgtactgg      120
ctgttccaga agcccggcaa ggcccccaag cggctgatct acctgggtgtc taccctggac      180
tccggcatcc cctcccgggtt ctccggctct ggctctggca ccgagttcac cctgaccatc      240
tccagcctgc agcccgagga cttcgccacc tactactgtc tgcaaggcac ccacttcccc      300
cacaccttcg gccagggcac caagctggaa atcaag                                     336
```

<210> 91  
 <211> 657  
 <212> ДНК  
 <213> Штучний

<220>

<223> 1519 gL20 легкий ланцюг (V + постійний, альтернативна експресія ссавців до SEQ ID NO: 24)

<400> 91

```
gacatccaga tgacccagtc cccctccagc ctgtccgcct ccgtgggcga cagagtgacc      60
atcacatgca agtcctccca gtccctgggtc ggagcctccg gcaagaccta cctgtactgg      120
ctgttccaga agcccggcaa ggcccccaag cggctgatct acctgggtgtc taccctggac      180
tccggcatcc cctcccgggtt ctccggctct ggctctggca ccgagttcac cctgaccatc      240
tccagcctgc agcccgagga cttcgccacc tactactgtc tgcaaggcac ccacttcccc      300
cacaccttcg gccagggcac caagctggaa atcaagcgga ccgtggccgc tccctccgtg      360
ttcatcttcc caccctccga cgagcagctg aagtccggca ccgcctccgt cgtgtgcctg      420
ctgaacaact tctacccccg cgaggccaag gtgcagtgga aggtggacaa cgccctgcag      480
tccggcaact cccaggaatc cgtcaccgag caggactcca aggacagcac ctactccctg      540
```

tcctccaccc tgaccctgtc caaggccgac tacgagaagc acaagggtgta cgcctgcgaa 600  
gtgacccacc agggcctgtc cagccccgtg accaagtcct tcaaccgggg cgagtgc 657

<210> 92  
<211> 348  
<212> ДНК  
<213> Штучний

<220>  
<223> 1519 gH20 V-область (альтернативна експресія ссавців до SEQ ID NO: 31)

<400> 92  
gaggtgcccc tgggtggaatc tggcggcgga ctggtgcagc ctggcggctc cctgagactg 60  
tcttgcgccg tgtccggctt caccttctcc aactacggca tggctctgggt ccgacaggct 120  
cctggcaagg gactggaatg ggtggcctac atcgactccg acggcgacaa cacctactac 180  
cgggactccg tgaagggccg gttcaccatc tcccgggaca acgccaagtc ctccctgtac 240  
ctgcagatga actccctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcac caccggcatc 300  
gtgcggccct ttctgtactg gggccagggc accctgggtca ccgtgtcc 348

<210> 93  
<211> 1332  
<212> ДНК  
<213> Штучний

<220>  
<223> 1519gH20 IgG4 важкий ланцюг (V + людський гамма-4P постійний альтернативно до SEQ ID NO: 44)

<400> 93  
gaggtgcccc tgggtggaatc tggcggcgga ctggtgcagc ctggcggctc cctgagactg 60  
tcttgcgccg tgtccggctt caccttctcc aactacggca tggctctgggt ccgacaggct 120  
cctggcaagg gactggaatg ggtggcctac atcgactccg acggcgacaa cacctactac 180  
cgggactccg tgaagggccg gttcaccatc tcccgggaca acgccaagtc ctccctgtac 240  
ctgcagatga actccctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcac caccggcatc 300  
gtgcggccct ttctgtactg gggccagggc accctgggtca ccgtgtcctc tgcctccacc 360

```

aaggggcccct ccgtgttccc tctggcccct tgctcccggg ccacctccga gtctaccgcc 420
gctctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgagcccg tgacagtgtc ctggaactct 480
ggcgcccctga cctccggcgt gcacaccttc cctgccgtgc tgcagtcctc cggcctgtac 540
tccctgtcct ccgtcgtgac cgtgccctcc tccagcctgg gcaccaagac ctacacctgt 600
aacgtggacc acaagccctc caacaccaag gtggacaagc ggggtggaatc taagtacggc 660
cctccctgcc ccccttgccc tgcccctgaa tttctgggcg gaccttcctg gttcctgttc 720
cccccaaagc ccaaggacac cctgatgata tcccggaccc ccgaagtgac ctgcgtgggtg 780
gtggacgtgt cccaggaaga tcccagggtc cagttcaatt ggtacgtgga cggcgtggaa 840
gtgcacaatg ccaagaccaa gcccagagag gaacagttca actccaccta ccgggtgggtg 900
tccgtgctga ccgtgctgca ccaggactgg ctgaacggca aagagtacaa gtgcaagggtg 960
tccaacaagg gcctgcccct cagcatcgaa aagaccatct ccaaggccaa gggccagccc 1020
cgcgagcccc aggtgtacac cctgccccct agccaggaag agatgaccaa gaaccagggtg 1080
tccctgacct gtctgggtcaa gggcttctac ccctccgaca ttgccgtgga atgggagtcc 1140
aacggccagc ccgagaacaa ctacaagacc accccccctg tgctggacag cgacggctcc 1200
ttcttcctgt actctcggct gaccgtggac aagtcccggt ggcaggaagg caacgtcttc 1260
tcctgctccg tgatgcacga ggccctgcac aaccactaca cccagaagtc cctgtccctg 1320
agcctgggca ag 1332

```

<210> 94  
 <211> 274  
 <212> PRT  
 <213> Штучний

<220>  
 <223> FcRn альфа послідовність ланцюга

<400> 94

Ala Glu Ser His Leu Ser Leu Leu Tyr His Leu Thr Ala Val Ser Ser  
 1 5 10 15

Pro Ala Pro Gly Thr Pro Ala Phe Trp Val Ser Gly Trp Leu Gly Pro  
 20 25 30

Gln Gln Tyr Leu Ser Tyr Asn Ser Leu Arg Gly Glu Ala Glu Pro Cys  
35 40 45

Gly Ala Trp Val Trp Glu Asn Gln Val Ser Trp Tyr Trp Glu Lys Glu  
50 55 60

Thr Thr Asp Leu Arg Ile Lys Glu Lys Leu Phe Leu Glu Ala Phe Lys  
65 70 75 80

Ala Leu Gly Gly Lys Gly Pro Tyr Thr Leu Gln Gly Leu Leu Gly Cys  
85 90 95

Glu Leu Gly Pro Asp Asn Thr Ser Val Pro Thr Ala Lys Phe Ala Leu  
100 105 110

Asn Gly Glu Glu Phe Met Asn Phe Asp Leu Lys Gln Gly Thr Trp Gly  
115 120 125

Gly Asp Trp Pro Glu Ala Leu Ala Ile Ser Gln Arg Trp Gln Gln Gln  
130 135 140

Asp Lys Ala Ala Asn Lys Glu Leu Thr Phe Leu Leu Phe Ser Cys Pro  
145 150 155 160

His Arg Leu Arg Glu His Leu Glu Arg Gly Arg Gly Asn Leu Glu Trp  
165 170 175

Lys Glu Pro Pro Ser Met Arg Leu Lys Ala Arg Pro Ser Ser Pro Gly  
180 185 190

Phe Ser Val Leu Thr Cys Ser Ala Phe Ser Phe Tyr Pro Pro Glu Leu  
195 200 205

Gln Leu Arg Phe Leu Arg Asn Gly Leu Ala Ala Gly Thr Gly Gln Gly  
210 215 220

Asp Phe Gly Pro Asn Ser Asp Gly Ser Phe His Ala Ser Ser Ser Leu  
225 230 235 240

Thr Val Lys Ser Gly Asp Glu His His Tyr Cys Cys Ile Val Gln His  
245 250 255

Ala Gly Leu Ala Gln Pro Leu Arg Val Glu Leu Glu Ser Pro Ala Lys  
260 265 270

Ser Ser

<210> 95  
<211> 99  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 95

Ile Gln Lys Thr Pro Gln Ile Gln Val Tyr Ser Arg His Pro Pro Glu  
1 5 10 15

Asn Gly Lys Pro Asn Phe Leu Asn Cys Tyr Val Ser Gln Phe His Pro  
20 25 30

Pro Gln Ile Glu Ile Glu Leu Leu Lys Asn Gly Lys Lys Ile Pro Asn  
35 40 45

Ile Glu Met Ser Asp Leu Ser Phe Ser Lys Asp Trp Ser Phe Tyr Ile  
50 55 60

Leu Ala His Thr Glu Phe Thr Pro Thr Glu Thr Asp Val Tyr Ala Cys  
65 70 75 80

Arg Val Lys His Val Thr Leu Lys Glu Pro Lys Thr Val Thr Trp Asp  
85 90 95

Arg Asp Met



## ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Анти-FcRn антитіло, або його зв'язуючий фрагмент, що містить важкий ланцюг, або фрагмент важкого ланцюга, що має варіабельну ділянку, яке **відрізняється** тим, що вказана варіабельна ділянка включає три CDR, причому CDR H1 має послідовність, зазначену в SEQ ID NO: 1, причому CDR H2 має послідовність, зазначену в SEQ ID NO: 2, і причому CDR H3 має послідовність, зазначену в SEQ ID NO: 3, і містить легкий ланцюг або його фрагмент, що має варіабельну ділянку, причому вказана варіабельна ділянка містить три CDR, причому CDR L1 має послідовність, зазначену в SEQ ID NO: 4, причому CDR L2 має послідовність, зазначену в SEQ ID NO: 5, і причому CDR L3 має послідовність, зазначену в SEQ ID NO: 6.
2. Анти-FcRn антитіло, або його зв'язуючий фрагмент, за п. 1, яке **відрізняється** тим, що антитіло є гуманізованим.
3. Анти-FcRn антитіло, або його зв'язуючий фрагмент, за п. 1 або п. 2, яке має важкий ланцюг, що містить послідовність, зазначену в SEQ ID NO: 29, і легкий ланцюг, що містить послідовність, зазначену в SEQ ID NO: 15.
4. Анти-FcRn антитіло, або його зв'язуючий фрагмент, за п. 1, яке зв'язується з FcRn людини з афінністю зв'язування 100 pM або нижче, що включає важкий ланцюг, яке **відрізняється** тим, що варіабельний домен важкого ланцюга містить послідовність, яка має щонайменше 80 % ідентичності або схожості з послідовністю, наведеною в SEQ ID NO: 29, і тим, що варіабельний домен короткого ланцюга містить послідовність, яка має щонайменше 80 % ідентичності або схожості з послідовністю, наведеною в SEQ ID NO: 15.
5. Анти-FcRn антитіло, або його зв'язуючий фрагмент, за будь-яким із пунктів від 1 до 4, яке **відрізняється** тим, що антитіло являє собою ScFv, Fv, Fab або Fab' фрагмент.
6. Анти-FcRn антитіло, або його зв'язуючий фрагмент, за п. 5, яке має важкий ланцюг, що містить послідовність, зазначену в SEQ ID NO: 36, і легкий ланцюг, що містить послідовність, зазначену в SEQ ID NO: 22.
7. Анти-FcRn антитіло, або його зв'язуючий фрагмент, за будь-яким із пунктів від 1 до 6, яке **відрізняється** тим, що антитіло або зв'язуючий фрагмент поєднані з полімером, вибраним, наприклад, з крохмалю, альбуміну та поліетиленгліколю.
8. Анти-FcRn антитіло, або його зв'язуючий фрагмент, за п. 7, яке **відрізняється** тим, що полімер являє собою ПЕГ, наприклад з молекулярною масою в діапазоні від 5 до 50 кДа.
9. Анти-FcRn антитіло за будь-яким із пунктів від 1 до 4, яке **відрізняється** тим, що антитіло являє собою повнорозмірне антитіло.
10. Анти-FcRn антитіло за п. 9, яке **відрізняється** тим, що повнорозмірне антитіло вибрано з групи, що складається з IgG1, IgG4 і IgG4P.
11. Анти-FcRn антитіло за п. 9 або п. 10, яке має важкий ланцюг, що містить послідовність, зазначену в SEQ ID NO: 72 або SEQ ID NO: 87, або SEQ ID NO: 43, і легкий ланцюг, що містить послідовність, зазначену в SEQ ID NO: 22.
12. Анти-FcRn антитіло, або його зв'язуючий фрагмент, за будь-яким із пунктів від 1 до 4, яке **відрізняється** тим, що антитіло, або його зв'язуючий фрагмент, являє собою Fab-dsFv, яке має важкий ланцюг, що містить послідовність, зазначену в SEQ ID NO: 50, і легкий ланцюг, що містить послідовність, зазначену в SEQ ID NO: 46 або SEQ ID NO: 78.
13. Анти-FcRn антитіло, або його зв'язуючий фрагмент, за будь-яким із пунктів від 1 до 12, яке зв'язується з людським FcRn.
14. Анти-FcRn антитіло, або його зв'язуючий фрагмент, за будь-яким із пунктів від 1 до 13, яке блокує зв'язування людського IgG до людського FcRn.
15. Анти-FcRn антитіло, або його зв'язуючий фрагмент, за будь-яким із пунктів від 1 до 14, яке не зв'язує  $\beta$ 2 мікроглобулін.
16. Аналіз тестування здатності молекули антитіла за будь-яким із попередніх пунктів блокувати активність FcRn людини і, зокрема, здатність людського FcRn переробляти IgG, який **відрізняється** тим, що спосіб включає етапи, на яких:
  - а) покриття на поверхні нелюдських клітин ссавців рекомбінантно проявляють людський FcRn альфа-ланцюг і людський  $\beta$ 2 мікроглобулін ( $\beta$ 2M),
  - б) контактування клітини в слабнокислому середовищі з молекулою антитіла IgG, яке має бути перероблене клітиною в камері протягом певного періоду часу, достатнього для забезпечення зв'язування з FcRn як молекули, так і антитіла IgG,
  - в) промивання в слабнокислому буфері, і
  - г) виявлення кількості IgG інтернаціоналізованих і/або перероблених клітинами.
17. Аналіз за п. 16, який **відрізняється** тим, що молекула антитіла додається перед IgG для того, щоб вона була перероблена й інкубована протягом періоду часу, достатнього для

забезпечення зв'язування тест-молекули антитіла за FcRn перед додаванням для переробки IgG.

18. Виділена послідовність ДНК, яка кодує важкий і/або легкий ланцюг(и) антитіла за будь-яким із пунктів від 1 до 15.

5 19. Вектор клонування або експресії, що містить одну або декілька послідовностей ДНК за п. 18.

20. Вектор за п. 19, який **відрізняється** тим, що вектор містить (i) послідовність, зазначену в SEQ ID NO: 37, і послідовність, зазначену в SEQ ID NO: 23, або (ii) послідовність, зазначену в SEQ ID NO: 80, і послідовність, зазначену в SEQ ID NO: 79, або (iii) послідовність, зазначену в SEQ ID NO: 93, і послідовність, зазначену в SEQ ID NO: 91.

10 21. Клітина-хазяїн, яка містить один або більше векторів клонування або експресії за п. 19 або п. 20.

22. Спосіб отримання антитіла, яке має специфічність зв'язування до FcRn людини, що включає культивування клітини-хазяїна за п. 21 і виділення антитіла.

15 23. Фармацевтична композиція, що містить анти-FcRn антитіло, або його фрагмент, за будь-яким із пунктів від 1 до 15, у поєднанні з одним або більше фармацевтично прийнятним ексципієнтом, розріджувачем або носієм.

24. Фармацевтична композиція за п. 23, яка додатково включає інші активні інгредієнти.

20 25. Спосіб лікування пацієнта, який включає введення терапевтично ефективної кількості антитіла або його зв'язуючого фрагмента, як визначено у будь-якому з пунктів з 1 по 15, або композиції, яка визначена у п. 23 або п. 24.

26. Спосіб за п. 25, який **відрізняється** тим, що лікування застосовується для аутоімунних захворювань, таких як тяжка міастенія, пухирчатка звичайна, оптиконевромієліт, синдром Гієна-Барре, вовчак, ідіопатична тромбоцитопенічна пурпура і тромботична тромбоцитопенічна пурпура.

**ФІГУРА 1**

CA170\_1519 Ab Послідовність

CDRH1

GFTFSNYGMV SEQ ID NO: 1

CDRH2

YIDSDGDNTYYRDSVKG SEQ ID NO: 2

CDRH3

GIVRPFLY SEQ ID NO: 3

CDRL1

KSSQSLVGASGKTYLY SEQ ID NO: 4

CDRL2

LVSTLDS SEQ ID NO: 5

CDRL3

LQGTHFPHT SEQ ID NO: 6

Щури Ab 1519 VL область SEQ ID NO: 7

DVVMQTPLS LSVALGQPAS ISCKSSQSLV GASGKTYLYW LFQRSGQSPK  
 RLIYLVSTLD SGIPDRFSGS GAETDFTLKI RRVEADDLGV YYCLOGTHFP  
 HTFGAGTKLE LK

Щури Ab 1519 VL область SEQ ID NO: 8

gatgttgatga tgaccagac tccactgtct ttgtcgggtg cccttgagaca  
 accagcctcc atctcttgca agtcaagtca gaggctcgta ggtgctagtg  
 gaaagacata ttgtattgg ttatttcaga ggtccggcca gtctccaaag  
 cgaactaatct atctggtgtc cactactggac tctggaattc ctgatagggt  
 cagtggcagt ggagcagaga cagattttac tcttaaaatc cgcagagtgg  
 aagccgatga tttgggagtt tattactgct tgcaaggtag acattttcct  
 cacacgtttg gagctgggac caagctggaa ttgaaa

Щури Ab 1519 VL область з сигнальною послідовністю підкресленою і виділеною  
 italic SEQ ID NO: 9

MMSPAQFLFL LMLWIQGTSG DVVMQTPLS LSVALGQPAS ISCKSSQSLV  
 GASGKTYLYW LFQRSGQSPK RLIYLVSTLD SGIPDRFSGS GAETDFTLKI  
 RRVEADDLGV YYCLOGTHFP HTFGAGTKLE LK

**ФИГУРА 1А**

Щури Ab 1519 VL область з сигнальною послідовністю підкресленою і виділеною *italic*

SEQ ID NO: 10

atgatgagtc ctgcccagtt cctgtttctg ctgatgctct ggattcaggg  
aaccagtggg gatgttgatga tgaccagac tccactgtct ttgtcgggtg  
 cccttgga accagcctcc atctcttgca agtcaagtca gagcctcgta  
 ggtgctagtg gaaagacata tttgtattgg ttatttcaga ggtccggcca  
 gtctccaaag cgactaatct atctgggtgtc cacactggac tctggaattc  
 ctgatagggt cagtggcagt ggagcagaga cagattttac tcttaaaatc  
 cgcagagtgg aagccgatga tttgggagtt tattactgct tgcaaggatc  
 acattttcct cacacgtttg gagctgggac caagctggaa ttgaaa

Щури Ab 1519 VH область SEQ ID NO: 11

EVPLVESGGG SVQPGSRMKL SCVVSFTFS NYGMVWVRQA PKKGLEWVAY  
 IDSDGDNTYY RDSVKGRFTI SRNNAKSTLY LQMSLRSED TATYYCTTGI  
 VRPFLYWQOG TTVTVS

Щури Ab 1519 VH область SEQ ID NO: 12

gaggtgccgc tgggtggagtc tggggggcgc tcagtgcagc ctgggaggtc  
 catgaaactc tcctgtgtag tctcaggatt cactttcagt aattatggca  
 tgggtctgggt ccgccaggct ccaaagaagg gtctggagtg ggtcgcatat  
 attgattctg atggtgataa tacttactac cgagattccg tgaagggccg  
 attcactatc tccagaaata atgcaaaaag caccctatat ttgcaaatgg  
 acagtctgag gtctgaggac acggccactt attactgtac aacagggatt  
 gtccggccct ttctctattg gggccaagga accacgggtca ccgtctcg

Щури Ab 1519 VH область з сигнальною послідовністю підкресленою і виділеною *italic* SEQ ID NO: 13

MDISLSLAFL VLFIKGVRCE VPLVESGGGS VQPGSRMKLS CVVSGFTFSN  
 YGMVWVRQAP KKGLEWVAYI DSDGDNTYYR DSVKGRFTIS RNNNAKSTLYL  
 QMSLRSEDT ATYYCTTGIV RPFLYWQOGT TTVTVS

Щури Ab 1519 VH область з сигнальною послідовністю підкресленою і виділеною *italic* SEQ ID NO: 14

atggacatca gtctcagctt ggctttcctt gtccttttca taaaagggtg  
ccgggtgtgag gtgccgctgg tggagtctgg gggcggtca gtgcagcctg  
 ggagggtccat gaaactctcc tgtgtagtct caggattcac tttcagtaat  
 tatggcatgg totgggtccg ccaggctcca aagaagggtc tggagtgggt  
 cgcataatatt gattctgatg gtgataatac ttactaccga gattccgtga  
 agggccgatt cactatctcc agaaataatg caaaaagcac cctatatattg  
 caaatggaca gtctgagggtc tgaggacacg gccacttatt actgtacaac  
 agggattgtc cggccctttc tctattgggg ccaaggaacc acgggtcaccg

tctcg

**ФИГУРА 1В**

1519 gL20 V-область SEQ ID NO: 15

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKSSQSLV GASGKTYLYW LFOKPGKAPK  
 RLIYLVSTLD SGIPSRFSGS GSGTEFTLTI SSLQPEDFAT YYCLQGTHFP  
 HTFGQGTKLE IK

1519 gL20 V-область (*E. coli* експресована) SEQ ID NO: 16

gatatccaga tgaccagag tccaagcagt ctctccgcca gcgtaggcga  
 tcgtgtgact attacctgta aaagctccca gtccctgggtg ggtgcaagcg  
 gcaaaaccta cctgtactgg ctcttccaga aaccgggcaa agctccgaaa  
 cgcctgatct atctggtgtc taccctggat agcggatttc cgtctcgttt  
 ctccggtagc ggtagcggta ccgaattcac gctgaccatt agctccctcc  
 agccggagga ctttgctacc tattactgcc tccagggcac tcattttccg  
 cacactttcg gccagggtag caaactggaa atcaaa

1519 gL20 V-область (mammalian експресована) SEQ ID NO: 17

gatatccaga tgaccagag cccatctagc ttatccgctt ccgttggtga  
 tcgctgaca attacgtgta agagctccca atctctcgtg ggtgcaagtg  
 gcaagaccta tctgtactgg ctctttcaga agcctggcaa ggcacaaaaa  
 cggctgatct atctggtgtc tacccttgac tctgggatac cgteacgatt  
 ttccggatct gggagcggaa ctgagttcac actcacgatt tcatecgtgc  
 aacccgagga ctttgctacc tactactgcc tgcaaggcac tcattttccct  
 cacactttcg gccagggtag aaaactcgaa atcaaa

1519 gL20 V- область з сигнальною послідовністю підкресленою і виділеною *italic* (*E. coli* експресована) SEQ ID NO: 18

MKKTALIAIAV ALAGFATVAQ ADIQMTQSPS SLSASVGDRV TITCKSSQSL  
 VGASGKTYLY WLFQKPGKAP KRLIYLVSTL DSGIPSRFSG SSGTEFTLT  
 ISSLQPEDFA TYYCLQTHF PHTFGQGTKL EIK

1519 gL20 V- область з сигнальною послідовністю підкресленою і виділеною *italic* (*E. coli* експресована) SEQ ID NO: 19

atgaaaaaga cagctatcgc aattgcagtg gccttggtg gtttcgctac  
cgtagcgcaa gctgatatcc agatgaccca gagtccaagc agtctctccg  
 ccagcgtagg cgatcgtgtg actattacct gtaaaagctc ccagtccttg  
 gtgggtgcaa gcggcaaaac ctacctgtac tggctcttcc agaaaccggg  
 caaagctccg aaacgcctga tctatctggt gtctaccctg gatagcggta  
 ttccgtctcg tttctccggt agcggtagcg gtaccgaatt cacgctgacc  
 attagctccc tccagccgga ggactttgct acctattact gcctccaggg  
 cactcatttt ccgcacactt tcggccaggg taccaaaactg gaaatcaaa

## ФІГУРА 1С

1519 gL20 V- область з сигнальною послідовністю підкресленою і виділеною *italic*  
(mammalian експресована) SEQ ID NO: 20

MSVPTQVLGL LLLWLTDARC DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKSSQSLV  
GASGKTYLYW LFQKPGKAPK RLIYLVSTLD SGIPSRFSGS GSGTEFTLTI  
SSLQPEDFAT YYCLOGTHFP HTFGQGTKLE IK

1519 gL20 V- область з сигнальною послідовністю підкресленою і виділеною *italic*  
(mammalian експресована) SEQ ID NO: 21

atgtctgtcc ccacccaagt cctcggaactc ctgctactct ggcttacaga  
tgccagatgc gatatccaga tgaccagag cccatctagc ttatccgctt  
ccgttggtga tcgctgaca attacgtgta agagctccca atctctcgtg  
ggtgcaagtg gcaagaccta tctgtactgg ctctttcaga agcctggcaa  
ggcaccacaaa cggctgatct atctggtgtc tacccttgac tctgggatac  
cgtcacgatt ttccggatct gggagcggaa ctgagttcac actcacgatt  
tcacgctgc aacccgagga ctttgctacc tactactgcc tgcaaggcac  
tcattttcct cacactttcg gccaggggac aaaactcgaa atcaaa

1519 gL20 короткий ланцюг (V + constant) SEQ ID NO: 22

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKSSQSLV GASGKTYLYW LFQKPGKAPK  
RLIYLVSTLD SGIPSRFSGS GSGTEFTLTI SSLQPEDFAT YYCLOGTHFP  
HTFGQGTKLE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK  
VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE  
VTHQGLSSPV TKSFNREGC

1519 gL20 короткий ланцюг (V + constant, *E. coli* експресована) SEQ ID NO: 23

gatatccaga tgaccagag tccaagcagt ctctccgcca gcgtaggcga  
tcgtgtgact attacctgta aaagctccca gtccctgggtg ggtgcaagcg  
gcaaaaccta cctgtactgg ctcttcaga aaccgggcaa agctccgaaa  
cgctgatct atctggtgtc taccctggat agcggtatct cgtctcgttt  
ctccggtagc ggtagcggta ccgaattcac gctgaccatt agtccctcc  
agccggagga ctttgctacc tattactgcc tccagggcac tcattttcctg  
cacactttcg gccagggtac caaactggaa atcaaacgta cggtagcggc  
cccatctgtc ttcactctcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa  
ctgcctctgt tgtgtgcctg ctgaataact tctatcccag agaggccaaa  
gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa tcgggtaact cccaggagag  
tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc agcagcacc  
tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa  
gtcaccatc agggcctgag ctcaccagta acaaaaagtt ttaatagagg ggagtgt

## ФІГУРА 1D

1519 gL20 короткий ланцюг (V + constant, mammalian експресована) SEQ ID NO:

24

```

gatatccaga tgacccagag tccaagcagt ctctccgcca gcgtaggcga
tcgtgtgact attacctgta aaagctccca gtccctgggtg ggtgcaagcg
gcaaaaccta cctgtactgg ctcttccaga aaccgggcaa agctccgaaa
cgctgatct atctggtgtc taccctggat agcggtatcc cgtctcgttt
ctccggtagc ggtagcggta ccgaattcac gctgaccatt agctccctcc
agccggagga ctttgctacc tattactgcc tccagggcac tcattttccg
cacactttcg gccagggtag caaactggaa atcaaacgta cggtagcggc
cccatctgtc ttcattctcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa
ctgcctctgt tgtgtgcctg ctgaataact tctatcccag agaggccaaa
gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa tcgggtaact ccagggagag
tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc agcagcacc
tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa
gtcaccatc agggcctgag ctgcgccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgt

```

1519 gL20 область з сигнальною послідовністю підкресленою і виділеною *italic* (*E. coli* експресована) SEQ ID NO: 25

```

MKKTAIAIAV ALAGFATVAQ ADIQMTQSPS SLSASVGDRV TITCKSSQSL
VGASGKTYLY WLFQKPGKAP KRLIYLVSTL DSGIPSRFSG SGSGTEFTLT
ISSLPEDFA TYICLQGFHF PHTFGQGTKL EIKRTVAAPS VFIFPPSDEQ
LKSGTASVVC LLNMFYPREA KVQWKVDNAL QSGNSQESVT EQDSKDSTYS
LSSTLTLSKA DYEKHKVYAC EVTHQGLSSP VTKSFNRGEC

```

1519 gL20 область з сигнальною послідовністю підкресленою і виділеною *italic* (*E. coli* експресована) SEQ ID NO: 26

```

atgaaaaaga cagctatcgc aattgcagtg gccttggctg gtttcgctac
cgtagcgcaa gctgatatcc agatgaccca gagtccaagc agtctctccg
ccagcgtagg cgatcgtgtg actattacct gtaaaagctc ccagtcctcg
gtgggtgcaa gcggcaaac ctacctgtac tggctcttcc agaaaccggg
caaagctccg aaacgcctga tctatctggt gtctaccctg gatagcggta
ttcgtctctg tttctccggg agcggtagcg gtaccgaatt cacgctgacc
attagctccc tccagccgga ggactttgct acctattact gcctccaggg
cactcatttt ccgcacactt tcggccaggg taccaaactg gaaatcaaac
gtacggtagc ggccccatct gtcttcatct tcccgccatc tgatgagcag
ttgaaatctg gaactgcctc tgttgtgtgc ctgctgaata acttctatcc
cagagaggcc aaagtacagt ggaagggtgga taacgccctc caatcgggta
actcccagga gagtgtcaca gagcaggaca gcaaggacag cacctacagc
ctcagcagca ccctgacgct gagcaaagca gactacgaga aacacaaagt
ctacgcctgc gaagtcaccc atcagggcct gagctcacca gtaacaaaaa
gttttaatag aggggagtgt

```

## ФИГУРА 1Е

1519 gL20 область з сигнальною послідовністю підкресленою і виділеною *italic*  
(mammalian експресована) SEQ ID NO: 27

MSVPTQVLGL LLLWLTDARC DIQMTQSPSS LSASVGDRVIT ITCKSSQSLV  
GASGKTYLYW LFQKPGKAPK RLIYLVSTLD SGIPSRFSGS GSGTEFTLTI  
SSLQPEDFAT YYCLOGTHFP HTFGOGTKLE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL  
KSGTASVVCL LNNFYPREAK VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL  
SSTLTLSKAD YEKHKVYACE VTHQGLSSPV TKSFNRGEC

1519 gL20 область з сигнальною послідовністю підкресленою і виділеною *italic*  
(mammalian експресована) SEQ ID NO: 28

atgtctgtcc ccaccaagt cctcggactc ctgctactct ggcttacaga  
tgccagatgc gatatccaga tgacccagag cccatctagc ttatccgctt  
ccgttggtga tcgctgaca attacgtgta agagctccca atctctcgtg  
ggtgcaagtg gcaagaccta tctgtactgg ctctttcaga agcctggcaa  
ggcaccaaaa cggctgatct atctggtgtc tacccttgac tctgggatac  
cgtcacgatt ttccggatct gggagcggaa ctgagttcac actcacgatt  
tcatcgtctgc aacccgagga ctttgetacc tactactgcc tgcaaggcac  
tcatttccct cacactttcg gccaggggac aaaactcgaa atcaaacgta  
cggtagcggc cccatctgtc ttcattcttc cgccatctga tgagcagttg  
aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgctg ctgaataact tctatcccag  
agaggccaaa gtacagtga aggtggataa cgccctccaa tcgggtaact  
cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc  
agcagcacc tgacgtgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta  
cgctgcgaa gtcaccatc agggcctgag ctcgcccgtc acaaagagct  
tcaacagggg agagtgt

1519 gH20 V-область SEQ ID NO: 29

EVPLVESGGG LVQPGGSLRL SCAVSGFTFS NYGMVWVRQA PGKGLEWVAY  
IDSDGDNTYY RDSVKGRFTI SRDNAKSSLY LQMNSLRAED TAVYYCTTGI  
VRPFLYWGQG TLVTVS

1519 gH20 V-область (*E. coli* експресована) SEQ ID NO: 30

gaggttccgc tggctcagtc tggaggcggg cttgtccagc ctggagggag  
cctgcgtctc tcttgtgcag tatctggctt caggttctcc aactacggta  
tgggtgtgggt tcgtcaggct ccaggtaaag gtctggaatg ggtggcgtat  
attgactccg acggcgacaa cacctactat cgcgactctg tgaaaggctg  
cttcaccatt tcccgcgata acgccaatc cagcctgtac ctgcagatga  
acagcctgcg tgctgaagat actgcggtgt actattgcac cactggcatc  
gtgcgtccgt ttctgtattg gggtcagggg accctcgta ctgtctcg



**ФИГУРА 1F** (сигнальна послідовність підкреслена і виділена *italic*)

1519 gH20 V-область (mammalian експресована) SEQ ID NO: 31

gaggtaccac ttgtggaaag cggaggaggt cttgtgcagc ctggaggaag  
 ttacgtctc tcttgctg tgtctggctt caccttctcc aattacggaa  
 tggctctgggt cagacaagca cctggaaagg gtcttgaatg ggtggcctat  
 attgactctg acggggacaa cacctactat cgggattccg tgaaaggacg  
 cttcacaatc tcccagata acgccaagag ctactgtac ctgcagatga  
 atagcctgag agccgaggat actgccgtgt actattgcac aacgggaatc  
 gtttaggcctt ttctgtactg gggacagggc accttggtta ctgtctcg

1519 gH20 V-область (*E. coli* експресована) SEQ ID NO: 32

MKKTAIAIAV ALAGFATVAQ AEVPLVESGG GLVQPGGSLR LSCAVSGFTF  
 SNYGMVWVRQ APGKGLEWVA YIDSDGDNTY YRDSVKGRFT ISRDNAKSSL  
 YLQMNSLRAE DTAVYYCTTG IVRPFLYWQ GTLVTVS

1519 gH20 V-область (*E. coli* експресована) SEQ ID NO: 33

atgaagaaga ctgctatagc aattgcagtg gcgctagctg gtttcgccac  
cgtaggcgca gctgaggttc cgctggtcga gtctggaggc gggcttgctc  
 agcctggagg gagcctgcgt ctctcttggt cagtatctgg cttcacgttc  
 tccaactacg gtatgggtg ggttcgtcag gctccaggta aaggctctgga  
 atgggtggcg tatattgact ccgacggcga caacacctac tategcgact  
 ctgtgaaagg tcgcttcacc atttcccgcg ataacgcaa atccagcctg  
 tacctgcaga tgaacagcct gcgtgctgaa gatactgcgg tgtactattg  
 caccactggc atcgtgcgtc cgtttctgta ttggggtcag ggtaccctcg  
 ttactgtctc g

1519 gH20 V-область (mammalian експресована) SEQ ID NO: 34

MEWSWVFLFF LSVTTGVHSE VPLVESGGGL VQPGGSLRLS CAVSGFTFSN  
 YGMVWVRQAP GKLEWVAYI DSDGDNTYYR DSVKGRFTIS RDNKSSLYL  
 QMNSLRAEDT AVYYCTTGIV RPFLYWQGT LTVS

1519 gH20 V-область з сигнальною послідовністю підкресленою і виділеною *italic*  
 (mammalian експресована) SEQ ID NO: 35

atggaatgga gctgggtcctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctacaggagt  
ccattctgag gtaccacttg tggaaagcgg aggaggtcct gtgca'gctg  
 gaggaagttt acgtctctct tgtgctgtgt ctggcttcac cttctccaat  
 tacggaatgg tctgggtcag acaagcacct ggaaagggtc ttgaatgggt  
 ggcctatatt gactctgacg gggacaacac ctactatcgg gattccgtga  
 aaggacgctt cacaatctcc cgagataacg ccaagagctc actgtacctg  
 cagatgaata gcctgagagc cgaggatact gccgtgtact attgcacaac  
 gggaatcggt aggccttttc tgtactgggg acagggcacc ttggttactg tctcg

## ФІГУРА 1G

1519gH20 Fab' довгий ланцюг (V + людська гамма-1 CH1 + підвіска) SEQ ID NO: 36

```
EVPLVESGGG LVQPGGSLRL SCAVSGFTFS NYGMVWVRQA PGKGLEWVAY
IDSDGDNTYY RDSVKGRFTI SRDNAKSSLY LQMNSLRAED TAVYYCTGTI
VRPFLYWQOG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF
PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVVTGPS SSLGTQTYIC
NVNHNKPSNTK VDKKVEPKSC DKTHTCOA
```

1519gH20 Fab' довгий ланцюг (V + людська гамма-1 CH1 + підвіска, *E.coli* експресована)

SEQ ID NO: 37

```
gaggttccgc tggtcgagtc tggaggcggg cttgtccagc ctggaggagg
cctgcgtctc tcttgtgcag tatctggctt cacgttctcc aactacggta
tgggtgtgggt tcgtcaggct ccaggtaaag gtctggaatg ggtggcgat
attgactccg acggcgacaa cacctactat cgcgactctg tgaaaggctc
cttcaccatt tcccgcgata acgccaatc cagcctgtac ctgcagatga
acagcctgcg tgcgtgaagat actgcggtgt actattgcac cactggcacc
gtgcgtccgt ttctgtattg gggtcagggt accctcggtt ctgtctcgag
cgcttctaca aaggggccat cggctcttccc cctggcacc cctccaaga
gcacctctgg gggcacagcg gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc
cccgaaccgg tgacgggtgc gtggaactca ggcgccctga ccagcggcgt
gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac tccctcagca
gcgtgggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtcgacaaga aagttgagcc
caaatcttgt gacaaaactc acacatgcgc cgcg
```

1519gH20 Fab' довгий ланцюг (V + людська гамма-1 CH1 + підвіска, mammalian експресована) SEQ ID NO: 38

```
gaggtaccac ttgtggaaaag cggaggagggt cttgtgcagc ctggaggagg
tttacgtctc tcttgtgctg tgtctggctt caccttctcc aattacggaa
tgggtctgggt cagacaagca cctggaaaagg gtcttgaatg ggtggcctat
attgactctg acggggacaa cacctactat cgggattccg tgaaaggacg
cttcacaatc tcccgagata acgccaagag ctactgtac ctgcagatga
atagcctgag agccgaggat actgccgtgt actattgcac aacgggaatc
gttaggcctt ttctgtactg gggacagggc accttggtta ctgtctcgag
cgcttctaca aaggggccat cggctcttccc cctggcacc cctccaaga
gcacctctgg gggcacagcg gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc
cccgaaccgg tgacgggtgc gtggaactca ggcgccctga ccagcggcgt
gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac tccctcagca
gcgtgggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtcgacaaga aagttgagcc
caaatcttgt gacaaaactc acacatgcgc cgcg
```

## ФІГУРА 1Н

1519 gH20 Fab' довгий ланцюг з сигнальною послідовністю підкресленою і виділеною italic (*E. coli* експресована) SEQ ID NO: 39

MKKTAIAlAV ALAGFATVAQ AEVPLVESGG GLVQPGGSLR LSCAVSGFTF  
 SNYGMVWVRQ APGKGLEWVA YIDSDGDNTY YRDSVKGRFT ISRDNAKSSL  
 YLQMSNLRAE DTAVYYCTTG IVRPFLYWQO GTLTVSSAS TKGPSVFPLA  
 PSSKSTSGGT AALGCLVKDY FPEPVTVSWN SGALTSGVHT FPAVLQSSGL  
 YSLSSVVTVP SSSLGTQTYI CNVNHKPSNT KVDKKVEPKS CDKTHTCAA

1519 gH20 довгий ланцюг з сигнальною послідовністю підкресленою і виділеною italic (*E. coli* експресована) SEQ ID NO: 40

atgaagaaga ctgctatagc aattgcagtq gcgctagctg gtttcgccac  
cgtggcgcaa gctgaggttc cgctggtcga gtctggaggc gggcttgctc  
 agcctggagg gagcctgcgt ctctcttggt cagtatctgg cttcacgttc  
 tccaactacg gtatggtgtg ggttcgtcag gctccaggta aaggctctgga  
 atgggtggcg tatattgact ccgacggcga caacacctac tatecggaact  
 ctgtgaaagg tcgcttcacc atttcccgcg ataacgcaa atccagcctg  
 tacctgcaga tgaacagcct gcgtgctgaa gatactgcgg tgtactattg  
 caccactggc atcgtgcgtc cgtttctgta ttggggtcag ggtaccctcg  
 ttactgtctc gagcgttctt acaaagggcc catcggtctt cccctggga  
 cctcctcca agagcacctc tgggggcaca gcggccctgg gctgcctggt  
 caaggactac ttccccgaac cgtgacggt gtcgtggaac tcaggcgccc  
 tgaccagcgg cgtgcacacc ttcccggctg tcctacagtc ctcaggactc  
 tactccctca gcagcgtggt gaccgtgcc tccagcagct tgggcaccca  
 gacctacatc tgcaacgtga atcacaagcc cagcaacacc aaggctcgaca  
 agaaagttga gccccaatct tgtgacaaaa ctcacacatg cggcgcg

1519 gH20 Fab' довгий ланцюг з сигнальною послідовністю підкресленою і виділеною italic (mammalian експресована) SEQ ID NO: 41

MEWSWVFLFF LSVTGVHSE VPLVESGGGL VQPGGSLRLS CAVSGFTFSN  
 YGMVWVRQAP GKGLEWVAYI DSDGDNTYYR DSVKGRFTIS RDNKSSLYL  
 QMSNLRAEDT AVYYCTTGIV RPFLYWQGT LTVSSASTK GPSVFPLAPS  
 SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS  
 LSSVVTVPSS SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKKVEPKSCD KTHTCAA

## ФИГУРА 11

1519 gH20 Fab' довгий ланцюг з сигнальною послідовністю підкресленою і виділеною *italic* (mammalian експресована) SEQ ID NO: 42

*atggaatgga gctgggtctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctacaggagt*  
*ccattctgag* gtaccacttg tggaaagcgg aggaggtctt gtgcagcctg  
 gaggaagttt acgtctctct tgtgctgtgt ctggcttcac cttctccaat  
 tacggaatgg tctgggtcag acaagcacct ggaaagggtc ttgaatgggt  
 ggcttatatt gactctgacg gggacaacac ctactatcgg gattccgtga  
 aaggacgctt cacaatctcc cgagataacg ccaagagctc actgtacctg  
 cagatgaata gcctgagagc cgaggataact gccgtgtact attgcacaac  
 gggaaatcgtt aggccttttc tgtactgggg acagggcacc ttggttactg  
 tctcgagcgc ttctacaaag ggcccatcgg tcttccccct ggcacpctcc  
 tccaagagca cctctggggg cacagcggcc ctgggctgcc tggtaagga  
 ctacttcccc gaaccggtga cgggtgctgtg gaactcaggc gccctgacca  
 gcggcggtgca caccttcccc gctgtcctac agtcctcagg actctactcc  
 ctacgcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagacctg  
 catctgcaac gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggct gacaagaaag  
 ttgagcccaa atcttgtgac aaaactcaca catgcgccgc g

1519gH20 IgG4 довгий ланцюг (V + людський гамма-4P постійний) SEQ ID NO: 43

EVPLVESGGG LVQPGGSLRL SCAVSGFTFS NYGMVVRQA PGKGLEWVAY  
 IDSDGDNTYY RDSVKGRFTI SRDNAKSSLY LQMNSLRAED TAVYYCTTGI  
 VRPFLYWQOG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP CSRSTSESTA ALGCLVKDYF  
 PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVTVPS SSLGKTYTC  
 NVDHKPSNTK VDKRVESKYG PPCPPCPAPE FLGGPSVFLF PPKPKDTLMI  
 SRTPEVTCVV VDVSQEDPEV QFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQFNSTYRVV  
 SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKGLPSSIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP  
 SQEEMTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSDGS  
 FFLYSRLTVD KSRWQEGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SLGK

## ФІГУРА 1J

1519gH20 IgG4 довгий ланцюг (V + людський гамма-4P постійний, exons підкреслено)

SEQ ID NO: 44

gagggtaccac ttgtggaaag cggaggaggt cttgtgcagc ctggaggaag  
tttacgtctc tcttgtgctg tgtctggctt caccttctcc aattacggaa  
tggctctgggt cagacaagca cctggaaagg gtcttgaatg ggtggcctat  
attgactctg acggggacaa cacctactat cgggattccg tgaaggacg  
cttcacaatc tcccagagata acgccaagag ctactgtac ctgcagatga  
atagcctgag agccgaggat actgccgtgt actattgcac aacgggaatc  
gttaggcctt ttctgtactg gggacagggc accttgggta ctgtctcgag  
cgtctctaca aaggggccat ccgtcttccc cctggcgccc tgctccagga  
gcacctccga gagcacagcc gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc  
cccgaaccgg tgacgggtgc gtggaactca ggcgcctga ccagcggcgt  
gcacaccttc ccggtgtcc tacagtcctc aggactctac tccctcagca  
gcgtgggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacgaagac ctacacctgc  
aacgtagatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga gagttggtga  
gaggccagca cagggaggga ggggtgtctgc tggaagccag gctcagccct  
cctgcctgga cgcaccccggt ctgtgcagcc ccagcccagg gcagcaaggc  
atgccccatc tgtctcctca cccggaggcc tctgaccacc cactcatgc  
ccagggagag ggtcttctgg atttttccac caggctccgg gcagccacag  
gctggatgcc cctaccccag gccctgcgca tacaggggca ggtgctgcgc  
tcagacctgc caagagccat atccgggagg accctgcccc tgacctaacg  
ccaccccaaa ggccaaactc tccactccct cagctcagac accttctctc  
ctcccagatc tgagtaactc ccaatcttct ctctgcagag tccaaatatg  
gtcccccatg cccaccatgc ccaggtaagc caaccaggc ctgcacctcc  
agctcaaggc gggacagggt ccctagagta gcctgcatcc agggacaggc  
cccagccggg tgctgacgca tccacctcca tctcttctc agcacctgag  
ttcctggggg gaccatcagt ctctctgttc ccccaaaaac ccaaggacac  
tctcatgac tcccggacct ctgaggtcac gtgcgtggtg gtggacgtga  
gccaggaaga ccccagggtc cagttcaact ggtacgtgga tggcgtggag  
gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag gagcagttca acagcacgta  
ccgtgtgggtc agcgtcctca ccgtcctgca ccaggactgg ctgaacggca  
aggagtacaa gtgcaaggtc tccaacaaag gcctcccgtc ctccatcgag  
aaaaccatct ccaaagccaa aggtgggacc cacggggtgc gagggccaca  
tggacagagg tcagctcgcc ccacctctg ccctgggagt gaccgtgtg  
ccaacctctg tccctacagg gcagccccga gagccacagg tgtacacct  
gcccccatcc caggaggaga tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc  
tggtaaaagg cttctacccc agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat  
gggcagccgg agaacaacta caagaccacg cctcccgtgc tggactccga  
cggctccttc ttcctctaca gcaggctaac cgtggacaag agcaggtggc  
aggaggggaa tgtcttctca tgctccgtga tgcatgaggc tctgcacaac  
cactacacac agaagagcct ctccctgtct ctgggtaaa

**ФІГУРА 1К**

1519gH20 IgG4 довгий ланцюг (V + людський гамма-4Р постійний) з сигнальною послідовністю підкресленою і виділеною *italic* SEQ ID NO: 45

*atggaatgga gctgggtctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctacaggagt*  
*ccattctgag gtaccacttg tggaagcgg aggaggtctt gtgcagcctg*  
*gaggaagttt acgtctctct tgtgctgtgt ctggcttcac cttctccaat*  
*tacggaatgg tctgggtcag acaagcacct ggaaagggtc ttgaatgggt*  
*ggcctatatt gactctgacg gggacaacac ctactatcgg gattccgtga*  
*aaggacgctt cacaatctcc cgagataacg ccaagagctc actgtacctg*  
*cagatgaata gcctgagagc cgaggatact gccgtgtact attgcacaac*  
*gggaatcgtt aggccttttc tgtactgggg acagggcacc ttggttactg*  
*tctcgagcgc ttctacaaag ggcccatccg tcttccccct ggcgccctgc*  
*tccaggagca cctccgagag cacagccgcc ctgggctgcc tggtaagga*  
*ctacttcccc gaaccggtga cgggtgctgt gaactcaggc gccctgacca*  
*gcggcgtgca caccttcccg gctgtcctac agtcctcagg actctactcc*  
*ctcagcagcg tgggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cgaagaccta*  
*cacctgcaac gtagatcaca agcccagcaa caccaagggtg gacaagagag*  
*ttggtgagag gccagcacag ggagggaggg tgtctgctgg aagccaggct*  
*cagccctcct gcctggacgc accccggctg tgcagcccca gcccagggca*  
*gcaaggcatg ccccatctgt ctccctaccc ggaggcctct gaccacccca*  
*ctcatgcca gggagagggt cttctggatt ttccaccag gctccgggca*  
*gccacaggct ggatgccct accccaggcc ctgcgcatac aggggcagg*  
*gctgcgctca gacctgcaa gagccatata cgggaggacc ctgcccctga*  
*cctaagccca ccccaaaggc caaactctcc actccctcag ctcagacacc*  
*ttctctcctc ccagatctga gtaactccca atcttctctc tgcagagtcc*  
*aaatatggtc ccccatgccc accatgccc ggtaagccaa cccaggcctc*  
*gccctccagc tcaaggcggg acagggtgcc tagagtagcc tgcattcagg*  
*gacaggcccc agccgggtgc tgacgcatcc acctccatct cttcctcagc*  
*acctgagttc ctggggggac catcagtctt cctgttcccc ccaaaaccca*  
*aggacactct catgatctcc cggaccctg aggtcacgtg cgtgggtggg*  
*gacgtgagcc aggaagacc cgagggtccag ttcaactggt acgtggatgg*  
*cgtggagggtg cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag cagttcaaca*  
*gcacgtaccg tgtggtcagc gtcctcaccg tcctgcacca ggactggctg*  
*aacggcaagg agtacaagtg caagggtctcc aacaaaggcc tcccgtcctc*  
*catcgagaaa accatctcca aagccaaagg tgggaccac ggggtgcgag*  
*ggccacatgg acagaggtea gctcgccca cctctgccc tgggagtgc*  
*cgctgtgcca acctctgtcc ctacagggca gcccagagag ccacagggtg*  
*acaccctgcc cccatcccag gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg*  
*acctgcctgg tcaaaggctt ctaccccagc gacatgcgcg tggagtggga*  
*gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct cccgtgctgg*  
*actccgacgg ctcttcttc ctctacagca ggctaaccgt ggacaagagc*  
*aggtggcagg aggggaatgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct*  
*gcacaaccac tacacacaga agagcctctc cctgtctctg ggtaaa*

## ФІГУРА 1L

1519gL20 FabFv короткий ланцюг SEQ ID NO: 46

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKSSQSLV GASGKTYLYW LFQKPGKAPK  
 RLIYLVSTLD SGIPSRFSGS GSGTEFTLTI SSLQPEDFAT YYCLOGTHFP  
 HTFGQGTKLE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPRKAK  
 VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE  
 VTHQGLSSPV TKSFNREGES GGGSGGGGS GGGGSDIQMT QSPSSVSASV  
 GDRVTITCQS SPSVWSNFLS WYQQKPGKAP KLLIYEASKL TSGVPSRFSG  
 SSGTDFTLT ISSLQPEDFA TYICGGGYSS ISDTTFGCGT KVEIKRT

1519gL20 FabFv короткий ланцюг SEQ ID NO: 47

gatatccaga tgacccagag cccatctagc ttatccgctt ccgttggtga  
 tcgctgaca attacgtgta agagctccca atctctcgtg ggtgcaagtg  
 gcaagacctt tctgtactgg ctctttcaga agcctggcaa ggcacaaaaa  
 cggctgatct atctggtgtc tacccttgac tctgggatac cgtcacgatt  
 ttccggtatct gggagcggaa ctgagttcac actcacgatt tcatcgctgc  
 aaccgagga ctttgctacc tactactgcc tgcaaggcac tcatttcctt  
 cacactttcg gccaggggac aaaactcgaa atcaaacgta cggtagcggc  
 cccatctgtc ttcattcttc cggcatctga tgagcagttg aaatctggaa  
 ctgcctctgt tgtgtgctg ctgaataact tctatcccag agaggccaaa  
 gtacagtggg aggtggataa cgcctccaa tcgggtaact ccagaggagag  
 tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctg agcagcacc  
 tgacgctgtc taaagcagac tacgagaaac acaaagtgtg cgcctgcgaa  
 gtcacccatc agggcctgag ctaccagta acaaaaagtt ttaatagagg  
 ggagtgtagc ggtggcgggtg gcagtgggtg gggaggctcc ggagggtggc  
 gttcagacat acaaatgacc cagagtcctt catcggtatc cgcgtccgtt  
 ggcgataggg tgactattac atgtcaaagc tctcctagcg tctggagcaa  
 ttttctatcc tgggtatcaac agaaaccggg gaaggctcca aaacttctga  
 tttatgaagc ctcgaaactc accagtggag ttccgtcaag attcagtggc  
 tctggatcag ggacagactt cacgttgaca atcagttcgc tgcaaccaga  
 ggactttgcg acctactatt gtggtggagg ttacagtagc ataagtata  
 cgacatttgg gtgcggtact aaggtggaaa tcaaacgtac c

1519gL20 FabFv короткий ланцюг з сигнальною послідовністю підкресленою і виділеною *italic* SEQ ID NO: 48

*MSVPTQVLGL LLLWLTDARC* DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKSSQSLV  
 GASGKTYLYW LFQKPGKAPK RLIYLVSTLD SGIPSRFSGS GSGTEFTLTI  
 SSLQPEDFAT YYCLOGTHFP HTFGQGTKLE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL  
 KSGTASVVCL LNNFYPRKAK VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL  
 SSTLTLSKAD YEKHKVYACE VTHQGLSSPV TKSFNREGES GGGSGGGGS  
 GGGGSDIQMT QSPSSVSASV GDRVTITCQS SPSVWSNFLS WYQQKPGKAP  
 KLLIYEASKL TSGVPSRFSG SSGTDFTLT ISSLQPEDFA TYICGGGYSS  
 ISDTTFGCGT KVEIKRT



## ФІГУРА 1М

1519gL20 FabFv короткий ланцюг з сигнальною послідовністю підкресленою і виділеною *italic* SEQ ID NO: 49

*atgtctgtcc ccacccaagt cctcggactc ctgctactct ggcttacaga*  
*tgccagatgc* gatatccaga tgacccagag cccatctagc ttatccgctt  
 ccgttggtga tcgcgtgaca attacgtgta agagctccca atctctcgtg  
 ggtgcaagtg gcaagaccta tctgtactgg ctctttcaga agcctggcaa  
 ggcacccaaa cggctgatct atctggtgtc tacccttgac tctgggatac  
 cgtcacgatt ttccggatct gggagcggaa ctgagttcac actcacgatt  
 tcatcgtctc aacccgagga ctttgctacc tactactgcc tgcaaggcac  
 tcattttccct cacactttcg gccaggggac aaaactcgaa atcaaacgta  
 cggtagcggc cccatctgtc ttcattcttc cgcctatctga tgagcagttg  
 aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg ctgaataact tctatcccag  
 agaggccaaa gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa tcgggtaact  
 ccagagagag gtacacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctg  
 agcagcaccg tgacgctgtc taaagcagac tacgagaaac acaaagtgtg  
 cgcctgcgaa gtcacccatc agggcctgag ctcaccagta acaaaaagtt  
 ttaatagagg ggagtgtagc ggtggcgggtg gcagtgggtg gggaggctcc  
 ggagggtggc gttcagacat acaaatgacc cagagtcctt catcggtatc  
 cgcgtccgtt ggcgataggg tgactattac atgtcaaagc tctcctagcg  
 tctggagcaa ttttctatcc tgggtatcaac agaaaccggg gaaggctcca  
 aaacttctga tttatgaagc ctcgaaactc accagtggag ttccgtcaag  
 attcagtggc tctggatcag ggacagactt cacgttgaca atcagttcgc  
 tgcaaccaga ggactttgcg acctactatt gtggtggagg ttacagtagc  
 ataagtgata cgacatttgg gtgcggtact aaggtggaaa tcaaacgtac  
 c

1519gH20 FabFv довгий ланцюг SEQ ID NO: 50

EVPLVESGGG LVQPGGSLRL SCAVSGFTFS NYGMVWVRQA PGKGLEWVAY  
 IDSDGDNTYY RDSVKGRFTI SRDNAKSSLY LQMNSLRAED TAVYYCTTGI  
 VRPFLYWQGQ TLVTVSSAST KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF  
 PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVTVPS SSLGTQTYIC  
 NVNHKPSNTK VDKKVEPKSC SGGGSGGGG TGGGGSEVQL LESGGGLVQP  
 GGSRLRLSCAV SGIDLSNYAI NWVRQAPGKC LEWIGIIWAS GTTFYATWAK  
 GRFTISRDNK KNTVYLQMNS LRAEDTAVYY CARTVPGYST APYFDLWGQG TLVTVSS



## ФІГУРА 1N

1519gH20 FabFv довгий ланцюг SEQ ID NO: 51

gaggtaccac ttgtggaag cggaggaggt cttgtgcagc ctggaggaag  
 tttaacgtctc tcttgtgctg tgtctggctt caccttctcc aattacggaa  
 tgggtctgggt cagacaagca cctggaaggt gtcttgaatg ggtggcctat  
 attgactctg acggggacaa cacctactat cgggattccg tgaaaggacg  
 cttcacaatc tcccagata acgccaagag ctactgtac ctgcagatga  
 atagcctgag agccgaggat actgccgtgt actattgcac aacgggaatc  
 gttaggcctt ttctgtactg gggacagggc accttgggta ctgtctcgag  
 cgcgtccaca aagggcccat cggctctccc cctggcacc cctccaaga  
 gcacctctgg gggcacagcg gccctgggct gcctgggcaa ggactacttc  
 cccgaaccag tgacggtgtc gtggaactca ggtgccctga ccagcggcgt  
 tcacaccttc ccggtgttcc tacagtcttc aggactctac tccctgagca  
 gcgtgggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcaccagac ctacatctgc  
 aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtcgataaga aagttgagcc  
 caaatcttgt agtggaggtg ggggctcagg tggaggcggg accggtggag  
 gtggcagcga ggttcaactg cttgagctctg gaggaggcct agtccagcct  
 ggagggagcc tgcgtctctc ttgtgcagta agcggcatcg acctgagcaa  
 ttacgccatc aactgggtga gacaagctcc ggggaagtgt ttagaatgga  
 tcggtataat atgggccagt gggacgacct tttatgctac atgggcgaaa  
 ggaaggttta caattagccg ggacaatagc aaaaacaccg tgtatctcca  
 aatgaactcc ttgcgagcag aggacacggc ggtgtactat tgtgctcgca  
 ctgtcccagg ttatagcact gcaccctact tcgatctgtg gggacaaggg  
 accctggtga ctgtttcaag t

1519gH20 FabFv довгий ланцюг з сигнальною послідовністю підкресленою і виділеною  
*italic* SEQ ID NO: 52

MEWSWVFLFF LSVTGTVHSE VPLVESGGGL VQPGGSLRLS CAVSGFTFSN  
 YGMVWVRQAP GKGLEWVAYI DSDGDNTYYR DSVKGRFTIS RDNKSSLYL  
 QMNSLRAEDT AVYYCTTGIV RPFLYWGQGT LVTVSSASTK GPSVFPLAPS  
 SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS  
 LSSVVTVPSS SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKKVEPKSCS GGGGSGGGGT  
 GGGGSEVQLL ESGGGLVQPG GSLRLSCAVS GIDLSNYAIN WVRQAPGKCL  
 EWIGIIWASG TTFYATWAKG RFTISRDNK NTVYLQMNSL RAEDTAVYYC  
 ARTVPGYSTA PYFDLWGQGT LVTVSS

## ФІГУРА 1Р

1519gH20 FabFv довгий ланцюг з сигнальною послідовністю підкресленою і виділеною  
italic SEQ ID NO: 53

atggaatgga gctgggtctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctacaggagt  
ccattctgag gtaccacttg tggaaagcgg aggaggtctt gtgcagcctg  
gaggaagttt acgtctctct tgtgctgtgt ctggcttcac cttctccaat  
tacggaatgg tctgggtcag acaagcacct ggaaagggtc ttgaatgggt  
ggcctatatatt gactctgacg gggacaacac ctactatcgg gattccgtga  
aaggacgctt cacaatctcc cgagataacg ccaagagctc actgtacctg  
cagatgaata gcctgagagc cgaggatact gccgtgtact attgcacaac  
gggaatcgtt aggccttttc tgtactgggg acagggcacc ttggttactg  
tctcgagcgc gtccacaaag ggcccatcgg tcttccccct ggcaccctcc  
tccaagagca cctctggggg cacagcggcc ctgggctgcc tggtaagga  
ctacttcccc gaaccagtga cgggtgctgt gaactcagggt gccctgacca  
gcggcggttca caccttcccg gctgtcctac agtcttcagg actctactcc  
ctgagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta  
catctgcaac gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtc gataagaaag  
ttgagcccaa atcttgtagt ggaggtgggg gctcagggtg aggcgggacc  
gggtggaggtg gcagcgaggt tcaactgctt gagtctggag gaggcctagt  
ccagcctgga gggagcctgc gtctctcttg tgcagtaagc ggcatcgacc  
tgagcaatta cgccatcaac tgggtgagac aagctccggg gaagtgttta  
gaatggatcg gtataatatg ggccagtggg acgacctttt atgctacatg  
ggcgaaagga aggtttacaa ttagccggga caatagcaaa aacaccgtgt  
atctccaaat gaactccttg cgagcagagg acacggcggt gtactattgt  
gctcgactg tcccagggtta tagcactgca ccctacttcg atctgtgggg  
acaagggacc ctggtgactg tttcaagt

Людський VK1 2-1-(1) A30 JK2 область акцептора SEQ ID NO: 54

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQGIR NDLGWYQQKP GKAPKRLIYA  
ASSLQSGVPS RFSGSGSGTE FTLTISSLQP EDFATYYCLO HNSYPYTFGQ GTKLEIK

Людський VK1 2-1-(1) A30 JK2 область акцептора SEQ ID NO: 55

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga  
cagagtcacc atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag  
gctggatatca gcagaaacca gggaaagccc ctaagcgccct gatctatgct  
gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca aggttcagcg gcagtggatc  
tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct gaagattttg  
caacttatta ctgtctacag cataatagtt acccttacac ttttggccag  
gggaccaagc tggagatcaa a

# ФИГУРА 1Q

Людський VH3 1-3 3-07 JH4 область акцептора SEQ ID NO: 56

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYWMSWVRQA PGKGLEWVAN  
IKQDQSEKYY VDSVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCARYF  
DYWGQGTLLV VS

Людський VH3 1-3 3-07 JH4 область акцептора SEQ ID NO: 57

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggggc  
cctgagactc tcctgtgcag cctctggatt cacctttagt agctattgga  
tgagctgggt ccgccaggct ccagggaagg ggctggagtg ggtggccaac  
ataaagcaag atggaagtga gaaatactat gtggactctg tgaagggccg  
attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcactgtat ctgcaaatga  
acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagatacttt  
gactactggg gccagggaac cctgggcacc gtctcc

Щури Ab 1548 VL область SEQ ID NO: 58

DVVMQTPLS LSVALGQPAS ISCKSSQSLV GASGKTYLYW LFQMSGQSPK  
RLIYLVSTLD SGIPDRFSGS GAETDFTLKI RRVEADDLGV YYCLOGTHFP  
HTFGAGTKLE IK

Щури Ab 1548 VL область SEQ ID NO: 59

gatgttgtga tgaccagac tccactgtct ttgtcggttg cccttggaca  
accagcctcc atctcttgca agtcaagtca gagcctcgta ggtgctagtg  
gaaagacata tttgtattgg ttatttcaga ggtccggcca gtctccaaag  
cgactaatct atctgggtgc cacactggac tctggaattc ctgatagggt  
cagtggcagt ggagcagaga cagattttac tcttaaaatc cgcagagtgg  
aagccgatga tttgggagtt tattactgct tgcaaggtag acattttcct  
cacacgtttg gagctgggac caagctggaa ataaaa

Щури Ab 1548 VH область SEQ ID NO: 60

EVPLVESGGG SVQPGSRMKL SCVMSGFTFS NYGMVWVRQA PPKGLEWVAY  
IDSDGDNTRY RDSVKGRFTI SRNNAKSTLY LQMDSLRSED TATYYCTTGI  
VRPFLYWGQ VMVTVS

**ФИГУРА 1R**

Щури Ab 1548 VH область gaggtgccgc tgggtggagtc tgggggcggc  
 tcagtgcagc ctgggaggtc cat gaaactc tcctgtgtag tctcaggatt  
 cactttcagt aattatggca tggctctgggt ccgccaggct ccaaagaagg  
 gtctggagtg ggtcgcataat attgattctg atggtgataa tacttactac  
 cgagattccg tgaagggccg attcactatc tccagaaata atgcaaaaag  
 caccctatat ttgcaaatgg acagtctgag gtctgaggac acggccactt  
 attactgtac aacagggtt gtccggccct ttctctattg gggccaagga  
 gtcattgtca cagtctcg

Щури Ab 1644 VL область SEQ ID NO: 62

DVMTQTPLS LSVAIGQPAS ISCKSSQSLV GASGKTYLYW LFQMSGQSPK  
 RLIYLVSTLD SGIPDRFSGS GAETDFTLKI RRVEADDLGV YYCLQGTTHFP  
 HTFGAGTKLE LK

Щури Ab 1644 VL область SEQ ID NO: 63

gatgttgtga tgaccagac tccactgtct ttgtcgggtg ccattggaca  
 accagcctcc atctcttgca agtcaagtca gagcctcgta ggtgctagtg  
 gaaagacata tttgtattgg ttatttcaga ggtccggcca gtctccaaag  
 cgactaatct atctggtgtc cactctggac tctggaattc ctgatagggt  
 cagtggcagt ggagcagaga cagattttac tcttaaaatc cgcagagtgg  
 aagccgatga tttgggagtt tattactgct tgcaaggtag acattttcct  
 cacacgtttg gagctgggac caagctggaa ctgaaa

Щури Ab 1644 VH область SEQ ID NO: 64

EVPLVESGGG SVQPGRSTKL SCVMSGFTFS NYGMVWVRQA PKKGLEWVAY  
 IGSDGDNIYY RDSVKGRFTI SRNNAKSTLY LQMDSLRSED TATYYCTTGI  
 VRPFLYWQQG TTVTVS

Щури Ab 1644 VH область SEQ ID NO: 65

gaggtgccgc tgggtggagtc tgggggcggc tcagtgcagc ctgggaggtc  
 caccgaaactc tcctgtgtag tctcaggatt cactttcagt aactatggca  
 tggctctgggt ccgccaggct ccaaagaagg gtctggagtg ggtcgcataat  
 attggttctg atggtgataa tatttactac cgagattccg tgaagggtcg  
 attcactatc tccagaaata atgcaaaaag caccctatat ttgcaaatgg  
 acagtctgag gtctgaggac acggccactt attactgtac aacagggtt  
 gtccggccct ttctctactg gggccaagga accacggtca ccgtctcg

**ФИГУРА 1S**

Щури Ab 1496 VK область SEQ ID NO: 66

DVVMTQTPLS LSVALGQPAS ISCKSSQSLV GASGKTYLYW LFQRSGQSPK  
 RLIYLVSTLD SGIPDRFSGS GAETDFTLKI RRVEADDLGV YYCLOGTHFP  
 HTFGAGTKLE LK

Щури Ab 1496 VK область SEQ ID NO: 67

gatgttggtga tgaccscagac tccactgtct ttgtcgggtg cccttgagaca  
 accagcctcc atctcttgca agtcaagtca gagcctcgta ggtgctagtg  
 gaaagacata tttgtattgg ttatttcaga ggtccggcca gtctccaaag  
 cgaactaatct atctgggtgc cacactggac tctggaattc ctgatagggt  
 cagtggcagt ggagcagaga cagattttac tcttaaaatc cgcagagtgg  
 aagccgatga tttgggagtt tattactgct tgcaaggtag acattttcct  
 cacacgtttg gagctgggac caagctggaa ctgaaa

Щури Ab 1496 VH область SEQ ID NO: 68

EVLLVESGGG SVQPGRSMKL SCVVSQFTFS NYGMVWVRQA PKKGLEWVAY  
 IDSDGDNTYY RDSVKGRFTI SRNNAKSTLY LQMSLRSER TATYYCTTGI  
 VRPFLYWQGG TMVTVS

Щури Ab 1496 VH область SEQ ID NO: 69

gaggtgctgc tgggtggagtc tggggggcggc tcagtgcagc ctgggaggtc  
 catgaaactc tctgtgtag tctcaggatt cactttcagt aattatggca  
 tgggtctgggt ccgscaggct ccaaagaagg gtctggagtg ggtcgcatat  
 attgattctg atgggtgataa tacttactac cgagattccg tgaagggccg  
 attcactatc tccagaaata atgcaaaaag caccctatat ttgcaaatgg  
 acagtctgag gtctgaggac acggccactt attactgtac aacagggatt  
 gtccggccct ttctctattg gggccaagga accatgggtca ccgtctcg

1519gH20 IgG1 довгий ланцюг (V + людський гамма-1 постійний) SEQ ID NO: 72

EVPLVESGGG LVQPGGSLRL SCAVSGFTFS NYGMVWVRQA PGKGLEWVAY IDSDGDNTYY  
 RDSVKGRFTI SRDNAKSSLY LQMNSLRAED TAVYYCTTGI VRPFLYWQGG TLVTVSSAST  
 KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY  
 SLSSVTVPS SSLGTQTYIC NVNHKPSNTK VDKKVEPKSC DKTHTCPPCP APELLGGPSV  
 FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY  
 RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSRDELTK  
 NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG  
 NVFSCSVME ALHNHYTQKS LSLSPGK

## ФІГУРА 1Т

1519gH20 IgG1 довгий ланцюг (V + людський гамма-1 постійний, ехонс підкреслено)

SEQ ID NO:73

gaggtaccac ttgtggaag cggaggaggt cttgtgcagc ctggaggaag ttacgtctc  
tcttgtgctg tgtctggctt caccttctcc aattacgga tggctctggg cagacaagca  
cctggaaagg gtcttgaatg ggtggcctat attgactctg acggggacaa cacctactat  
cgggattccg tgaaaggacg cttcacaatc tcccagata acgccaagag ctactgtac  
ctgcagatga atagcctgag agccgaggat actgccgtgt actattgcac aacgggaatc  
gttaggcctt ttctgtactg gggacagggc accttgggta ctgtctcgag cgcttctaca  
aagggcccat cggctcttccc cctggcacc cctccaaga gcacctctgg gggcacagcg  
gccctgggct gcctgggcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgtc gtggaactca  
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccgctgttc tacagtcctc aggactctac  
tccctcagca gcgtgggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcaccagac ctacatctgc  
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtcgacaaga aagttgggtga gaggccagca  
cagggaggga ggggtgtctgc tggaagccag gctcagcgt cctgcctgga cgcattccgg  
ctatgcagcc ccagtccagg gcagcaaggc agggcccgtc tgccctctca cccggaggcc  
tctgcccgcc cactcatgc tcaggagag ggtcttctgg ctttttcccc aggctctggg  
caggcacagg ctaggtgccc ctaaccagc ccctgcacac aaagggcgag gtgctgggct  
cagacctgcc aagagccata tccgggagga ccctgcccct gacctaaagg caccctaaag  
gccaaactct cactccctc agctcggaca ccttctctcc tcccagatct gagtaactcc  
caatcttctc tctgcagagc ccaaatcttg tgacaaaact cacacatgcc caccgtgccc  
aggtaagcca gcccaggcct cgccctccag ctcaaggcgg gacagggtgcc ctagagtagc  
ctgcatccag ggacaggccc cagccgggtg ctgacacgtc caccctccatc tcttctcag  
cacctgaact cctgggggga ccgtcagctt tctcttccc cccaaaaccc aaggacccc  
tcatgatctc ccggaccctt gaggtcacat gcgtgggtgg gacgtgagc cacgaagacc  
ctgaggtcaa gttcaactgg tacgtggacg gcgtggagggt gcataatgcc aagacaaagc  
cgcgggagga gcagtacaac agcacgtacc gtgtgggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc  
aggactggct gaatggcaag gagtacaagt gcaagggtct caacaaagcc ctcccagccc  
ccatcgagaa aaccatctcc aaagccaaag gtgggacccg tgggggtgcga gggccacatg  
gacagaggcc ggctcggccc accctctgcc ctgagagtga ccgctgtacc aacctctgtc  
cctacagggc agccccgaga accacagggtg tacaccctgc ccccatcccg ggatgagctg  
accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc  
gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccagcc tcccgtgctg  
gactccgacg gtccttctt cctctacagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag  
caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgag  
aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa

## ФІГУРА 1U

1519gH20 IgG1 довгий ланцюг (V + людський гамма-1 постійний) з сигнальною послідовністю підкресленою і виділеною *italic* SEQ ID NO: 74

atggaatgga gctgggtctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctacaggagt ccattctgag  
gtaccacttg tggaaagcgg aggaggtctt gtgcagcctg gaggaagttt acgtctctct  
tgtgctgtgt ctggcttcac cttctccaat tacggaatgg tctgggtcag acaagcacct  
ggaaagggtc ttgaatgggt ggcctatatt gactctgacg gggacaacac ctactatcgg  
gattccgtga aaggacgctt cacaatctcc cgagataacg ccaagagctc actgtacctg  
cagatgaata gcctgagagc cgaggatact gccgtgtact attgcacaac gggaatcgtt  
aggccttttc tgtactgggg acagggcacc ttggttactg tctcgagcgc ttctacaaa  
ggcccatcgg tcttccccct ggcacctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc  
ctgggctgcc tgggtcaagga ctacttcccc gaaccggtga cgggtgctgt gaactcaggc  
gcctgacca gcggcgtgca caccttcccc gctgtcctac agtctcagg actctactcc  
ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagacct catctgcaac  
gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtc gacaagaaag ttggtgagag gccagcacag  
ggagggaggg tgtctgctgg aagccaggct cagcgtcct gcctggacgc atcccggcta  
tgcagcccca gtccaggga gcaaggcagg ccccgctctg ctcttcaccc ggaggcctct  
gcccggccca ctcatgctca gggagagggt cttctggctt tttccccagg ctctgggcag  
gcacaggcta ggtgccccta acccaggccc tgcacacaaa ggggcagggt ctgggctcag  
acctgccaa agccatatcc gggaggaccc tgcccctgac ctaagccac cccaaaggcc  
aaactctcca ctccctcagc toggacacct tctctcctcc cagatctgag taactcccaa  
tcttctctct gcagagccca aatcttgtga caaaactcac acatgccac cgtgcccagg  
taagccagcc caggcctcgc cctccagctc aaggcgggac aggtgccctg gagtagcctg  
catccaggga caggccccag ccgggtgctg acacgtccac ctccatctct tcctcagcac  
ctgaactcct ggggggaccg tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacacctca  
tgatctcccc gacctctgag gtcacatgcg tgggtgtgga cgtgagccac gaagacctg  
aggtcaagtt caactggtac gtggacggcg tggaggtgca taatgccaa acaaagccgc  
gggaggagca gtacaacagc acgtaccgtg tggtcagcgt cctcacctc ctgcaccagg  
actggctgaa tggcaaggag tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagccccc  
tcgagaaaa catctccaaa gccaaagggt ggacccgtgg ggtgagagg ccacatggac  
agaggccggc tcggcccacc ctctgccttg agagtgacc ctgtaccaac ctctgtccct  
acagggcagc cccgagaacc acagggtgtac acctgcccc catcccgga tgagctgacc  
aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg  
gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac  
tccgacggct cttcttcct ctacagcaag ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag  
gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggtctctg acaaccacta cacgcagaag  
agcctctccc tgtctccgggtaaa

**ФИГУРА 1V**

1519 gL20 короткий ланцюг (V + постійний, mammalian альтернативна експресія) SEQ

ID NO: 75

```

gatatccaga tgacccagag cccatctagc ttatccgctt ccgttggtga
tcgcgtgaca attacgtgta agagctccca atctctcgtg ggtgcaagtg
gcaagacctt tctgtactgg ctctttcaga agcctggcaa ggcacaaaaa
cggctgatct atctgggtgtc tacccttgac tctgggatac cgtcacgatt
ttccggatct gggagcggaa ctgagttcac actcacgatt tcatcgctgc
aacccgagga ctttgctacc tactactgcc tgcaaggcac tcatttccct
cacactttcg gccaggggac aaaactcgaa atcaaacgta cggtagcggc
cccatctgtc ttcactctcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa
ctgcctctgt tgtgtgcctg ctgaataact tctatcccag agaggccaaa
gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa tcgggtaact ccagggagag
tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc agcagcacc
tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcttgcgaa
gtcaccatc agggcctgag ctgcgccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgt

```

1519gH20 Fab' довгий ланцюг (V + людський гамма-1 CH1 + підвіска, mammalian експресія на базі змін SEQ ID NO: 38) SEQ ID NO: 76

```

gaggtagcac ttgtggaaaag cggaggaggt cttgtgcagc ctggaggaag
tttacgtctc tcttgtgctg tgtctggctt caccttctcc aattacggaa
tggtctgggt cagacaagca cctggaaaag gtcttgaatg ggtggcctat
attgactctg acggggacaa cacctactat cgggattccg tgaaaggacg
cttcacaatc tcccagata acgccaagag ctactgtac ctgcagatga
atagcctgag agccgaggat actgccgtgt actattgcac aacgggaatc
gttaggcctt ttctgtactg gggacagggc accttgggta ctgtctcgag
cgcttctaca aagggcccat cgtcttccc cctggcacc cctccaaga
gcacctctgg gggcacagcg gccctgggct gcctgggtaa ggactacttc
cccgaaccgg tgacgggtgtc gtggaactca ggcgcctga ccagcggcgt
gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac tccctcagca
gcgtgggtgac cgtgccctcc agcagcttg gcacccagac ctacatctgc
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc
caaactctgt gacaaaactc acacatgcgc cgcg

```

1519 gH20 Fab' довгий ланцюг з сигнальною послідовністю підкресленою і виділеною *italic* (mammalian експресія на базі змін SEQ ID NO: 42) SEQ ID NO: 77

```

atggaatgga gctgggtctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctacaggagt
ccattctgag gtaccacttg tggaagcgg aggaggtctt gtgcagcctg
gaggaagttt acgtctctct tgtgtgtgt ctggcttcac cttctccaat
tacggaatgg tctgggtcag acaagcacct ggaaagggtc ttgaatgggt
ggcctatatt gactctgacg gggacaacac ctactatcgg gattccgtga
aaggacgctt cacaatctcc cgagataacg ccaagagctc actgtacctg
cagatgaata gcctgagagc cgaggatact gccgtgtact attgcacaac
gggaatcggt aggccttttc tgtactgggg acagggcacc ttgggtactg
tctcgagcgc ttctacaaa ggcccatcgg tcttccccct ggcacctcc
tccaagagca cctctggggg cacagcggcc ctgggctgcc tggtaagga
ctacttcccc gaaccgggtga cgggtgctgt gaactcaggc gccctgacca
gcggcgtgca caccttcccc gctgtcctac agtcctcagg actctactcc
ctcagcagcg tggtagccgt gccctccagc agcttgggca ccagaccta
catctgcaac gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagaaag
ttgagcccaa atcttgtgac aaaactcaca catgcgccgc g

```



**ФІГУРА 1W**

1519gL20 FabFv короткий ланцюг (альтернативна послідовність до SEQ ID NO: 46)  
 SEQ ID NO: 78

```
DIQMTQSPSS LSASVGDRVIT ITCKSSQSLV GASGKTYLYW LFQKPGKAPK
RLIYLVSTLD SGIPSRFSGS GSGTEFTLTI SSLQPEDFAT YYCLOQTHFP
HTFGQGKLE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVCL LNNFYPREAK
VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE
VTHQGLSSPV TKSFNREGCEG GGGSGGGGSG GGGSDIQMTQ SPSSVSASVG
DRVITITQSS PSVWSNFLSW YQKPGKAPK LLIYEASKLT SGVPSRFSGS
GSGTDFTLTI SSLQPEDFAT YYCGGYSI SDTTFGCGTK VEIKRT
```

1519gL20 FabFv короткий ланцюг (альтернативна послідовність до SEQ ID NO: 47)  
 SEQ ID NO: 79

```
gacatccaga tgacccagtc cccctccagc ctgtccgcct ccgtgggcga
cagagtgacc atcacatgca agtcctccca gtccctggtc ggagcctccg
gcaagacctt cctgtactgg ctgttccaga agcccgcaa ggcccccaag
cggtgatctt acctggtgtc taccctggac tccggcatcc cctcccgggt
ctccggctct ggctctggca ccgagttcac cctgaccatc tccagcctgc
agcccagaga cttcgccacc tactactgtc tgcaaggcac ccacttcccc
cacaccttcg gccagggcac caagctggaa atcaagcgga ccgtagcggc
cccatctgtc ttcactctcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa
ctgcctctgt tgtgtgctgt ctgaataact tctatcccag agaggccaaa
gtacagtggg aggtggataa cgccctccaa tcgggtaact ccagggagag
tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc agcagcacc
tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgctgcgaa
gtcaccctac agggcctgag ctgcctcgtc acaaagagct tcaacagggg
agagtgtggg ggaggtgggt ctggcggtgg tggctccgga ggcggaggaa
gcgacatcca gatgaccag agcccttcct ctgtaagcgc cagtgtcgga
gacagagtga ctattacctg ccaaagctcc ccttcagtct ggtccaattt
tctatcctgg tatcagcaaa agcccggaaa ggctcctaaa ttgctgatct
acgaagcaag caaactcacc agcggcgtgc ccagcaggtt cagcggcagt
gggtctggaa ctgactttac cctgacaatc tcctcactcc agcccagga
cttcgccacc tattactgcg gtggaggtta cagtagcata agtgatacga
catttggatg cggcactaaa gtggaaatca agcgtacc
```

**ФІГУРА 1Х**

1519gH20 FabFv довгий ланцюг (альтернативна послідовність до SEQ ID NO: 51) SEQ ID NO: 80

```

gaggtgcccc tgggtggaatc tggcggcgga ctggtgcagc ctggcggtc
cctgagactg tcttgccgctt tgtccggctt cactttctcc aactacggca
tgggtctgggt ccgacaggct cctggcaagg gactggaatg ggtggcctac
atcgactccg acggcgacaa cacctactac cgggactccg tgaagggccg
gttcaccatc tcccgggaca acgccaagtc ctccctgtac ctgcagatga
actccctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcac caccggcatc
gtgcggccct ttctgtactg gggccagggc accctggta ccgtgtcctc
tgcttctaca aagggcccat cggctctccc cctggcacc tcctccaaga
gcacctctgg gggcacagcg gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc
cccgaaccgg tgacgggtgtc gtggaactca ggcgccctga ccagcggcgt
gcacaccttc cggctgttcc tacagtcttc tggactctac tccctcagca
gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc
aacgtgaatc acaagccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc
caaattctgt tccggagggtg gcggttccgg aggtggcggg acaggtggcg
gtgggtccga agtccagctg cttgaatccg gaggcggact cgtgcagccc
ggaggcagtc ttgcgttgtc ctgcgctgta tctggaatcg acctgagcaa
ttacgccatc aactgggtga gacaggcacc tgggaaatgc ctcgaatgga
tcggcattat atgggctagt gggacgacct tttatgctac atgggcgaag
ggtagattca caatctcacg ggataatagt aagaacacag tgtacctgca
gatgaactcc ctgcgagcag aggataccgc cgtttactat tgtgctcgca
ctgtcccagg ttatagcact gcaccctact ttgatctgtg ggggc'agggc
actctgggtc cgtctcgtc c

```

**ФІГУРА 1У** (сигнальна послідовність підкреслена і виділена *italic*)

ЩуриAb 1548 VL область (альтернативна послідовність до SEQ ID NO: 58) SEQ ID NO: 81

```

DVVMTQTPLS LSVAIGQPAS ISSKSSQSLV GAGGKTYLYW LLQRSQSPK
RLIYLVSTLD SGIPDRFSGS GAETDFTLKI RRVEADDLGV YYCLQGTHFP
HTFGAGTNLE IK

```

Щури Ab 1548 VL область (альтернативна послідовність до SEQ ID NO: 59) SEQ ID NO: 82

```

gatgttgtga tgacccagac tccactgtct ttgtcggttg ccattggaca
accagcctcc atctcttcta agtcaagtca gaggctcgta ggtgctgggtg
gaaagacata tttgtattgg ttattacaga ggtccggcca gtctccaaag
cgactaatct atctggtgtc cacactggac tctggaattc ctgatagggtt
cagtggcagtg ggagcagaga cagattttac tcttaaaatc cgcagagtgg
aagccgatga tttgggagtt tattactgct tgcaaggtag acattttcct
cacacgtttg gagctgggac caacctggaa ataaaa

```

Щури Ab 1548 VH область (альтернативна послідовність до SEQ ID NO: 60) SEQ ID NO: 83

```

EVPLVESGGG SVQPGRSMKL SCVVSGFTFS NYGMVWVRQA PKKGLEWVAY
IGSDGDNTYY RDSVKGRFTI SRNNAKSTLY LQMDSLRSED TATYYCTGTI
VRPFLYWGGG VMVTVS

```

Щури Ab 1548 VH область (альтернативна послідовність до SEQ ID NO: 61) SEQ ID NO: 84

```

gaggtgccgc tgggtggagtc tggggggcggc tcagtgcagc ctgggaggtc
catgaaactc tcctgtgtag tctcaggatt cactttcagt aactatggca
tgggtctgggt ccgccaggct ccaaagaagg gtctggagtg ggtcgcataat
attggttctg atggtgataa tacttactac cgagattccg tgaagggccg
attcactatc tccagaaata atgcaaaaag caccctatat ttgcaaatgg
acagtctgag gtctgaggac acggccactt attactgtac aacagggatt
gtccggccct ttctctactg gggccaagga gtcattgtca cagtctcg

```

**ФИГУРА 1Z**

1519gH20 IgG1 довгий ланцюг (V + людський гамма-1 постійний, екзони підкреслено на базі змін до SEQ ID NO: 71) SEQ ID NO: 85

gaggtagccac ttgtggaag cggaggaggt cttgtgcagc ctggaggaag tttacgtctc  
tcttgtgctg tgtctggctt cacctctcc aattacgga tggctctgggt cagacaagca  
cctggaaagg gtcttgaatg ggtggcctat attgactctg acggggacaa cacctactat  
cgggattccg tgaaggacg cttcacaatc tcccgagata acgccaagag ctcactgtac  
ctgcagatga atagcctgag agccgaggat actgccgtgt actattgcac aacgggaatc  
gttaggcctt ttctgtactg gggacagggc accttgggtt ctgtctcgag cgcttctaca  
aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg  
gcctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgc gtggaactca  
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggtctgtc tacagtcctc aggactctac  
tcctcagca gcgtgggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc  
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgggtg gaggccagca  
caggaggga gggtgtctgc tggaagccag gctcagcgt cctgcctgga cgcacccgg  
ctatgcagcc ccagtccagg gcagcaaggc aggccccgtc tgctcttcca cccggaggcc  
tctgcccgcc ccactcatgc tcagggagag ggtcttctgg ctttttcccc aggtctctggg  
caggcacagg ctaggtgccc ctaaccagc ccctgcacac aaaggggag gtgctgggct  
cagacctgcc aagagccata tccgggagga ccctgcccc gacctaaagg caccccaagg  
gccaaactct ccactccctc agctcggaca ccttctctcc tcccagatct gagtaactcc  
caatcttctc tctgcagagc ccaaatcttg tgacaaaact cacacatgcc caccgtgccc  
aggtaagcca gcccaggcct cgccctccag ctcaaggcgg gacagggtgc ctagagttagc  
ctgcatccag ggacaggccc cagccgggtg ctgacacgtc cacctccatc tcttctcag  
cacctgaact cctgggggga ccgtcagtct tcctcttccc ccaaaaccc aaggacaccc  
tcattgatctc ccggaccctc gaggtcacat gcgtgggtgg ggacgtgagc cacgaagacc  
ctgagggtcaa gttcaactgg tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc  
cgcgggagga gcagtacaac agcacgtacc gtgtgggtcag cgctctcacc gtcctgcacc  
aggactggct gaatggcaag gagtacaagt gcaagggtctc caacaaagcc ctcccagccc  
ccatcgagaa aacctctcc aaagccaaa gtgggacccg tgggggtgcga gggccacatg  
gacagaggcc ggctcggccc accctctgcc ctgagagtga ccgctgtacc aacctctgtc  
cctacagggc agccccgaga accacagggtg tacaccctgc ccccatccc ggatgagctg  
accaagaacc aggtcagcct gacctgctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc  
gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg  
gactccgacg gctccttctt cctctacagc aagctcaccg tggacaagag cagggtggcag  
caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgacacaacca ctacacgcag  
aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa

## ФІГУРА 1АА

1519gH20 IgG1 довгий ланцюг (V + людський гамма-1 постійний) з сигнальною послідовністю підкресленою і виділеною *italic* (база відмінна від SEQ ID NO:72) SEQ ID NO:86

*atggaatgga gctgggtctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctacaggagt ccattctgag  
gtaccacttg tggaagcgg aggaggtctt gtgcagcctg gaggaagttt acgtctctct  
tgtgctgtgt ctggcttcac cttctccaat tacggaatgg tctgggtcag acaagcacct  
ggaaagggtc ttgaatgggt ggcctatatatt gactctgacg gggacaacac ctactatcgg  
gattccgtga aaggacgctt cacaatctcc cgagataacg ccaagagctc actgtacctg  
cagatgaata gcctgagagc cgaggataact gccgtgtact attgcacaac gggaatcggt  
aggccttttc tgtactgggg acagggcacc ttggttactg tctcgagcgc ttctacaaag  
ggcccatcgg tcttccccct ggcacctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc  
ctgggctgcc tggtaagga ctacttcccc gaaccggtga cgggtgctg gaactcaggc  
gccctgacca gcggcgtgca caccttcccc gctgtcctac agtctcagg actctactcc  
ctcagcagcg tggtagccgt gccctccagc agcttgggca cccagacctc catctgcaac  
gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagaaag ttggtgagag gccagcacag  
ggagggaggg tgtctgctgg aagccaggct cagcgtctct gcctggacgc atcccggcta  
tgacgcccc agtccaggga gcaaggcagg ccccgctctgc ctcttcaccg ggaggcctct  
gcccgcccca ctcatgctca gggagagggt cttctggcct ttccccagg cctctggcag  
gcacaggcta ggtgcccta acccaggccc tgcacacaaa ggggcagggt ctgggctcag  
acctgccaa agccatatac gggaggacc tgcacctgac ctaagccac cccaaaggcc  
aaactctcca ctccctcagc tcggacacct tctctctctc cagatctgag taactcccaa  
tcttctctct gcagagccca aatcttgtga caaaactcac acatgccac cgtgccagg  
taagccagcc caggcctcgc cctccagctc aaggcgggac aggtgcccta gtagcctg  
catccaggga caggccccag ccgggtgctg acacgtccac ctccatctct tctcagcac  
ctgaactcct ggggggaccg tcagtcttcc tcttcccc aaacccaag gacacctca  
tgatctcccg gaccctgag gtcacatgcg tgggtgtgga cgtgagccac gaagacctg  
aggtaaggt caactggtac gtggacggcg tggaggtgca taatgccaa acaaagccgc  
gggaggagca gtacaacagc acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg  
actggtctgaa tggcaaggag tacaagtga aggtctccaa caaagccctc ccagcccca  
tcgagaaaac catctccaaa gccaaagggt ggacccgtgg ggtgcgaggg ccacatggac  
agaggccggc tcggccacc ctctgccctg agagtgaccg ctgtaccaac ctctgtccct  
acagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catcccgga tgagctgacc  
aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg  
gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac  
tccgacggct ccttcttct ctacagcaag ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag  
gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggtctctgc acaaccacta cagcagaag  
agcctctccc tgtctccggtaaa*

1519gH20 IgG4 довгий ланцюг (V + людський гамма-4 постійний немає Р мутацій) SEQ ID NO:87

EVPLVESGGG LVQPGGSLRL SCAVSGFTFS NYGMVWVRQA PGKGLEWVAY  
IDSDGDNITYY RDSVKGRFTI SRDNAKSSLY LQMNSLRAED TAVYYCTTGI  
VRPFLYWGGQ TLVTVSSAST KGPSVFPLAP CSRSTSESTA ALGCLVKDYF  
PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVTVPS SSLGKTYTC  
NVDHKPSNTK VDKRVESKYG PPCPSCPAPE FLGGPSVFLF PPKPKDTLMI  
SRTPEVTCVV VDVSQEDPEV QFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQFNSTYRVV  
SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKGLPSSIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP  
SQEEMTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSDGS  
FFLYSRLTVD KSRWQEGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SLGK

## ФІГУРА 1ВВ

1519gH20 IgG4 довгий ланцюг (V + людський гамма-4 постійний, exons підкреслений  
немає Р мутацій) SEQ ID NO: 88

gaggtaccac ttgtggaaag cggaggaggt cttgtgcagc ctggaggaaag  
 ttacgtctc tcttgtgctg tgtctggett caccttctcc aattacggaa  
 tggctctgggt cagacaagca cctggaaagg gtcttgaatg ggtggcctat  
 attgactctg acggggacaa cacctactat cgggattccg tgaaaggacg  
 cttcacaaatc tcccagagata acgccaagag ctactgtac ctgcagatga  
 atagcctgag agccgaggat actgccgtgt actattgcac aacgggaatc  
 gttaggcctt ttctgtactg gggacagggc accttggtta ctgtctcgag  
 cgtctctaca aagggcccat ccgtcttccc cctggcgccc tgctccagga  
 gcacctccga gaggcacagc gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc  
 cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca ggcgccctga ccagcgcggt  
 gcacaccttc ccggtgttcc tacagtcttc aggactctac tccctcagca  
 gcgtgggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacgaagac ctacacctgc  
 aacgtagatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga gagtgtgtga  
 gaggccagca cagggaggga ggggtgtctgc tggaagccag gctcagccct  
 cctgacctga cgcaccccg gtgtgcagcc ccagcccagg gcagcaaggc  
 atgccccatc tgtctcctca cccggaggcc tctgaccacc cactcctgc  
 ccagggagag ggtcttctgg atttttccac caggctccgg gcagccacag  
 gctggatgcc cctaccccag gccctgcgca tacaggggca ggtgctgcgc  
 tcagacctgc caagagccat atccgggagg acctgcccc tgacctaaagc  
 ccaccccaaa ggccaaactc tccactccct cagctcagac accttctctc  
 ctcccagatc tgagtaactc ccaatcttct ctctgcagag tccaaatatg  
 gtcccccatg cccatcatgc ccaggtaagc caaccaggg ctcgccctcc  
 agctcaaggc gggacagggt ccctagagta gcctgcctcc agggacaggc  
 ccagccggg tgctgacgca tccacctcca tctcttctc agcacctgag  
 ttcttggggg gacctcagt ctctctgttc ccccaaaaac ccaaggacac  
 tctcatgata tcccggacct ctgaggtcac gtgcgtggtg gtggacgtga  
 gccaggaaga ccccgaggtc cagttcaact ggtacgtgga tggcgtggag  
 gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag gaggagttca acagcacgta  
 ccgtgtgggtc agcgtcctca ccgtcctgca ccaggactgg ctgaacggca  
 aggagtacaa gtgcaaggtc tccaacaaag gcctcccgtc ctccatcgag  
 aaaaccatct ccaaagccaa aggtgggacc cacggggtgc gaggggccaca  
 tggacagagg tcagctcggc ccacctctg ccctgggagt gaccgctgtg  
 ccaacctctg tccctacagg gcagccccga gagccacagg tgtacacctt  
 gcccccatcc caggaggaga tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc  
 tgggtcaaagg cttctacccc agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat  
 gggcagccgg agaacaacta caagaccacg cctcccgtgc tggactccga  
 cggctccttc ttctctaca gcaggctaac cgtggacaag agcaggtggc  
 aggaggggaa tgtcttctca tgctccgtga tgcatgaggc tctgcacaac  
 cactacacac agaagagcct ctccctgtct ctgggtaaa

## ФІГУРА 1СС

1519gH20 IgG4 довгий ланцюг (V + людський гамма-4 постійний) з сигнальною послідовністю підкресленою і виділеною *italic* – немає Р мутації SEQ ID NO: 89

*atggaatgga gctgggtctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctacaggagt*  
*ccattctgag gtaccacttg tggaaagcgg aggaggtctt gtgcagcctg*  
*gaggaagttt acgtctctct tgtgctgtgt ctggcttcac cttctccaat*  
*tacggaatgg tctgggtcag acaagcacct ggaaagggtc ttgaatgggt*  
*ggcctatatatt gactctgacg gggacaacac ctactatcgg gattcctgtga*  
*aaggacgctt cacaatctcc cgagataacg ccaagagctc actgtacctg*  
*cagatgaata gcctgagagc cgaggatact gccgtgtact attgcacaac*  
*gggaatcgtt aggccttttc tgtactgggg acagggcacc ttggttactg*  
*tctcgaagcgc ttctacaaaag ggcccatccg tcttccccct ggcgccctgc*  
*tccaggagca cctccgagag cacagccgcc ctgggctgcc tggtaagga*  
*ctacttcccc gaaccggtga cgggtgtcgtg gaactcaggc gccctgacca*  
*gcggcgtgca caccttcccg gctgtcctac agtcctcagg actctactcc*  
*ctcagcagcg tggtagccgt gccctccagc agcttgggca cgaagacctg*  
*cacctgcaac gtagatcaca agcccagcaa caccaagggtg gacaagagag*  
*ttggtgagag gccagcacag ggaggagggt tgtctgctgg aagccaggct*  
*cagccctcct gcctggagcgc accccggctg tgcagcccca gccagggca*  
*gcaaggcatg ccccatctgt ctctcaccg ggaggcctct gaccaccca*  
*ctcatgcccc gggagagggt cttctggatt ttccaccag gctccgggca*  
*gccacaggct ggatgcccc accccaggcc ctgcgcatac aggggcagg*  
*gctgcgctca gacctgcaa gagccatata cgggaggacc ctgcccctga*  
*cctaagccca cccaaaggc caaactctcc actccctcag ctgagacacc*  
*ttctctctc ccagatctga gtaactccca atctctctc tgcaagtcc*  
*aaatatggtc ccccatgccc atcatgccc ggtaagccaa cccaggcctc*  
*gccctccagc tcaaggcggg acagggtgcc tagagtagcc tgcattcagg*  
*gacaggcccc agccgggtgc tgacgcattc acctccatt cttcctcagc*  
*acctgagttc ctggggggac catcagtctt cctgttcccc ccaaaacca*  
*aggacactct catgatctcc cggaccctct aggtcacgtg cgtggtgggtg*  
*gacgtgagcc aggaagaccc cgaggctccag ttcaactggg acgtggatgg*  
*cgtggagggtg cataatgcc aacaaaagcc gcgggaggag cagttcaaca*  
*gcacgtaccg tgtggtcagc gtcctcaccg tccctgcacca ggaactggctg*  
*aacggcaagg agtacaagtg caagggtctc aacaaaggcc tcccgctctc*  
*catcgagaaa accatctcca aagccaaaag tgggaccac ggggtgcgag*  
*ggccacatgg acagaggtca gctcggccca cctctgccc tgggagtga*  
*cgtgtgcca acctctgtcc ctacagggca gccccgagag ccacagggtg*  
*acaccctgcc cccatcccag gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg*  
*acctgcctgg tcaaaaggct ctaccccagc gacatcgccg tggagtggga*  
*gagcaatggg cagccgagga acaactacaa gaccacgct cccgtgctgg*  
*actccgacgg ctcttcttct ctctacagca ggctaaccgt ggacaagagc*  
*aggtggcagg aggggaatgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct*  
*gcacaaccac tacacacaga agagcctctc cctgtctctg ggtaaa*

**ФИГУРА 1DD**

1519 gL20 V-область (mammalian експресія альтернативна для SEQ ID NO: 17) SEQ ID NO: 90

gacatccaga tgaccagtc cccctccagc ctgtccgcct ccgtgggcga  
 cagagtгacc atcacatgca agtcctccca gtccctggtc ggagcctccg  
 gcaagaccta cctgtactgg ctgttccaga agcccgгcaа ggcccccaag  
 cggctgatct acctgggtgc taccctggac tccggcatcc cctcccggtt  
 ctccggctct ggctctggca ccgagttcac cctgaccatc tccagcctgc  
 agcccgagga cttcgccacc tactactgtc tgcaaggcac ccacttcccc  
 cacaccttcg gccagggcac caagctggaa atcaag

1519 gL20 короткий ланцюг (V + постійний, mammalian експресія альтернативна до SEQ ID NO: 24) SEQ ID NO: 91

gacatccaga tgaccagtc cccctccagc ctgtccgcct ccgtgggcga  
 cagagtгacc atcacatgca agtcctccca gtccctggtc ggagcctccg  
 gcaagaccta cctgtactgg ctgttccaga agcccgгcaа ggcccccaag  
 cggctgatct acctgggtgc taccctggac tccggcatcc cctcccggtt  
 ctccggctct ggctctggca ccgagttcac cctgaccatc tccagcctgc  
 agcccgagga cttcgccacc tactactgtc tgcaaggcac ccacttcccc  
 cacaccttcg gccagggcac caagctggaa atcaagcgga ccgtggccgc  
 tccctccgtg ttcattcttc caccctccga cgagcagctg aagtccggca  
 ccgcctccgt cgtgtgcctg ctgaacaact tctacccccg cgaggccaag  
 gtgcagtгga aggtggacaa cgcctgcag tccggcaact cccaggaatc  
 cgtcaccgag caggactcca aggacagcac ctactccctg tcctccaccc  
 tgaccctgtc caaggccgac tacgagaagc acaagggtgta cgcctgcgaa  
 gtgaccacc agggcctgtc cagccccgtg accaagtcct tcaaccgggg  
 cgagtgc

**ФИГУРА 1EE**

1519 gH20 V-область (mammalian експресія альтернативна до SEQ ID NO: 31) SEQ ID NO: 92

gaggtgcccc tgggtggaatc tggcggcgga ctggtgcagc ctggcggtc  
 cctgagactg tcttgcgccg tgtccgгctt caccctctcc aactacggca  
 tgggtctgggt ccgacagгct cctggcaagg gactggaatg ggtggcctac  
 atcgactccg acggcgacaa cacctactac cgggactccg tgaaggгccg  
 gttcaccatc tcccgggaca acgccaagtc ctccctgtac ctgcagatga  
 actccctgcg ggccgaggac accgгcgtgt actactgcac caccggcatc  
 gtgcggccct ttctgtactg gggccagggc accctgggtca ccgtgtcc



## ФІГУРА 1FF

1519gH20 IgG4 довгий ланцюг (V + людський гамма-4P постійний альтернативна до SEQ ID NO: 44) SEQ ID NO:93

```

gaggtgcccc tgggtggaatc tggcggcgga ctggtgcagc ctggcgggctc
cctgagactg tcttgccgctg tgcctggctt caccttctcc aactacggca
tgggtctgggt ccgacaggct cctggcaagg gactggaatg ggtggcctac
atcgactccg acggcgacaa cacctactac cgggactccg tgaagggccg
gttcaccatc tcccgggaca acgccaagtc ctccctgtac ctgcagatga
actccctgcg ggccgaggac accgcccgtgt actactgcac caccggcatc
gtgcgggccct ttctgtaactg gggccagggc accctggtea cegtgtcctc
tgctccacc aaggggccct cegtgttccc tctggccctc tgctcccggt
ccacctccga gtctaccgct gctctgggct gcctggtea ggactactc
cccgaagccg tgacagtgtc ctggaactct ggcgccctga cctccggcgt
gcacaccttc cctgccgtgc tgcagtcctc cggcctgtac tccctgtcct
ccgtcgtgac cgtgccctcc tccagcctgg gcaccaagac ctacacctgt
aacgtggacc acaagccctc caacaccaag gtggacaagc ggggtggaatc
taagtacggc cctccctgcc cccctgcc tgccttgaa tttctgggctg
gaccttccgt gtccctgttc ccccaaaagc ccaaggacac cctgatgatc
tcccggaccc ccgaagtgc ctgctgtgtg gtggacgtgt cccaggaaga
tcccagggtc cagttcaatt ggtacgtgga cggcgtgga gtgcacaatg
ccaagacca gcccagagag gaacagttca actccacctc cgggtggtg
tccgtgctga ccgtgctgca ccaggactgg ctgaacggca aagagtacaa
gtgcaaggtg tccaacaagg gcctgccctc cagcatcgaa aagacctct
ccaaggccaa gggccagccc cgcgagcccc aggtgtacac cctgccccct
agccaggaag agatgacca gaaccaggtg tccctgacct gtctggtea
gggtctctac cctccgaca ttgccgtgga atgggagtc aacggccagc
ccgagaacaa ctacaagacc accccctg tgctggacag cgacggctcc
ttcttcctgt actctcggt gaccgtggac aagtcctggg ggcaggaagg
caacgtcttc tctgtctccg tgatgcacga ggcctgcac aaccactaca
cccagaagtc cctgtccctg agcctgggca ag

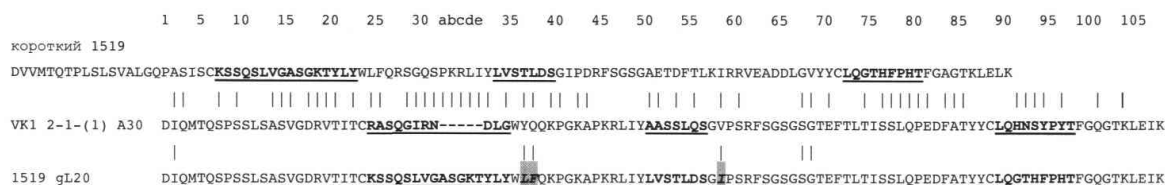
```

Людський  $\beta$ 2M (SEQ ID NO:95)

IQKTPQIQVYSRHPENGKPNFLNCYVSQFHPPQIEIELLKNGKKIPNIEMSDLSFSKDWFSFYLAHTEFTPTETDVYA  
CRVKHVTLEKPKTVTWDRDM

## ФІГ. 2A

Графік довгого ланцюга 1519



## Визначення

1519 = варіабельна послідовність короткого ланцюга щурів

1519 gL20 = Гуманізований графік 1519 варіабельний короткий ланцюг з використанням VK1 2-1-(1) A30 зародкової лінії людини як акцепторної області.

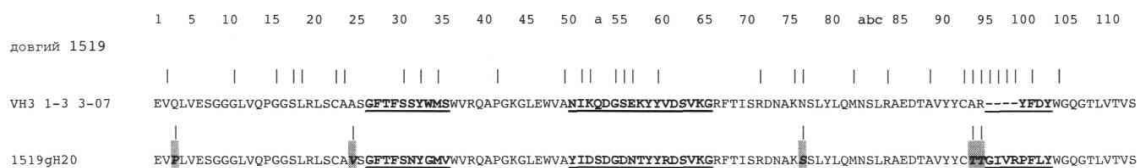
CDRs показано жирним шрифтом/підкреслено

Донорські залишки показані жирним шрифтом/позначені italic і підкреслені: L36, F37 і I58



ФІГ. 2В

Графік довгого ланцюга 1519



#### Визначення

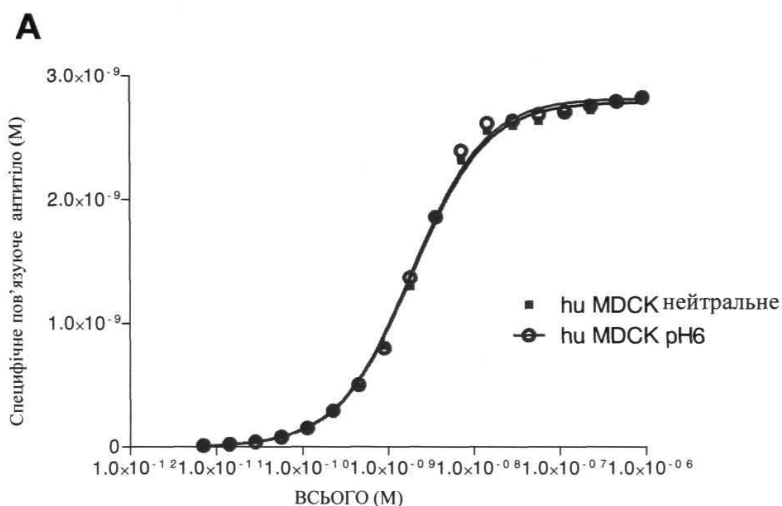
1519 = варіабельна послідовність довгого ланцюга для щурів

1519gH20 = гуманізований графік 1519 варіабельний довгий ланцюг з використанням VH3 1-3 3-07 зародкової лінії людини як акцепторної області.

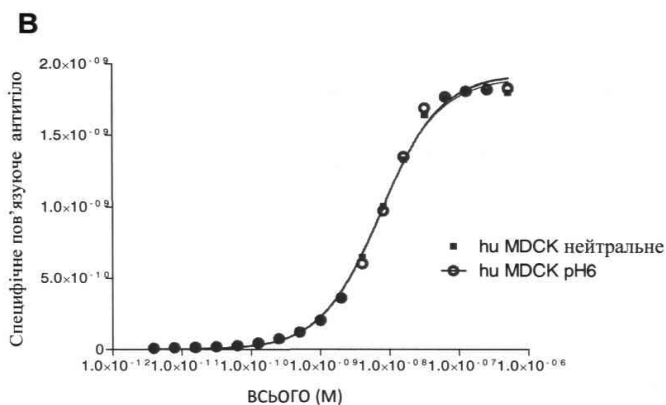
CDRs показані жирним шрифтом/ підкреслені

Донорські залишки показані жирним шрифтом/позначені italic і підкреслені: P3, V24, S76, T93 і T94

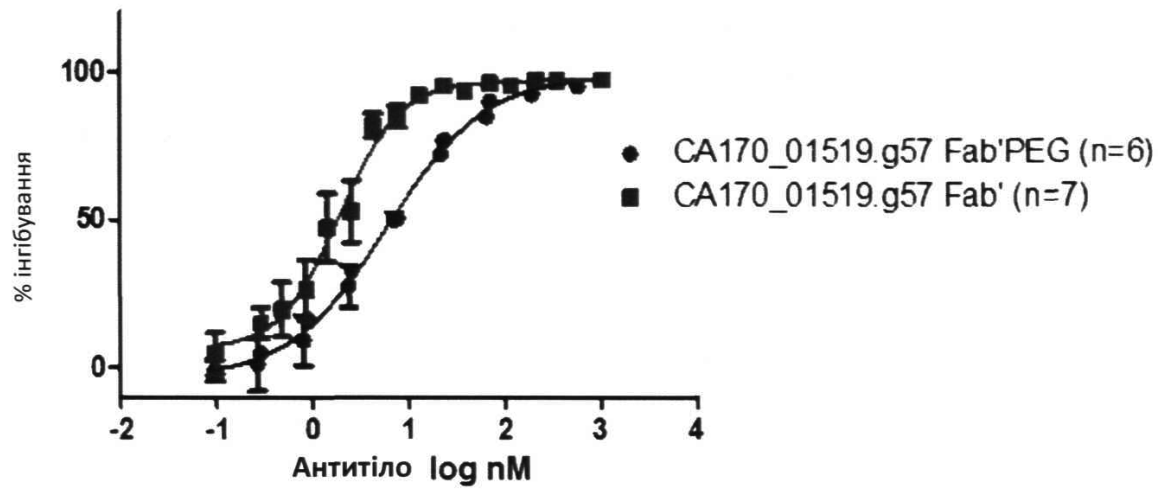
ФІГ. 3А CA170\_01519.g57 Fab' зв'язаний з MDCK II клон 34 клітин в кислотному і нейтральному pH.



ФІГ.3В CA170\_01519.g57 Fab'PEG пов'язаний до MDCK II клону 34 клітин в кислому і нейтральному pH.

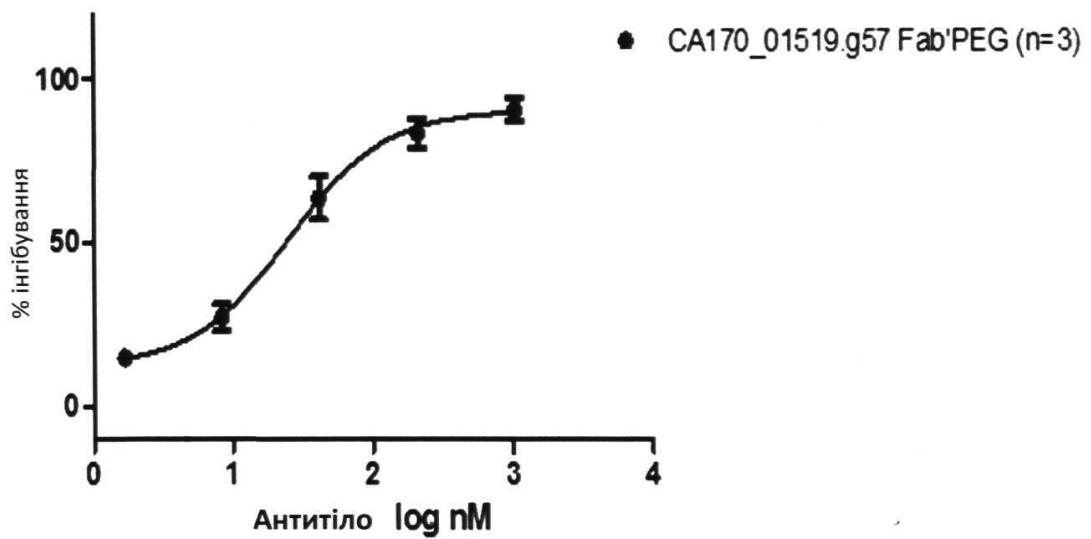


ФІГ.4 CA170\_01519.g57 інгібує переробку IgG у MDCK II клоні 34 клітин

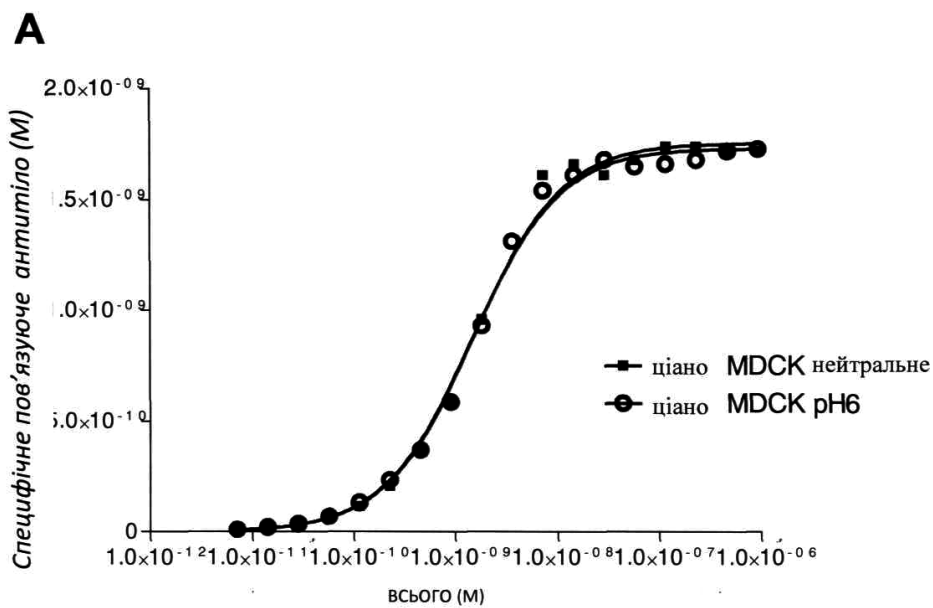


	1519.g57 Fab'PEG (n=6)	1519.g57 Fab' (n=7)
EC50	6.034	1.937
95% CI (nM)	4.614 to 7.891	1.426 to 2.632

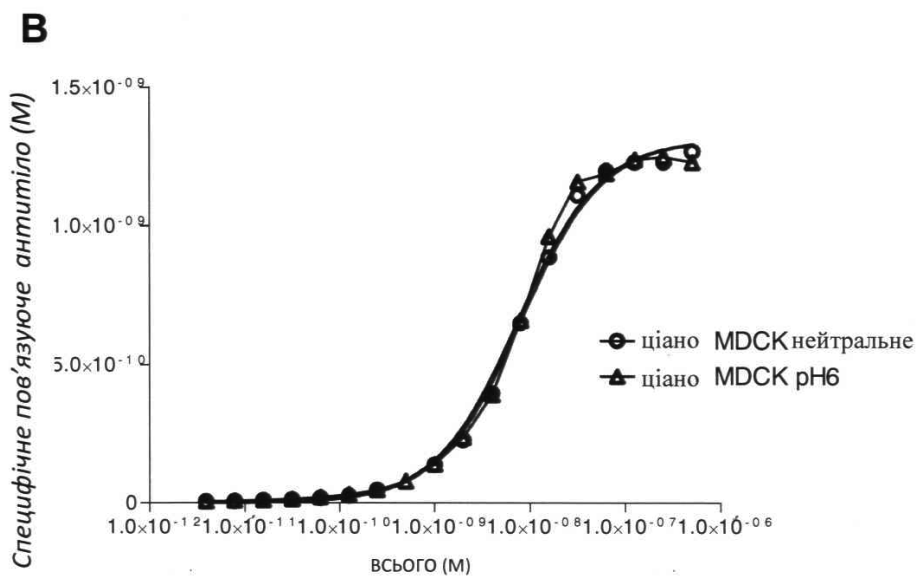
ФІГ. 5 CA170\_01519.g57 Fab'PEG інгібує трансцитоз IgG в MDCK II клоні 34 клітин від апікального до базолатерального.



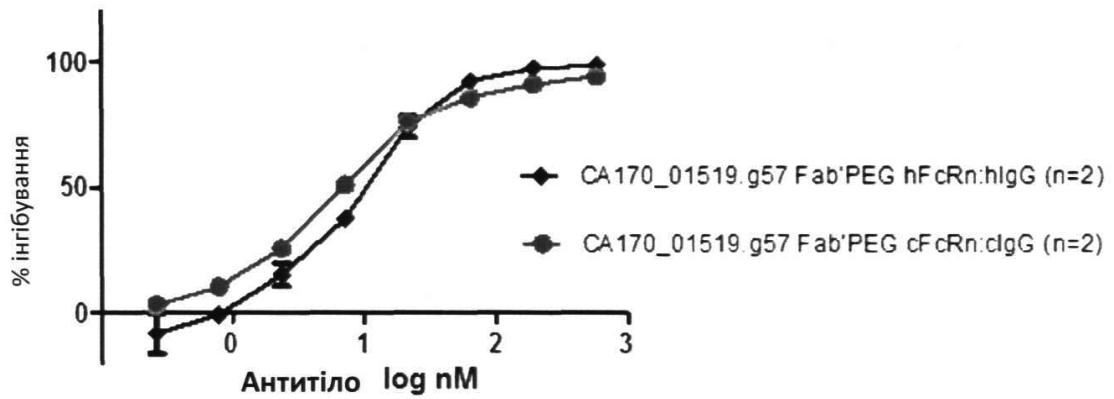
ФІГ. 6А- CA170\_01519.g57 Fab' зв'язка в MDCK II (см) клітинах собакоподібних мавп в кислотному та нейтральному рН



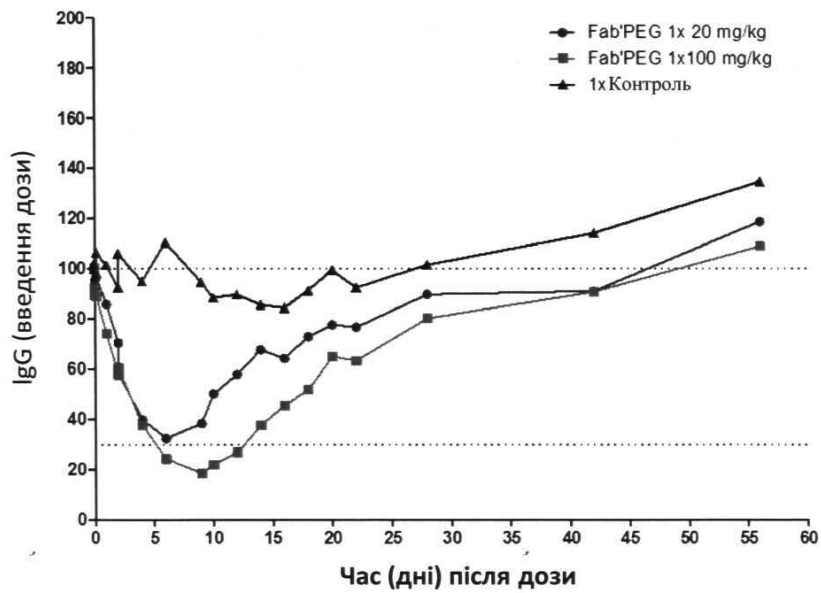
ФІГ. 6В - CA170\_01519.g57 Fab'PEG зв'язка в MDCK II (см) клітинах собакоподібних мавп в кислотному та нейтральному рН



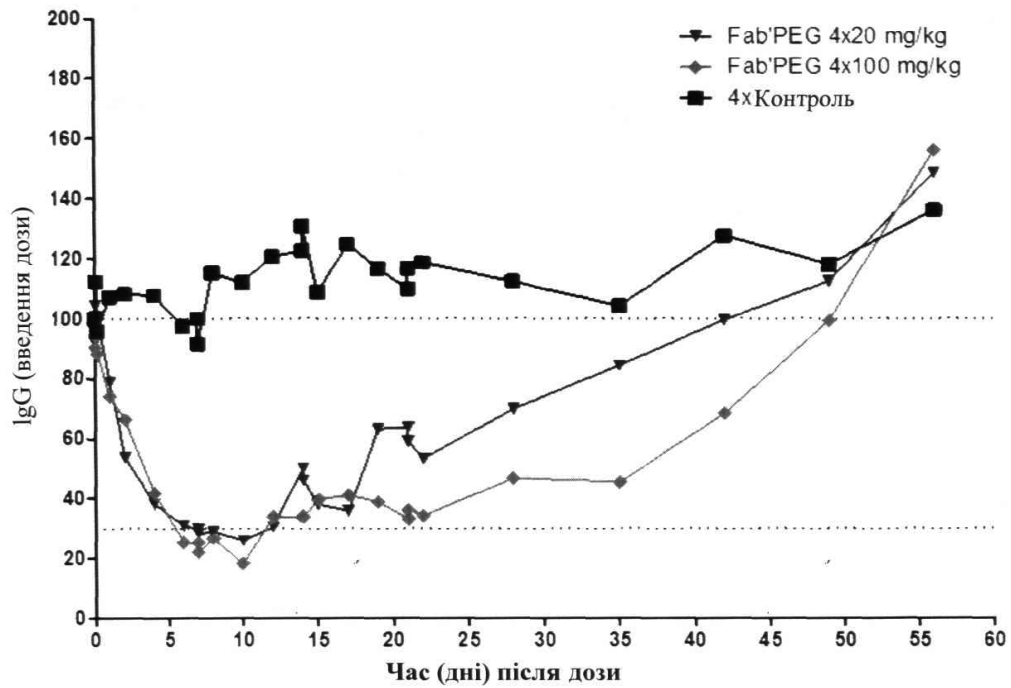
ФІГ. 7 CA170\_01519.g57 інгибує переробку IgG в MDCK II клоні 34 клітин людини і собакоподібних мавп в кислотному та нейтральному рН



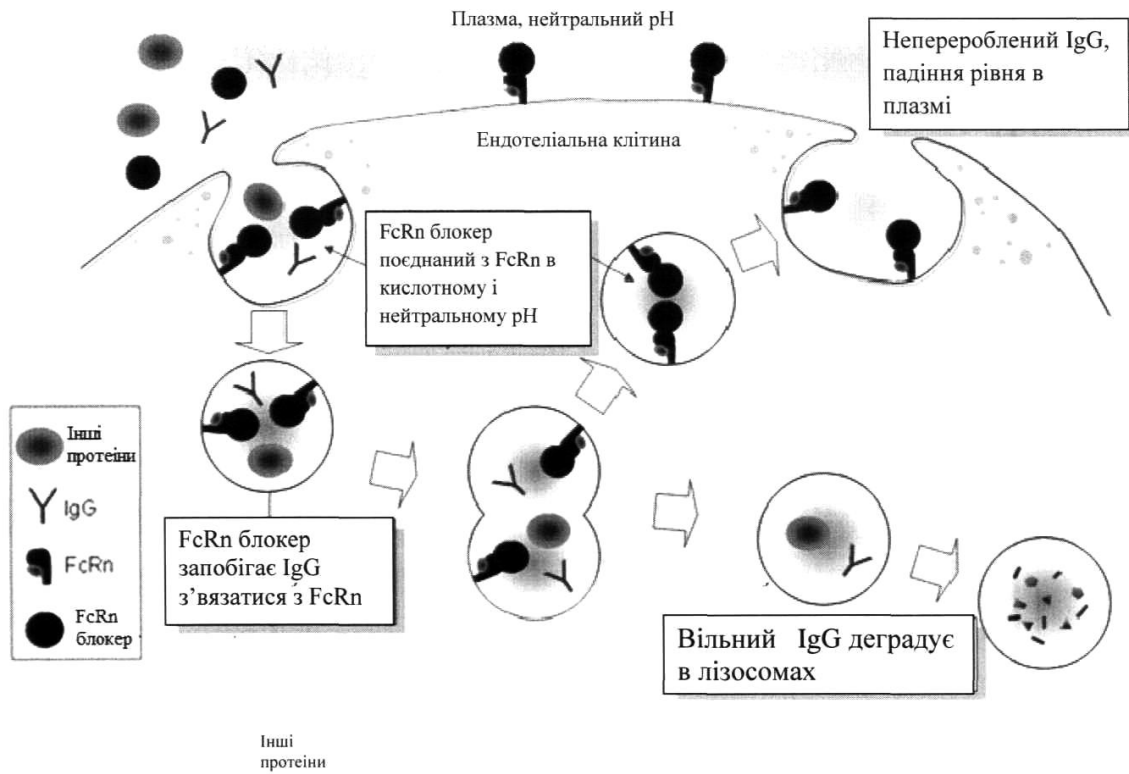
ФІГ. 8 Собакоподібні мавпи –вплив одноразової дози 1519 Fab'PEG на рівень IgG плазми мавп



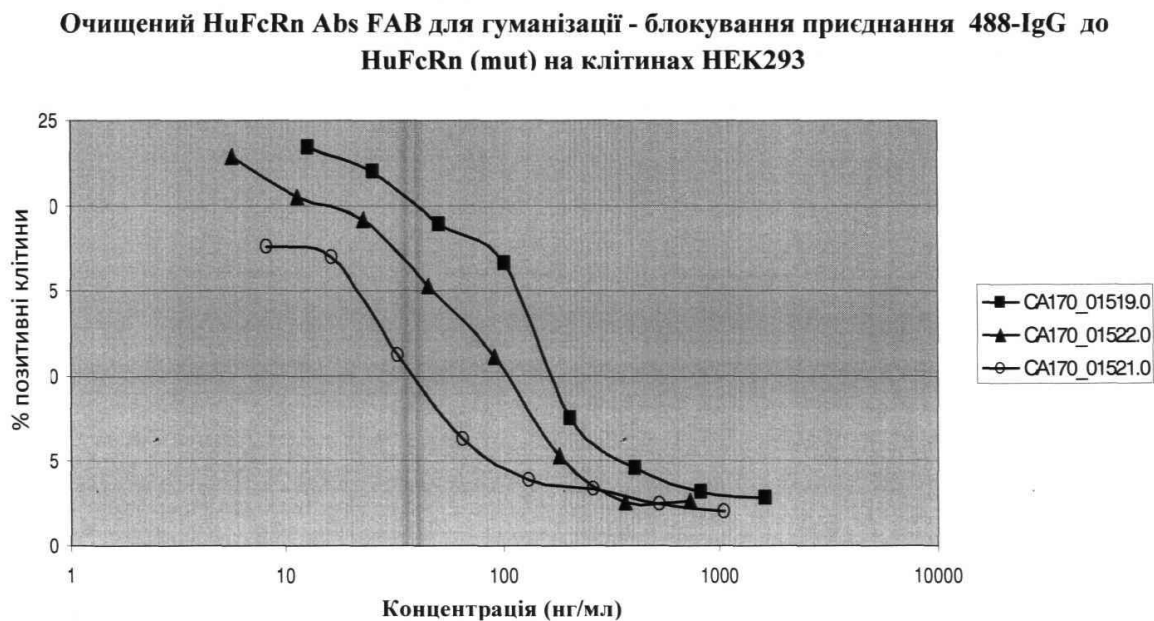
ФІГ. 9 Собакоподібні мавпи – вплив 4 тижневих доз 1519 Fab'PEG на рівень IgG плазми мавп



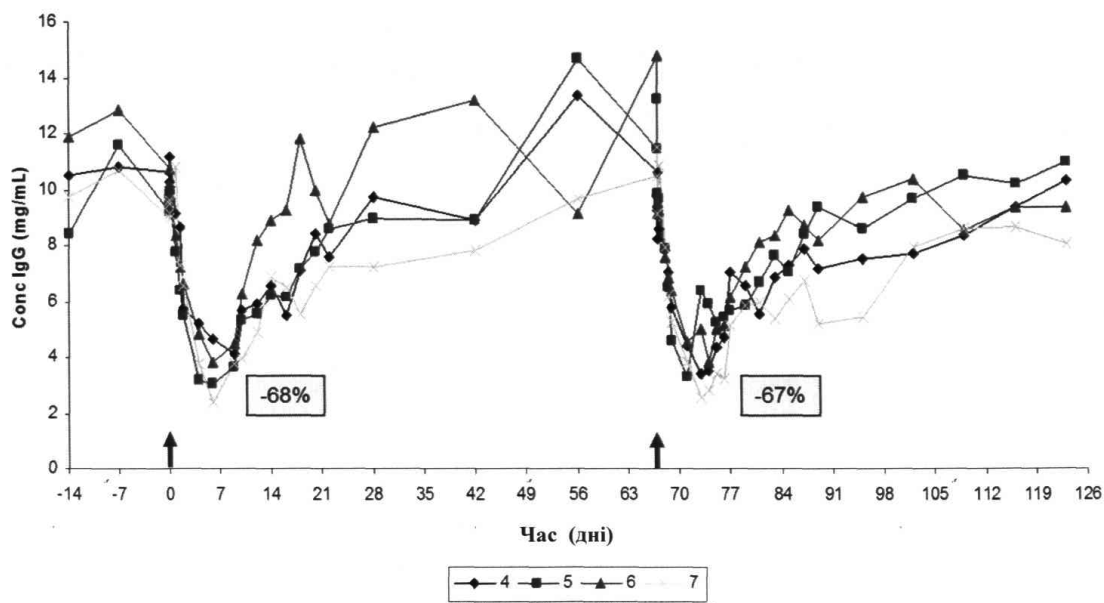
ФІГ. 10



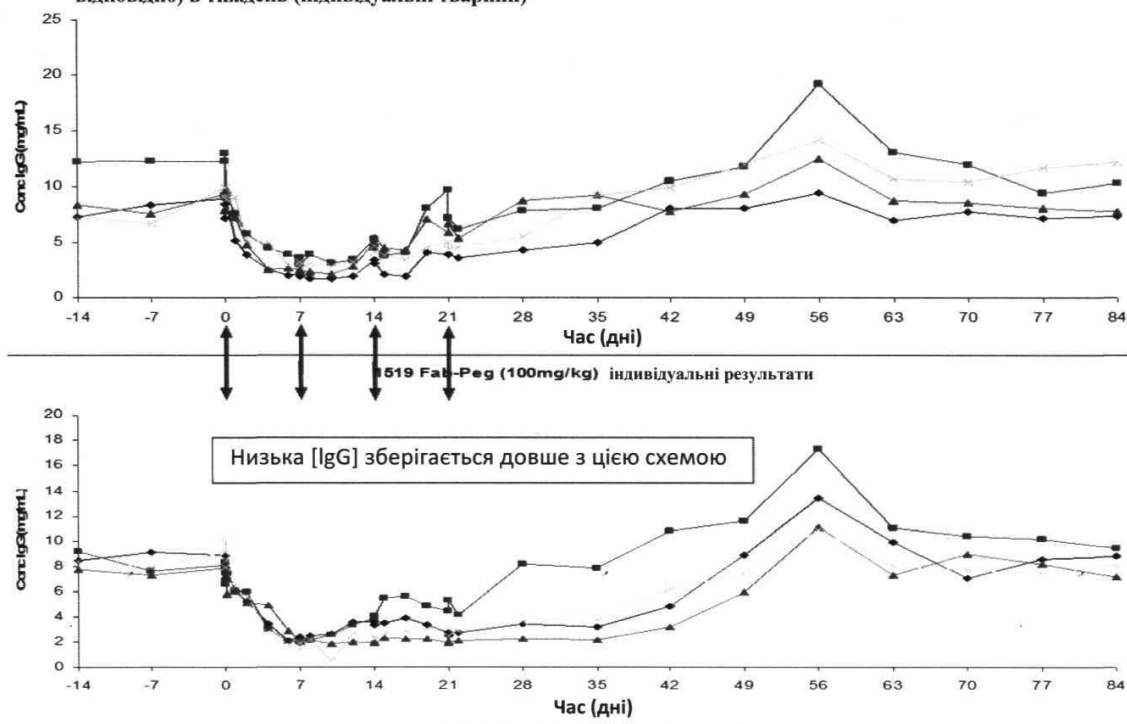
ФІГ. 11 Аналіз проточної цитометрії людського блокуючого IgG з використанням очищених гамма 1 IgG антитіл



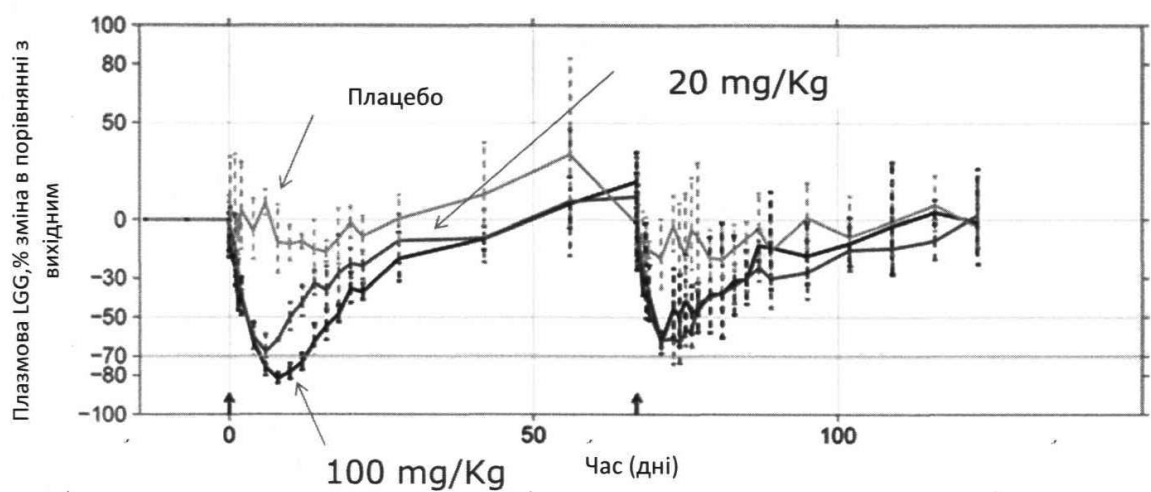
ФІГ. 12 Фармакодинаміка IgG при введенні Fab'PEG -одиничні/ тимчасові IV дози у нормальних макак (4 тварини N: 4-7) -1519 Fab'PEG 20 мг / кг у дні 1 та 67



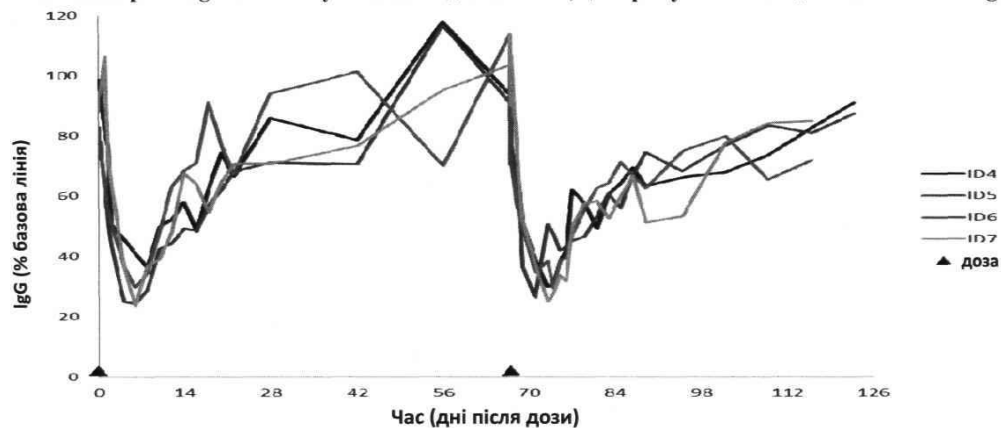
ФІГ. 13 Fab'PEG: фармакодинаміка IgG при повторенні IV доз в нормальних макак- 4х 20 або 100 мг / кг (зверху і низу відповідно) в тиждень (індивідуальні тварини)



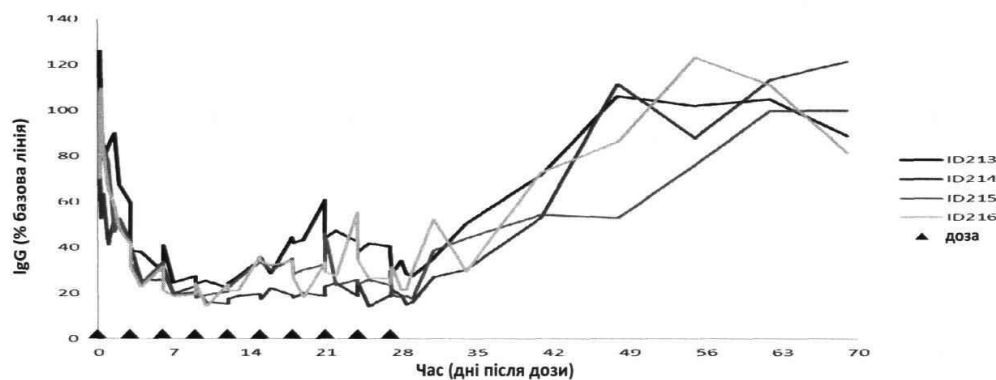
ФІГ. 14 Фармакодинаміка IgG при одиничних/проміжних IV дозах Fab'PEG в нормальних макак- 20 мг / кг і 100 мг / кг в дні 1 і 67



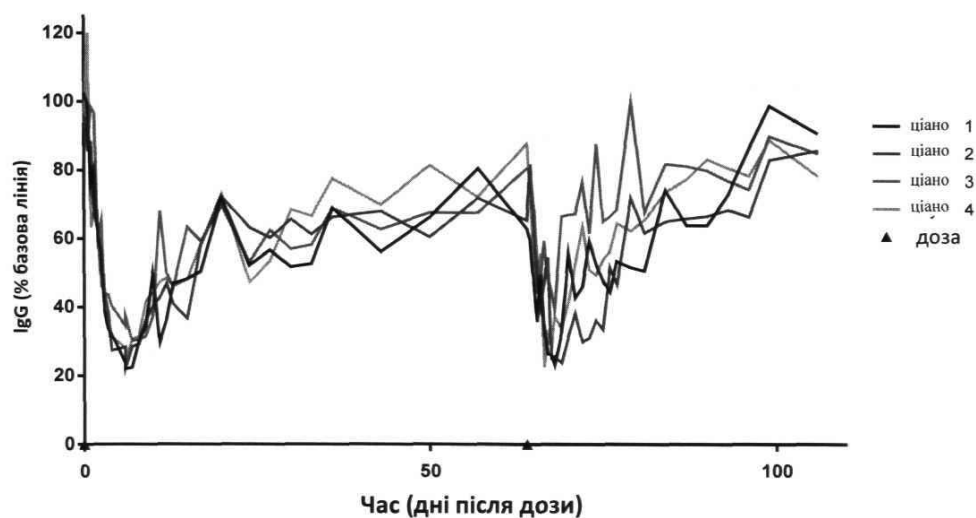
ФІГ. 15 Зміна рівня IgG в плазмі у 4 собакоподібних мавп,що отримували 2 IV дози 20 мг/кг 1519.g57 Fab'PEG



ФІГ. 16 Зміна рівня IgG в плазмі у 4 собакоподібних мавп,що отримували 10 IV доз 20 мг/кг 1519.g57 Fab'PEG кожні 3 дні

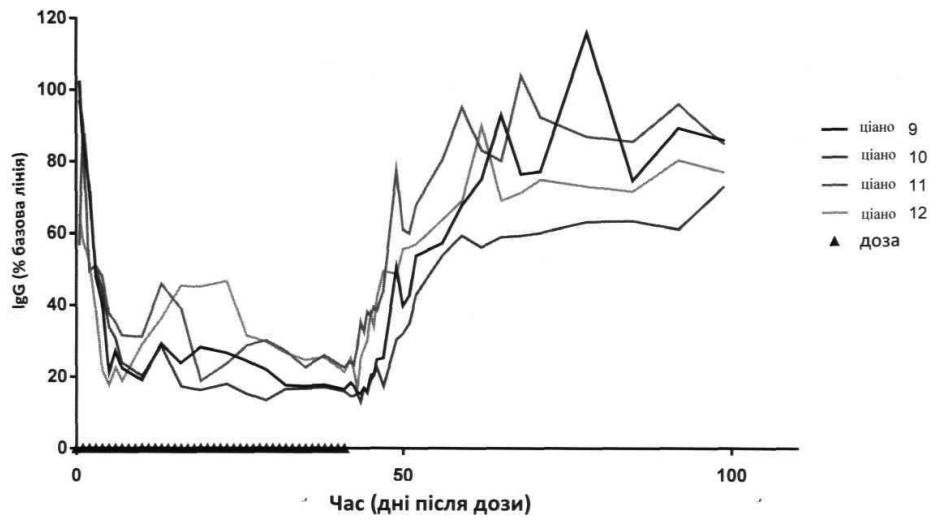


ФІГ. 17 Зміна рівня IgG в плазмі у 4 собакоподібних мавп після 2 IV доз 30 mg/Kg 1519.g57 IgG4P i.v

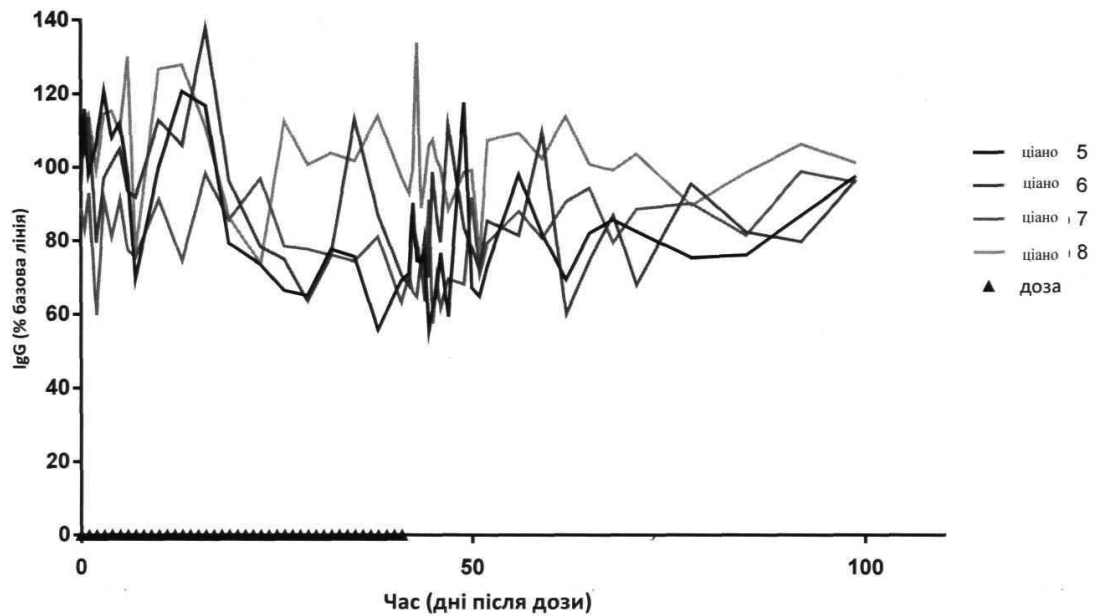




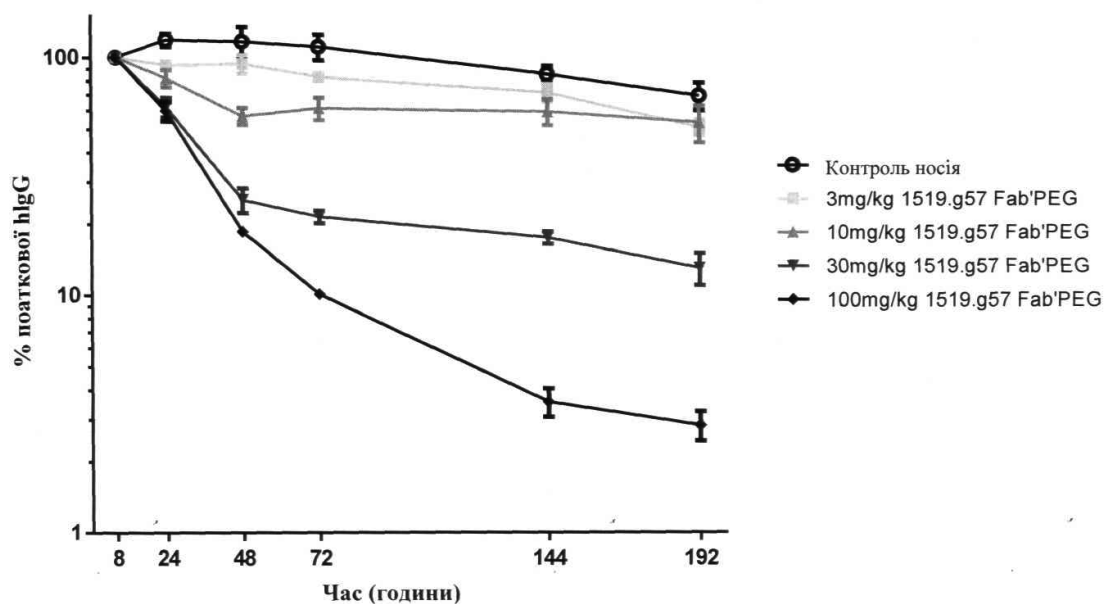
ФІГ. 18 Зміна рівня IgG в плазмі у 4 собакоподібних мавп лікованих з 30 мг/кг 1519.g57 IgG4P в день 0 з продовженням по 5мг/кг1519.g57 IgG4P кожного дня впродовж 41 дня



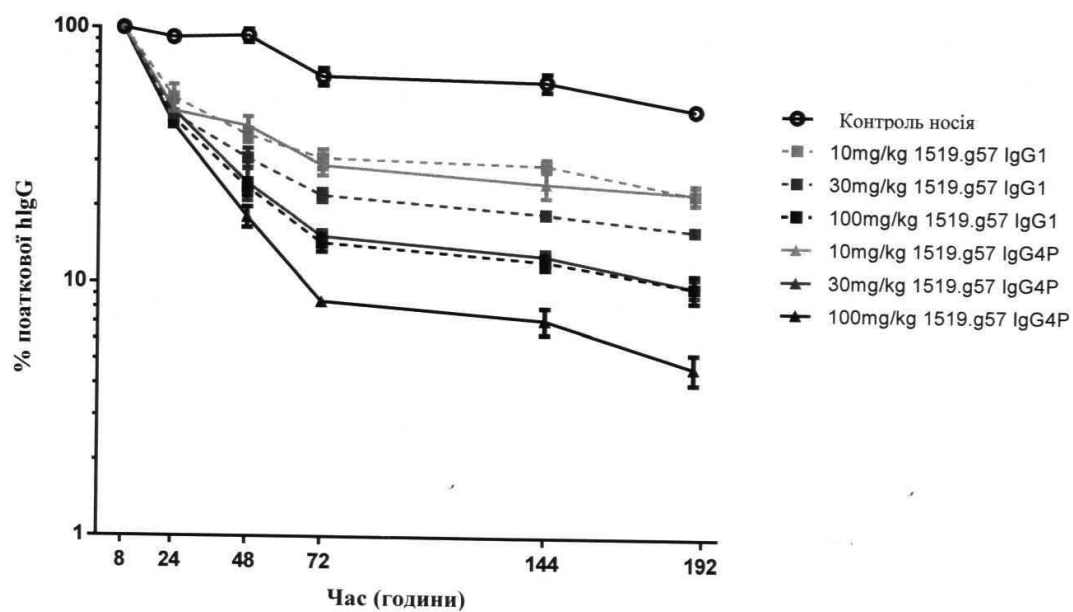
ФІГ. 19 Зміна рівня IgG в плазмі у 4 собакоподібних мавп, що отримували 42 денних доз носія



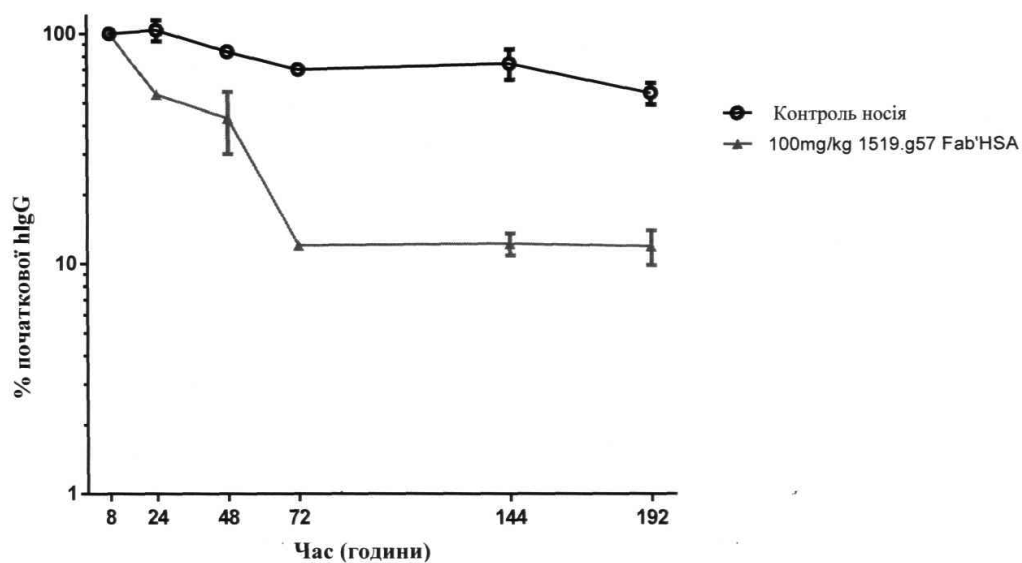
ФІГ. 20 Підвищений кліренс IV hIgG в плазмі hFcRn трансгенних мишей, що отримували CA170\_01519.g57 Fab'PEG або PBS IV



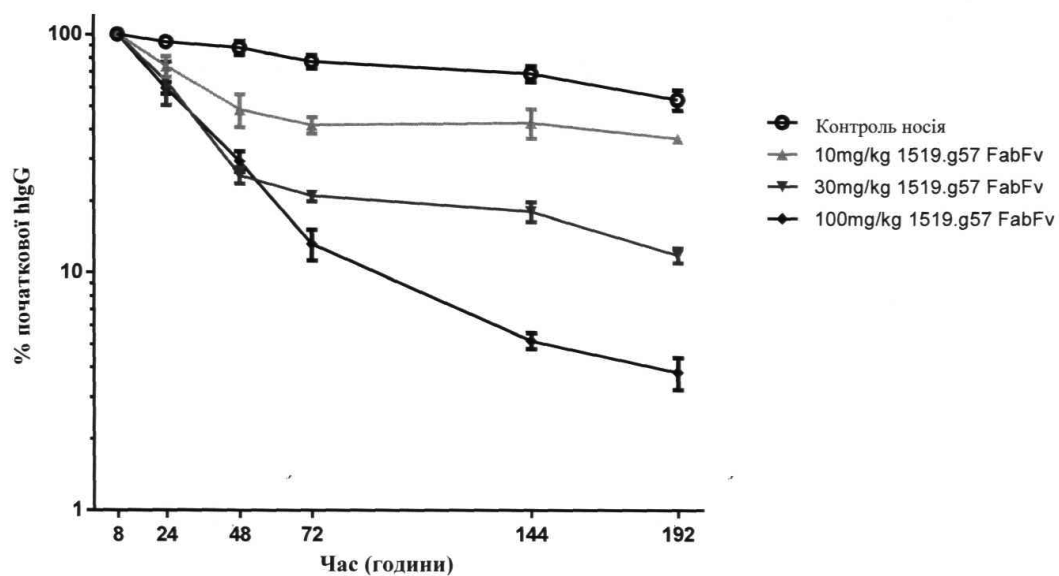
ФІГ.21 Підвищений кліренс IV hIgG в плазмі hFcRn трансгенних мишей, що отримували CA170\_01519.g57 IgG1 або IgG4 або PBS IV



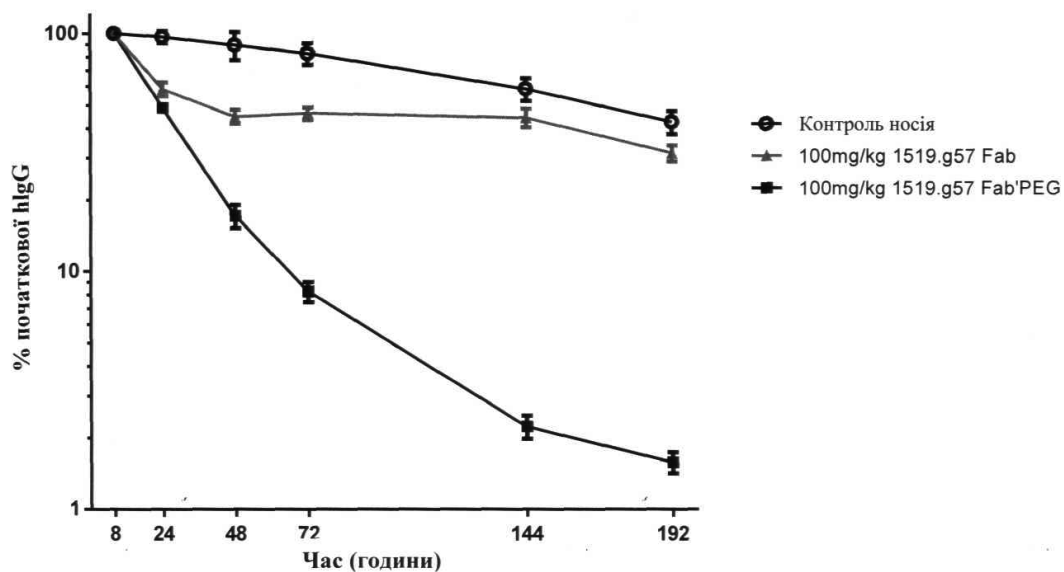
ФІГ.22 Підвищений кліренс IV hIgG в плазмі hFcRn трансгенних мишей, що отримували CA170\_01519.g57 Fab'-людську сироватку альбуміну або PBS IV



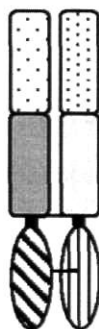
ФІГ. 23 Підвищений кліренс IV hIgG в плазмі hFcRn трансгенних мишей, що отримували CA170\_01519.g57 FabFv або PBS IV



ФІГ. 24 Підвищений кліренс IV hIgG в плазмі hFcRn трансгенних мишей, що отримували CA170\_01519.g57 Fab або Fab'PEG або PBS IV



ФІГ. 25



- Перша варіабельна область короткого ланцюга VL1
- Перша варіабельна область довгого ланцюга VH1
- Постійна область сКаппа і CH1
- Друга варіабельна область короткого ланцюга VL2
- Друга варіабельна область довгого ланцюга VH2
- Дисульфідний зв'язок

Комп'ютерна верстка Л. Литвиненко

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601