УКРАЇНА

(19) UA (11) 121464 (13) C2

(51) МПК (2020.01)
A61K 39/395 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
C12N 15/13 (2006.01)
G01N 33/531 (2006.01)
A61P 35/00

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки: **a 2016 09358**

(22) Дата подання заявки: **11.02.2015**

(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: **10.06.2020**

(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: **61/939,110**

(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: **12.02.2014**

(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: **US**

(41) Публікація відомостей про заявку: **10.11.2016, Бюл.№ 21**

(46) Публікація відомостей про видачу патенту: **10.06.2020, Бюл.№ 11**

(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору PCT **PCT/US2015/015456, 11.02.2015**

(72) Винахідник(и):
Чин Івон (US),
Хан Джулі К. (US),
Зібель Кристіан В. (US),
У Янь (US),
Лафкас Даніель (US)

(73) Власник(и):
ДЖЕНЕНТЕК, ІНК.,
1 DNA Way, South San Francisco, California 94080, United States of America (US)

(74) Представник:
Бочаров Максим Анатолійович, реєстр. №367

(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:
WO 2011041336 A2, 07.04.2011
US 2007105161 A1, 10.05.2007
ZHANG SH. Et al. Jagged1 is the major regulator of Notch - dependent cell fate in proximal airways. Development dynamics, 2013, Vol. 242, P. 278 – 686
OKAMOTO M. et al. Jagged1 on Dendritic Cells and Notch on CD4+ T Cells Initiate Lung Allergic Responsiveness by Inducing IL-4 Production. J. Immunol, 2009, Vol. 183, no. 5, P. 2995 – 3003
PELLEGRINET L. et al. DLL1- and DLL4-mediated notch signaling are required for homeostasis of intestinal stem cells. Gastroenterolog, 2011, Vol. 140, no. 4, P. 1230 – 1240 (e1 – 7)

(54) АНТИ-JAGGED1 АНТИТІЛО ТА СПОСОБИ ЙОГО ЗАСТОСУВАННЯ

(57) Реферат:

Винахід стосується анти-Jagged1 антитіла і способів його застосування.

UA 121464 C2

ГАЛУЗЬ ТЕХНІКИ, ЯКОЇ СТОСУЄТЬСЯ ВИНАХІД

Даний винахід стосується анти-Jagged антитіл і способів їхнього застосування.

РІВЕНЬ ТЕХНІКИ

Сигнальний шлях Notch регулює широкий спектр клітинних функцій [Kopan et al., Cell 137, 216-233 (2009)]. У ссавців були ідентифіковані чотири рецептори Notch, а саме, Notch 1-4, які мають спільні основні структурні елементи, включаючи позаклітинний домен, трансмембранний домен і внутрішньоклітинний домен. Аналогічним чином, канонічні ліганди Notch мають визначену структурну подібність, але також був ідентифікований ряд неканонічних лігандів Notch [Kopan et al., Cell 137, 216-233 (2009)]. П'ятьма канонічними лігандами у ссавців є Delta-like 1, Delta-like 3, Delta-like 4, Jagged1 і Jagged2. Зв'язування ліганду Notch з позаклітинним доменом рецептора Notch запускає в рух сигнальний каскад, який починається з протеолітичного розщеплення позаклітинного сайту S2 за допомогою альфа-секретази із сімейства ADAM (дизінтегринів і металопротеаз). За розщепленням за S2 йде протеолітичне розщеплення гамма-секретазою за внутрішньоклітинним сайтом S3, що призводить до вивільнення внутрішньоклітинного домену і наступних подій, які у підсумку активують Notch-залежні фактори транскрипції, такі як Hes1 and Hey.

Порушена експресія Notch і передача сигналу залучені до ряду захворювань, включаючи ракові захворювання [Koch et al., Cell. Mol. Life Sci. 64, 2746-2762 (2007)]. Зовсім очевидно, що як і раніше існує потреба в агентах, які мають клінічні характеристики, оптимальні для створення терапевтичних агентів. Винахід, описаний у даному документі, задовольняє цю потребу й забезпечує інші переваги.

СУТЬ ВИНАХОДУ

Даний винахід стосується анти-Jagged1 антитіл і способів їхнього застосування.

Автори даного винаходу неочікувано з’ясували, що анти-Jagged1 антитіло A1 (див. фіг. 4 і публікацію PCT № 2014/028446) розщеплюється по важкому ланцюгу після термічної обробки і/або заморожування-відтавання. Погана стабільність антитіла потенційно знижує його цінність як терапевтичного засобу. Аналіз сайту розщеплення не виявив відомих мотивів розщеплення протеазами. Тому, було невідомо, чи можуть зміни в послідовності антитіла знизити спостережуване розщеплення. Крім того, оскільки сайт розщеплення знаходиться в HVR важкого ланцюга, навіть якщо зміна амінокислоти(т) зменшила б розщеплення, невідомо, чи можна було б здійснити зміни без істотного зниження афінності антитіла до Jagged1. Автори винаходу неочікувано з’ясували, що мутація амінокислоти в положенні 101 у HVR-H3 знижує розщеплення тільки з невеликою втратою афінності.

У деяких варіантах здійснення запропоновано виділене антитіло, яке зв'язується з Jagged1 людини, де антитіло включає HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55 або 59, де X є будь-якою амінокислотою, крім S. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло містить щонайменше один, щонайменше два, щонайменше три, щонайменше чотири або п'ять HVR, вибраних з HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35 або 78; HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 28 або 36; HVR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38; HVR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39; і HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16 або 40. У деяких варіантах здійснення антитіло містить: (a) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 78; HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36; і HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55; або (b) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 78; HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36; і HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 59; або (c) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 78; HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 28; і HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 59. У будь-якому з варіантів, описаних у даному документі, антитіло може включати (a) HVR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38; HVR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39; і HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 40; або (b) HVR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38; HVR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39; і HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16; або (c) HVR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38; HVR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39; і HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16.

У деяких варіантах здійснення, виділене антитіло, яке зв'язується з Jagged 1, включає: (a) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 78; HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36; HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55; HVR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38; HVR-L2, яка

містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39; і HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 40; або (b) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 78; HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36; HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 59; HVR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38; HVR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39; і HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16; або (c) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 78; HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 28; HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 59; HVR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38; HVR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39; і HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16.

У деяких варіантах здійснення виділене антитіло, яке зв'язується з Jagged1, містить послідовність VH, яка має щонайменше 95 % ідентичності з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 54, 58 або 62. У деяких варіантах здійснення виділене антитіло, яке зв'язується з Jagged1, містить послідовність VL, яка має щонайменше 95 % ідентичності з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 10, 26 або 34. У деяких варіантах здійснення антитіло містить: (a) послідовність VH, яка має щонайменше 95 % ідентичності з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 54, і послідовність VL, яка має щонайменше 95 % ідентичності з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 34; або (b) послідовність VH, яка має щонайменше 95 % ідентичності з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 58, і послідовність VL, яка має щонайменше 95 % ідентичності з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 10; або (c) послідовність VH, яка має щонайменше 95 % ідентичності з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 62, і послідовність VL, яка має щонайменше 95 % ідентичності з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 26.

У деяких варіантах здійснення виділене антитіло, яке зв'язується з Jagged1 людини, містить: (a) послідовність VH з SEQ ID NO: 54, де X є будь-якою амінокислотою, крім S, і послідовність VL з SEQ ID NO: 34; або (b) послідовність VH з SEQ ID NO: 58, де X є будь-якою амінокислотою, крім S, і послідовність VL з SEQ ID NO: 10; або (c) послідовність VH з SEQ ID NO: 62, де X є будь-якою амінокислотою, крім S, і послідовність VL з SEQ ID NO: 26. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло містить послідовність VH з SEQ ID NO: 54 і послідовність VL SEQ ID NO: 34. У деяких варіантах здійснення важкий ланцюг містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 56, і легкий ланцюг містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 53. У деяких варіантах здійснення важкий ланцюг містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 57, і легкий ланцюг містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 53.

У будь-якому з варіантів, описаних у даному документі, X може являти собою будь-яку амінокислоту, крім S або H. У будь-якому з варіантів, описаних у даному документі, X може бути вибраний з A, D, E, G, I, K, L, N, Q, R, T і V. У будь-якому з варіантів, описаних у даному документі, X може бути T.

У деяких варіантах здійснення запропоновано виділене антитіло, яке зв'язується з Jagged1 людини, яке включає: (a) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 78; HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36; HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 37; HVR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38; HVR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39; і HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 40; або (b) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 78; HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36; HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 64; HVR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38; HVR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39; і HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16; або (c) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 78; HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 28; HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 64; HVR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38; HVR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39; і HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16.

У деяких варіантах здійснення запропоновано виділене антитіло, яке зв'язується з Jagged1 людини, яке включає: (a) послідовність VH з SEQ ID NO: 33 і послідовність VL з SEQ ID NO: 34; або (b) послідовність VH з SEQ ID NO: 65 і послідовність VL з SEQ ID NO: 10; або (c) послідовність VH з SEQ ID NO: 66 і послідовність VL з SEQ ID NO: 26. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло містить послідовність VH з SEQ ID NO: 33 і послідовність VL з SEQ ID NO: 34.

У будь-якому із зазначених вище варіантів здійснення, описаних у даному документі, антитіло може бути моноклональним антитілом. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло являє собою людське, гуманізоване або химерне антитіло. У будь-якому із зазначених

вище варіантів здійснення, описаних у даному документі, антитіло може являти собою фрагмент антитіла.

Будь-який з вищевказаних варіантів може являти собою повнорозмірне IgG1-антитіло. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло являє собою IgG1-антитіло без ефекторних функцій. У деяких варіантах антитіло являє собою IgG1-антитіло, яке містить мутації N297G або N297A. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло являє собою IgG1-антитіло, яке містить мутацію N297G.

У деяких варіантах здійснення запропоновано виділене антитіло, яке зв'язується з Jagged 1, де важкий ланцюг містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 51, і легкий ланцюг містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 53. У деяких варіантах здійснення важкий ланцюг містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 52, і легкий ланцюг містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 53. у деяких варіантах здійснення антитіло включає: (a) важкий ланцюг, яка містить амінокислотну послідовність, SEQ ID NO: 69, і легкий ланцюг, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 75; або (b) важкий ланцюг, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 70, і легкий ланцюг, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 76; або (c) важкий ланцюг, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 79, і легкий ланцюг, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 75; або (d) важкий ланцюг, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 80, і легкий ланцюг, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 76.

У будь-якому з варіантів, описаних у даному описі, антитіло може бути антагоністом Jagged1-опосередкованого сигнального шляху. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло зв'язується з Jagged1 людини і миші. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло зв'язується з Jagged1 людини, миші, щура і яванської макаки. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло зв'язується з Jagged1, але не зв'язується з Jagged2. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло зв'язується з Jagged1 людини, але не зв'язується з Jagged2 людини. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло зв'язується з Jagged1 людини і миші, але не зв'язується з Jagged2 людини або миші. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло зв'язується з Jagged1 людини, миші, щура і яванської макаки, але не зв'язується з Jagged2 людини, миші, щура і яванської макаки. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло зв'язується з Jagged1, але не зв'язується Jagged2 або DLL1. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло зв'язується з Jagged1 людини, але не зв'язується з Jagged2 людини або DLL1 людини. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло зв'язується з Jagged1 людини і миші, але не зв'язується з Jagged2 людини або миші або з DLL1 людини або миші. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло зв'язується з Jagged1 людини, миші і яванської макаки, але не зв'язується з Jagged2 людини, миші або яванського макака або DLL1 людини, миші або яванської макаки. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло зв'язується з Jagged1, але не зв'язується з Jagged2, DLL1 або DLL4. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло зв'язується з Jagged1 людини, але не зв'язується Jagged2 людини, DLL1 людини або DLL4 людини. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло зв'язується з Jagged1 людини і миші, але не зв'язується з Jagged2 людини або миші, DLL1 людини або миші або DLL4 людини або миші. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло зв'язується з Jagged1 людини, миші, щура і яванської макаки, але не зв'язується з Jagged2 людини, миші або яванської макаки, або з DLL1 людини, миші або яванської макаки, або з DLL4 людини, миші або яванської макаки.

У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло зв'язується з Jagged1 людини з афінністю (Kd) 2 нМ або вищою (тобто нижче 2 нМ). У деяких варіантах здійснення антитіло зв'язується з Jagged1 людини з афінністю (Kd) 1,5 нМ або вищою, або 1 нМ або вищою, або 0,9 нМ або вищою, 0,8 нМ або вищою, або 0,7 нМ або вищою (тобто нижче 1,5 нМ, нижче 1 нМ, нижче 0,9 нМ, нижче 0,8 нМ або нижче 0,7 нМ). У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло зв'язується Jagged1 миші з афінністю (Kd) 2 нМ або вищою (тобто нижче 2 нМ). У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло зв'язується мишачим Jagged1 з афінністю (Kd) 1,5 нМ або вищою, або 1 нМ або вищою, або 0,9 нМ або вищою, 0,8 нМ або вищою, 0,7 нМ або вищою, або 0,6 нМ або вищою, або 0,5 нМ або вищою (тобто нижче 1,5 нМ, нижче 1 нМ, нижче 0,9 нМ, нижче 0,8 нМ, нижче 0,7 нМ, нижче 0,6 нМ або нижче 0,5 нМ). У деяких варіантах здійснення афінність (Kd) вимірюють за допомогою поверхневого плазмонного резонансу.

У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло зв'язується з Jagged1 людини з константою асоціації (k_{on}), яка складає щонайменше 1,0E+04/M•c, або щонайменше 1,5E+04/M•c, або щонайменше 2,0E+04/M•c. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло зв'язується з Jagged1 людини з константою дисоціації (k_{off}) нижче 10,0E+04/c або нижче 9,0E-04/c, або нижче 8,0E-04/c, або нижче 7,0E-04/c. У деяких варіантах здійснення винаходу

антитіло зв'язується Jagged1 миші з константою асоціації (k_{on}), яка складає щонайменше 1,0E+04/M•c, або щонайменше 1,5E+04/M•c, або щонайменше 2,0E+04/M•c, або щонайменше 3,0E+04/M•c, або щонайменше 4,0E+04/M•c, або щонайменше 5,0E+04/M•c, або щонайменше 6,0E+04/M•c, або щонайменше 7,0E+04/M•c. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло зв'язується Jagged1 миші з константою дисоціації (k_{off}) нижче 10,0E+04/c або нижче 9,0E-04/c, або нижче 8,0E-04/c або нижче 7,0E-04/c. У деяких варіантах здійснення константи асоціації й дисоціації вимірюють за допомогою поверхневого плазмонного резонансу.

У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло зв'язує нативний, згорнутий Jagged1, але не зв'язує денатурований Jagged1. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло зв'язує Jagged1 у твердофазному імуноферментному аналізі (ELISA), але не зв'язує Jagged1 на Вестерн-блоті. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло зв'язує згорнутий Jagged1 у твердофазному імуноферментному аналізі (ELISA), але не зв'язує денатурований Jagged1 на Вестерн-блоті. У деяких варіантах здійснення антитіло зв'язує згорнутий Jagged1 у фізіологічних умовах, але не зв'язує денатурований Jagged1.

У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло сповільнює ріст пухлини в ксенотрансплантатній мишачій моделі, не викликаючи втрату ваги. У деяких варіантах здійснення даного винаходу ксенотрансплантатна мишача модель є ксенотрансплантатною моделлю раку печінки. У деяких варіантах здійснення ріст пухлини знижується щонайменше на 50, щонайменше на 60, щонайменше на 70, щонайменше на 80 або щонайменше на 90 % AUC/день (TGI, інгібування росту пухлини у %).

У деяких варіантах здійснення застосування антитіла до Jagged1 зменшує метаплазію келихоподібних клітин у легенях у мишачій моделі гіперреактивності дихальних шляхів. У деяких варіантах здійснення введення антитіла зменшує кількість келихоподібних клітин у легенях щонайменше на 30 %, щонайменше на 40 %, щонайменше на 50 %, щонайменше на 60 %, щонайменше на 70 %, щонайменше, на 80 % або щонайменше на 90 %. Відповідно до іншого аспекту винахід стосується виділеного антитіла, яке конкурує з будь-яким із зазначених вище варіантів здійснення в специфічному зв'язуванні з Jagged1. У деяких варіантах здійснення антитіло, яке конкурує за зв'язування з Jagged1 людини з антитілом, яке містить варіабельну область важкого ланцюга, яка містить послідовність SEQ ID NO: 33, і варіабельну область легкого ланцюга, яка містить послідовність SEQ ID NO: 34, де антитіло не є антитілом A, антитілом A-1 або антитілом A-2.

В іншому своєму аспекті даний винахід стосується виділеної нуклеїнової кислоти, яка кодує виділене антитіло за вищевказаними варіантами здійснення. У ще одному аспекті даний винахід стосується клітини-хазяїна, яка містить виділену нуклеїнову кислоту, яка кодує антитіло. У додатковому аспекті даний винахід стосується способу одержання антитіла, який включає культивування клітини-хазяїна таким чином, що продукується антитіло.

В іншому аспекті даний винахід стосується імунокон'югату, який містить антитіло за будь-яким із зазначених вище варіантів здійснення і цитотоксичний агент.

В іншому аспекті даний винахід стосується фармацевтичної композиції, яка містить антитіло за будь-яким із зазначених вище варіантів здійснення і фармацевтично прийнятний носій.

В іншому аспекті запропоноване антитіло за будь-яким із зазначених вище варіантів здійснення для використання як лікарського препарату. У деяких варіантах здійснення запропоноване антитіло за будь-яким із зазначених вище варіантів здійснення для застосування в лікуванні раку. У деяких варіантах здійснення запропоноване антитіло за будь-яким із зазначених вище варіантів здійснення для застосування для зниження росту ракових клітин.

В іншому аспекті запропонований спосіб інгібування Jagged1-опосередкованого сигнального шляху. В одному варіанті здійснення запропонований спосіб інгібування Jagged1-опосередкованого сигнального шляху in vitro. В одному варіанті здійснення запропонований спосіб інгібування Jagged1-опосередкованого сигнального шляху in vivo.

В іншому аспекті запропонований спосіб лікування індивідуума, який має рак, який включає введення індивідууму ефективної кількості антитіла за будь-яким із зазначених вище варіантів здійснення. В одному з варіантів здійснення рак вибраний із групи, яка складається з: раку молочної залози, раку легень, раку головного мозку, раку шийки матки, раку товстої кишки, раку печінки, раку жовчних протоків, раку підшлункової залози, раку шкіри, B-клітинних злоякісних новоутворень і T-клітинних злоякісних новоутворень.

Автори даного винаходу з'ясували, що вплив анти-Jagged1 антитіла зміщує диференціювання клітин у дихальних шляхах з диференціювання в секреторні клітини (включаючи келихоподібні клітини) і на диференціювання у війчасті клітини. Сигнальний шлях Jagged1 має важливе значення для підтримки секреторного диференціювання клітин, й інгібування Jagged1-сигнального шляху попереджує метаплазію келихоподібних клітин. Автори

даного винаходу також показали, що перетворення клітин Клара у війчасті є прямим і не пов'язане з розподілом клітин (дані не показані). Це трансдиференціювання одного типу клітин в інший зустрічається в легенях дорослих людей і відрізняється від вибору шляху клітинного диференціювання, яке включає розподіл клітин-попередників, наприклад, після ушкодження або в процесі розвитку. Метаплазія келихоподібних клітин або надлишок слизу є ознакою ряду захворювань дихальних шляхів, таких як астма, кістозний фіброз, хронічна обструктивна хвороба легень (ХОХЛ) і стравохід Барретта. Ці результати інгібування Jagged-сигнального шляху забезпечують основу для застосування в терапії, включаючи використання інгібіторів Jagged1 або Jagged2 для попередження або інверсії метаплазії келихоподібних клітин і для лікування станів, які характеризуються надлишком слизу, як при захворюваннях дихальних шляхів (наприклад, при астмі, ХОХЛ, кістозному фіброзі) і стравоході Барретта.

У деяких варіантах здійснення запропоновані способи перетворення клітини Клара у війчасту клітину, які включають введення індивідууму антагоністичного антитіла, яке зв'язується з Jagged1 людини (включаючи, але не обмежуючись цим, будь-які з анти-Jagged1 антитіл, описаних у даному документі). У деяких варіантах здійснення запропоновані способи посилення перетворення клітин Клара у війчасті клітини, які включають введення індивідууму антагоністичного антитіла, яке зв'язується з Jagged1 людини (включаючи, але не обмежуючись цим, будь-які з анти-Jagged1 антитіл, описаних у даному документі). У деяких варіантах здійснення даного винаходу клітина Клара присутня у дихальних шляхах дорослої людини (наприклад, у легенях). У деяких варіантах здійснення перетворення відбувається без розподілу клітини Клара. У деяких варіантах здійснення індивідуум має захворювання, вибране з алергії, астми, аутоімунних захворювань, захворювань, пов'язаних з метаплазією келихоподібних клітин (наприклад, у легенях), і захворювань, пов'язаних з надлишком слизу. У деяких варіантах здійснення даного винаходу захворювання пов'язане з метаплазією келихоподібних клітин. У деяких варіантах здійснення даного винаходу захворювання вибирають з астми, ХОХЛ, кістозного фіброзу і стравоходу Барретта.

У деяких варіантах здійснення запропоновані способи зменшення числа келихоподібних клітин, які включають введення індивідууму антагоністичного антитіла, яке зв'язується з Jagged1 людини (включаючи, але не обмежуючись цим, будь-які з анти-Jagged1 антитіл, описаних у даному документі). У деяких варіантах здійснення запропоновані способи зниження перетворення клітин Клара в келихоподібні клітини, які включають введення індивідууму антагоністичного антитіла, яке зв'язується з Jagged1 людини (включаючи, але не обмежуючись цим, будь-які з анти-Jagged1 антитіл, описаних у даному документі). У деяких варіантах здійснення келихоподібна клітина (клітини) присутня у дихальних шляхах дорослої людини (наприклад, у легенях). У деяких варіантах здійснення даного винаходу індивідуум має захворювання, вибране з алергії, астми, аутоімунного захворювання, захворювань, пов’язаних з метаплазією келихоподібних клітин (наприклад, у легенях), і захворювань, пов'язаних з надлишком слизу. У деяких варіантах здійснення даного винаходу захворювання пов'язане з метаплазією келихоподібних клітин. У деяких варіантах здійснення даного винаходу захворювання вибирають з астми, ХОХЛ, кістозного фіброзу і стравоходу Барретта.

У деяких варіантах здійснення запропоновані способи зменшення утворення келихоподібних клітин у суб'єкта, які включають введення індивідууму антагоністичного антитіла, яке зв'язується з Jagged1 людини (включаючи, але не обмежуючись цим, будь-які з анти-Jagged1 антитіл, описаних у даному документі). У деяких варіантах здійснення знижується утворення келихоподібних клітин у дихальних шляхах дорослої людини (наприклад, у легенях). У деяких варіантах здійснення даного винаходу індивідуум має захворювання, вибране з алергії, астми, аутоімунного захворювання, захворювань, пов’язаних з метаплазією келихоподібних клітин (наприклад, у легенях), і захворювань, пов'язаних з надлишком слизу. У деяких варіантах здійснення даного винаходу захворювання пов'язане з метаплазією келихоподібних клітин. У деяких варіантах здійснення даного винаходу захворювання вибирають з астми, ХОХЛ, кістозного фіброзу і стравоходу Барретта.

У деяких варіантах здійснення запропоновані способи зниження кількості слизу, які включають введення індивідууму антагоністичного антитіла, яке зв'язується з Jagged1 людини (включаючи, але не обмежуючись цим, будь-які з анти-Jagged1 антитіл, описаних у даному документі). У деяких варіантах здійснення слиз являє собою слиз у дихальних шляхах. У деяких варіантах здійснення слиз присутній у дихальних шляхах дорослої людини (наприклад, у легенях). У деяких варіантах здійснення даного винаходу індивідуум має захворювання, вибране з алергії, астми, аутоімунного захворювання, захворювань, пов’язаних з метаплазією келихоподібних клітин (наприклад, у легенях), і захворювань, пов'язаних з надлишком слизу. У деяких варіантах здійснення даного винаходу захворювання пов’язане з метаплазією

келихоподібних клітин. У деяких варіантах здійснення даного винаходу захворювання вибирають з астми, ХОХЛ, кістозного фіброзу і стравоходу Барретта.

У деяких варіантах здійснення запропоновані способи збільшення числа війчастих клітин, які включають введення індивідууму антагоністичного антитіла, яке зв'язується з Jagged1 людини (включаючи, але не обмежуючись цим, будь-які з анти-Jagged1 антитіл, описаних у даному документі). У деяких варіантах здійснення запропоновані способи посилення утворення війчастих клітин, введення індивідууму антагоністичного антитіла, яке зв'язується з Jagged1 людини (включаючи, але не обмежуючись цим, будь-які з анти-Jagged1 антитіл, описаних у даному документі). У деяких варіантах здійснення війчаста клітина присутня в дихальних шляхах дорослої людини (наприклад, у легенях). У деяких варіантах здійснення даного винаходу індивідуум має захворювання, вибране з алергії, астми, аутоімунного захворювання, захворювань, пов’язаних з метаплазією келихоподібних клітин (наприклад, у легенях), і захворювань, пов’язаних з надлишком слизу. У деяких варіантах здійснення даного винаходу захворювання пов’язане з метаплазією келихоподібних клітин. У деяких варіантах здійснення даного винаходу захворювання вибирають з астми, ХОХЛ, кістозного фіброзу і стравоходу Барретта.

У деяких варіантах здійснення антитіло, яке зв'язується з Jagged1 людини (включаючи, наприклад, кожне з анти-Jagged1 антитіл, описаних у даному документі), запропоновано для застосування в лікуванні захворювання, вибраного з алергії, астми, аутоімунного захворювання, захворювань, пов’язаних з метаплазією келихоподібних клітин (наприклад, у легенях), і захворювань, пов’язаних з надлишком слизу, що включає введення індивідууму з раковим захворюванням ефективної кількості антитіла за будь-яким з варіантів здійснення, описаних у даному документі. У деяких варіантах здійснення даного винаходу захворювання пов’язане з метаплазією келихоподібних клітин. У деяких варіантах здійснення даного винаходу захворювання вибирають з астми, ХОХЛ, кістозного фіброзу і стравоходу Барретта.

У деяких варіантах здійснення антитіло, яке зв'язується з Jagged1 людини (включаючи, наприклад, кожне з анти-Jagged1 антитіл, описаних у даному документі), запропоновано для застосування в лікуванні захворювання, вибраного з алергії, астми, аутоімунного захворювання, захворювань, пов’язаних з метаплазією келихоподібних клітин (наприклад, у легенях), і захворювань, пов’язаних з надлишком слизу, що включає введення індивідууму з раковим захворюванням ефективної кількості антитіла за будь-яким з варіантів здійснення, описаних у даному документі, де антитіло, яке зв'язується з Jagged1 людини, підсилює перетворення клітин Клара у війчасті клітини в дихальних шляхах дорослої людини (наприклад, у легенях). У деяких варіантах здійснення даного винаходу захворювання пов’язане з метаплазією келихоподібних клітин. У деяких варіантах здійснення даного винаходу захворювання вибирають з астми, ХОХЛ, кістозного фіброзу і стравоходу Барретта.

У деяких варіантах здійснення антитіло, яке зв'язується з Jagged1 людини (включаючи, наприклад, кожне з анти-Jagged1 антитіл, описаних у даному документі), запропоновано для застосування в лікуванні захворювання, вибраного з алергії, астми, аутоімунного захворювання, захворювань, пов’язаних з метаплазією келихоподібних клітин (наприклад, у легенях), і захворювань, пов’язаних з надлишком слизу, що включає введення індивідууму з раковим захворюванням ефективної кількості антитіла за будь-яким з варіантів здійснення, описаних у даному документі, де антитіло, яке зв'язується з Jagged1 людини, знижує число келихоподібних клітин у дихальних шляхах дорослої людини (наприклад, у легенях). У деяких варіантах здійснення даного винаходу захворювання пов’язане з метаплазією келихоподібних клітин. У деяких варіантах здійснення даного винаходу захворювання вибирають з астми, ХОХЛ, кістозного фіброзу і стравоходу Барретта.

У деяких варіантах здійснення антитіло, яке зв'язується з Jagged1 людини (включаючи, наприклад, кожне з анти-Jagged1 антитіл, описаних у даному документі), запропоновано для застосування в лікуванні захворювання, вибраного з алергії, астми, аутоімунного захворювання, захворювань, пов’язаних з метаплазією келихоподібних клітин (наприклад, у легенях), і захворювань, пов’язаних з надлишком слизу, що включає введення індивідууму з раковим захворюванням ефективної кількості антитіла за будь-яким з варіантів здійснення, описаних у даному документі, де антитіло, яке зв'язується з Jagged1 людини, зменшує утворення келихоподібних клітин у дихальних шляхах дорослої людини (наприклад, у легенях). У деяких варіантах здійснення даного винаходу захворювання пов’язане з метаплазією келихоподібних клітин. У деяких варіантах здійснення даного винаходу захворювання вибирають з астми, ХОХЛ, кістозного фіброзу і стравоходу Барретта.

У деяких варіантах здійснення антитіло, яке зв'язується з Jagged1 людини (включаючи, наприклад, кожне з анти-Jagged1 антитіл, описаних у даному документі), запропоноване для

застосування в лікуванні захворювання, вибраного з алергії, астми, аутоімунного захворювання, захворювань, пов’язаних з метаплазією келихоподібних клітин (наприклад, у легенях), і захворювань, пов’язаних з надлишком слизу, що включає введення індивідууму з раковим захворюванням ефективної кількості антитіла за будь-яким з варіантів здійснення, описаних у даному документі, де антитіло, яке зв'язується з Jagged1 людини, знижує кількість слизу в дихальних шляхах дорослої людини (наприклад, у легенях). У деяких варіантах здійснення даного винаходу захворювання пов’язане з метаплазією келихоподібних клітин. У деяких варіантах здійснення даного винаходу захворювання вибирають з астми, ХОХЛ, кістозного фіброзу і стравоходу Барретта.

У деяких варіантах здійснення антитіло, яке зв'язується з Jagged1 людини (включаючи, наприклад, кожне з анти-Jagged1 антитіл, описаних у даному документі), запропоновано для застосування в лікуванні захворювання, вибраного з алергії, астми, аутоімунного захворювання, захворювань, пов’язаних з метаплазією келихоподібних клітин (наприклад, у легенях), і захворювань, пов’язаних з надлишком слизу, що включає введення індивідууму з раковим захворюванням ефективної кількості антитіла за будь-яким з варіантів здійснення, описаних у даному документі, де антитіло, яке зв'язується з Jagged1 людини, збільшує число війчастих клітин у дихальних шляхах дорослої людини (наприклад, у легенях). У деяких варіантах здійснення даного винаходу захворювання пов’язане з метаплазією келихоподібних клітин. У деяких варіантах здійснення даного винаходу захворювання вибирають з астми, ХОХЛ, кістозного фіброзу і стравоходу Барретта.

У деяких варіантах здійснення антитіло, яке зв'язується з Jagged1 людини (включаючи, наприклад, кожне з анти-Jagged1 антитіл, описаних у даному документі), запропоноване для застосування в лікуванні захворювання, вибраного з алергії, астми, аутоімунного захворювання, захворювань, пов’язаних з метаплазією келихоподібних клітин (наприклад, у легенях), і захворювань, пов’язаних з надлишком слизу, що включає введення індивідууму з раковим захворюванням ефективної кількості антитіла за будь-яким з варіантів здійснення, описаних у даному документі, де антитіло, яке зв'язується з Jagged1 людини, підсилює утворення війчастих клітин у дихальних шляхах дорослої людини (наприклад, у легенях). У деяких варіантах здійснення даного винаходу захворювання пов’язане з метаплазією келихоподібних клітин. У деяких варіантах здійснення даного винаходу захворювання вибирають з астми, ХОХЛ, кістозного фіброзу і стравоходу Барретта.

В іншому аспекті запропоновані способи: (a) перетворення війчастих клітин у клітини Клара (наприклад, де війчаста клітина знаходиться в дихальних шляхах дорослої людини, наприклад, у легенях), (b) збільшення кількості слизу (наприклад, слизу в дихальних шляхах), (c) зменшення кількості війчастих клітин (наприклад, війчастих клітин дихальних шляхів людини), які включають введення індивідууму агоніста Jagged1-сигнального шляху.

У деяких варіантах здійснення запропонований спосіб лікування захворювання, вибраного з алергії, астми, аутоімунного захворювання, захворювань, пов’язаних з метаплазією келихоподібних клітин (наприклад, у легенях), і захворювань, пов’язаних з надлишком слизу, що включає введення суб'єкту з раковим захворюванням ефективної кількості антитіла, яке зв'язується з Jagged1 людини (включаючи, наприклад, кожне з антитіл, які зв'язуються з Jagged1 людини, описаних у даному документі). У деяких варіантах здійснення даного винаходу захворювання пов’язане з метаплазією келихоподібних клітин (наприклад, у легенях). У деяких варіантах здійснення даного винаходу захворювання вибирають з астми, ХОХЛ, кістозного фіброзу і стравоходу Барретта.

У будь-якому з варіантів, описаних у даному документі, анти-Jagged1 антитіло знижує ріст пухлини в ксенотрансплантатній мишачії моделі, не викликаючи втрати ваги.

У будь-якому з варіантів, описаних у даному документі, анти-Jagged1 антитіло може бути кон’юговане з міткою. У деяких варіантах здійснення мітка являє собою позитронний емітер. У деяких варіантах здійснення позитронним емітером є ^{89}Zr. У деяких варіантах здійснення запропонований спосіб виявлення Jagged1 людини у біологічному зразку, який включає забезпечення контакту біологічного зразка з антитілом, описаним у даному документі, в умовах, які дозволяють зв'язування антитіла з природним Jagged1 людини, і детекцію утворення комплексу між антитілом і природним Jagged1 людини у біологічному зразку. У деяких варіантах здійснення даного винаходу біологічний зразок вибраний з раку молочної залози, раку легень, раку головного мозку, раку шийки матки, раку товстої кишки, раку печінки, раку жовчної протоки, раку підшлункової залози, раку шкіри, В-клітинних злоякісних новоутворень і Т-клітинних злоякісних новоутворень.

КОРОТКИЙ ОПИС ФІГУР

На фіг. 1 показані типові амінокислотні послідовності людського і мишачого білка Jagged1.

На фіг. 2 показані типові амінокислотні послідовності людського і мишачого білка Jagged2.

На фіг. 3A-D показані амінокислотні послідовності пептидів, використаних для скринінгу і селекції фагової бібліотеки антитіл. Усі білки були проекспресовані у вигляді секретованого білка в клітинах BEVS, і їхні послідовності зазначені в напрямку з N-кінця до C-кінця. (A) Амінокислотна послідовність експресованого мишачого білка Jagged1-DSL-EGF1-4 (Q34-D377). Напівжирним шрифтом на N-кінці виділена коротка лінкерна послідовність (ADLGS) (SEQ ID NO: 82). Напівжирним шрифтом на C-кінці виділена коротка лінкерна послідовність (EFG), сайт розщеплення тромбіном (LVPRGS) (SEQ ID NO: 83), G-спейсер і 6-гістидинова мітка (6-His). (B) Амінокислотна послідовність експресованого людського білка Jag1-DSL-EGF1-4. Показана тільки послідовність Jag1, хоча антиген також містив сайт розщеплення протеази TEV і 6-His-мітку на C-кінці. (C) Амінокислотна послідовність експресованого мишачого білка Jag2-DSL-EGF1-4 (M27-E388). Напівжирним шрифтом на N-кінці виділена коротка лінкерна послідовність (ADLGS) (SEQ ID NO: 82). Напівжирним шрифтом на C-кінці виділена коротка лінкерна послідовність (EFG), сайт розщеплення тромбіном (LVPRGS) (SEQ ID NO: 83), G-спейсер і 6-His-мітка. (D) Амінокислотна послідовність експресованого людського білка Jag2-DSL-EGF1-4 (R2-E388). Напівжирним шрифтом на C-кінці виділена коротка лінкерна послідовність (EFG), сайт розщеплення тромбіном (LVPRGS) (SEQ ID NO: 83), G-спейсер і 6-His-мітка.

На фіг. 4A-1-B-2 показане вирівнювання амінокислотних послідовностей для варіабельних доменів важкого (фіг. 4A-1 і фіг. 4A-2) і легкого (фіг. 4B-1 і фіг. 4B-2) ланцюгів анти-Jagged1 (A, A-1, A-2), анти-Jagged2 (B, B-1, B-2, B-3) і анти-Jagged1/2 антитіл (C, C-1, D, D-1, D-2, D-3, D-4, D-5). Зазначено позиції амінокислот областей, які визначають комплементарність (CDR).

На фіг. 5A-B показані послідовності гіперваріабельних ділянок важкого ланцюга (HVR), H1, H2 і H3, анти-Jagged1 антитіл, описаних у прикладах. Амінокислотні позиції пронумеровані відповідно до системи нумерації Кабата, описаної в даному документі й в інших джерелах.

На фіг. 6 показані послідовності HVR легкого ланцюга, L1, L2 і L3, анти-Jagged1 антитіл, описаних у прикладах. Амінокислотні позиції пронумеровані відповідно до системи нумерації Кабата, описаної нижче.

На фіг. 7 показані послідовності каркасних областей легких і важких ланцюгів анти-Jagged1 антитіл, описаних у прикладах. Числа у верхньому регістрі вказують позиції амінокислот за Кабатом.

На фіг. 8 показана специфічність зв'язування антитіл, отриманих після скринінгу. Наведено результати аналізів ELISA, у яких виміряна специфічність зв'язування антитіл A і B, ідентифікованих при скринінгу з використанням людського Jag1-DSL-EGF1-4 (фіг. 3B) для антитіла A і мишачого і людського Jag2-DSL-EGF1-4 (фіг. 3C і D) для антитіла B. Чорні стовпчики = зв'язування з Jagged1 людини; сірі стовпчики = зв'язування з Jagged2 людини. C-1 являє собою антитіло, яке зв'язується з обома Jagged1 і Jagged2.

На фіг. 9A-B показано інгібування Notch-сигнального шляху за допомогою анти-Jagged антитіл з дозрілою афінністю. Аналізи з використанням спільного культивування проводили, як описано в прикладі 3. Фагові антитіла із заданою концентрацією зазначені на осі x. DAPT у зазначених концентраціях служив як позитивний контроль для інгібування Notch-сигнального шляху; DMSO служив як контрольний носій. Сигнал індукували за допомогою Jagged1 (темно-сірі стовпчики) або за допомогою Jagged2 (світло-сірі стовпчики). Неопрацьовані = культури, які не були стимульовані лігандом і не оброблені антитілом; Без стимуляції = культури, не стимульовані лігандом; agD = контрольне ізотипне антитіло; Стим./без AT = культури, стимульовані лігандом, але не оброблені антитілом; DAPT - інгібітор гамма-секретази або DMSO - контроль носія для DAPT.

На фіг. 10A-B показано, що комбіноване інгібування Jagged1 і Jagged2 призводить до швидкої втрати ваги. (A) Мишам два рази на тиждень вводили дози анти-Jagged1/2 антитіла C-1 (анти-J1/2; 5-10 mpk (мг/кг ваги тіла)), анти-Jagged1 антитіла A-2 (анти-J1; 5-20 mpk), анти-Jagged2 антитіла B-3 (анти-J2; 5-20 mpk), антитіл A-2 і B-3 разом (анти-J1&2; по 5 mpk кожного) або контрольного ізотипного антитіла (20 mpk). Загальна концентрація антитіл у кожній дозі була доведена до 20 mpk з використанням контрольного ізотипного антитіла, де це було необхідно. Зміну середньої ваги тіла (вісь y) відкладали на графік у вигляді відсотка від початкової ваги тіла залежно від часу (вісь x). (B) Мишам Balb/c (по десять у кожній групі, які утримувалися індивідуально) вводили внутрішньоочеревинно двічі на тиждень 30 mpk анти-gD контрольного ізотипного антитіла або комбінацію 15 mpk антитіла A-2 плюс 15 mpk антитіла B-3 протягом восьми днів. Споживання їжі оцінювали щодня, зважуючи їжу, яка видається, і їжу, яка залишається в кожній клітині. Планки похибок представляють стандартне відхилення (n=10).

На фіг. 11A-1-B-2 показано інгібування росту клітин раку легень людини за допомогою антагоністичного анти-Jagged1 антитіла in vivo. Мишам, які несуть ксенотрансплантати раку

легень людини, двічі на тиждень вводили внутрішньоочеревинно (IP) 20 mpk анти-gD ізотипного контрльного антитіла (ізотипного контрольного AT) або анти-Jagged1 антитіла A-2 (анти-Jag1), причому ін'єкції починали після того, як середній об'єм пухлини (виміряний штангенциркулем) становив близько 180 мм^3. Об'єм пухлини (вісь y) далі вимірювали протягом 19 днів. Фіг. 11A-1 і фіг. 11A-2: середній об'єм пухлини за кожною групою (n=10) відкладали на графіку залежно від часу (вісь x), використовуючи модель лінійних змішаних ефектів (фіг. 11A-1.). Об'єми пухлини для кожної миші в кожній групі зображені на двох панелях на фіг. 11A-2. Фіг. 11B-1 і фіг. 11B-2: загальну вагу тіла кожної миші вимірювали й відкладали на графіку у вигляді зміни у відсотках, усередненого для кожної групи (фіг. 11B-1), або для кожної миші в кожній групі (фіг. 11B-2).

На фіг. 12A-B показано інгібування росту клітин раку молочної залози людини анти-Jagged1 і анти-Jagged2 антагоністичними антитілами in vivo. Мишам C.B-17 SCID.bg із ксенотрансплантатами раку молочної залози людини вводили в дні 0, 4, 7, 12, 15, 18, 22, 25, 29, 32, 36, 43, 50 і 57 анти-gD контрольне ізотипне антитіло (анти-g), контрольне ізотипне антитіло до антигену з амброзії (анти-амброзія), анти-Jagged1 антитіло A-2 у каркасі антитіла IgG1 людини (анти-Jag1 A-2 (hIgG1)), анти-Jagged1 антитіло A-2 у каркасі мишачого IgG2a (анти-Jag1 A-2 (mIgG2a)) або анти-Jagged2 антитіло B-3 у каркасі антитіла IgG1 людини (анти-Jag2 Б-3 (hIgG1)). Об'єми пухлини (вісь y) для груп (A) або окремої тварин (B) відкладали на графіку, використовуючи модель лінійних змішаних ефектів залежно від часу (вісь x).

На фіг. 13A-C показано розщеплення анти-Jagged1 антитіл у важкому ланцюзі. (A) Антитіла A, A1 і A-2 були проаналізовані за допомогою стандартних способів електрофорезу в ДСН-ПААГ і забарвлення білка за відсутності (-) або за присутності (+) відновника DTT, як зазначено. Також показані молекулярні стандарти мас (у кДа). На панелі (B) показаний репрезентативний скан мас-спектрометричного (MC) аналізу (LC-MS/TOF, відновлювальні умови) антитіла A-1. Позиції значимих фрагментів (піки) прокоментовані, і молекулярні маси показані над піками. Цей аналіз показав, що сайт розщеплення знаходився між амінокислотами G100 і S101 у CDR3 важкого ланцюга, як схематично зазначено в амінокислотній послідовності важкого ланцюга в панелі (C) стрілкою, яка вказує місце розщеплення.

На фіг. 14A-C показні результати N-кінцевого пептидного секвенування сайту розщеплення важкого ланцюга анти-Jagged1 антитіла. За допомогою стандартних способів електрофорезу в ДСН-ПААГ в умовах, які відновлюють, і забарвлення білка, були розділені й ідентифіковані повнорозмірні й розщеплені фрагменти препарати зазначених антитіл (A). C-кінцевий (B) і N-кінцевий (C) розщеплені пептидні фрагменти вирізали з гелю і секвенували з використанням стандартних способів пептидного N-кінцевого секвенування, щоб точно визначити ділянку розщеплення. Послідовності, виділені червоним шрифтом на панелях (B) і (C), вказують N-кінцеві послідовності кожного із секвенованих пептидів, причому послідовність на панелі (B) вказує сайт розщеплення, а послідовність на панелі (C) вказує N-кінець важкого ланцюга.

На фіг. 15 показаний ефект зміни амінокислоти S101 у важкому ланцюзі анти-Jagged1 антитіл на розщеплення важкого ланцюга.

На фіг. 16A-B показаний (A) аналіз методом в ДСН-ПААГ розщеплення анти-Jagged1 антитіл, інкубованих при 70 °C; і (b) результати (у відсотках) розщеплення важкого ланцюга, які спостерігаються для кожного препарату антитіла при 70 і при 95 °C.

На фіг. 17A-B показаний (A) аналіз методом електрофорезу в ДСН-ПААГ розщеплення анти-Jagged1 антитіла A1 після різної кількості циклів заморожування-відтавання, і (B) відсоток розщеплення важкого ланцюга, який спостерігається при кожних умовах.

На фіг. 18A-C показано (A) інгібування Jagged1-індукованої активації анти-Jagged1 антитілами A1 (ліві стовпчики) і A1(S101T) (праві стовпчики) при різних концентраціях. На панелях (B) і (C) показані середні значення активності люциферази світляка і середні значення люциферази з Renilla, відповідно, які були використані для розрахунку даних у (A), як описано в прикладі 10.

На фіг. 19 показано імунофлуоресцентне забарвлення війчастих клітин (відзначених імунофлуоресцентною детекцією альфа-тубуліну в червоному каналі) і клітин Клара (відзначених імунофлуоресцентною детекцією CC10 у зеленому каналі) у бронхіолярному епітелії мишей, яким вводили анти-Jagged2 антитіла в сполученні з анти-Jagged1 антитілом A1 або A-1 (S101T) або ізотипним контролем, як описано в прикладі 11.

На фіг. 20A-B показані (A) LME-графік (лінійних змішаних ефектів) об'єму пухлини в мишей із ксенотрансплантатами раку печінки, які одержували анти-Jagged1 антитіло A1 або A1(S101T), і (B) групи лікування, показані в (A), а також доза, об'єм пухлини в останній день дослідження (день 44), AUC/день % TGI (площа під кривою за день (інгібування росту пухлини у відсотках (TGI)) порівняно з контролем, де нижнє і верхнє значення стосуються мінімального і максимальний, відповідно, значенню % TGI для окремих тварин у кожній групі), час подвоєння

пухлини в добі (TTP 2X) і число мишей, які показують часткову відповідь у ході експерименту (PR).

На фіг. 21A-B показані (A) LME-графік ваги тіла мишей залежно від часу для мишей, показаних на фіг. 20, і (B) групи лікування, показані в (A), і доза, % зміна ваги тіла в останній день дослідження (% BT в останній день), максимальна зміна (у %) ваги тіла (макс. % BT), день, коли відбулася максимальна зміна ваги тіла (день макс. % BT) і (AUC/день (нижня, верхня межі)).

На фіг. 22A-B показані амінокислотні послідовності варіабельних доменів (A) важкого ланцюга і (B) легкого ланцюга анти-Jagged1 антитіла A-1(S101T). Зазначено позиції амінокислот областей, які визначають комплементарність (CDR).

На фіг. 23A-C показані (A) забарвлення перйодною кислотою - реактивом Шиффа легеневих дихальних шляхів у мишей, які одержували контроль, анти-Jagged1, анти-Jagged2 або комбінацію анти-Jagged1 і анти-Jagged2 антитіл, (B) визначення числа келихоподібних клітин у дихальних шляхах груп, які одержували різне лікування, і (C) показник запалення, оцінений шляхом H&E-забарвлення (гематоксиліном/еозином).

На фіг. 24 показано зв'язування (ліворуч) анти-Jagged1 антитіла A-2 і (праворуч) анти-Jagged1/2 антитіла C-1 з Jagged1 людини, Jagged1 миші, Jagged2 людини, Jagged2 миші, DLL1 людини, DLL1 миші, DLL4 людини і DLL4 миші.

На фіг. 25 показаний кліренс анти-Jagged1 антитіла A-1-S101T у мишей після однократного внутрішньовенного введення трьох різних доз антитіла.

ДЕТАЛЬНИЙ ОПИС ВАРІАНТІВ ЗДІЙСНЕННЯ ВИНАХОДУ

I. ВИЗНАЧЕННЯ

Для цілей даного винаходу «акцепторна каркасна область людини» являє собою каркасну область, яка містить амінокислотну послідовність каркасної області варіабельного домену легкого ланцюга (VL) або каркасної області варіабельного домену важкого ланцюга (VH), отриману з каркасної області імуноглобуліну людини або консенсусної каркасної області людини, визначеної нижче. Акцепторна каркасна область людини, «отримана з» каркасної області імуноглобуліну людини або консенсусної каркасної області людини, може містити таку ж амінокислотну послідовність, або вона може включати зміни амінокислотної послідовності. У деяких варіантах здійснення число амінокислотних замін складає 10 або менше, 9 або менше, 8 або менше, 7 або менше, 6 або менше, 5 або менше, 4 або менше, 3 або менше, або 2 або менше. У деяких варіантах здійснення акцепторна каркасна область VL людини ідентична по послідовності каркасної області VL імуноглобуліну людини або консенсусної послідовності каркасної області людини.

«Афінність» стосується сили загальної суми нековалентних взаємодій між одним сайтом зв'язування молекули (наприклад, антитіла) і її партнером за зв'язуванням (наприклад, антигеном). Якщо не зазначено інше, використаний у даному документі термін «афінність зв'язування» стосується власної афінності зв'язування, яка відбиває взаємодію у співвідношенні 1:1 між членами пари, яка зв'язується, (наприклад, антитілом і антигеном). Афінність молекули X до її партнера Y може бути зазвичай наведена за допомогою константи дисоціації (Kd). Афінність можна виміряти за допомогою звичайних способів, відомих у даній галузі техніки, включаючи ті, котрі описані в даному документі. Конкретні ілюстративні варіанти і варіанти, які наводяться як приклад, вимірювання афінності зв'язування описуються нижче.

Антитіло з «дозрілою афінністю» стосується антитіла з однією або декількома змінами в одному або декількох гіперваріабельних ділянках (HVR) порівняно з батьківським антитілом, у якому немає таких змін, при цьому такі зміни призводять до підвищення афінності антитіла до антигену.

Терміни «анти-Jagged антитіло» і «антитіло, яке зв'язується з Jagged» стосуються антитіла, яке здатне зв'язуватися Jagged1, Jagged2 або Jagged1 і 2 (Jagged1/2) з достатньою афінністю, так що антитіло є корисним як діагностичний і/або терапевтичний агент для спрямованого впливу на Jagged. В одному варіанті здійснення ступінь зв'язування анти-Jagged антитіла з неспорідненим, яке не є Jagged білком, складає приблизно менше 10 % від зв'язування антитіла з Jagged, виміряна, наприклад, за допомогою радіоімуноаналізу (RIA). У деяких варіантах здійснення антитіло, яке зв'язується з Jagged, має константу дисоціації (Kd) ≤1 мкМ, ≤100 нМ, ≤10 нМ, ≤1 нМ, ≤0,1 нМ, ≤0,01 нМ або ≤0,001 нМ (наприклад, 10^{-8} М або менше, наприклад, від 10^{-8} М до 10^{-13} М, наприклад, від 10^{-9} М до 10^{-13} М). У деяких варіантах здійснення анти-Jagged антитіло зв'язується з епітопом Jagged, який є консервативним серед Jagged з різних видів. Терміни «анти-Jagged1 антитіло» і «антитіло, яке зв'язується з Jagged1» стосуються антитіла, яке здатне зв'язуватися з Jagged1 достатньою афінністю, що антитіло є корисним як діагностичний і/або терапевтичний агент для спрямованого впливу на Jagged1.

Термін «антитіло» використовується в даному описі у найширшому змісті й охоплює різні структури антитіл, які включають, але не обмежені ними, моноклональні антитіла, поліклональні антитіла, поліспецифічні антитіла (наприклад, біспецифічні антитіла) і фрагменти антитіл, якщо вони виявляють бажану антигензв'язувальну активність.

Використаний у даному документі термін «астма» стосується складного захворювання, яке характеризується мінливими і рецидивуючими симптомами, оборотною обструкцією дихальних шляхів (наприклад, у результаті дії бронхолітичного засобу) і бронхіальною гіперчутливістю, яка необов'язково може бути пов'язана запаленням, яке є її основою. Приклади астми включають аспірин-чуттєву астму/загострення астми, атопічну астму, важку астму, легку астму, помірну або важку астму, кортикостероїд-незалежну астму, хронічну астму, кортикостероїд-стійку астму, кортикостероїд-резистентну астму, вперше діагностовану і неліковану астму, обумовлену палінням астму, астму, яка не піддається контролю кортикостероїдами, й інші види астми, описані в J Allergy Clin Immunol (2010) 126(5):926-938.

«Блокуюче» антитіло, або «антагоністичне» антитіло являє собою антитіло, яке по суті інгібує (частково або повністю) біологічну активність антигену, з яким воно зв'язується.

«Фрагмент антитіла» стосується молекули, яка відрізняється від інтактного антитіла, яке містить частину інтактного антитіла, яке зв'язується з антигеном, з яким зв'язується інтактне антитіло. Приклади фрагментів антитіла включають, але не обмежуються ними, Fv, Fab, Fab′, Fab′-SH, $F(ab')_2$, діантитіла, лінійні антитіла, одноланцюжкові молекули антитіл (наприклад, scFv) і поліспецифічні антитіла, утворені з фрагментів антитіл.

«Антитіло, яке зв'язується з тим же епітопом», що й еталонне антитіло, стосується антитіла, яке блокує зв'язування еталонного антитіла зі своїм антигеном у конкурентному аналізі на 50 % або більше, і навпаки, контрольне антитіло блокує зв'язування антитіла зі своїм антигеном у конкурентному аналізі на 50 % або більше. Приклад конкурентного аналізу наведений у даному описі.

Термін «химерне» антитіло стосується антитіла, у якому ділянка важкого і/або легкого ланцюга належить до одного джерела або біологічного виду, у той час як залишок важкого і/або легкого ланцюга належить до іншого джерела або біологічного виду.

«Клас» антитіла стосується типу константного домену або константної області, яка несе його важкий ланцюг. Існує п'ять основних класів антитіл: IgA, IgD, IgE, IgG і IgM, і деякі з них можна далі підрозділити на підкласи (ізотипи), наприклад, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 і IgA2. Константні домени важкого ланцюга, які відповідають різним класам імуноглобулінів, називаються α, δ, ε, ε і μ, відповідно.

Використаний у даному документі термін «цитотоксичний агент» стосується речовини, яка інгібує або перешкоджає функціонуванню клітин і/або призводить до загибелі або руйнування клітин. Цитотоксичні агенти включають, але не обмежуються ними, радіоактивні ізотопи (наприклад, At^{211}, I^{131}, I^{125}, Y^{90}, Re^{186}, Re^{188}, Sm^{153}, Bi^{212}, P^{32}, Pb^{212} і радіоактивні ізотопи Lu), хіміотерапевтичні агенти або лікарські засоби (наприклад, метотрексат, адріаміцин, вінкаалкалоїди (вінкристин, вінбластин, етопозид), доксорубіцин, мелфалан, мітоміцин С, хлорамбуцил, даунорубіцин або інші агенти, які інтеркалюють), агенти, які інгібують ріст, ферменти і їхній фрагменти, такі як нуклеази, антибіотики, токсини, такі як низькомолекулярні токсини або ферментативно активні токсини бактеріального, грибкового, рослинного або тваринного походження, включаючи їхні фрагменти і/або варіанти, й різні протипухлинні або протиракові агенти, розкриті нижче.

«Ефекторні функції» стосуються таких видів біологічної активності, які можуть бути властивої Fc-області антитіла і змінюються залежно від ізотипу антитіла. Приклади ефекторних функцій антитіл включають зв'язування C1q і комплементзалежну цитотоксичність (CDC); зв'язування з Fc-рецептором; антитілозалежну клітиноопосредковану цитотоксичність (ADCC); фагоцитоз; супресію рецепторів на клітинній поверхні (наприклад, В-клітинних рецепторів); і активацію В-клітин.

«Ефективна кількість» агента, наприклад, фармацевтичного складу, стосується кількості, яка ефективна в необхідних дозах і протягом необхідних періодів часу, для досягнення бажаного терапевтичного або профілактичного результату.

Термін «Fc-область» використовується в даному документі для позначення С-кінцевої області важкого ланцюга імуноглобуліну, який містить щонайменше ділянку константної області. Термін включає нативні послідовності Fc-областей і варіанти Fc-областей. В одному з варіантів здійснення Fc-область важкого ланцюга IgG людини простягається від Cys226 або від Pro230 до карбоксильного кінця важкого ланцюга. Однак С-кінцевий лізин (Lys447) Fc-області може бути присутнім або ні. Якщо в даному документі спеціально не зазначено інше, амінокислотні залишки або Fc-області константної області пронумеровані відповідно до системи нумерації EU,

яка також називається індексом EU, яка описана в Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991.

«Каркасна область» або «FR» стосується залишків варіабельного домену, крім залишків гіперваріабельної ділянки (HVR). FR варіабельного домену, як правило, складається з чотирьох FR-доменів: FR1, FR2, FR3 і FR4. Відповідно, послідовності HVR і FR зазвичай знаходяться в наступному порядку в VH (або VL): FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4.

Терміни «повнорозмірне антитіло», «інтактне антитіло» і «ціле антитіло» використовуються в даному описі взаємозамінно для позначення антитіла, яке має структуру, по суті схожу зі структурою природного антитіла, або такого, яке має важкі ланцюги, які містять Fc-область, визначену в даному описі.

Терміни «клітина-хазяїн», «лінія клітин-хазяїнів» і «культура клітин-хазяїнів» використовуються взаємозамінно і стосуються клітин, у які була введена екзогенна нуклеїнова кислота, включаючи потомство таких клітин. Клітини-хазяїни включають «трансформанти» і «трансформовані клітини», які включають початково трансформовану клітину й отримане від неї потомство незалежно від числа пасажів. Потомство може не бути повністю ідентичним по нуклеотидному вмісту батьківській клітині, а може містити мутації. Сюди включено мутантне потомство, яке має функцію або біологічну активність, на яку скринується або відбирається початково трансформована клітина.

«Антитіло людини» являє собою антитіло, яке має амінокислотну послідовність, яка відповідає амінокислотній послідовності антитіла, яке продукується людиною або клітиною людини, або отриманого з тваринного джерела, у якому використовується репертуар антитіл людини або інші послідовності, які кодують антитіла людини. Це визначення антитіла людини прямо виключає гуманізоване антитіло, яке містить антигензв'язувальні залишки з антитіла тварини.

«Консенсусна каркасна область людини» являє собою каркасну область, яка являє собою амінокислотні залишки, які найчастіше зустрічаються, у вибірці послідовностей каркасних областей VL або VH імуноглобулінів людини. Зазвичай вибірка послідовностей VL або VH імуноглобулінів людини походить з підгрупи послідовностей варіабельних доменів. Як правило, ця підгрупа послідовностей є підгрупою, зазначеною в Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, NIH Publication 91-3242, Bethesda MD (1991), vols. 1-3. В одному варіанті здійснення підгрупою для VL є підгрупа каппа I за Кабатом та ін., див. вище. В одному з варіантів здійснення підгрупою для VH є підгрупа III за Кабатом та ін., див. вище.

«Гуманізоване антитіло» стосується химерного антитіла, яке містить амінокислотні залишки з HVR тварин і амінокислотні залишки з FR людини. У деяких варіантах здійснення гуманізоване антитіло буде містити по суті усі з щонайменше одного і, як правило, двох варіабельних доменів, в яких усі або по суті всі HVR (наприклад, CDR) відповідають HVR антитіла тварини, і всі або по суті всі FR відповідають FR антитіла людини. Необов'язково, гуманізоване антитіло може містити щонайменше ділянку константної області антитіла, яке належить антитілу людини. «Гуманізована форма» антитіла, наприклад, антитіла тварини, стосується антитіла, яке пройшло процедуру гуманізації.

Використовуваний у даному описі термін «гіперваріабельна ділянка» або «HVR» стосується кожної з ділянок варіабельного домену антитіла, які є гіперваріабельними по послідовності («області, які визначають комплементарність» або «CDR») і/або утворюють структурно обумовлені петлі («гіперваріабельні петлі») і/або містять контактуючі з антигеном залишки («антигенні контакти»). Зазвичай антитіла містять шість HVR: три в VH (H1, H2, H3) і три в VL (L1, L2, L3). Приклади HVR у даному документі включають:

(a) гіперваріабельні петлі, які знаходяться між амінокислотними залишками 26-32 (L1), 50-52 (L2), 91-96 (L3), 26-32 (H1), 53-55 (H2) і 96-101 (H3) (Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196: 901-917 (1987);

(b) CDR, які знаходяться між амінокислотними залишками 24-34 (L1), 50-56 (L2), 89-97 (L3), 31-35b (H1), 50-65 (H2) і 95-102 (H3) (Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991);

(c) антигенні контакти, які знаходяться між амінокислотними залишками 27c-36 (L1), 46-55 (L2), 89-96 (L3), 30-35b (H1), 47-58 (H2) і 93-101 (H3) (MacCallum et al. J. Mol. Biol. 262: 732-745 (1996)); і

(d) комбінації (a), (b) і/або (c), які включають амінокислотні залишки HVR 46-56 (L2), 47-56 (L2), 48-56 (L2), 49-56 (L2), 26-35 (H1), 26-35b (H1), 49-65 (H2), 93-102 (H3) і 94-102 (H3).

Якщо не зазначено інше, залишки HVR й інші залишки у варіабельному домені (наприклад, залишки FR) пронумеровані в даному описі відповідно до Кабат й ін., див. вище.

«Імунокон’югат» являє собою антитіло, кон'юговане з однією або декількома гетерологічними молекулами, які включають, але не обмежуються цим, цитотоксичний агент.

«Індивідуумом» або «суб'єктом» є ссавець. Ссавці включають, але не обмежуються ними, одомашнених тварин (наприклад, корів, овець, кішок, собак і коней), приматів (наприклад, людей і приматів, які не є людьми, таких як мавпи), кроликів і гризунів (наприклад, мишей і щурів). У деяких варіантах здійснення індивідуумом є людина.

«Виділене» антитіло являє собою антитіло, яке було відділене від компонента свого природного оточення. У деяких варіантах здійснення антитіло очищене більше ніж до 95 % або 99 % чистоти, визначеної, наприклад, електрофоретично (наприклад, електрофорезом у ДСН-ПААГ, ізоелектрофокусуванням (IEF), капілярним електрофорезом) або хроматографічно (наприклад, іонообмінною ВЕРХ або зворотнофазовою ВЕРХ). Огляд способів оцінки чистоти антитіл див., наприклад, у Flatman et al., J. Chromatogr. B 848: 79-87 (2007).

«Виділена» нуклеїнова кислота стосується молекули нуклеїнової кислоти, яка була відділена від компонента свого природного оточення. Виділена нуклеїнова кислота включає молекулу нуклеїнової кислоти, яка міститься в клітинах, які зазвичай містять молекулу нуклеїнової кислоти, але молекула нуклеїнової кислоти присутня позахромосомно або присутня у хромосомі в положенні, яке відрізняється від її природного положення на хромосомі.

«Виділена нуклеїнова кислота, яка кодує анти-Jagged антитіло» стосується однієї або декількох молекул нуклеїнових кислот, які кодують важкі й легкі ланцюги (або їхні фрагменти) антитіла, включаючи такі нуклеотидні молекули в одному векторі або окремих векторах, і такі нуклеотидні молекули, які присутні в одному або декількох місцях у хазяїні.

Використаний у даному описі термін «моноклональне антитіло» стосується антитіла, отриманого з популяції по суті гомогенних антитіл, тобто окремі антитіла, яке входять до складу популяції, є ідентичними і/або зв'язуються з одним і тим епітопом, за винятком можливих варіантів антитіл, наприклад, які містять природні мутації або такі, які виникають під час одержання препарату моноклональних антитіл, при цьому такі варіанти, як правило, присутні в незначних кількостях. На відміну від препаратів поліклональних антитіл, які зазвичай включають різні антитіла, спрямовані проти різних детермінант (епітопів), кожне моноклональне антитіло препарату моноклональних антитіл спрямоване проти однієї антигенної детермінанти. Таким чином, визначення «моноклональне» вказує на те, що властивістю антитіла є те, що його одержують із по суті гомогенної популяції антитіл, і його не слід розглядати як вимога одержання антитіла яким-небудь конкретним способом. Наприклад, моноклональні антитіла, застосовані відповідно до даного винаходу, можна одержати за допомогою методів, які включають, але не обмежуються ними, гібридомну технологію, способи створення рекомбінантних ДНК, способи фагового дисплею і способи, у яких використовуються трансгенні тварини, які містять усі локуси імуноглобулінів людини або їх частина, при цьому такі способи й інші, які наводяться як приклад способи одержання моноклональних антитіл описуються в даному описі.

«Голе антитіло» стосується антитіла, яке не кон’юговане з гетерологічною складовою (наприклад, цитотоксичною складовою) або радіоактивною міткою. «Голе» антитіло може бути присутнім у фармацевтичному складі.

«Природні антитіла» стосуються природних молекул імуноглобулінів з різною структурою. Наприклад, природні антитіла класу IgG являють собою гетеротетрамерні глікопротеїни приблизно 150000 дальтон, які складаються з двох ідентичних легких ланцюгів і двох ідентичних важких ланцюгів, які з'єднані дисульфідним зв'язком. Від N-кінця до C-кінця, кожен важкий ланцюг містить варіабельну область (VH), також названу варіабельним доменом важкого ланцюга, за яким випливають три константних домену (CH1, CH2 і CH3). Аналогічно, від N-кінця до C-кінця, кожен легкий ланцюг містить варіабельну область (VL), також названу варіабельним доменом легкого ланцюга, за яким випливає константний домен легкого ланцюга (CL). Легкий ланцюг антитіла можна віднести до одного з двох типів, названих каппа (κ) і лямбда (λ), виходячи з амінокислотної послідовності її константного домену.

Термін «листівка-вкладиш» використовується для вказівки інструкцій, які зазвичай включаються у торгові упакування терапевтичних продуктів, які містять інформацію про показання, застосування, дозування, введення, комбіновану терапію, протипоказаннях і/або застереженнях, які стосуються використання таких терапевтичних продуктів.

«Відсоток (%) ідентичності амінокислотної послідовності» стосовно еталонної поліпептидної послідовності визначається як відсоток амінокислотних залишків у послідовності, яка цікавить, які ідентичні амінокислотним залишкам в еталонній поліпептидній послідовності після вирівнювання послідовностей і введення розривів, якщо необхідно, для одержання максимального відсотка ідентичності послідовностей, і без урахування будь-яких

консервативних замін як частини ідентичності послідовностей. Вирівнювання для цілей визначення відсотка ідентичності амінокислотних послідовностей можна досягти різними способами, які відомі в даній галузі техніки, наприклад, використовуючи загальнодоступне комп'ютерне програмне забезпечення, таке як програмне забезпечення BLAST, BALST-2, ALIGN або Megalign (DNASTAR). Кваліфіковані в даній галузі фахівці можуть визначити відповідні параметри для вирівнювання послідовностей, включаючи будь-які алгоритми, необхідні для досягнення максимального вирівнювання по всій довжині послідовностей, які порівнюються. Однак для цілей даного винаходу значення % ідентичності амінокислотних послідовностей одержують з використанням комп'ютерної програми для порівняння послідовностей ALIGN-2. Комп'ютерна програма для порівняння послідовностей ALIGN-2 була створена Genentech, Inc., і початковий текст програми був поданий разом з документацією користувача у Відомство з охорони авторських прав США, Washington D.C., 20559, де він був зареєстрований під № TXU510087 реєстрації авторського права в США. Програма ALIGN-2 знаходиться у вільному доступі від Genentech, Inc., South San Francisco, California, або її можна компілювати, виходячи з початкового тексту програми. Програму ALIGN-2 варто компілювати при використанні на операційній системі UNIX, включаючи Digital UNIX V4.0D. Усі параметри порівняння послідовностей установлюються програмою ALIGN-2 і не змінюються.

У ситуаціях, коли для порівнянь амінокислотних послідовностей використовується ALIGN-2, % ідентичності даної амінокислотної послідовності A і даної амінокислотної послідовності B (що можна альтернативно перефразувати, як дана амінокислотна послідовність A, яка має або містить деякий % ідентичності амінокислотної послідовності B) розраховують у такий спосіб:

100×частки X/Y,

де X являє собою число амінокислотних залишків, оцінених як ідентичні збіги програмою ALIGN-2 при вирівнюванні цією програмою послідовностей A і B, і де Y являє собою загальне число амінокислотних залишків у B. Зрозуміло, що якщо довжина амінокислотної послідовності A не дорівнює довжині амінокислотної послідовності B, % ідентичності амінокислотної послідовності A і послідовності B не буде дорівнює % ідентичності амінокислотної послідовності B і послідовності A. Якщо спеціально не зазначено інше, то всі значення % ідентичності амінокислотних послідовностей, використані в даному описі, одержують, як описано в попередньому параграфі з використанням комп'ютерної програми ALIGN-2.

Термін «фармацевтичний склад» стосується препарату, який знаходиться в такій формі, яка дозволяє біологічній активності діючого інгредієнта, який міститься в ньому, виявляти себе, і який не містить додаткові компоненти, які є неприйнятно токсичними для суб'єкта, якому будуть вводити склад.

«Фармацевтично прийнятний носій» стосується інгредієнта у фармацевтичному складі, крім діючого інгредієнта, який є нетоксичним для суб'єкта. Фармацевтично прийнятний носій включає, але не обмежується ними, буфер, наповнювач, допоміжну речовину або консервант.

Термін «Jagged» або «Jag», використаний у даному описі, стосується будь-якого нативного Jagged з будь-якої хребетної тварини, включаючи ссавців, таких як примати (наприклад, людина) і гризуни (наприклад, миші і пацюки), якщо не зазначено інше. Термін охоплює «повнорозмірний» непроцесований Jagged, а також будь-яку форму Jagged, яка виникає в результаті процесингу в клітині. Термін також охоплює природні варіанти Jagged, наприклад, сплайсингові варіанти або алельні варіанти. Амінокислотні послідовності типових людського і мишачого Jagged 1 і Jagged2 показані на фіг. 1 і 2 (SEQ ID NO: 1-4), відповідно.

Використаний у даному описі термін «лікування» (і його граматичні варіанти «лікувати» або «впливати») стосується клінічного втручання в спробі змінити природний перебіг хвороби індивідуума, який піддається лікуванню, і може проводитися або для профілактики, або при наявності клінічної патології. Бажані ефекти лікування включають попередження або виникнення рецидиву захворювання, пом'якшення симптомів, скорочення будь-яких прямих або непрямих патологічних наслідків захворювання, попередження метастазування, зниження швидкості розвитку захворювання, поліпшення або послаблення хворобливого стану і ремісію або поліпшення прогнозу. У деяких варіантах здійснення даного винаходу для затримки розвитку захворювання або порушення використовуються антитіла за даним винаходом.

Термін «варіабельна область» або «варіабельний домен» стосується домену важкого або легкого ланцюга антитіла, який бере участь у зв'язуванні антитіла з антигеном. Варіабельні домени важкого ланцюга і легкого ланцюга (VH і VL, відповідно) природного антитіла зазвичай мають схожі структури, при цьому кожен домен містить чотири консервативні каркасні області (FR) і три гіпервaріабельні ділянки (HVR). (Див., наприклад, Kindt et al. Kuby Immunology, 6th ed., W.H. Freeman and Co., page 91 (2007).) Один VH- або VL-домен може бути достатній для додання специфічності зв'язування з антигеном. Крім того, антитіла, які зв'язуються з

конкретним антигеном, можна виділити, використовуючи VH- або VL-домен антитіла, яке зв'язується з антигеном, для скринінгу бібліотеки комплементарних VL- або VH-доменів, відповідно. Див., наприклад, Portolano et al., J. Immunol. 150: 880-887 (1993); Clarkson et al., Nature 352: 624-628 (1991).

Використаний у даному описі термін «вектор» стосується молекули нуклеїнової кислоти, здатної переносити іншу нуклеїнову кислоту, з якою вона зв'язана. Термін включає вектор у вигляді структури нуклеїнової кислоти, яка самореципліку́ється, а також вектор, включений у геном клітини-хазяїна, у яку він введений. Деякі вектори здатні до керування експресією нуклеїнових кислот, з якими вони функціонально зв'язані. Такі вектори називають у даному описі «експресійними векторами».

II. КОМПОЗИЦІЇ І СПОСОБИ

В одному з аспектів даний винахід ґрунтується, частково, на ідентифікації анти-Jagged антитіл і їх фрагментів. У деяких варіантах здійснення запропоновані антитіла, які зв'язуються з щонайменше одним Jagged. Антитіла за винаходом можуть бути використані, наприклад, для діагностики або лікування раку. Відповідно, даний винахід стосується способів, композицій, наборів і промислових виробів, пов'язаних з анти-Jagged антитілами.

А. Приклади Анти-Jagged1 антитіл

В одному аспекті даний винахід стосується виділених антитіл, які зв'язуються з Jagged1.

У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло зв'язується з Jagged1 людини і миші. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло зв'язується з Jagged1 людини, миші і яванської макаки. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло зв'язується з Jagged1, але не зв'язується з Jagged2. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло зв'язується з Jagged1 людини, але не зв'язується з Jagged2 людини. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло зв'язується з Jagged1 людини і миші, але не зв'язується з Jagged2 людини або миші. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло зв'язується з Jagged1 людини, миші і яванської макаки, але не зв'язується з Jagged2 людини, миші, щура і яванської макаки. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло зв'язується з Jagged1, але не зв'язується Jagged2 або DLL1. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло зв'язується з Jagged1 людини, але не зв'язується з Jagged2 людини або DLL1 людини. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло зв'язується з Jagged1 людини і миші, але не зв'язується з Jagged2 людини або миші або з DLL1 людини або миші. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло зв'язується з Jagged1 людини, миші і яванської макаки, але не зв'язується з Jagged2 людини, миші або яванського макака або DLL1 людини, миші або яванської макаки. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло зв'язується з Jagged1, але не зв'язується з Jagged2, DLL1 або DLL4. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло зв'язується з Jagged1 людини, але не зв'язується Jagged2 людини, DLL1 людини або DLL4 людини. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло зв'язується з Jagged1 людини і миші, але не зв'язується з Jagged2 людини або миші, DLL1 людини або миші або DLL4 людини або миші. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло зв'язується з Jagged1 людини, миші і яванської макаки, але не зв'язується з Jagged2 людини, миші або яванської макаки, або з DLL1 людини, миші або яванської макаки, або з DLL4 людини, миші або яванської макаки.

У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло зв'язується з Jagged1 людини з афінністю (Kd) 2 нМ або вищою (тобто нижче 2 нМ). У деяких варіантах здійснення антитіло зв'язується з Jagged1 людини з афінністю (Kd) 1,5 нМ або вищою, або 1 нМ або вищою, або 0,9 нМ або вищою, 0,8 нМ або вищою, або 0,7 нМ або вищою (тобто нижче 1,5 нМ, нижче 1 нМ, нижче 0,9 нМ, нижче 0,8 нМ або нижче 0,7 нМ). У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло зв'язується Jagged1 миші з афінністю (Kd) 2 нМ або вищою (тобто нижче 2 нМ). У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло зв'язує мишачий Jagged1 з афінністю (Kd) 1,5 нМ або вищою, або 1 нМ або вищою, або 0,9 нМ або вищою, 0,8 нМ або вищою, 0,7 нМ або вищою, або 0,6 нМ або вищою, або 0,5 нМ або вищою (тобто нижче 1,5 нМ, нижче 1 нМ, нижче 0,9 нМ, нижче 0,8 нМ, нижче 0,7 нМ, нижче 0,6 нМ або нижче 0,5 нМ).

У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло зв'язує нативний, згорнутий Jagged1, але не зв'язує денатурований Jagged1. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло зв'язує Jagged1 у твердофазному імуноферментному аналізі (ELISA), але не зв'язує Jagged1 на Вестерн-блоті. У деяких варіантах здійснення винаходу антитіло зв'язує згорнутий Jagged1 у твердофазному імуноферментному аналізі (ELISA), але не зв'язує денатурований Jagged1 на Вестерн-блоті. У деяких варіантах здійснення антитіло зв'язує згорнутий Jagged1 у фізіологічних умовах, але не зв'язує денатурований Jagged1. «Нативний, згорнутий» Jagged1 стосується Jagged1, який пройшов процедуру згортання білка у фізіологічних умовах і залишається в

згорнутому стані. У деяких варіантах здійснення Jagged1 залишається в згорнутому стані в розчині.

У деяких варіантах здійснення даний винахід стосується анти-Jagged1 антитіла, яке містить щонайменше один, два, три, чотири, п'ять або шість HVR, вибраних з: (a) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35 або 78; (b) HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 28 або 36; (c) HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55 або 59, де X являє собою будь-яку амінокислоту, крім S; (d) HVR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38; (e) HVR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39; і (f) HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16 або 40. У деяких варіантах здійснення даний винахід стосується анти-Jagged1 антитіла, яке містить щонайменше один, два, три, чотири, п'ять або шість HVR, вибраних з: (a) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35 або 78; (b) HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36; (c) HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55, де X є будь-якою амінокислотою, крім S; (d) HVR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38; (e) HVR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39; і (f) HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 40. У деяких варіантах здійснення даний винахід стосується анти-Jagged1 антитіла, яке містить щонайменше один, два, три, чотири, п'ять або шість HVR, вибраних з: (a) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35 або 78; (b) HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 28; (c) HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 59, де X є будь-якою амінокислотою, крім S; (d) HVR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38; (e) HVR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39; і (f) HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16. У деяких варіантах здійснення даний винахід стосується анти-Jagged1 антитіла, яке містить щонайменше один, два, три, чотири, п'ять або шість HVR вибраних з: (a) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35 або 78; (b) HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36; (c) HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 59, де X є будь-якою амінокислотою, крім S; (d) HVR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38; (e) HVR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39; і (f) HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16. У деяких варіантах здійснення X являє собою будь-яку амінокислоту, крім S. У деяких варіантах здійснення X являє собою будь-яку амінокислоту, крім S або H. У деяких варіантах здійснення X вибраний з A, D, E, G, I, K, L, N, Q, R, T і V. У деяких варіантах здійснення X являє собою T.

У деяких варіантах здійснення даний винахід стосується анти-Jagged1 антитіла, яке містить щонайменше один, два, три, чотири, п'ять або шість HVR, вибраних з: (a) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35 або 78; (b) HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36; (c) HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 37; (d) HVR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38; (e) HVR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39; і (f) HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 40. У деяких варіантах здійснення даний винахід стосується анти-Jagged1 антитіла, яке містить щонайменше один, два, три, чотири, п'ять або шість HVR вибраних з: (a) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35 або 78; (b) HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 28; (c) HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 64; (d) HVR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38; (e) HVR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39; і (f) HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16. У деяких варіантах здійснення даний винахід стосується анти-Jagged1 антитіла, яке містить щонайменше один, два, три, чотири, п'ять або шість HVR, вибраних з: (a) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35 або 78; (b) HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36; (c) HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 64; (d) HVR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38; (e) HVR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39; і (f) HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16.

В одному аспекті даний винахід стосується антитіла, яке містить щонайменше одну, щонайменше, дві або всі три послідовності VH HVR, вибрані з: (a) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35 або 78; (b) HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 28 або 36; і (c) HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55 або 59, де X являє собою будь-яку амінокислоту, крім S. В одному варіанті здійснення антитіло містить HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55 або 59, де X являє собою будь-яку амінокислоту, крім S. В іншому варіанті здійснення антитіло містить HVR-

H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55 або 59, де X являє собою будь-яку амінокислоту, крім S, і HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16 або 40. В іншому варіанті здійснення винаходу антитіло включає HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55 або 59, де X являє собою будь-яку амінокислоту, крім S, HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16 або 40, і HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 28 або 36. У додатковому варіанті здійснення антитіло включає: (a) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35 або 78; (b) HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 28 або 36; і (c) HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55 або 59, де X є будь-якою амінокислотою, крім S. У деяких варіантах здійснення X являє собою будь-яку амінокислоту, крім S. У деяких варіантах здійснення X являє собою будь-яку амінокислоту, крім S або H. У деяких варіантах здійснення винаходу X вибраний з A, D, E, G, I, K, L, N, Q, R, T і V. У деяких варіантах здійснення X являє собою T.

В одному аспекті даний винахід стосується антитіла, яке містить щонайменше одну, щонайменше дві або всі три послідовності VH HVR, вибрані з: (a) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35 або 78; (b) HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36; і (c) HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55, де X представляє собою будь-яку амінокислоту, крім S. В одному варіанті здійснення антитіло містить HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55, де X є будь-якою амінокислотою, крім S. В іншому варіанті здійснення антитіло містить HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55, де X є будь-якою амінокислотою, крім S, і HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 40. У ще одному варіанті здійснення антитіло містить HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55, де X являє собою будь-яку амінокислоту, крім S, HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 40, і HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36. у ще одному варіанті здійснення антитіло містить: (a) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35 або 78; (b) HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36; і (c) HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55, де X є будь-якою амінокислотою, крім S. У деяких варіантах здійснення X являє собою будь-яку амінокислоту, крім S. У деяких варіантах здійснення X являє собою будь-яку амінокислоту, крім S або H. У деяких варіантах здійснення винаходу X вибраний з A, D, E, G, I, K, L, N, Q, R, T і V. У деяких варіантах здійснення X являє собою T. У додатковому варіанті здійснення антитіло включає: (a) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35 або 78; (b) HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36; і (c) HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 37.

В одному аспекті даний винахід стосується антитіла, яке містить щонайменше одну, щонайменше дві або всі три послідовності VH HVR, вибрані з: (a) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35 або 78; (b) HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 28; і (c) HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 59, де X представляє собою будь-яку амінокислоту, крім S. В одному варіанті здійснення антитіло включає HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 59, де X є будь-якою амінокислотою, крім S. В іншому варіанті здійснення антитіло включає HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 59, де X являє собою будь-яку амінокислоту, крім S, і HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16. У ще одному варіанті здійснення антитіло включає HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 59, де X являє собою будь-яку амінокислоту, крім S, HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16, і HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 28. У ще одному варіанті здійснення антитіло включає: (a) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35 або 78; (b) HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 28; і (c) HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 59, де X є будь-якою амінокислотою, крім S. У деяких варіантах здійснення X являє собою будь-яку амінокислоту, крім S. У деяких варіантах здійснення X являє собою будь-яку амінокислоту, крім S або H. У деяких варіантах здійснення винаходу X вибраний з A, D, E, G, I, K, L, N, Q, R, T і V. У деяких варіантах здійснення X являє собою T. У додатковому варіанті здійснення антитіло включає: (a) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35 або 78; (b) HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 28; і (c) HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 64.

В одному аспекті даний винахід стосується антитіла, яке містить щонайменше одну, щонайменше дві або всі три послідовності VH HVR, вибрані з: (a) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35 або 78; (b) HVR-H2, яка містить амінокислотну

послідовність SEQ ID NO: 36; і (c) HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 59, де X представляє собою будь-яку амінокислоту, крім S. В одному варіанті здійснення антитіло включає HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 59, де X є будь-якою амінокислотою, крім S. В іншому варіанті здійснення антитіло включає HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 59, де X являє собою будь-яку амінокислоту, крім S, і HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16. У ще одному варіанті здійснення антитіло включає HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 59, де X являє собою будь-яку амінокислоту, крім S, HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16, і HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36. У ще одному варіанті здійснення антитіло включає: (a) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35 або 78; (b) HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36; і (c) HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 59, де X є будь-якою амінокислотою, крім S. У деяких варіантах здійснення X являє собою будь-яку амінокислоту, крім S. У деяких варіантах здійснення X являє собою будь-яку амінокислоту, крім S або H. У деяких варіантах здійснення винаходу X вибраний з A, D, E, G, I, K, L, N, Q, R, T і V. У деяких варіантах здійснення X являє собою T. В іншому варіанті здійснення антитіло включає: (a) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35 або 78; (b) HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36; і (c) HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 64.

В іншому аспекті даний винахід стосується антитіла, яке містить щонайменше одну, щонайменше дві або всі три послідовності VL HVR, вибрані з: (a) HVR-L1, яка містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 38; (b) HVR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39; і (c) HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16 або 40. В одному варіанті здійснення антитіло містить (a) HVR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38; (b) HVR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39; і (c) HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16 або 40. В одному варіанті здійснення антитіло містить (a) HVR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38; (b) HVR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39; і (c) HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16. В одному варіанті здійснення антитіло включає: (a) HVR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38; (b) HVR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39; і (c) HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 40.

В іншому аспекті антитіло за даним винаходом включає: (a) VH-домен, який містить щонайменше одну, щонайменше дві або всі три послідовності VH HVR, вибрані з (i) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35 або 78, (ii) HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 28 або 36, і (iii) HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 55 або 59, де X являє собою будь-яку амінокислоту, крім S; і (b) VL-домен, який містить щонайменше одну, щонайменше дві або всі три послідовності VL HVR, вибрані з (i) HVR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38, (ii) HVR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39, і (c) HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16 або 40. В іншому аспекті антитіло за даним винаходом містить: (a) VH-домен, який містить щонайменше одну, щонайменше дві або всі три послідовності VH HVR, вибрані з (i) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35 або 78, (ii) HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36, і (iii) HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 55, де X є будь-якою амінокислотою, крім S; і (b) VL-домен, який містить щонайменше одну, щонайменше дві або всі три послідовності VL HVR, вибрані з (i) HVR-L1, яка містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 38, (ii) HVR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39, і (c) HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 40. В іншому аспекті антитіло за даним винаходом включає: (a) VH-домен, який містить щонайменше одну, щонайменше дві або всі три послідовності VH HVR, вибрані з (i) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35 або 78, (ii) HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 28, і (iii) HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 59, де X є будь-якою амінокислотою, крім S; і (b) VL-домен, який містить щонайменше одну, щонайменше дві або всі три послідовності VL HVR, вибрані з (i) HVR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38, (ii) HVR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39, і (c) HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16. В іншому аспекті антитіло за даним винаходом включає: (a) VH-домен, який містить щонайменше одну, щонайменше дві або всі три послідовності VH HVR, вибрані з (i) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35 або 78, (ii) HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36, і (iii) HVR-H3, яка містить

амінокислотну послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 59, де X є будь-якою амінокислотою, крім S; і (b) VL-домен, який містить щонайменше одну, щонайменше дві або всі три послідовності VL HVR, вибрані з (i) HVR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38, (ii) HVR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39, і (c) HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16. У деяких варіантах здійснення X являє собою будь-яку амінокислоту, крім S. У деяких варіантах здійснення X являє собою будь-яку амінокислоту, крім S або H. у деяких варіантах здійснення винаходу X вибраний з A, D, E, G, I, K, L, N, Q, R, T і V.

В іншому аспекті антитіло за даним винаходом включає: (a) VH-домен, який містить (i) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35 або 78, (ii) HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 28 або 36, і (iii) HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 55 або 59, де X являє собою будь-яку амінокислоту, крім S; і (b) VL-домен, який містить (i) HVR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38, (ii) HVR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39, і (c) HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16 або 40. в іншому аспекті антитіло за даним винаходом включає: (a) VH-домен, який містить (i) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35 або 78, (ii) HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36, і (iii) HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 55, де X є будь-якою амінокислотою, крім S; і (b) VL-домен, який містить (i) HVR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38, (ii) HVR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39, і (c) HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 40. В іншому аспекті антитіло за даним винаходом включає: (a) VH-домен, який містить (i) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35 або 78, (ii) HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 28, і (iii) HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 59, де X є будь-якою амінокислотою, крім S; і (b) VL-домен, який містить (i) HVR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38, (ii) HVR-L2, яка містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 39, і (c) HVR- L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16. В іншому аспекті антитіло за даним винаходом включає: (a) VH-домен, який містить (i) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35 або 78, (ii) HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36, і (iii) HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 59, де X є будь-якою амінокислотою, крім S; і (b) VL-домен, який містить (i) HVR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38, (ii) HVR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39, і (c) HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16. У деяких варіантах здійснення X являє собою будь-яку амінокислоту, крім S. У деяких варіантах здійснення X являє собою будь-яку амінокислоту, крім S або H. У деяких варіантах здійснення X вибраний з A, D, E, G, I, K, L, N, Q, R, T і V.

В іншому аспекті антитіло за даним винаходом включає: (a) VH-домен, який містить щонайменше одну, щонайменше дві або всі три послідовності VH HVR, вибрані з (i) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35 або 78, (ii) HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36, і (iii) HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 37; і (b) VL-домен, який містить щонайменше одну, щонайменше дві або всі три послідовності VL HVR, вибрані з (i) HVR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38, (ii) HVR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39, і (c) HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 40. В іншому аспекті антитіло за даним винаходом включає: (a) VH-домен, який містить щонайменше одну, щонайменше дві або всі три послідовності VH HVR, вибрані з (i) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35 або 78, (ii) HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 28, і (iii) HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 64; і (b) VL-домен, який містить щонайменше одну, щонайменше дві або всі три послідовності VL HVR, вибрані з (i) HVR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38, (ii) HVR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39, і (c) HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16.

В іншому аспекті антитіло за даним винаходом включає: (a) VH-домен, який містить щонайменше одну, щонайменше дві або всі три послідовності VH HVR, вибрані з (i) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35 або 78, (ii) HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36, і (iii) HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 64; і (b) VL-домен, який містить щонайменше одну, щонайменше дві або всі три послідовності VL HVR, вибрані з (i) HVR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38, (ii) HVR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39, і (c) HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO:

16. В іншому аспекті антитіло за даним винаходом включає: (a) VH-домен, який містить (i) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35 або 78, (ii) HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36, і (iii) HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 37; і (b) VL-домен, який містить (i) HVR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38, (ii) HVR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39, і (c) HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 40. В іншому аспекті антитіло за даним винаходом включає: (a) VH-домен, який містить (i) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35 або 78, (ii) HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 28, і (iii) HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 64; і (b) VL-домен, який містить (i) HVR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38, (ii) HVR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39, і (c) HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16. В іншому аспекті антитіло за даним винаходом включає: (a) VH-домен, який містить (i) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35 або 78, (ii) HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36, і (iii) HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 64; і (b) VL-домен, який містить (i) HVR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38, (ii) HVR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39, і (c) HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16.

У деяких варіантах здійснення анти-Jagged1 антитіло включає: (a) VH-домен, який містить (i) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35 або 78, (ii) HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 71, де X1 вибраний з P і G, X2 вибраний з D і N, і X3 вибраний з T і S, і (iii) HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 72, де X1 є будь-якою амінокислотою, крім S, і X2 є W або L; і (b) VL-домен, який містить (i) HVR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38, (ii) HVR-L2, яка містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 39, і (c) HVR- L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 74, де X1 є S або Y, X2 є P або A, і X3 є P або T. У деяких варіантах здійснення X1 у SEQ ID NO: 72 являє собою будь-яку амінокислоту, крім S або H. У деяких варіантах здійснення даного винаходу X1 у SEQ ID NO: 72 вибраний з A, D, E, G, I, K, L, N, Q, R, T і V. У деяких варіантах здійснення X1 у SEQ ID NO: 72 є T.

В одному варіанті здійснення анти-Jagged1 антитіло містить HVR, як у будь-якому із зазначених вище варіантів здійснення, і додатково містить у собі акцепторну каркасну область людини, наприклад, каркасну область імуноглобуліну людини або консенсусну каркасну область людини. В іншому варіанті здійснення анти-Jagged1 антитіло містить у собі HVR, як у будь-якому із зазначених вище варіантів здійснення, і додатково містить у собі VH, який містить щонайменше одну, дві, три або чотири FR, вибрані з FR1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 47; FR2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 48; FR3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 49; і FR4, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 50. В іншому варіанті здійснення анти-Jagged1 антитіло включає HVR, як у будь-якому із зазначених вище варіантів здійснення, і додатково містить у собі VL, який містить щонайменше одну, дві, три, або чотири FR, вибрані з FR1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 43; FR2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 44; FR3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 45; і FR4, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 46.

В іншому аспекті анти-Jagged1 антитіло включає послідовність варіабельного домену важкого ланцюга (VH), яка має щонайменше 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичності по послідовності з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 54, 58 або 62, де X являє собою будь-яку амінокислоту, крім S. У деяких таких варіантах здійснення послідовність VH містить HVR-H3 з SEQ ID NO: 55 або 59, де X є будь-якою амінокислотою, крім S. У деяких варіантах здійснення VH містить один, два або три HVR, вибраних з: (a) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35 або 78, (b) HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55 або 59, де X є будь-якою амінокислотою, крім S, і (c) HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 37 або 64. У деяких варіантах здійснення X являє собою будь-яку амінокислоту, крім S. У деяких варіантах здійснення X являє собою будь-яку амінокислоту, крім S або H. У деяких варіантах здійснення X вибраний з A, D, E, G, I, ДО, L, N, Q, R, T і V. У деяких варіантах здійснення X являє собою T. В іншому аспекті анти-Jagged1 антитіло містить послідовність варіабельного домену важкого ланцюга (VH), яка має щонайменше 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичності по послідовності з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 33, 65, або 66. У деяких таких варіантах здійснення, послідовність VH містить HVR-H3 з

SEQ ID NO: 37 або 64. У деяких варіантах здійснення VH містить один, два або три HVR, вибраних з: (a) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35 або 78, (b) HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 28 або 36, і (c) HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 37 або 64. У деяких варіантах здійснення послідовність VH, яка має щонайменше 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентичності, містить заміни (наприклад, консервативні заміни), інсерції або делеції щодо еталонної послідовності, але анти-Jagged1 антитіло, яке містить цю послідовність, зберігає здатність зв'язувати щонайменше один Jagged1. У деяких варіантах здійснення заміни, інсерції або делеції знаходяться в областях поза HVR (тобто, у FR). У деяких варіантах здійснення анти-Jagged1 антитіло містить послідовність варіабельного домену важкого ланцюга (VH), який має щонайменше 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичності по послідовності з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 33. У деяких таких варіантах здійснення послідовність VH містить HVR-H3 з SEQ ID NO: 37. У деяких варіантах здійснення даного винаходу VH включає один, два або три HVR, вибраних з: (a) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35 або 78, (b) HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36, і (c) HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 37. У деяких варіантах здійснення анти-Jagged1 антитіло містить послідовність VH у SEQ ID NO: 33, 65, або 66, включаючи посттрансляційні модифікації цієї послідовності. У деяких варіантах здійснення анти-Jagged1 антитіло містить послідовність VH у SEQ ID NO: 33, включаючи посттрансляційні модифікації цієї послідовності. У деяких варіантах здійснення анти-Jagged1 антитіло містить послідовність VH у SEQ ID NO: 65, включаючи посттрансляційні модифікації цієї послідовності. У деяких варіантах здійснення анти-Jagged1 антитіло містить послідовність VH у SEQ ID NO: 66, включаючи посттрансляційні модифікації цієї послідовності.

В іншому аспекті запропоноване анти-Jagged1 антитіло, де антитіло містить варіабельний домен легкого ланцюга (VL), яка має щонайменше 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичності по послідовності з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 10, 26 або 34. У деяких варіантах здійснення послідовність VL, яка має щонайменше 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентичності, містить заміни (наприклад, консервативні заміни), інсерції або делеції щодо еталонної послідовності, але анти-Jagged1 антитіло, яке містить цю послідовність, зберігає здатність зв'язуватися з Jagged1. У деяких варіантах здійснення, у цілому від 1 до 10 амінокислот заміщені, вставлені і/або вилучені в SEQ ID NO: 10, 26 або 34. У деяких варіантах здійснення заміни, інсерції або делеції знаходяться в областях поза HVR (тобто, у FR). У деяких варіантах здійснення VL містить один, два або три HVR, вибраних з (a) HVR-L1, яка містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 38; (b) HVR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39; і (c) HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16 або 40. У деяких варіантах здійснення винаходу анти-Jagged1 антитіло містить послідовність VL у SEQ ID NO: 10, 26 або 34, включаючи посттрансляційні модифікації цієї послідовності. У деяких варіантах здійснення анти-Jagged1 антитіло містить послідовність VL у SEQ ID NO: 34, включаючи пост-трансляційні модифікації цієї послідовності. У деяких варіантах здійснення винаходу анти-Jagged1 антитіло містить послідовність VL у SEQ ID NO: 10, включаючи посттрансляційні модифікації цієї послідовності. У деяких варіантах здійснення винаходу анти-Jagged1 антитіло містить послідовність VL у SEQ ID NO: 26, включаючи посттрансляційні модифікації цієї послідовності.

В іншому аспекті запропоноване анти-Jagged1 антитіло, де антитіло містить VH за кожним із варіантів здійснення, наведених вище, і VL за кожним із варіантів здійснення, наведених вище. В одному варіанті здійснення антитіло містить послідовності VH і VL у SEQ ID NO: 54, де X є будь-якою амінокислотою, крім S; і в SEQ ID NO: 34, відповідно, включаючи пост-трансляційні модифікації цих послідовностей. В одному варіанті здійснення антитіло містить послідовності VH і VL у SEQ ID NO: 58, де X є будь-якою амінокислотою, крім S; і SEQ ID NO: 10, відповідно, включаючи пост-трансляційні модифікації цих послідовностей. В одному варіанті здійснення антитіло містить послідовності VH і VL у SEQ ID NO: 62, де X є будь-якою амінокислотою, крім S; і SEQ ID NO: 26, відповідно, включаючи пост-трансляційні модифікації цих послідовностей. У деяких варіантах здійснення X являє собою будь-яку амінокислоту, крім S. У деяких варіантах здійснення X являє собою будь-яку амінокислоту, крім S або H. У деяких варіантах здійснення X вибраний з A, D, E, G, I, K, L, N, Q, R, T і V. У деяких варіантах здійснення X являє собою T.

В іншому аспекті запропоноване анти-Jagged1 антитіло, де антитіло містить VH за кожним із варіантів здійснення, наведених вище, і VL за кожним із варіантів здійснення, наведених вище. В одному варіанті здійснення антитіло містить послідовності VH і VL у SEQ ID NO: 33 і SEQ ID NO: 34, відповідно, включаючи посттрансляційні модифікації цих послідовностей. В одному

варіанті здійснення антитіло містить послідовності VH і VL у SEQ ID NO: 65 і SEQ ID NO: 10, відповідно, включаючи посттрансляційні модифікації цих послідовностей. В одному варіанті здійснення антитіло містить послідовності VH і VL у SEQ ID NO: 66 і SEQ ID NO: 26, відповідно, включаючи посттрансляційні модифікації цих послідовностей.

У деяких варіантах здійснення анти-Jagged1 антитіло включає важкий ланцюг, який містить послідовність SEQ ID NO: 57, де X є будь-якою амінокислотою, крім S, і легкий ланцюг, який містить послідовність SEQ ID NO: 53. У деяких варіантах здійснення анти-Jagged1 антитіло включає важкий ланцюг, який містить послідовність SEQ ID NO: 67, де X є будь-якою амінокислотою, крім S, і легкий ланцюг, який містить послідовність SEQ ID NO: 75. У деяких варіантах здійснення анти-Jagged1 антитіло включає важкий ланцюг, який містить послідовність SEQ ID NO: 68, де X є будь-якою амінокислотою, крім S, і легкий ланцюг, який містить послідовність SEQ ID NO: 76. У деяких варіантах здійснення X являє собою будь-яку амінокислоту крім S. У деяких варіантах здійснення X являє собою будь-яку амінокислоту, крім S або H. У деяких варіантах здійснення винаходу X вибраний з A, D, E, G, I, K, L, N, Q, R, T і V. У деяких варіантах здійснення X являє собою T. У деяких варіантах здійснення анти-Jagged1 антитіло включає важкий ланцюг, який містить послідовність SEQ ID NO: 51, і легкий ланцюг, який містить послідовність SEQ ID NO: 53. У деяких варіантах здійснення, анти-Jagged1 антитіло включає важкий ланцюг, який містить послідовність SEQ ID NO: 52, і легкий ланцюг, який містить послідовність SEQ ID NO: 53. У деяких варіантах здійснення анти-Jagged1 антитіло включає важкий ланцюг, який містить послідовність SEQ ID NO: 69, і легкий ланцюг, який містить послідовність SEQ ID NO: 75. У деяких варіантах здійснення анти-Jagged1 антитіло містить важкий ланцюг, який містить послідовність SEQ ID NO: 70, і легкий ланцюг, який містить послідовність SEQ ID NO: 76.

У додатковому аспекті даний винахід стосується антитіла, яке зв'язується з тим же епітопом, що й анти-Jagged1 антитіло, запропоноване в даному документі. Наприклад, у деяких варіантах здійснення запропоноване антитіло, яке зв'язується з тим же епітопом, що й анти-Jagged1 антитіло, яке містить послідовність VH з SEQ ID NO: 33, і послідовність VL з SEQ ID NO: 34.

У додатковому аспекті даний винахід стосується антитіла, яке конкурує за зв'язування з кожним із антитіл, запропонованих у даному документі.

У додатковому аспекті даного винаходу анти-Jagged1 антитіло за будь-яким із зазначених вище варіантів здійснення являє собою моноклональне антитіло, включаючи химерне, гуманізоване або людське антитіло. В одному варіанті здійснення винаходу анти-Jagged1 антитіло являє собою фрагмент антитіла, наприклад, Fv, Fab, Fab′, scFv, діантитіло або $F(ab')_2$-фрагмент. В іншому варіанті здійснення винаходу антитіло являє собою повнорозмірне антитіло, наприклад, інтактне людське антитіло IgG1 або інший клас або ізотип антитіл, описаний у даному документі.

У додатковому аспекті, анти-Jagged1 антитіло за будь-яким із зазначених вище варіантів здійснення може включати кожну з ознак, окремо або в комбінації, описаних у розділах 1-7 нижче:

1. Афінність антитіл

У деяких варіантах здійснення антитіло за даним винаходом має константу дисоціації (Kd) ≤1 мкМ, ≤100 нМ, ≤10 нМ, ≤1 нМ, ≤0,1 нМ, ≤0,01 нМ або ≤0,001 нМ (наприклад, 10^{-8} М або менше, наприклад, від 10^{-8} М до 10^{-13} М, наприклад, від 10^{-9} М до 10^{-13} М).

В одному з варіантів здійснення Kd вимірюють за допомогою аналізу зв'язування радіоактивноміченого антигену (RIA). В одному варіанті здійснення RIA виконують з Fab-варіантом антитіла, яке цікавить, і його антигеном. Наприклад, афінність зв'язування Fab з антигеном у розчині вимірюють шляхом урівноважування Fab з використанням мінімальної концентрації (^{125}I)-міченого антигену в присутності титраційного ряду неміченого антигену, потім захоплення зв'язаного антигену на планшеті, покритим анти-Fab антитілом (див., наприклад, Chen et al., (1999) J. Mol. Biol. 293: 865-881). Для визначення умов аналізу мультиямкові планшети MICROTITER® (Thermo Scientific) покривають протягом ночі 5 мкг/мл анти-Fab захоплювального антитіла (Cappel Labs) у 50 мМ карбонаті натрію (pH 9,6) і далі блокують 2 % (мас./об'єм) бичачого сироваткового альбуміну в PBS протягом двох-п'яти годин при кімнатній температурі (приблизно 23 °C). У несорбуючому планшеті (Nunc кат.№ 269620) 100 пМ або 26 пМ [^{125}I]-антигену змішують із серійними розведеннями Fab, який цікавить (наприклад, відповідно до оцінки анти-VEGF антитіла, Fab-12, у Presta et al., (1997) Cancer Res. 57: 4593-4599). Fab, який цікавить, потім інкубують протягом ночі, однак інкубація може продовжуватися протягом більш тривалого періоду (наприклад, приблизно 65 годин), щоб гарантувати досягнення рівноваги. Після цього суміші переносять у планшет, який захоплює, для інкубації при кімнатній температурі (наприклад, протягом однієї години). Розчин потім видаляють, і

планшет промивають вісім разів 0,1 %-м полісорбатом 20 (TWEEN-20®) у PBS. Після висихання планшетів додають 150 мкл/ямку сцинтиляційної рідини (MICROSCINT-20™, Packard), і планшети аналізують за допомогою гамма-лічильника TOPCOUNT™ (Packard) протягом десяти хвилин. Для використання в аналізах конкурентного зв'язування вибирають концентрацію кожного Fab, що забезпечує зв'язування, менше або дорівнює 20 % від максимального зв'язування.

Відповідно до іншого варіанту здійснення Kd визначають за допомогою аналізів з використанням поверхневого плазмонного резонансу, використовуючи BIAcore®-2000 або BIAcore®-3000 (BIAcore, Inc., Piscataway, NJ) при 25 °C с використанням чипів CM5 з іммобілізованим антигеном при ~10 одиниць відповіді (RU). В одному варіанті здійснення біосенсорні чіпи з карбоксиметилованого декстрану (CM5, BIAcore, Inc.) активують за допомогою N-етил-N′-(3-диметиламінопропіл)карбодііміду гідрохлориду (EDC) і N-гідроксисукциниміду (NHS) відповідно до інструкцій постачальника. Антиген розводять з використанням 10 мМ ацетату натрію, pH 4,8, до 5 мкг/мл (~0,2 мкМ) перед введенням при швидкості потоку 5 мкл/хв для одержання приблизно 10 одиниць відповіді (RU) зв'язаного білка. Після введення антигену вводять 1 М етаноламін для блокування груп, які не прореагували. Для кінетичних вимірювань вводять дворазові серійні розведення Fab (0,78-500 нМ) у PBS з 0,05 %-ю поверхнево-активною речовиною, полісорбатом 20 (Tween-20™) (PBST) при 25 °C при швидкості потоку, яка складає приблизно 25 мкл/хвилину. Швидкості асоціації (k_{on}) і швидкості дисоціації (k_{off}) обчислюють з використанням ленгмюрівської моделі простого зв'язування у співвідношенні 1:1 (BIACORE® Evaluation Software version 3.2) шляхом одночасного припасування сенсограм асоціації і дисоціації. Константу дисоціації при рівновазі (Kd) розраховують як співвідношення k_{off}/k_{on}. Див., наприклад, Chen Y. et al., J. Mol. Biol. 293: 865-881 (1999). Якщо швидкість асоціації перевищує 10^6 M^{-1} c^{-1} при вищевказаному аналізі з використанням поверхневого плазмонного резонансу, то швидкість асоціації можна визначити за допомогою методу гасіння флуоресценції, за допомогою якого визначається збільшення або зменшення інтенсивності флуоресценції, яка випускається, (збудження =295 нМ; випромінювання =340 нМ; ширина смуги 16 нМ) при 25 °C для 20 нМ антитіла до антигену (Fab-форми) у PBS, p 7,2, у присутності концентрацій антигену, які збільшуються, які вимірюють у спектрометрі, такому як спектрофотометр, оснащений зупиненим потоком (Avin Instruments), або спектрофотометр SLM-AMINCO™ 8000-серії (ThermoSpectronic), який має кювету з перемішуванням.

2. Фрагменти антитіл

У деяких варіантах здійснення антитіло за даним винаходом є фрагментом антитіла. Фрагменти антитіл включають, але не обмежуються ними, Fab-, Fab′-, Fab′-SH, $F(ab')_2$-, Fv- і scFv-фрагменти, й інші фрагменти, описані нижче. Для огляду деяких фрагментів антитіл див. Hudson et al. Nat. Med. 9: 129-134 (2003). Для огляду scFv-фрагментів див., наприклад, Pluckthun, у The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenburg and Moore eds., (Springer-Verlag, New York), pp. 269-315 (1994); див. також WO 93/16185 і патенти США №№ 5571894 і 5587458. Обговорення Fab- і $F(ab')_2$-фрагментів, які містять залишки епітопа, який зв'язується з рецептором порятунку, і характеризується збільшеним часом напівжиття in vivo, див. патент США № 5869046.

Діантитіла являють собою фрагменти антитіл із двома антигензв’язувальними сайтами, які можуть бути двовалентними або біспецифічними. Див., наприклад, EP 404097; WO 1993/01161; Hudson et al., Nat. Med. 9: 129-134 (2003); і Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448 (1993). Триантитіла і тетраантитіла також описані в Hudson et al., Nat. Med. 9: 129-134 (2003).

Однодоменні антитіла являють собою фрагменти антитіл, які містять повний варіабельний домен важкого ланцюга антитіла або його ділянку, або повний варіабельний домен легкого ланцюга антитіла або його ділянку. У деяких варіантах здійснення однодоменним антитілом є людське однодоменне антитіло (Domantis, Inc., Waltham, MA; див., наприклад, патент США № 6248516 B1).

Фрагменти антитіл можна створити за допомогою різних методів, які включають, але не обмежених ними, протеолітичне розщеплення інтактного антитіла, а також продукція рекомбінантними клітинами-хазяїнами (наприклад, E. coli або фагами), як описано в даному документі.

3. Химерні і гуманізовані антитіла

У деяких варіантах здійснення антитіло за даним винаходом є химерним антитілом. Деякі химерні антитіла описані, наприклад, у патенті США № 4816567 і в Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81: 6851-6855 (1984)). В одному з прикладів химерне антитіло містить

варіабельну область тварини (наприклад, варіабельну область, отриману від миші, щура, хом'яка, кролика або примата, який не є людиною, такого як мавпа) і людську константну область. У додатковому прикладі химерне антитіло являє собою антитіло з «переключенням класу», у випадку якого клас або ізотип був змінений порівняно з таким у батьківського антитіла. Химерні антитіла включають їхній антигензв'язувальні фрагменти.

У деяких варіантах здійснення химерним антитілом є гуманізоване антитіло. Як правило, антитіло тварини піддають процедурі гуманізації для зниження імуногенності в людини, при збереженні специфічності й афінності батьківського антитіла тварини. Як правило, гуманізоване антитіло містить один або декілька варіабельних доменів, у яких HVR, наприклад, CDR, (або їхні ділянки) мають своє походження з антитіла тварини, а FR (або їхні ділянки) мають своє походження з послідовностей антитіл людини. Необов'язково, гуманізоване антитіло буде також містити щонайменше ділянку константної області антитіла людини. У деяких варіантах здійснення деякі залишки в FR у гуманізованому антитілі замінені відповідними залишками з антитіла тварини (наприклад, антитіла, з якого взяті залишки HVR), наприклад, для відновлення або збільшення специфічності або афінності антитіла.

Огляд гуманізованих антитіл і способів їхнього одержання наведений, наприклад, у Almagro and Fransson, Front. Biosci. 13: 1619-1633 (2008) і, крім того, вони описані, наприклад, у Riechmann et al., Nature 332: 323-329 (1988); Queen et al., Proc. Nat. Acad. Sci. USA 86: 10029-10033 (1989); патентах США №№ 5821337, 7527791, 6982321 і 7087409; Kashmiri et al., Methods 36: 25-34 (2005) (де описується пересадження визначальної специфічність області (SDR)); Padlan, Mol. Immunol. 28: 489-498 (1991) (де описується «зміна поверхні»); Dall′Acqua et al., Methods 36: 43-60 (2005) (де описується «перетасування FR»); і Osbourn et al., Methods 36: 61-68 (2005) і Klimka et al., Br. J. Cancer, 83: 252-260 (2000) (де описується підхід «спрямованого відбору» для перетасування FR).

Людські каркасні області, які можуть використовуватися для гуманізації, включають, але не обмежуються ними, каркасні області, вибрані з використанням методу «найкращої відповідності» (див., наприклад, Sims et al. J. Immunol. 151: 2296 (1993)); каркасні області, отримані на основі консенсусної послідовності для антитіл людини з конкретної підгрупи варіабельних областей легкого або важкого ланцюга (див., наприклад, Carter et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89: 4285 (1992); і Presta et al. J. Immunol., 151: 2623 (1993)); каркасні області зрілих (соматично мутованих) імуноглобулінів людини або каркасні області імуноглобулінів зародків лінії людини (див., наприклад, Almagro and Fransson, Front. Biosci. 13: 1619-1633 (2008)); і каркасні області, отримані в результаті скринінгу бібліотек FR (див., наприклад, Baca et al., J. Biol. Chem. 272: 10678-10684 (1997) і Rosok et al., J. Biol. Chem. 271: 22611-22618 (1996)).

4. Антитіла людини

У деяких варіантах здійснення антитіло за даним винаходом є антитілом людини. Антитіла людини можна одержати, використовуючи різні методи, відомі в даній галузі техніки. Антитіла людини описані загалом у van Dijk and van de Winkel, Curr. Opin. Pharmacol. 5: 368-74 (2001) і Lonberg, Curr. Opin. Immunol. 20: 450-459 (2008).

Антитіла людини можна одержати введенням імуногену трансгенній тварині, яка була модифікована для продукції інтактних антитіл людини або інтактних антитіл з варіабельними областями людини у відповідь на антигенний вплив. Такі тварини, як правило, містять усі імуноглобулінові локуси людини або їх частину, які заміщають ендогенні імуноглобулінові локуси, або які присутні екстрахромосомно або випадковим чином вбудовані у хромосоми тварини. У таких трансгенних мишей ендогенні імуноглобулінові локуси зазвичай інактивовані. Огляду способів одержання антитіл людини з трансгенних тварин див. Lonberg, Nat. Biotech. 23: 1117-1125 (2005). Див. також, наприклад, патенти США №№ 6075181 і 6150584, у яких описується технологія XENOMOUSE™; патент США № 5770429, у якому описується технологія HUMAB®; патент США № 7041870, у якому описується технологія K-M MOUSE®, і публікацію заявки на патент США № US 2007/0061900, у якій описується технологія VELOCIMOUSE®. Варіабельні області людини з інтактних антитіл, створених за допомогою таких тварин, можна далі модифікувати, наприклад, за допомогою об'єднання з іншою константною областю людини.

Антитіла людини можна також одержувати способами на основі гібридом. Описано лінії клітин мієломи людини і гетеромієломи миші-людини для одержання моноклональних антитіл людини. (Див., наприклад, Kozbor J. Immunol., 133: 3001 (1984); Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987); і Boerner et al., J. Immunol., 147: 86 (1991).) Антитіла людини, створені за допомогою гібридомної технології з використанням B-клітин людини, також описані в Li et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103: 3557-3562 (2006). Додаткові способи включають ті, які описані, наприклад, у патенті США № 7189826 (де описане одержання моноклональних антитіл людини класу IgM з ліній

гібридомних клітин) і в Ni, Xiandai Mianyixue, 26(4): 265-268 (2006) (де описуються гібридоми людина-людина). Технологія гібридом людини (технологія Trioma) також описана в Vollmers and Brandlein, Histology and Histopathology, 20(3): 927-937 (2005) і Vollmers and Brandlein, Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology, 27(3): 185-91 (2005).

Антитіла людини можна також створити за допомогою виділення послідовностей Fv-клонів варіабельних доменів, які відбираються з бібліотек фагового дисплея антитіл людини. Такі послідовності варіабельних доменів потім можна об'єднати з бажаним константним доменом людини. Методи відбору антитіл людини з бібліотек антитіл описані нижче.

5. Одержані з бібліотек антитіла

Антитіла за даним винаходом можна виділити за допомогою скринінгу комбінаторних бібліотек на антитіла з бажаною активністю або видами активності. Наприклад, у даній галузі техніки відомий ряд способів створення бібліотек фагового дисплея і скринінгу таких бібліотек на антитіла, яке володіють бажаними характеристиками зв'язування. Такі способи розглядаються, наприклад, у Hoogenboom et al. у Methods in Molecular Biology 178: 1-37 (O′Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001) і додатково описані, наприклад, у McCafferty et al., Nature 348: 552-554; Clackson et al., Nature 352: 624-628 (1991); Marks et al., J. Mol. Biol. 222: 581-597 (1992); Marks and Bradbury, у Methods in Molecular Biology 248: 161-175 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003); Sidhu et al., J. Mol. Biol. 338(2): 299-310 (2004); Lee et al., J. Mol. Biol. 340(5): 1073-1093 (2004); Fellouse, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101(34): 12467-12472 (2004); і Lee et al., J. Immunol. Methods 284 (1-2): 119-132 (2004).

У деяких способах фагового дисплея набори генів VH і VL клонують окремо за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) і рекомбінують випадковим чином у фагові бібліотеки, які потім можна скринувати на антигензв’язувальний фаг, як описано в Winter et al., Ann. Rev. Immunol., 12: 433-455 (1994). Фаги, як правило, представляють на своїй поверхні фрагменти антитіл, у вигляді або одноланцюжкових Fv- (scFv) фрагментів, або Fab-фрагментів. Бібліотеки на основі імунізованих джерел забезпечують високоафінні антитіла до імуногену без необхідності створення гібридом. В альтернативному варіанті можна клонувати набір генів з неімунізованого джерела (наприклад, людини) для забезпечення одного джерела антитіл до широкого спектра антигенів, які не є аутоантигенами, а також аутоантигенів, без якої-небудь імунізації, як описано в Griffiths et al., EMBO J, 12: 725-734 (1993). Нарешті, бібліотеки на основі неімунізованих джерел можна також одержувати синтетично за допомогою клонування сегментів V-генів зі стовбурних клітин, які не пройшли перестановку, і використання ПЛР-праймерів з випадковою послідовністю для кодування високоваріабельних CDR3-областей і завершення перестановки in vitro, як описано в Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol., 227: 381-388 (1992). Патенти і публікації заявок на патенти, у яких описуються бібліотеки антитіл людини у фагах, включають, наприклад, патент США № 5750373 і публікації заявок на патенти №№ 2005/0079574, 2005/0119455, 2005/0266000, 2007/0117126, 2007/0160598, 2007/0237764, 2007/0292936 і 2009/0002360.

Антитіла або фрагменти антитіл, виділені з бібліотек антитіл людини, вважаються в даному описі антитілами людини або фрагментами антитіл людини.

6. Поліспецифічні антитіла

У деяких варіантах здійснення антитіло за даним винаходом є поліспецифічним антитілом, наприклад, біспецифічним антитілом. Поліспецифічні антитіла являють собою моноклональні антитіла, які володіють специфічностями зв'язування з щонайменше двома різними сайтами. У деяких варіантах здійснення однієї зі специфічностей зв'язування є зв'язування з Jagged1, а іншої - зв'язування з будь-яким іншим антигеном. У деяких варіантах здійснення біспецифічні антитіла можуть зв'язуватися з двома різними епітопами Jagged1. Біспецифічні антитіла можуть також використовуватися для концентрації цитотоксичних агентів у клітинах, які експресують Jagged1. Біспецифічні антитіла можна одержати у вигляді повнорозмірних антитіл або фрагментів антитіл.

Методики одержання поліспецифічних антитіл включають, але не обмежуються ними, рекомбінантну спільну експресію пар важкий ланцюг-легкий ланцюг двох імуноглобулінів, які мають різну специфічність (див. Milstein and Cuello, Nature 305:537 (1983)), WO 93/08829 і Traunecker et al., EMBO J. 10:3655 (1991)) й інженерію «виступи-в-западини» (див., наприклад, патент США № 5731168). Поліспецифічні антитіла можна також одержати за допомогою інженерії ефектів електростатичного наведення для одержання Fc-гетеродимірних молекул антитіл (WO 2009/089004 A1); зшивання двох або декількох антитіл або фрагментів (див., наприклад, патент США № 4676980 і Brennan et al., Science, 229:81 (1985)); використання лейцинових блискавок для одержання біспецифічних антитіл (див., наприклад, Kostelny et al., J. Immunol., 148(5):1547-1553 (1992)); використання технології одержання «діантитіл» для

створення фрагментів біспецифічних антитіл (див., наприклад, Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993)); і використання димерів одноланцюжкових Fv (sFv) (див., наприклад, Gruber et al., J. Immunol., 152:5368 (1994)); і одержання триспецифіних антитіл, як описано, наприклад, у Tutt et al. J. Immunol. 147:60 (1991).

У даний опис також включені сконструйовані антитіла з трьома або великим числом функціональних антигензв'язувальних сайтів, включаючи «антитіла-восьминоги» (див., наприклад, US 2006/0025576 A1).

Антитіло або фрагмент у даному описі також включає «Fab подвійної дії» або «DAF», який містить антигензв'язувальний сайт, який зв'язується з Jagged1, а також з іншим антигеном (див., наприклад, US 2008/0069820).

7. Варіанти антитіл

У деяких варіантах здійснення передбачені варіанти амінокислотних послідовностей, запропонованих у даному описі антитіл. Наприклад, може бути бажано збільшити афінність зв'язування і/або інші біологічні властивості антитіла. Варіанти амінокислотної послідовності антитіла можна одержати за допомогою введення відповідних модифікацій у нуклеотидну послідовність, яка кодує антитіло, або за допомогою пептидного синтезу. Такі модифікації включають, наприклад, делеції, і/або інсерції, і/або заміни залишків в амінокислотних послідовностях антитіла. Для одержання кінцевої конструкції можна створити будь-яку комбінацію з делеції, інсерції й заміни за умови, що кінцева конструкція має бажані характеристики, наприклад, зв'язуванням з антигеном.

а) Варіанти з замінами, інсерціями й делеціями

У деяких варіантах здійснення винахід стосується варіантів антитіл, які містять одну або кілька амінокислотних замін. Сайти для мутагенезу, які цікавлять найбільше, з заміною включають HVR і FR. Консервативні заміни наведені в таблиці 1 під заголовком «переважні заміни». Більш істотні зміни наведені в таблиці 1 під заголовком «типові заміни» і додатково описані нижче з посиланням на класи бічних ланцюгів амінокислот. Амінокислотні заміни можна ввести в антитіло, яке представляє інтерес, а продукти піддати скринінгу на бажану активність, наприклад, збереження/збільшення зв'язування з антигеном, зменшення імуногенності або посилення ADCC або CDC.

Таблиця 1

Вихідний залишок	Типові заміни	Переважні заміни
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; Норлейцин	Leu
Leu (L)	Норлейчин; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; Норлейцин	Leu

Амінокислоти можна розділити на групи відповідно до спільних властивостей їхніх бічних ланцюгів:

1) гідрофобні: норлейцин, Met, Ala, Val, Leu, Ile;

2) нейтральні гідрофільні: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;

3) кислі: Asp, Glu;

4) основні: His, Lys, Arg;

5) залишки, які впливають на орієнтацію ланцюга: Gly, Pro;

6) ароматичні: Trp, Tyr, Phe.

Неконсервативні заміни спричинять за собою заміну члена одного з цих класів на інший клас.

Один тип варіанта із замінами включає заміну одного або декількох залишків гіпервaріабельних ділянок батьківського антитіла (наприклад, гуманізованого антитіла або антитіла людини). Звичайно, одержаний у результаті варіант (варіанти), який відбирається для подальшого дослідження, буде мати зміни (наприклад, поліпшення) деяких біологічних властивостей (наприклад, збільшення афінності, зменшення імуногенності) щодо батьківського антитіла, і/або в нього в значній мірі будуть зберігатися деякі біологічні властивості батьківського антитіла. Типовим варіантом із замінами є антитіло з дозрілою афінністю, яке можна зручно одержати, наприклад, з використанням методів дозрівання афінності на основі фагового дисплея, таких як описані в даному описі. Коротко, мутують один або кілька залишків у HVR, і варіанти антитіл представляють на поверхні фагів і скринують на конкретну біологічну активність (наприклад, афінність зв'язування).

Зміни (наприклад, заміни) можна ввести в HVR, наприклад, для збільшення афінності антитіла. Такі зміни можна ввести в «гарячі точки» HVR, тобто залишки, кодовані кодонами, які піддаються мутації з високою частотою під час процесу соматичного дозрівання (див., наприклад, Chowdhury, Methods Mol. Biol. 207: 179-196 (2008)), і/або залишки, які контактують з антигеном, перевіряють при цьому отриманий у результаті варіант VH або VL на афінність зв'язування. Дозрівання афінності шляхом конструювання вторинних бібліотек і повторного відбору з них було описано, наприклад, у Hoogenboom et al. у Methods in Molecular Biology 178: 1-37 (O′Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001)) У деяких варіантах здійснення дозрівання афінності в гени варіабельних областей, вибрані для дозрівання, вносять різноманітність за допомогою кожного з ряду способів (наприклад, ПЛР із внесенням помилок, перетасування ланцюгів або мутагенезу з використанням олігонуклеотидів). Потім створюють вторинну бібліотеку. Потім бібліотеку скринують для ідентифікації будь-яких варіантів антитіла з бажаною афінністю. Інший спосіб внесення різноманітності включає спрямовані на HVR підходи, у яких рандомізують кілька залишків HVR (наприклад, 4-6 залишків за один раз). Залишки HVR, залучені у зв'язування антигену, можна, зокрема, ідентифікувати, наприклад, використовуючи аланіно-скануючий мутагенез або моделювання. Особливо, CDR-H3 і CDR-L3 часто стають мішенями.

У деяких варіантах здійснення заміни, інсерції або делеції можуть зустрічатися в одному або декількох HVR за умови, що такі зміни істотно не зменшують здатність антитіла до зв'язування антигену. Наприклад, консервативні зміни (наприклад, консервативні заміни, наведені в даному описі), які істотно не зменшують афінність зв'язування, можуть бути внесені в HVR. Такі зміни можуть знаходитися поза «гарячими точками» HVR. У деяких варіантах здійснення варіантів послідовностей VH і VL, наведених вище, кожен HVR або залишається незміненим, або містить не більш однієї, двох або трьох амінокислотних замін.

Придатний спосіб ідентифікації залишків або областей антитіла, які можуть бути намічені для мутагенезу, називають «аланін-скануючим мутагенезом», описаним Cunningham і Wells (Science, 244: 1081-1085 (1989)). У цьому способі залишок або групу цільових залишків (наприклад, заряджені залишки, такі як arg, asp, his, lys і glu) ідентифікують і заміщають нейтральною або негативно зарядженою амінокислотою (наприклад, аланіном або поліаланіном) для визначення того, чи виявляється вплив на взаємодію антитіла з антигеном. Додаткові заміни можуть бути введені в положення амінокислот, які демонструють функціональну чутливість до первісних замін. В альтернативному варіанті або додатково може використовуватися кристалічна структура комплексу антиген-антитіло для ідентифікації точок контакту між антитілом і антигеном. Такі точки контакту і сусідніх залишків можуть бути намічені або виключені як кандидати на заміну. Варіанти можна піддати скринінгу для визначення того, чи мають вони бажані властивості.

Вставки (інсерції) в амінокислотну послідовність, довжина яких знаходиться в діапазоні від одного залишку до поліпептидів, які містять сотню або більшу кількість залишків, включають злиття з аміно-кінцем і/або карбоксильним кінцем, а також вставки всередині послідовності одного або безлічі амінокислотних залишків. Приклади кінцевих вставок включають антитіло з N-кінцевим метіонильним залишком. Інші інсерціонні варіанти молекули антитіла включають злиття N- або C-кінця антитіла з ферментом (наприклад, для ADEPT) або поліпептидом, що збільшує час напівжиття антитіла в сироватці.

b) Варіанти глікозилювання

У деяких варіантах здійснення антитіло за даним винаходом змінюють для збільшення або зменшення ступеня глікозилування антитіла. Додавання до антитіла сайтів глікозилювання або їх виключення легко здійснюють шляхом зміни амінокислотної послідовності, так що створюється або виключається один або декілька сайтів глікозилювання.

Якщо антитіло містить Fc-область, вуглевод, який приєднується до нього, може бути змінений. Природні антитіла, продуковані клітинами ссавців, зазвичай містять розгалужений, вилкоподібний олігосахарид, який, як правило, приєднаний за допомогою N-глікозидного зв'язку до Asn297 CH2-домену Fc-області. Див., наприклад, Wright et al. TIBTECH 15: 26-32 (1997). Олігосахарид може включати різні вуглеводи, наприклад, манозу, N-ацетилглюкозамін (GlcNAc), галактозу і сіалову кислоту, а також фукозу, приєднану до GlcNAc у «стовбурі» вилкоподібної олігосахаридної структури. У деяких варіантах здійснення модифікації олігосахариду в антитілі за даним винаходом можуть здійснюватися з метою створення варіантів антитіла з деякими поліпшеними властивостями.

В одному варіанті здійснення запропоновані варіанти антитіл з вуглеводною структурою, у якій бракує фукози, приєднаної (безпосередньо або опосредковано) до Fc-області. Наприклад, кількість фукози в такому антитілі може складати 1-80 %, 1-65 %, 5-65 %, 20-40 %. Кількість фукози визначають шляхом розрахунку середньої кількості фукози в цукровому ланцюзі, приєднаного до Asn297, відносно суми всіх глікоструктур, приєднаних до Asn 297 (наприклад, складних, гібридних структур і структур з високою кількістю манози), обумовлених за допомогою MALDI-TOF мас-спектрометрії, наприклад, як описано в WO 2008/077546. Asn297 стосується залишку аспарагіну, який знаходиться приблизно в положенні 297 у Fc-області (за EU-нумерацією залишків Fc-області); однак Asn297 може також знаходиться приблизно на ±3 амінокислоти до або після положення 297, тобто між положеннями 294 і 300, внаслідок незначних варіацій послідовностей антитіл. Такі варіанти фукозилювання можуть характеризуватися поліпшеною ADCC-функцією. Див., наприклад, публікації заявок на патенти США №№ US 2003/0157108 (Presta, L.); US 2004/0093621 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd). У деяких варіантах здійснення константна область IgG1, яка містить мутацію N297G або N297A, по суті не має ефекторної функції. Приклади публікацій, які стосуються «дефукозованих» або «з нестачею фукози» варіантів антитіл, включають: US 2003/0157108; WO 2000/61739; WO 2001/29246; US 2003/0115614; US 2002/0164328; US 2004/0093621; US 2004/0132140; US 2004/0110704; US 2004/0110282; US 2004/0109865; WO 2003/085119; WO 2003/084570; WO 2005/035586; WO 2005/035778; WO2005/053742; WO2002/031140; Okazaki et al. J. Mol. Biol. 336: 1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004). Приклади ліній клітин, здатних продукувати дефукозовані антитіла, включають клітини Lec13 CHO, нездатні до фукозилювання білків (Ripka et al. Arch. Biochem. Biophys. 249: 533-545 (1986); заявка на патент США № US 2003/0157108 A1, Presta, L; і WO 2004/056312 A1, Adams et al., особливо в прикладі 11), і нокаутні клітинні лінії, такі як клітини CHO з нокаутним геном альфа-1,6-фукозилтрансферази, FUT8 (див., наприклад, Yamane-Ohnuki et al., Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004); Kanda, Y. et al., Biotechnol. Bioeng., 94(4): 680-688 (2006); і WO 2003/085107).

Крім того, запропоновані варіанти антитіл із тризубчатими олігосахаридами, наприклад, у яких GlcNAc присутній у точці розгалуження вилкоподібного олігосахариду, приєднаного до Fc-області антитіла. Такі варіанти антитіл можуть мати знижене фукозилювання і/або поліпшену ADCC-функцію. Приклади таких варіантів антитіл описані, наприклад, у WO 2003/011878 (Jean-Mairet et al.); патенті США № 6602684 (Umana et al.) і US 2005/0123546 (Umana et al.). Також запропоновані варіанти антитіл щонайменше з одним залишком галактози в олігосахариді, приєднаному до Fc-області. Такі варіанти антитіл можуть мати поліпшену CDC-функцію. Такі варіанти антитіл описані, наприклад, у WO 1997/30087 (Patel et al.); WO 1998/58964 (Raju, S.) і WO 1999/22764 (Raju, S.).

c) Варіанти Fc-області

У деяких варіантах здійснення одна або декілька модифікацій амінокислот можуть бути введені у Fc-область антитіла за даним винаходом, створюючи тим самим варіант Fc-області. Варіант Fc-області може містити послідовність Fc-області людини (наприклад, Fc-області IgG1, IgG2, IgG3 або IgG4 людини), яка містить амінокислотну модифікацію (наприклад, заміну) в одній або декількох амінокислотних позиціях.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу передбачається варіант антитіла, яке має декілька, але не всі ефекторні функції, що робить його бажаним кандидатом у таких варіантах застосування, коли важливий час напівжиття антитіла in vivo, а деякі ефекторні функції (такі як активація комплементу і ADCC) є непотрібними або шкідливими. Можна провести in vitro і/або in vivo аналізи цитотоксичності для підтвердження зниження/виснаження CDC- і/або ADCC-активності. Наприклад, можна провести аналізи зв'язування з рецептором Fc (FcR) для гарантії

того, що антитіло не зв'язує FcγR (отже, у нього, ймовірно, відсутня ADCC-активність), але зберігає здатність зв'язувати FcRn. Основні ADCC клітини, які опосередковують, NK-клітини, експресують тільки FcγRIII, тоді як моноцити експресують FcγRI, FcγRII і FcγRIII. Експресія Fc у гематопоетичних клітинах підсумована в таблиці 3 на сторінці 464 Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9: 477-492 (1991). Необмежуючі приклади in vitro аналізів для оцінки ADCC-активності молекули, яка цікавить, описані в патенті США № 5500362 (див., наприклад, Hellstrom, I. et al. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 83: 7059-7063 (1986)) і Hellstrom, I et al., Proc. Nat. Acad. Sci. USA 82: 1499-1502 (1985); № 5821337 (див. Bruggemann, M. et al., J. Exp. Med. 166: 1351-1361 (1987)). В альтернативному варіанті можна використовувати нерадіоактивні методи аналізу (див., наприклад, нерадіоактивний аналіз цитотоксичності ACTI™ для проточної цитометрії (CellTechnology, Inc. Mountain View, CA); і нерадіоактивний аналіз цитотоксичності CytoTox 96® (Promega, Madison, WI). Придатні для таких аналізів ефекторні клітини включають мононуклеарні клітини периферичної крові (PBMC) і природні кілери (NK). В альтернативному варіанті або додатково, ADCC-активність молекули, яка цікавить, можна оцінити in vivo, наприклад, у тваринній моделі, такій як модель, описана в Clynes et al., Proc. Nat. Acad. Sci. USA 95: 652-656 (1998)). Можна також провести аналізи зв'язування C1q для підтвердження того, що антитіло не здатне зв'язувати C1q і, отже, не має CDC-активності. Див., наприклад, ELISA для оцінки зв'язування C1q і C3c у WO 2006/029879 і WO 2005/100402. Для оцінки активації комплементу можна провести аналіз CDC (див., наприклад, Gazzano-Santoro et al., J. Immunol. Methods 202: 163 (1996); Cragg, M.S. et al., Blood 101: 1045-1052 (2003); і Cragg, M.S. and M.J. Glennie, Blood 103: 2738-2743 (2004)). Визначення зв'язування з FcRn і in vivo кліренсу/періоду напіввиведення можна також провести з використанням способів, відомих у даній галузі (див., наприклад, Petkova, S.B. et al., Int. Immunol. 18(12): 1759-1769 (2006)).

Антитіла зі зниженою ефекторною функцією включають антитіла з заміною одного або декількох залишків у позиціях 238, 265, 269, 270, 297, 327 і 329 Fc-області (патент США № 6737056). Такі Fc-мутанти включають Fc-мутанти з замінами в двох або декількох амінокислотних позиціях 265, 269, 270, 297 і 327, включаючи так званий Fc-мутант «DANA» із заміною залишку 265 і 297 на аланін (патент США № 7332581).

Описано деякі варіанти антитіл зі збільшеним або зменшеним зв'язуванням з FcR (див., наприклад, патент США № 6737056; WO 2004/056312 і Shields et al., J. Biol. Chem. 9(2): 6591-6604 (2001)).

У деяких варіантах здійснення варіант антитіла містить Fc-область з однією або декількома амінокислотними замінами, які збільшують ADCC, наприклад, із замінами в позиціях 298, 333 і/або 334 Fc-області (EU-нумерація залишків).

У деяких варіантах здійснення проводять зміни в Fc-області, які призводять до зміни (тобто або до збільшення, або до зменшення) зв'язування C1q і/або комплементзалежної цитотоксичності (CDC), наприклад, як описано в патенті США № 6194551, WO 99/51642 і в Idusogie et al. J. Immunol. 164: 4178-4184 (2000).

Антитіла зі збільшеним часом напівжиття і збільшеним зв'язуванням з неонатальним Fc-рецептором (FcRn), який відповідальний за перенесення материнських IgG плоду (Guyer et al., J. Immunol. 117: 587 (1976) і Kim et al., J. Immunol. 24: 249 (1994)), описані в US 2005/0014934 A1 (Hinton et al.). Ці антитіла містять Fc-область з однією або декількома замінами в ній, які збільшують зв'язування Fc-області з FcRn. Такі варіанти Fc-області включають Fc-області з замінами в одному або декількох залишках Fc-області, обираних з 238, 256, 265, 272, 286, 303, 305, 307, 311, 312, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 382, 413, 424 і 434, наприклад, із заміною залишку 434 у Fc-області (патент США № 7371826).

Див. також Duncan & Winter, Nature 322:738-740 (1988); патент США № 5648260; патент США № 5624821 і WO 94/29351, які стосуються інших прикладів варіантів Fc-області.

d) Варіанти антитіл з генно-інженерним цистеїном

У деяких варіантах здійснення може бути бажаним створення антитіл з генно-інженерним цистеїном, наприклад, «тіомат», у яких один або більше кілька амінокислотних залишків в антитілі замінені залишками цистеїну. У конкретних варіантах здійснення заміщені залишки зустрічаються у відкритих для доступу місцях антитіла. У результаті заміщення цих залишків цистеїном реакційно здатні тіольні групи розташовуються в такий спосіб у доступних місцях антитіла і можуть використовуватися для кон'югації антитіла з іншими молекулами, такими як лікарські агенти або лінкери лікарських агентів, для створення імунокон'югата, як описується нижче в даному документі. У деяких варіантах здійснення цистеїном може бути замінений будь-який один або декілька з наступних залишків: V205 (нумерація за Кабатом) легкого ланцюга; A118 (EU-нумерація) важкого ланцюга і S400 (EU-нумерація) у Fc-області важкого ланцюга.

Антитіла з генно-інженерним цистеїном можна створити, як описано, наприклад, у патенті США № 7521541.

е) Похідні антитіл

У деяких варіантах здійснення антитіло за даним винаходом можна додатково модифікувати так, щоб воно містило додаткові небілкові молекули, які відомі в даній галузі техніки і легкодоступні. Молекули, які підходять для дериватизації антитіла, включають, але не обмежуються ними, водорозчинні полімери. Необмежувальні приклади водорозчинних полімерів включають, але не обмежуються ними, поліетиленгліколь (PEG), кополімери етиленгліколю і пропіленгліколю, карбоксиметилцелюлозу, декстран, полівініловий спирт, полівінілпіролідон, полі-1,3-діоксолан, полі-1,3,6-триоксан, кополімер етилену і малеїнового ангідриду, поліамінокислоти (або гомополімери, або довільні кополімери) і декстран, або полі(н-вінілпіролідон)поліетиленгліколь, гомополімери пропропіленгліколю, кополімери проліпропіленоксиду й етиленоксиду, поліоксіетиловані багатоатомні спирти (наприклад, гліцерин), полівініловий спирт і їх суміші. Поліетиленглікольпропіональдегід може мати переваги при виробництві внаслідок його стабільності у воді. Полімер може мати будь-яку молекулярну масу і може бути розгалуженим або нерозгалуженим. Число полімерів, які приєднуються до антитіла, може варіювати, і при приєднанні більше одного полімеру, вони можуть являти собою однакові або різні молекули. Як правило, число і/або тип використаних для дериватизації полімерів можна визначити, приймаючи до уваги, наприклад, але не обмежуючи ними: конкретні властивості або функції антитіла, які необхідно поліпшити; чи буде похідне антитіла використовуватися для лікування за певних умов і т. п.

В іншому варіанті здійснення запропоновані кон’югати антитіла і небілкової молекули, які можна вибірково нагріти при впливі радіації. В одному з варіантів здійснення небілковою молекулою є вуглецева нанотрубка (Kam et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102: 11600-11605 (2005)). Випромінювання може бути будь-якої довжини хвилі і включає, але ними не обмежуються, довжини хвиль, які не наносять шкоди звичайним клітинам, але які нагрівають небілкову молекулу до температури, при якій знищуються клітини, які знаходяться близько до антитіла з небілковою молекулою.

В. Рекомбінантні способи і композиції

Антитіла можна одержувати, використовуючи рекомбінантні способи і композиції, наприклад, як описано в патенті США № 4816567. В одному з варіантів здійснення запропонована виділена нуклеїнова кислота, яка кодує анти-Jagged1 антитіло, описане в даному документі. Така нуклеїнова кислота може кодувати амінокислотну послідовність, яка містить VL, і/або амінокислотну послідовність, яка містить VH антитіла (наприклад, легкий і/або важкий ланцюги антитіла). У додатковому варіанті здійснення запропонований один або кілька векторів (наприклад, експресійних векторів), які містять таку нуклеїнову кислоту. У додатковому варіанті здійснення запропонована клітина-хазяїн, яка містить таку нуклеїнову кислоту. В одному варіанті здійснення клітина-хазяїн містить (наприклад, трансформована ними): (1) вектор, який містить нуклеїнову кислоту, яка кодує амінокислотну послідовність, яка містить VL антитіла, і амінокислотну послідовність, яка містить VH антитіла, або (2) перший вектор, який містить нуклеїнову кислоту, яка кодує амінокислотну послідовність, яка містить VL антитіла, і другий вектор, який містить нуклеїнову кислоту, яка кодує амінокислотну послідовність, яка містить VH антитіла. В одному варіанті здійснення клітина-хазяїн є еукаріотичною, наприклад, клітиною яєчника китайського хом'ячка (CHO) або лімфоїдною клітиною (наприклад, клітиною Y0, NS0, Sp20). В одному варіанті здійснення запропонований спосіб виготовлення анти-Jagged1 антитіла, яке передбачає культивування клітини-хазяїна, яка містить нуклеїнову кислоту, яка кодує антитіло, запропоноване вище, в умовах, які підходять для експресії антитіла, і, необов'язково, виділення антитіла з клітини-хазяїна (або середовища для культивування клітини-хазяїна).

Для рекомбінантного одержання анти-Jagged1 антитіла нуклеїнову кислоту, яка кодує антитіло, наприклад, описану вище, виділяють і вбудовують в один або кілька векторів для подальшого клонування і/або експресії в клітині-хазяїні. Таку нуклеїнову кислоту можна без зусиль виділити і секвенувати, використовуючи звичайні процедури (наприклад, використовуючи олігонуклеотидні зонди, які здатні специфічного зв'язуватися з генами, які кодують важкий і легкий ланцюги антитіла).

Клітини-хазяїни, які підходять для клонування або експресії антитіла векторів, які кодують, включають прокаріотичні або еукаріотичні клітини, описані в даному документі. Наприклад, антитіла можна одержувати в бактеріях, зокрема, коли не вимагаються глікозилювання і ефекторна функція Fc. Для експресії фрагментів антитіл і поліпептидів у бактеріях див., наприклад, патенти США №№ 5648237, 5789199 і 5840523. (Див. також Charlton, Methods in

Molecular Biology, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003), pp. 245-254, де описується експресія фрагментів антитіл у E. coli). Після експресії антитіло можна виділити з маси бактеріальних клітин у розчинній фракції і можна додатково очистити.

Крім прокаріот, хазяїнами, які придатні для клонування або експресії векторів, які кодують антитіла, є еукаріотичні мікроорганізми, такі як нитчасті гриби або дріжджі, які включають штами грибів і дріжджів, шляхи глікозилювання яким були «гуманізовані», призводячи до одержання антитіла з частково або повністю людським профілем глікозилювання. Див. Gerngross, Nat. Biotech. 22: 1409-1414 (2004) і Li et al., Nat. Biotech. 24: 210-215 (2006).

Придатні для експресії глікозильованого антитіла клітини-хазяїни також отримані з багатоклітинних організмів (безхребетних і хребетних). Приклади клітин безхребетних включають клітини рослин і комах. Були ідентифіковані численні штами бакуловірусів, які можуть використовуватися разом із клітинами комах, зокрема, для трансфекції клітин Spodoptera frugiperda.

Культури клітин рослин також можуть використовуватися як хазяїни. Див., наприклад, патенти США №№ 5959177, 6040498, 6420548, 7125978 і 6417429 (де описується технологія PLANTIBODIES™ для одержання антитіл у трансгенних рослинах).

Клітини хребетних можуть також використовуватися як хазяїни. Наприклад, можуть використовуватися лінії клітин ссавців, які адаптовані до росту в суспензії. Іншими прикладами використаних ліній клітин-хазяїнів ссавців є лінія CV1 нирки мавпи, трансформований SV40 (COS-7); лінія клітин ембріональної нирки людини (293 або клітини 293, описані в Graham et al., J. Gen Virol. 36:59 (1977)); клітини нирки дитинчати хом'ячка (BHK); клітини пухлини Сертоли миші (клітини TM4, описані, наприклад, у Mather, Biol. Reprod. 23: 243-251 (1980)); клітини нирки мавпи (CV1); клітини нирки африканської зеленої мавпи (VERO-76); клітини карциноми шийки матки людини (HELA); клітини нирки собаки (MDCK); клітини печінки сірого щура (BRL 3A); клітини легень людини (W138); клітини печінки людини (Hep G2); пухлина молочної залози миші (MMT 060562); клітини TRI, описані, наприклад, у Mather et al., Annals N.Y. Acad. Sci. 383: 44-68 (1982); клітини MRC 5 і клітини FS4. Інші застосовані лінії клітин-хазяїнів ссавців включають клітини яєчника китайського хом'ячка (CHO), включаючи клітини DHFR$^-$CHO (Urlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: 4216 (1980)); і лінії клітин мієломи, такі як Y0, NS0 і Sp2/0. Огляд деяких ліній клітин-хазяїнів ссавців, які підходять для отримання антитіл, див., наприклад, у Yazaki and Wu, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), pp. 255-268 (2003).

C. Методи аналізу

Анти-Jagged1 антитіла, запропоновані в даному документі, можуть бути ідентифіковані, скриновані або охарактеризовані за своїми фізико-хімічними властивостями і/або біологічній активності за допомогою різних методів аналізу, відомих у даній галузі техніки.

1. Методи аналізу зв'язування й інших методів аналізу

В одному аспекті антитіло за винаходом досліджують на активність зв'язування антигену, наприклад, за допомогою відомих способів, таких як ELISA, Вестерн-блотінг і т. д.

В іншому аспекті, конкурентні методи аналізу можуть використовуватися для ідентифікації антитіла, яке конкурує з антитілом A, A1, A-2 або A1 (S101T) за зв'язування з Jagged1 людини або миші. У деяких варіантах здійснення таке конкуруюче антитіло зв'язується з тим же епітопом (наприклад, лінійним або конформаціонним епітопом), з яким зв'язуються A, A1, A-2 або A1 (S101T).

Докладні приклади способів картування епітопу, з яким зв'язується антитіло, наведені в Morris (1996) “Epitope Mapping Protocols”, у Methods in Molecular Biology vol. 66 (Humana Press, Totowa, NJ).

В ілюстративному конкурентному аналізі, іммобілізований Jagged1 інкубують у розчині, який містить перше мічене антитіло, яке зв'язується з Jagged1 (наприклад, A, A1, A-2 або A1 (S101T)), і друге немічене антитіло, яке досліджують на його здатність конкурувати з першим антитілом за зв'язування з Jagged1. Друге антитіло може бути присутнім у супернатанті гібридоми. Як контроль іммобілізований Jagged1 інкубують з розчином, який містить перше мічене антитіло, але без другого неміченого антитіла. Після інкубації в умовах, які дозволяють зв'язування першого антитіла з Jagged1, видаляють надлишок незв'язаного антитіла, і вимірюють кількість мітки, зв'язаної з іммобілізованим Jagged1. Якщо кількість мітки, яка відповідає іммобілізованому Jagged1, істотно знижується в досліджуваному зразку порівняно з контрольним зразком, то це вказує на те, що друге антитіло конкурує з першим антитілом за зв'язування з Jagged1. Див. Harlow and Lane (1988) Antibodies: A Laboratory Manual ch.14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY).

2. Методи аналізу активності

В одному аспекті запропоновані методи аналізу для ідентифікації анти-Jagged1 антитіл, які володіють біологічною активністю. Біологічна активність може містити в собі, наприклад, інгібування Jagged1-індукованого Notch1-сигнального шляху. У деяких інших варіантах здійснення антитіло за винаходом тестують на його здатність інгібувати експресію гена-репортера, який відповідає на Jagged1-індукований Notch1-сигнальний шлях. Необмежуючі приклади методів аналізу наведені в прикладах. У деяких варіантах здійснення антитіло за винаходом досліджують на таку біологічну активність. Також запропоновані антитіла, які мають таку біологічну активність in vivo і/або in vitro.

D. Імунокон'югати

Винахід також пропонує імунокон'югати, які містять анти-Jagged антитіло, кон'юговане з одним або декількома цитотоксичними агентами, такими як хіміотерапевтичні агенти або лікарські сполуки, інгібітори росту, токсини (наприклад, білкові токсини, ферментативно активні токсини бактеріального, грибкового, рослинного або тваринного походження, або їхні фрагменти) або радіоактивні ізотопи.

В одному варіанті здійснення імунокон'югат являє собою кон'югат антитіла з лікарським засобом (ADC), де антитіло приєднане до одного або декількох лікарськиї засобів, які включають, без обмеження, майтанзіноїд (див. патенти США №№ 5208020, 5416064 і Європейський патент EP 0425235 B1); аурістатин, такий як монометилаурістатинові лікарські засоби DE і DF (MMAE і MMAF) (див. патенти США №№ 5635483 і 5780588 і 7498298); доластатин; каліхеаміцин або його похідні (див. патенти США №№ 5712374, 5714586, 5739116, 5767285, 5770701, 5770710, 5773001 і 5877296; Hinman et al., Cancer Res. 53:3336-3342 (1993); і Lode et al., Cancer Res. 58:2925-2928 (1998)); антрациклін, такий як дауноміцин або доксорубіцин (див. Kratz et al., Current Med. Chem. 13:477-523 (2006); Jeffrey et al., Bioorganic & Med. Chem. Letters 16:358-362 (2006); Torgov et al., Bioconj. Chem. 16:717-721 (2005); Nagy et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97:829-834 (2000); Dubowchik et al., Bioorg. & Med. Chem. Letters 12:1529-1532 (2002); King et al., J. Med. Chem. 45:4336-4343 (2002); і патент США № 6630579); метотрексат; віндезин; таксан, такий як доцетаксел, паклітаксел, ларотаксел, тесетаксел і ортотаксел; трихотецен і CC1065.

В іншому варіанті здійснення імунокон'югат містить описане в даному документі антитіло, кон'юговане з ферментативно активним токсином або його фрагментом, включаючи, без обмеження, А-ланцюг дифтерійного токсину, який незв'язують активні фрагменти дифтерійного токсину, А-ланцюг екзотоксину (Pseudomonas aeruginosa), А-ланцюг рицину, А-ланцюг абріну, А-ланцюг модекцину, альфа-сарцин, білки Aleurites fordii, диантинові білки (із гвоздики), білки з Phytolaca americana (PAPI, PAPII і PAP-S), інгібітор з Momordica charantia, курцин, кротин, інгібітор з Sapaonaria officinalis, гелонін, мітогелін, рестриктоцин, феноміцин, еноміцин і трикотецени.

В іншому варіанті здійснення імунокон'югат містить описане в даному документі антитіло, кон'юговане з радіоактивним атомом з одержанням радіоактивного кон'югату. Для одержання радіоактивних кон'югатів можна використовувати ряд радіоактивних ізотопів. Їхні приклади включають At^{211}, I^{131}, I^{125}, Y^{90}, Re^{186}, Re^{188}, Sm^{153}, Bi^{212}, P^{32}, Pb^{212} і радіоактивні ізотопи Lu. Якщо радіоактивний кон'югат використовують для детекції, він може містити радіоактивний атом, який застосовується в сцинтиграфічних дослідженнях, наприклад, tc99m або I123, або спінову мітку, яка застосовується для візуалізації шляхом ядерного магнітного резонансу (ЯМР) (також відомої як магнітно-резонансна томографія, МРТ), таку як, знову ж, йод-123, йод-131, індій-111, фтор-19, вуглець-13, азот-15, кисень-17, гадоліній, марганець або залізо.

Кон'югати антитіла з цитотоксичним агентом можна одержати з використанням ряду біфункціональних білок-зв'язувальних агентів, таких як N-сукцинімідил-3-(2-піридилдитіо)пропіонат (SPDP), сукцинімідил-4-(N-малеімідометил)циклогексан-1-карбоксилат (SMCC), імінотіолан (IT), біфункціональні похідні складних імідоефірів (такі як диметиладипімідат HCl), активовані складні ефіри (такі як дисукцинімідилсуберат), альдегіди (такі як глутаральдегід), біс-азидосполуки (такі як біс(п-азидобензоїл)гександіамін), похідні біс-діазонію (такі як біс-(п-діазонійбензоїл)етилендіамін), діізоціанати (такі як толуол 2,6-діізоціанат) і бісактивні сполуки фтору (такі як 1,5-дифтор-2,4-динітробензол). Наприклад, імунотоксин рицин можна одержати способом, описаним Vitetta et al., Science 238:1098 (1987). Мічена вуглецем-14 1-ізотіоціанатобензил-3-метилдиетилен триамінпентаоцтова кислота (MX-DTPA) являє приклад хелатуючого засобу, використаного для приєднання радіонукліда до антитіла. Див. WO 94/11026. Лінкер може являти собою «лінкер, який розщеплюється», що полегшує вивільнення цитотоксичного агента в клітині. Наприклад, можна використовувати кислоточутливий лінкер, пептидазочутливий лінкер, фотолабільний лінкер, диметильний лінкер

або дисульфід-вмісний лінкер (Chari et al., Cancer Res. 52:127-131 (1992); патент США № 5208020).

Описані в даному документі імунокон'югати або ADC у явній формі мають на увазі, без обмеження, кон'югати, отримані з використанням реагентів, які перехресно-зшивають, включаючи, без обмеження, BMPS, EMCS, GMBS, HBVS, LC-SMCC, MBS, MPBH, SBAP, SIA, SIAB, SMCC, SMPB, SMPH, сульфо-EMCS, сульфо-GMBS, сульфо-KMUS, сульфо-MBS, сульфо-SIAB, сульфо-SMCC і сульфо-SMPB, а також SVSB (сукцинімідил-(4-вінілсульфон)бензоат), які є комерційно доступними (наприклад, від Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL., U.S.A).

E. Способи і композиції для діагностики і детекції

У деяких варіантах здійснення кожне з анти-Jagged1 антитіл, запропонованих у даному документі, корисно для детекції присутності Jagged1 у біологічному зразку. Термін «детекція», використаний у даному документі, містить у собі кількісне або якісне виявлення. У деяких варіантах здійснення біологічний зразок містить клітину або тканину, таку як пухлинна тканина.

В одному варіанті здійснення запропоноване анти-Jagged1 антитіло для застосування в способі або діагностики детекції. У ще одному аспекті запропонований спосіб виявлення присутності Jagged1 у біологічному зразку. У деяких варіантах здійснення спосіб включає забезпечення контакту біологічного зразка з анти-Jagged1 антитілом, яке описане в даному документі, в умовах, які дозволяють зв'язування анти-Jagged1 антитіла з Jagged1, і детекцію утворення комплексу між анти-Jagged1 антитілом і Jagged 1. Такий спосіб може бути in vitro або in vivo способом. В одному варіанті здійснення анти-Jagged 1 антитіло використовується для відбору суб'єктів, які підходять для лікування з використанням анти-Jagged1 антитіла, наприклад, де Jagged1 є біомаркером для відбору пацієнтів.

Приклади захворювань, які можуть бути діагностовані з використанням антитіла за винаходом, включають рак, наприклад, рак молочної залози, рак легень, рак головного мозку, рак шийки матки, рак товстої кишки, рак печінки, рак жовчних проток, рак підшлункової залози, рак шкіри, В-клітинні злоякісні новоутворення і Т-клітинні злоякісні новоутворення.

У деяких варіантах здійснення запропоновані мічені анти-Jagged1 антитіла. Мітки включають, але не обмежуються ними, мітки або молекули, які виявляються прямо (наприклад, флуоресцентні, хромофорні, електроннощільні, хемілюмінесцентні й радіоактивні мітки), а також залишки, такі як ферменти або ліганди, які виявляються непрямим чином, наприклад, за допомогою ферментативної реакції або молекулярної взаємодії. Ілюстративні мітки включають, але не обмежуються ними, радіоізотопи ^{32}P, ^{14}C, ^{125}I, ^{3}H і ^{131}I, флуорофори, такі як рідкоземельні хелати або флуоресцеїн і його похідні, родамін і його похідні, дансил, умбеліферон, люциферази, наприклад, люциферазу світляка і бактеріальну люциферазу (патент США № 4737456), люциферин, 2,3-дигідрофталазиндіони, пероксидазу хріну (HRP), лужну фосфатазу, β-галактозидази, глюкоамілази, лізоцим, сахаридоксидази, наприклад, глюкозоксидаза, галактозоксидаза і глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа, гетероциклічні оксидази, такі як уриказа і ксантиноксидаза, з'єднані з ферментом, який використовує пероксид водню для окислювання попередника барвника, таким як HRP, лактопероксидаза або мікропероксидаза, біотин/авідин, спінові мітки, бактеріофагові мітки, стабільні вільні радикали і т. п.

F. Фармацевтичні склади

Фармацевтичні склади, які містять анти-Jagged1 антитіло, описане в даному документі, одержують шляхом змішування такого антитіла, яке має бажаний ступінь чистоти, з одним або декількома необов'язковими фармацевтично прийнятними носіями (Remington′s Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)) у вигляді ліофілізованих препаратів або водних розчинів. Фармацевтично прийнятні носії зазвичай є нетоксичними для реципієнтів у використаних дозах і концентраціях і включають, без обмеження: буфери, наприклад, на основі фосфорної, лимонної й інших органічних кислот; антиоксиданти, включаючи аскорбінову кислоту і метіонін; консерванти (такі як октадецилдиметилбензиламонію хлорид; гексаметонію хлорид; бензалконію хлорид; бензетонію хлорид; фенол, бутил або бензиловий спирт; алкілпарабени, такі як метил- або пропілпарабен; катехол; резорцинол; циклогексанол; 3-пентанол; і м-крезол); низькомолекулярні (менше ніж приблизно 10 залишків) поліпептиди; білки, такі як сироватковий альбумін, желатин або імуноглобуліни; гідрофільні полімери, такі як полівінілпіролідон; амінокислоти, такі як гліцин, глутамін, аспарагін, гістидин, аргінін або лізин; моносахариди, дисахариди й інші вуглеводи, які включають глюкозу, манозу або декстрини; хелатуючі агенти, такі як EDTA; цукру, такі як сахароза, маніт, трегалоза або сорбіт; солеутворювальні протиіони, такі як натрій; комплекси металів (наприклад, Zn-білкові комплекси); і/або неіонні поверхнево-активні речовини, такі як поліетиленгліколь (PEG). Приклади фармацевтично прийнятних носіїв відповідно до даного винаходу додатково

включають агенти, які забезпечують внутрішньотканинний розподіл ліків, такі як розчинні нейтрально-активні гіалуронідазні глікобілки (sHASEGP), наприклад, людські розчинні гіалуронідазні глікобілки PH-20, такі як rHuPH20 (HYLENEX®, Baxter International, Inc.). Деякі приклади sHASEGP і способи їхнього застосування, включаючи rHuPH20, описані в патентних публікаціях США №№ 2005/0260186 і 2006/0104968. В одному аспекті sHASEGP поєднують з однією або декількома іншими глюкозаміногліканазами, такими як хондроїтинази.

Приклади ліофілізованих складів антитіл описані в патенті США № 6267958. Водні склади антитіл включають склади, описані в патенті США № 6171586 і WO2006/044908, причому останні склади містять гістидин-ацетатний буфер.

Склад за даним винаходом також може містити кілька діючих інгредієнтів, якщо це необхідно для конкретного показання для лікування, переважно, щоб активність таких інгредієнтів доповнювала один одного і не чинила несприятливого впливу один на одного. Наприклад, може бути бажано додаткове введення цитотоксичного агента, наприклад, хіміотерапевтичного агента. Такі діючі інгредієнти, переважно, присутні у комбінації в кількостях, які ефективні для заданої мети.

Діючі інгредієнти можна помістити в мікрокапсули, отримані, наприклад, методами коацервації або за допомогою міжфазної полімеризації, наприклад, гідроксиметилцелюлозні або желатинові мікрокапсули і полі-(метилметакрилатні) мікрокапсули, відповідно, у колоїдні системи доставки лікарських засобів (такі як ліпосоми, альбумінові мікросфери, мікроемульсії, наночастинки і нанокапсули) або в макроемульсії. Такі методи розкриті в Remington′s Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980).

Можна одержати препарати з уповільненим вивільненням. Подібні приклади препаратів з уповільненим вивільненням включають напівпроникні матриці з твердих гідрофобних полімерів, які містять антитіло, причому зазначені матриці можуть являти собою формовані вироби, такі як плівки або мікрокапсули.

Склади, призначені для введення in vivo, зазвичай є стерильними. Стерильності можна легко досягти, наприклад, шляхом фільтрації через стерильні фільтраційні мембрани.

G. Терапевтичні способи і композиції

Кожне з анти-Jagged1 антитіл, запропонованих у даному винаході, може бути використане в терапевтичних способах.

В одному аспекті запропоноване анти-Jagged1 антитіло для використання як лікарський засіб. В інших аспектах запропоноване анти-Jagged1 антитіло для використання в лікуванні захворювання або розладу, пов'язаного з порушеним Notch-сигнальним шляхом, наприклад, раку. У деяких варіантах здійснення запропоновано анти-Jagged1 антитіло для використання в способі лікування. У деяких варіантах здійснення даний винахід відноситься анти-Jagged1 антитіла для використання в способі лікування індивідуума, який має рак, що включає введення індивідууму ефективної кількості анти-Jagged1 антитіла. В одному такому варіанті здійснення винаходу спосіб додатково включає введення індивідууму ефективної кількості щонайменше одного додаткового терапевтичного агента, наприклад, як описано нижче. В одному такому варіанті здійснення винаходу спосіб додатково включає введення індивідууму ефективної кількості щонайменше одного додаткового терапевтичного агента, наприклад, як описано нижче.

У додаткових варіантах здійснення винахід стосується анти-Jagged1 антитіла для використання в інгібуванні росту раку легень. У деяких варіантах здійснення даний винахід стосується анти-Jagged1 антитіла для використання в способі зниження росту раку легень в індивідуума, який включає введення індивідууму ефективної кількості анти-Jagged1 антитіла для зниження росту раку легень. У деяких варіантах здійснення даний винахід стосується анти-Jagged1 антитіла для використання в способі зниження росту раку молочної залози в індивідуума, який включає введення індивідууму ефективної кількості анти-Jagged1 антитіла для зниження росту раку молочної залози. «Індивідуум» відповідно до кожного з вищевказаних варіантів здійснення, переважно, являє собою людину.

У деяких варіантах здійснення запропоновано анти-Jagged1 антитіло для лікування алергії, астми, аутоімунного захворювання, захворювань, пов’язаних з метаплазією келихоподібних клітин (наприклад, у легенях) і/або надлишком слизу. Інші алергійні захворювання, які можна лікувати з використанням анти-Jagged1 антитіл, запропонованих у даному документі, включають, але не обмежуються ними, алергійний риніт, атопічний дерматит, харчову гіперчутливість і кропивницю; імуноопосрекодовані захворювання шкіри, включаючи булзні захворювання шкіри, мультиформну еритему і контактний дерматит; аутоімунні захворювання включаючи псоріаз, ревматоїдний артрит, ювенільний хронічний артрит; запальні захворювання кишечнику (наприклад, неспецифічний виразковий коліт, хвороба Крона); ідіопатичну

інтерстиціальну пневмонію, захворювання, пов'язані з метаплазією келихоподібних клітин (такі як астма, ХОХЛ, кістозний фіброз і стравохід Барретта), легеневі захворювання, такі як кістозний фіброз, глютен-чутлива ентеропатія і хвороба Уїппла; імунологічні захворювання легень, такі як еозинофільна пневмонія, ідіопатичний легеневий фіброз і алергійний пневмоніт; хронічну обструктивну хворобу легень, РСВ-інфекції, увеїт, склеродермію, остеопороз і лімфому Ходжкіна.

У додатковому аспекті даний винахід стосується використання анти-Jagged1 антитіла у виробництві або виготовленні лікарського препарату. В одному варіанті здійснення лікарський препарат призначений для лікування захворювання або розладу, пов'язаного з порушеним Notch-сигнальним шляхом. В одному варіанті здійснення лікарський препарат призначений для лікування раку. У додатковому варіанті здійснення лікарський препарат призначений для використання в способі лікування раку, який включає введення індивідууму, який має рак, ефективної кількості лікарського препарату. В одному такому варіанті здійснення винаходу спосіб додатково включає введення індивідууму ефективної кількості щонайменше одного додаткового терапевтичного агента, наприклад, описаного нижче. «Індивідуум» відповідно до кожного з вищевказаних варіантів здійснення, може бути людиною.

У додатковому аспекті даний винахід стосується способу лікування захворювання або розладу, пов'язаного з порушеним Notch-сигнальним шляхом. В одному варіанті здійснення спосіб містить у собі введення суб'єкту, який має таке захворювання або розлад, ефективної кількості анти-Jagged1 антитіла. В одному варіанті здійснення спосіб містить у собі введення суб'єкту, який має рак, ефективної кількості анти-Jagged1 антитіла. В одному такому варіанті здійснення винаходу спосіб додатково включає введення індивідууму ефективної кількості щонайменше одного додаткового терапевтичного агента, як описано нижче. В одному такому варіанті здійснення винаходу спосіб додатково включає введення індивідууму ефективної кількості щонайменше одного додаткового терапевтичного агента, як описано нижче. «Індивідуум» відповідно до кожного з вищевказаних варіантів здійснення, може бути людиною.

У додатковому аспекті даний винахід стосується способу інгібування росту ракових клітин в індивідуума. В одному варіанті здійснення спосіб включає введення індивідууму ефективної кількості анти-Jagged1 антитіла, щоб інгібувати ріст ракових клітин. В одному варіанті здійснення «індивідуумом» є людина.

У деяких варіантах здійснення даний винахід стосується способів лікування в індивідуума алергії, астми, аутоімунного захворювання, захворювань, пов’язаних з метаплазією келихоподібних клітин (наприклад, у легенях) і/або надлишком слизу в індивідуума. У деяких варіантах здійснення даний винахід стосується способів лікування алергійного риніту, атопічного дерматиту, харчової гіперчутливості і кропивниці; імуноопосредкованих захворювань шкіри, включаючи бульозні захворювання шкіри, мультиформну еритему і контактний дерматит; аутоімунних захворювань, включаючи псоріаз, ревматоїдний артрит, ювенільний хронічний артрит; запальних захворювань кишечнику (наприклад, неспецифічного виразкового коліту, хвороби Крона); ідіопатичної інтерстиціальної пневмонії, захворювань, пов'язаних з метаплазією келихоподібних клітин (таких, як астма, ХОХЛ, кістозний фіброз і стравохід Барретта), легеневих захворювань, таких як кістозний фіброз, глютен-чутлива ентеропатія і хвороба Уїппла; імунологічних захворювань легень, таких як еозинофільна пневмонія, ідіопатичний легеневий фіброз і алергійний пневмоніт; хронічної обструктивної хвороби легень, РСВ-інфекції, увеїту, склеродермії, остеопорозу і/або лімфоми Ходжкіна. У деяких варіантах здійснення спосіб включає введення індивідууму ефективної кількості анти-Jagged1 антитіла, РСВ наведеного в даному описі. У деяких варіантах здійснення «індивідуумом» є людина.

У додатковому аспекті даний винахід стосується фармацевтичних складів, які містять кожне з анти-Jagged1 антитіл, наведених у даному описі, наприклад, для застосування в кожному з зазначених вище терапевтичних способах. В одному варіанті здійснення фармацевтичний склад містить кожне з анти-Jagged1 антитіл, наведених у даному описі, і фармацевтично прийнятний носій. В іншому варіанті здійснення фармацевтичний склад містить кожне з анти-Jagged1 антитіл, наведених у даному описі, і щонайменше один додатковий терапевтичний агент, наприклад, як описано нижче.

Антитіла за винаходом можуть бути використані в терапії або окремо, або в комбінації з іншими агентами. Наприклад, антитіло за винаходом може бути введене спільно щонайменше з одним додатковим терапевтичним агентом. У деяких варіантах здійснення додатковий терапевтичний агент являє собою цитотоксичний агент. У деяких варіантах здійснення додатковий терапевтичний агент являє собою антитіло.

Такі комбіновані терапевтичні методи, зазначені вище, охоплюють комбіноване введення (де два або кілька терапевтичних агентів включені в один склад або в окремі склади) і окреме

введення, у випадку якого введення антитіла за винаходом може відбуватися до, одночасно і/або після введення додаткового терапевтичного агента або агентів. В одному варіанті здійснення введення анти-Jagged1 антитіла і введення додаткового терапевтичного агента відбувається в межах приблизно одного місяця, або в межах одного, двох або трьох тижнів, або в межах приблизно одного, двох, трьох, чотирьох, п'яти або шести днів між ними. Антитіла за винаходом можуть бути також використані у поєднанні з променевою терапією.

Антитіло за винаходом (і будь-який додатковий терапевтичний агент) можна вводити будь-якими придатними засобами, включаючи парентеральне, внутрішньолегеневе і назальне, і, якщо це бажано для місцевого лікування, внутрішньоосередкове введення. Парентеральні інфузії включають внутрішньом'язове, внутрішньовенне, внутрішньоартеріальне, внутрішноочеревинне або підшкірне введення. Введення може здійснюватися будь-яким придатним шляхом, наприклад, за допомогою ін'єкцій, таких як внутрішньовенні або підшкірні ін'єкції, почасти залежно від того, чи буде введення коротким або хронічним. У даному винаході передбачені різні схеми введення, включаючи, але не обмежуючись цим, одне або кілька введень з різними інтервалами, болюсне введення й імпульсну інфузію.

Антитіла за даним винаходом повинні включатися у фармацевтичний склад, дозуватися і вводитися відповідно до хорошої медичної практики. Фактори, які враховуються в даному контексті, включають конкретний вид захворювання, який підлягає лікуванню, конкретний вид ссавця, який підлягає лікуванню, клінічний стан окремого пацієнта, причину захворювання, місце доставки агента, спосіб введення, схему введення й інші фактори, відомі лікарям, які практикують. Антитіло, необов'язково, може входити у фармацевтичний склад разом з одним або декількома агентами, використаними в даний час для профілактики або лікування зазначеного захворювання. Ефективна кількість таких інших агентів залежить від кількості антитіла, яке присутнє у композиції, типу захворювання або лікування й інших факторів, обговорених вище. Вони зазвичай використовуються в дозуваннях і зі способами введення, які описані в даному документі, або в кількості, яка становить приблизно від 1 до 99 % від описаних у даному документі дозувань, або в будь-якому дозуванні і з будь-яким способом введення, підібраним емпірично/клінічно.

Для профілактики або лікування захворювання придатне дозування антитіла за даним винаходом (використаного окремо або в комбінації з одним або декількома іншими додатковими терапевтичними агентами) залежить від типу захворювання, яке підлягає лікуванню, типу антитіла, ваги і плину захворювання, мети (профілактичної або терапевтичної) введення антитіла, яке передує терапії, клінічної історії пацієнта і відповіді на антитіла, а також від рішення лікаря, який лікує. Антитіло можна вводити пацієнту однократно або в кілька прийомів. Залежно від типу і важкості захворювання, як вихідної придатної дози пацієнту можна вводити приблизно від 1 мкг/кг до 15 мг/кг (наприклад, 0,1-10 мг/кг) антитіла, наприклад, в один або кілька прийомів, або шляхом безупинної інфузії. Типова добова доза може варіювати приблизно від 1 мкг/кг до 100 мг/кг або більше, залежно від зазначених вище факторів. У випадку багаторазового введення протягом декількох днів або більшого часу, залежно від стану лікування, як правило, проводять до досягнення бажаного ступеня придушення симптомів захворювання. Типова доза антитіла знаходиться в діапазоні приблизно від 0,05 до 10 мг/кг. Таким чином, пацієнту можна вводити одну або кілька доз, які складають приблизно 0,5 мг/кг, 2,0 мг/кг, 4,0 мг/кг або 10 мг/кг (або їхнє будь-яке сполучення). Такі дози можна вводити через визначені інтервали часу, наприклад, щотижня або кожні три тижні (наприклад, так, щоб пацієнт одержував приблизно від двох до двадцяти, або, наприклад, приблизно шість доз антитіла). Можуть вводитися початкова більш висока навантажувальна доза, за якої випливає одна або трохи більше низьких доз. Зразкова схема введення містить у собі введення початкової навантажувальної дози близько 4 мг/кг, з наступною щотижневою дозою, яка підтримується, близько 2 мг/кг антитіла. Однак можна використовувати й інші схеми введення. Результати даної терапії можна легко відслідковувати за допомогою традиційних методів і аналізів.

Очевидно, що будь-який з зазначених вище складів або терапевтичних способів може бути здійснений з використанням імунокон’югата за винаходом замість або в додаток до анти-Jagged1 антитіла.

Н. Промислові вироби

В іншому аспекті винаходу запропоновані промислові вироби, які включають речовини, корисні для лікування, профілактики і/або діагностики захворювань, описаних вище. Даний промисловий виріб містить у собі контейнер і етикетку або листівку-вкладиш на контейнері або асоційовані з ним. Придатні контейнери містять у собі, наприклад, сулії, флакони, шприци, мішки для в/в розчинів і т. п. Дані контейнери можуть бути виготовлені з різних матеріалів, таких як скло або пластик. У даний контейнер поміщена композиція, яка сама по собі або в сполученні

з іншою композицією, є ефективною для лікування, профілактики або діагностики даного стану, і може мати стерильний вхідний отвір (наприклад, даний контейнер може бути мішком для внутрішньовенного розчину або флаконом, який має пробку, яка проколюється за допомогою голки для підшкірної ін'єкції). Щонайменше один діючий агент у даній композиції являє собою антитіло за даним винаходом. На етикетці або листівці-вкладиші зазначено, що дана композиція призначена для використання при лікуванні вибраного стану. Більш того, промисловий виріб може містити: (a) перший контейнер з композицією, яка міститься в ньому, де дана композиція містить антитіло за винаходом; і (b) другий контейнер з композицією, яка міститься в ньому, де дана композиція містить додатковий цитотоксичний або інший терапевтичний агент. Промисловий виріб у цьому варіанті здійснення винаходу може додатково містити листівка-вкладиш, у якій зазначено, що композиції можна використовувати при лікуванні визначеного стану. В альтернативному або додатковому варіанті промисловий виріб може додатково містити в собі другий (або третій) контейнер, який містить у собі фармацевтично прийнятний буфер, такий як бактеріостатична вода для ін'єкцій (BWFI), фосфатно-сольовий буферний розчин, розчин Рінгера і розчин D-глюкози. Також він може містити в собі інші матеріали й речовини, необхідні з комерційної і споживчої точки зору, включаючи інші буфери, розріджувачі, фільтри, голки і шприци.

Очевидно, що кожен з вищевказаних промислових виробів можуть включати імунокон'югат за винаходом замість або на додаток до анти-Jagged1 антитіла.

III. ПРИКЛАДИ

Нижче наведені приклади способів і композицій за винаходом. Зрозуміло, що на практиці можуть бути здійснені різні інші варіанти здійснення з урахуванням загального опису, наведеного вище.

Приклад 1. Одержання анти-Jagged антитіл.

a. Сортування і скринінг бібліотека для ідентифікації анти-Jagged1 антитіл

Фагові бібліотеки антитіл людини зі створеною синтетично розмаїтістю у вибраних областях, які визначають комплементарність, яка імітує природну розмаїтість репертуару IgG людини, були використані для відсіювання Fab-фрагментів, які представляються на поверхні частинок бактеріофага M13. Як антиген для проведення сортування бібліотеки використовували Jag1-DSL-EGF1-4 людини (SEQ ID NO: 6) або Jag2-DSL-EGF1-4 людини (SEQ ID NO: 8). 96-ямкові планшети для імунологічних досліджень Nunc MaxiSorp покривали протягом ночі при 4 °C антигеном-мішенню (10 мкг/мл) і блокували протягом 1 години при кімнатній температурі буфером PBST, який блокує фаги, (фосфатно-сольовим буферним розчином (PBS) з 1 %-м (мас./об.) бичачим сироватковим альбуміном (BSA) і 0,05 %-м (об./об.) Tween-20). Фагові бібліотеки VH-областей антитіл (див., наприклад, Lee et al., J. Immunol. Meth. 284:119-132 (2004)) і VH/VL-областей (див. Liang et al., JMB. 366: 815-829 (2007)) додавали до покритих антигенами планшетів окремо й інкубували протягом ночі при кімнатній температурі. Наступного дня покриті антигеном планшети промивали десять разів з використанням PBT (PBS з 0,05 %-м Tween-20), а фаги, які зв'язалися, елюювали з використанням 50 мМ HCl і 500 мМ NaCl протягом 30 хв і нейтралізували рівним об'ємом 1M Tris-буфера (pH 7,5). Виділені фаги ампліфікували в клітинах E.coli XL-1 Blue. У наступних раундах відбору час інкубації фагових антитіл на покритих антигеном планшетах скорочували до 2-3 годин і поступово збільшували твердість промивання планшетів.

Після 4 раундів відсівання спостерігалося значне збагачення. З кожної VH- і VH/VL-бібліотеки були вибрані по 96 клонів, щоб визначити, чи специфічно вони зв'язуються з Jagged1 або Jagged2 людини. Варіабельні області цих клонів були ПЛР-секвеновані для ідентифікації клонів з унікальними послідовностями. Афінність фагових антитіл ранжували з використанням одноточкового конкурентного ELISA. Значення IC_{50} для фагових антитіл додатково визначали за допомогою конкурентного ELISA. Унікальні фагові антитіла, які специфічно зв'язуються з людським Jagged1 (але не Jagged2), Jagged2 (але не Jagged1) або з обома Jagged1 і Jagged2 були відібрані і переформатовані в повнорозмірні IgG для оцінки в клітинних аналізах клітин in vitro.

Клони, які цікавлять, були переформатовані в IgG шляхом клонування V_L- і V_H-областей окремих клонів у вектор pRK для експресії в клітинах ссавців (pRK.LPG3.HumanKappa), який містить константний домен каппа-ланцюга людини, і експресійний вектор (pRK.LPG4.HumanHC), який кодує повнорозмірний константний домен IgG1 людини, відповідно (Shields et al., J Biol Chem 2000; 276: 6591-6604). Потім антитіла транзиентно експресували в клітинах CHO ссавців, і очищали з використанням колонки з білком A.

b. Конструювання бібліотек для збільшення афінності клонів, отриманих з V_H- або V_HV_L-бібліотек

Фагміда p0703, отримана з фагміди p0350-2b (Lee et al., J. Mol. Biol 340, 1073-1093 (2004), яка містить стоп-кодон (TAA) у всіх положеннях CDR-L3 і яка представляє моновалентні Fab на поверхні бактеріофага M13) служила як бібліотечна матриця для перенесення варіабельних доменів важких ланцюгів (V_H) клонів, які цікавлять, з VH-бібліотеки для дозрівання афінності. Для дозрівання афінності були використані як тверда, так і м'яка стратегія рандомізації. Для твердої рандомізації бібліотеку одноланцюжкових легких ланцюгів з вибраними позиціями трьох CDR легкого ланцюга рандомізували, використовуючи амінокислоти, підібрані для імітації природних антитіл людини, а підібрана виродженість ДНК відповідала описаній в Lee et al. (J. Mol. Biol 340, 1073-1093 (2004)). Для досягнення м'яких умов рандомізації, які вводять мутації у вибрані позиції з частотою приблизно 50 %, мутантну ДНК синтезували із сумішами основ у співвідношенні 70-10-10-10 на користь нуклеотидів дикого типу (Gallop et al., Journal of Medicinal Chemistry 37:1233-1251 (1994)). Для м'якої рандомізації мішенями були залишки в позиціях 91-96 з CDR-L3, 30-33, 35 з CDR-H1, 50, 52, 53-54 і 56 з CDR-H2, 95-98 з CDR-H3; і для рандомізації були відібрані три різні комбінації петель CDR, H1/L3, H2/L3, and H3/L3.

Для клонів, отриманих з V_HV_L-бібліотеки, фагміди, які містять 4 стоп-кодони (TAA) у кожній CDR і які представляють моновалентний Fab на поверхні бактеріофага M13, були отримані в індивідуальному порядку і служили як матриця для мутагенезу за Kunkel для конструювання бібліотеки для дозрівання афінності. Для клонів, отриманих з V_HV_L-бібліотеки, використовувалася тільки м'яка стратегія рандомізації, а різноманітність CDR-L3 було створено в наївній бібліотеці. Для досягнення м'яких умов рандомізації мішенями були залишки в позиціях 28-31 з CDR-L1, 50, 53-55 з CDR-L2, 91-96 з CDR-L3, 30-35 з CDR-H1, 50-56 з CDR-H2, 95-100 з CDR-H3; і для рандомізації були відібрані чотири різні комбінації петель H1/L3*, H2/L3*, а також H3/L3* і L1/L2/L3* (де * позначає позицію стоп-кодонів у матриці).

c. Стратегія сортування фагів для досягнення посилення афінності

Для відбору антитіл з поліпшеною афінністю, антигени Jag1 або Jag2 були спочатку біотиновані при обмеженій кількості реагенту. Проводили один раунд сортингу фагових бібліотек на планшетах і п'ять раундів сортингу в розчині зі збільшенням твердості. Для першого раунду сортингу на планшетах, 10 мкг/мл антигену спочатку наносили на планшети Maxisorp і попередньо блокували з використанням буфера, який блокує, (1 % BSA і 0,05 % Tween-20 у PBS). 3 OD/мл фагів у блокувальному буфері інкубували з антигеном на планшетах протягом 3 годин. Ямки десять разів промивали PBS-0,05 % Tween-20. Зв'язаний фаг елюювали в 150 мкл на ямку 50 мМ HCl/500 мМ KCl протягом 30 хвилин і потім нейтралізували 50 мкл на ямку 1М Трис, pH 8, титрували і розмножували для наступного раунду. У наступних раундах відсівання фагових бібліотек проводили в розчині, коли фагову бібліотеку інкубували з 100 нМ біотинованим білком-мішенню (концентрація ґрунтується на значенні IC_{50} для батьківського клону фага) у 100 мкл буфера, який містить 1 %-й Superblock (Pierce Biotechnology) і 0,05 % Tween-20, протягом 2 годин при кімнатній температурі. Суміш додатково розбавляли в 10 разів за допомогою 1 %-го Superblock і по 100 мкл на ямку наносили на покриті нейтравідином ямки (10 мкг/мл) на 30 хвилин при кімнатній температурі й обережному струшуванні. Щоб визначити фонове зв'язування, на планшетах, покритих нейтравідином залишали контрольні ямки, які містять фаги. Зв'язані фаги потім промивали, елюювали і розмножували, як описано для першого раунду. Проводили ще п'ять раундів сортингу в розчині паралельно з підвищенням твердості селекції. З яких перша пара раундів була призначена для відбору за швидкістю асоціації за допомогою зниження концентрації біотинованого білка-мішені з 100 нМ до 0,1 нМ, а останні два раунди були призначені для селекції за швидкістю дисоціації за допомогою додавання надлишкової кількості небіотинованого білка-мішені (від 300 до 1000-кратного перевищення), щоб відсіяти слабкі єднальні агенти при кімнатній температурі.

d. ELISA для високопродуктивного скринінгу афінності (одноточковий конкурентний аналіз)

Колонії відбирали в шостому раунді скринінгу. Колонії вирощували протягом ночі при 37 °C у 150 мкл/ямку в середовищі 2YT з додаванням 50 мкг/мл карбеніціліну і 1×10^{10}/мл M13KO7 у 96-ямковому планшеті (Falcon). З того ж планшета як контроль відбирали колонію XL-1, інфіковану батьківським фагом. 96-ямкові планшети Nunc Maxisorp покривали 100 мкл/ямку Jag1 або Jag2 (по 0,5 мкг/мл) у PBS при 4 °C протягом ночі. Планшети блокували 150 мкл 1 %-го BSA і 0,05 %-го Tween-20 у PBS протягом 1 год.

35 мкл фагового супернатанту розбавляли до 75 мкл у буфері для ELISA (твердофазного імуноферментного аналізу) (який містить PBS з 0,5 %-м BSA, 0,05 %-м Tween-20) з або додаванням без додавання 5 нМ Jag1 або Jag2 й інкубували протягом 1 год при кімнатній температурі в F-планшеті (NUNC). 95 мкл суміші переносили паралельно в покриті білком-мішенню планшети. Планшет обережно струшували протягом 15 хвилин і промивали десять разів з використанням PBS-0,05 % Tween-20. Зв'язування кількісно оцінювали, додаючи

кон'юговане з пероксидазою хрону (HRP) анти-M13-антитіло в буфері для ELISA (1:2500) й інкубували протягом 30 хвилин при кімнатній температурі. Планшети промивали PBS-0,05 % Tween-20 десять разів. Потім у ямки додавали по 100 мкл/ямку субстрат пероксидази й інкубували протягом 5 хвилин при кімнатній температурі. Реакцію зупиняли додаванням у кожну ямку по 100 мкл 0,1 М фосфорної кислоти H_3PO_4) й інкубували протягом 5 хвилин при кімнатній температурі. OD (оптичну густину) для жовтого забарвлення в кожній ямці визначали, використовуючи стандартний планшетний спектрофотометр для ELISA, при 450 нМ. Порівняно зі зниженням $OD_{450нм}$ (%) у ямці з батьківським фагом (100 %). Клони, для яких спостерігали зниження $OD_{450нм}$ (%) менше 50 %, відбирали для аналізу послідовностей. Унікальні клони відбирали для виділення фагів, щоб визначити афінність зв'язування (IC_{50} фага) проти Jag1 або Jag2 шляхом порівняння з відповідними батьківськими клонами. Потім клони з найбільш поліпшеною афінністю, були переформатовані у IgG1 людини для одержання антитіл і подальшого аналізу кінетики зв'язування за допомогою BIAcore й інших аналізів in vitro або in vivo.

Подальші раунди скринінгу виявили антитіла, специфічні тільки до одного члена із сімейства білків Jagged, що було визначено за допомогою ELISA. Антитіло A зв'язувало Jagged1 людини і миші1, але не Jagged2 (фіг. 8; послідовність варіабельної області важкого ланцюга показана в SEQ ID NO: 9, послідовність варіабельної області легкого ланцюга показана в SEQ ID NO: 10). Навпроти, антитіло B (батьківське антитіло антитіла B-3) зв'язувало людський і мишачий Jagged2, але не Jagged1 (фіг. 8). C-1 зв'язується як з Jagged1, так і з Jagged2, і служило як контроль. Послідовності варіабельних областей важкого ланцюга і легкого ланцюга для антитіла C-1 показані на фіг. 4.

Приклад 2. Афінність зв'язування антитіл і картування епітопів.

Афінність зв'язування анти-Jagged1 фагових антитіл була виміряна за допомогою поверхневого плазмонного резонансу (SRP) з використанням інструмента BIAcore™-3000. Фагові анти-Jagged1/2 IgG людини були захоплені на сенсорному чіпі CM5, покритому мишачими антитілами проти людських IgG, щоб одержати приблизно 150 одиниць відповіді (RU). Для кінетичних вимірювань вводили дворазові серійні розведення Jag1/2 DSL_EGF1-4 людини або миші (1,95 нМ - 250 нМ) у буфері PBT (PBS з 0,05 %-м Tween-20) при 25 °C зі швидкістю потоку 30 мл/хвилину. Швидкості асоціації (k_{on}) і швидкості дисоціації (k_{off}) розраховували з використанням ленгмюрівської моделі простого зв'язування в співвідношенні 1:1 (BIACORE® Evaluation Software version 3.2). Константу дисоціації при рівновазі (kd) розраховували як співвідношення k_{off}/k_{on}.

У таблиці 2 наведені константи зв'язування для зв'язування антитіл A, A-1, A-2, B і B-3 з очищеним людським Jagged1, людським Jagged2 і мишачим Jagged2. Батьківське антитіло специфічно зв'язується з Jagged1 людини і миші. Аффінно зрілі антитіла A-1 і A-2 зв'язуються з людським і мишачим Jagged1 з високою афінністю. Антитіла A, A-1 і A-2 не зв'язуються з людським або мишачим Jagged2. Навпаки, антитіла B і B-3 не зв'язуються з людським або мишачим Jagged1. B-3 специфічно зв'язується з Jagged2 людини і миші.

Таблиця 2

Зведена таблиця за даними Biacore

Ab	Jag1 людини			Jag2 людини			Jag2 миші		
	k_{on} (1/M•c)	k_{off} (1/c)	K_d (M)	k_{on} (1/M•c)	k_{off} (1/c)	K_d (M)	k_{on} (1/M•c)	k_{off} (1/c)	K_d (M)
A	2,3E+04	2,1E-03	9,4E-08	Немає зв'язування до 0,5 мкМ					
A-1	8,3 E+04	5,9E-05	7,1E-10						
A-2	2,3 E+05	7,1E-05	3,0E-10						
B	Немає зв'язування до 0,5 мкМ			2,5E+06	2,6E-03	1,0E-09	2,5E+06	2,6E-03	1,0E-09
B-3							5,8E+05	1,75E-04	3,0E-10

Послідовності варіабельних областей важкого ланцюга і легкого ланцюга для антитіла A показані в SEQ ID NO: 9 і 10, відповідно. Послідовності варіабельних областей важкого ланцюга і легкого ланцюга для антитіла A-1 показані в SEQ ID NO: 17 і 18, відповідно. Послідовності варіабельних областей важкого ланцюга і легкого ланцюга для антитіла A-2 показані в SEQ ID NO: 25 і 26, відповідно. Послідовності варіабельних областей важкого ланцюга і легкого ланцюга для антитіла B-3, показані в SEQ ID NO: 41 і 42, відповідно. Послідовності варіабельних областей важкого ланцюга і легкого ланцюга для антитіла B, показані на фіг. 4.

Приклад 3. Анти-Jagged антагоністичні антитіла інгібують Jagged1-індукований сигнальний шлях in vitro.

Для того, щоб визначити, чи можуть анти-Jagged антитіла діяти як антагоністи Jagged-індукованого Notch-сигнального шляху, проводили експерименти за спільним культивуванням, по суті як описано Wu et al., Nature 464, 1052-1057 (15-го квітня, 2010). Клітини NIH-3T3, сконструйовані для експресії Jagged1 як ліганд Notch, культивували разом із клітинами NIH-3T3, які стабільно експресують Notch1, і які були транзієнтно трансфіковані для експресії репортера, який відповідає на Notch, з люциферазою світляка, TP-1 (12X CSL), і репортера, який конститутивно експресується, з люциферазою з Renilla (pRL-CMV, Promega). Сильний сигнал Notch-репортера (люциферази світляка) спостерігався у спільній культурі (фіг. 12, індукований J1 позитивний контроль). Експресія репортера знижувалася до фонового рівня, коли інгібітор γ-секретази додавали до спільної культури, що доводить Notch-залежну експресію репортерного конструкта. Дані не показані.

Додавання зростаючої кількості (0,016-50 мкг/мл) анти-Jagged антитіла A-2 (послідовності варіабельних областей важкого ланцюга і легкого ланцюга з SEQ ID NO: 25 і 26, відповідно) або B-3 (послідовності варіабельних областей важкого ланцюга і легкого ланцюга з SEQ ID NO: 41 і 42 відповідно) призводило до дозозалежного інгібування експресії репортера (фіг. 9). Сигнальний шлях індукували Jagged1 (фіг. 9A, темно-сірі стовпчики) або Jagged2 (фіг. 9B, світло-сірі стовпчики) й інгібування визначали, як описано вище. Контролі включали культури, які не були стимульовані лігандом і не були оброблені антитілом (фіг. 9A і B, необроблені), які не були стимульовані лігандом (фіг. 9A і B, без стимуляції), були оброблені 5-10 мкг/мл ізотипним контрольним антитілом (фіг. 9A і B, ag), були стимульовані лігандом, але не оброблені антитілом (фіг. 9A і B, стим./без AT), були оброблені 5 мкМ інгібітором гамма-секретази, DAPT, або носієм для DAPT, DMSO.

Антитіло A-2 інгібувало індуковану Jagged1 передачу сигналу, але не індуковану Jagged2 передачу сигналу, залежно від дози (фіг. 9A). IC_{50} для A-2 складала між 2 і 10 мкг/мл для інгібування Jagged1, у той час як слабке або взагалі ніяке інгібування Jagged2 спостерігалося навіть при найвищій концентрації 50 мкг/мл. Результати показують, що антитіло A-2 являє собою селективний антагоніст Jagged1, тобто антитіло A-2 інгібує Jagged1-опосередковану передачу сигналу, але не Jagged2-опосередковану передачу сигналу. Навпроти, антитіло B-3 дуже інгібувало Jagged2-індуковану передачу сигналу при найнижчій випробуваній концентрації, але не інгібувало індукованому Jagged1 передачу сигналу при найвищій дослідженій концентрації, доводячи таким чином, що B-3 є Jagged1-селективним антагоністом (фіг. 9B).

Приклад 4. Вплив анти-Jagged антитіла на вагу тіла.

Як було описано вище, інгібітори гамма-секретази й інші інгібітори Notch-рецепторів викликають втрату ваги і метаплазію келихоподібних клітин кишечнику, що небажано для клінічного застосування. Для того, щоб визначити, як описані в даному документі антитіла впливають на вагу тіла і стан кишечнику, мишам два рази на тиждень вводили анти-Jagged1 антитіло A-2 (5-20 mpk (мг антитіла на кг ваги тіла миші), послідовності варіабельних областей важкого ланцюга і легкого ланцюга з SEQ ID NO: 25, і 26, відповідно), анти-Jagged2 антитіло B-3 (5-20 mpk, послідовності варіабельних областей важкого ланцюга і легкого ланцюга з SEQ ID NO: 41 і 42, відповідно), антитіла A-2 і B-3 спільно (по 5 mpk кожне), антитіло анти-Jagged1/2, яке зв'язується з Jagged1 і Jagged2 (C-1; 5-10 mpk, послідовності варіабельних областей важкого ланцюга і легкого ланцюга показані на фіг. 4), або контрольне ізотипне анти-gD антитіло (20 mpk). Контрольне ізотипне антитіло також використовували, щоб довести загальну концентрацію антитіла в кожному дозуванні до 20 mpk. Загальну вагу тіла кожної миші визначали перед першим введенням антитіл і контролювали до 12-го дня дослідження. Середню зміну ваги тіла показано на фіг. 10 у вигляді відсотка від вихідної ваги тіла. Подвійне інгібування Jagged1 і Jagged2 з використанням анти-Jagged 1/2 антитіла C-1 або комбінації Jagged1-специфічного антитіла A-2 і Jagged2-специфічного антитіла B-3 призводило до швидкої і значної втрати ваги (фіг. 10A). До 4-го дня деякі миші, які одержували анти-Jagged1/2 антитіло C-1, втратили більше 5 % від своєї ваги тіла, і втрата ваги прогресувала до майже 8-10 % ваги тіла на 7-й день (фіг. 10A). Миші, які одержували A-2 і B-3, також швидко втрачали вагу, у деяких випадках до 1 7 % на 11-й день (фіг. 10A). На відміну від цього, жодне з Jagged1-специфічних або Jagged2-специфічних антитіл поодинці не викликало втрату ваги за час дослідження при кожному з дозувань 5 або 20 mpk (фіг. 10A). Дія комбінації анти-Jagged1 і анти-Jagged2 антитіл призвела до зниження споживання їжі (фіг. 10B), що корелювало зі зниженням ваги тіла, яка спостерігається, (фіг. 10A) і дозволило припустити, що зниження споживання їжі цілком або частково може пояснити відповідне зниження ваги тіла.

Приклад 5. Анти-Jagged1 антагоністичні антитіла інгібують ріст клітин раку легень людини in vivo.

Бестимусним голим мишам від Harlan підшкірно пересаджували клітини Calu-6 лінії недрібноклітинного раку легень людини. Після того, як об'єм пухлини досягав приблизно 200 кубічних мм, мишам вводили внутрішньоочеревинно (IP) два рази на тиждень (у дні 0, 4, 7, 11, 14 і 18) по 20 mpk анти-gD контрольного ізотипного антитіла (n=10) або анти-Jagged1 антитіла A-2 (n=10; послідовності варіабельних областей важкого ланцюга і легкого ланцюга SEQ ID NO: 25 і 26, відповідно). Об'єм пухлини в кожної миші вимірювали штангенциркулем протягом ще 19 днів. Загальну вагу тіла кожної миші контролювали протягом дослідження.

Пухлини в мишей, які одержували анти-Jagged1 антитіло, значно зменшувалися в об'ємі щодо об'єму пухлин у контрольній групі (фіг. 11A). Ефект анти-Jagged1 антитіла може бути виявлений уже на 7-й день після введення антитіла (фіг. 11A). На 18-й день середній об'єм пухлини в мишей, які одержували анти-Jagged1 антитіло, досягав приблизно 500 мм^3, тоді як середній об'єм пухлини в контрольних тварин досягав приблизно 750 мм^3 на 18-й день. Не спостерігалося ніяких істотних змін ваги тіла між лікувальною і контрольною групою (фіг. 11B).

Приклад 6. Анти-Jagged1 і анти-Jagged2 антитіла інгібують ріст клітин раку молочної залози людини in vivo.

Мишам CB-17 SCID.bg пересаджували в жирову подушку молочної залози клітини MDA-MD-468, лінії базального раку молочної залози людини. Після того, як об'єм пухлини досягав приблизно 200 мм^3 мишам вводили IP по 30 mpk анти-gD контрольного ізотипного антитіла (ізотипу IgG1 людини), контрольного ізотипного антитіла до антигену з амброзії (мишачого ізотипу IgG2a), анти-Jagged1 антитіла A-2 (послідовності варіабельних областей важкого ланцюга і легкого ланцюга з SEQ ID NO: 25 і 26, відповідно) у каркасі IgG1 людини, анти-Jagged1 антитіла A-2 у каркасі мишачого IgG2a або анти-Jagged2 антитіла B-3 (послідовності варіабельних областей важкого ланцюга і легкого ланцюга з SEQ ID NO: 41 і 42, відповідно) у каркасі IgG1 людини у дні 0, 4, 7, 12, 15, 18, 22, 25, 29, 32, 36, 43, 50 і 57. Об'єм пухлини (вісь у) вимірювали штангенциркулем протягом 60 днів після першої ін'єкції. Об'єм пухлини для кожної групи (n=9 на групу) відкладали на графіку, використовуючи модель лінійних змішаних ефектів (фіг. 12A). Об'єми пухлини для кожної миші в кожній групі зазначені на фіг. 12B.

Приклад 7: анти-Jagged1 антитіла розщеплюються у важкому ланцюзі

Антитіла A (послідовності варіабельних областей важкого ланцюга і легкого ланцюга з SEQ ID NO: 9 і 10, відповідно), A-1 (послідовності варіабельних областей важкого ланцюга і легкого ланцюга з SEQ ID NO: 17 і 18, відповідно) і A-2 (послідовності варіабельних областей важкого ланцюга і легкого ланцюга з SEQ ID NO: 25 і 26, відповідно) були проаналізовані за допомогою електрофорезу в ДСН-ПААГ і спектрометрії-мас-спектрометрії на цілісність важких і легких ланцюгів. Для аналізу електрофорезом у ДСН-ПААГ кожен зразок антитіл змішували в рівних об'ємах з 2× Тріс-гліциновим SDS-буфером для зразків (Novex, кат. № LC2676) під час відсутності й у присутності 10 мм DTT. Зразки нагрівали при 95 °C протягом 5 хвилин, і 2 мкг кожного зразка наносили на 1 мм гель Novex 4-20 % SDS-PAGE (Novex, кат. № EC6025). На гель також наносили по 10 мкл стандарів молекулярних мас, Mark 12 (Invitrogen, кат. № 100006637). Електрофорез проводили в 1× Тріс-гліциновому ДСН-буфері для фореза (Invitrogen, кат. № LC2675-5) при постійній напрузі 250В, до досягнення трекінговим барвником кінця гелю. Потім гель забарвлювали барвником Кумасі (Expedeon InstantBlue, кат. № ISB1L).

Для мас-спектрометричного аналізу, кожне антитіло розводили до кінцевої концентрації 1 мг/мл у PBS. Значення Рн антитіла підвищували до 8,0, додаючи 1:10 об'єму 1,0M Tris-буфера, Рн 8,0. Для відновлення антитіла в розчин додавали DTT до кінцевої концентрації 10 мм. Потім зразок нагрівали при температурі 37 °C протягом 15 хвилин. Потім зразки наносили на колонку PLRP-S 1000 ангстрем, 8 мкм, 2,1×50 мм (Agilent, PL1912-1802), нагріту до 80 °C, з використанням BEPX-системи Agilent 1200 з наступною іонізацією електророзпиленням у системі TOF LC/MS, Agilent 6210.

Результати цих аналізів показані на фіг. 13. Електрофорез у ДСН-ПААГ (фіг. 13A) показав, що частина важкого ланцюга (HC) розщеплюється в кожному з антитіл. Смуги, які відповідають інтактному HC і легкому ланцюгу (LC), а також карбокси-кінцевим і амінокінцевим розщепленим фрагментам HC, позначені праворуч від гелю. Репрезентативний мас-спектрометричний аналіз антитіла A-1 показаний на фіг. 13B. Цей аналіз показав, що сайт розщеплення HC знаходиться між амінокислотами G100 і S101 (послідовна нумерація, яка відповідає G96 і S97 нумерації за Кабатом) у CDR3, як схематично відзначено в амінокислотній послідовності HC на фіг. 13C стрілкою, яка вказує місце розщеплення. Аналогічні аналізи показали, що розщеплення HC відбувається у всіх досліджених препаратах цих антитіл (включаючи подальшу експресію в двох

різних типах клітин, CHO і 293), і що розщеплення відбувається незалежно від типу Fc-області антитіла (людського IgG1 або мишачого IgG2a).

Електрофорез анти-Jagged1 у ДСН-ПААГ проводили власне кажучи, як описано вище. Замість забарвлення Кумасі антитіла переносили на PVDF-мембрану (Invitrogen, кат. № LC2002) з використанням XCell Blot Module (Invitrogen, кат. № EI9051) при постійному потоці 0,35 Å. Мембрану забарвлювали Кумасі блакитним R-250. Зразки на мембрані піддавали N-кінцевому аналізу послідовності з використанням Applied Biosystems Procise Sequencer 494 відповідно до принципу секвенування, описаному в Niall, 1973, Meth. Enzymol. 27: 942-1010.

Результати секвенування наведені на фіг. 14. Цей спосіб підтвердив, що сайт розщеплення відповідав прогнозованому за результатами мас-спектрометрії, який знаходиться між амінокислотами G100 і S101 (послідовна нумерація, яка відповідає G96 і S97 у нумерації за Кабатом) у послідовності HC.

Розщеплення важкого ланцюга анти-Jagged1 антитіл A, A-1 і A-2 було несподіваним. Аналіз амінокислотної послідовності, пов'язаної з ділянкою розщеплення, не виявив ніяких відомих сайтів розщеплення протеазами. Механізм розщеплення залишається нез'ясованим і не очевидний з послідовностей антитіл.

Приклад 8. Мутація S101 у важкому ланцюзі зменшує розщеплення важкого ланцюга анти-Jagged1 антитіла

скільки спостережуване розщеплення, анти-Jagged1 антитіл було несподіваним, а механізм неясним, не було відомо, чи можуть зміни в послідовності антитіла запобігти розщепленню, зберігаючи при цьому афінність і ефективність антитіла. Крім того, не було відомо, яку позицію(ії) у послідовності антитіла необхідно змінити, щоб запобігти розщепленню. Для того, щоб визначити, чи можна запобігти розщепленню антитіла шляхом зміни послідовності важкого ланцюга, були здійснені ряд амінокислотних замін у позиції S101 важкого ланцюга (послідовна нумерація послідовності варіабельної області важкого ланцюга SEQ ID NO: 17, яка відповідає S97 у нумерації за Кабатом). Антитіла були проекспресовані в клітинах ссавців і очищені відповідно до стандартних процедур. Розщеплення аналізували електрофорезом у ДСН-ПААГ, як описано в прикладі 7. Результати показані на фіг. 15. Амінокислотні заміни в позиції S101 значно знижували або усували розщеплення HC, хоча деяке розщеплення виявлялося при мутації S101H (фіг. 15, доріжка 5). Ці результати були підтверджені за допомогою мас-спектрометрії, проведеної як описано в прикладі 7.

Для того, щоб визначити вплив змін на зв'язування з очищеним фрагментом позаклітинного домену білка Jag1, афінність зв'язування мутантних антитіл A-1 була виміряна з використанням BIAcore. У таблиці 3 наведені короткі відомості про фрагментацію й афінність зв'язування з Jagged1 для кожного з мутантних антитіл A-1.

Таблиця 3

Фрагментація й афінність зв'язування з Jagged1
мутантних антитіл A-1

	Наявність фрагментації HC		Зв'язування з Jag1 (BIAcore)		
Варіанти мАТ	Мас-спектр	Електрофорез у ДСН-ПААГ	k_a (1/M•c)	k_d (1/c)	KD
A-1 G100, S101 (дикий тип)	так	так	1,80E+05	1,44E-04	7,99E-10
A-1 G100A, S101	так	так			
A-1 G100, S101A	ні	ні	1,46E+05	6,75E-04	4,62E-09
A-1 G100, S101D	ні	ні	1,02E+05	5,56E-04	5,47E-09
A-1 G100, S101E	ні	ні	1,67E+05	1,15E-03	6,88E-09
A-1 G100, S101G	ні	ні	1,54E+05	8,72E-04	5,67E-09
A-1 G100, S101H	так	так	1,27E+05	5,62E-04	4,43E-09
A-1 G100, S101I	ні	ні	9,88E+04	5,90E-04	5,97E-09

A-1 G100, S101K	ні	ні	1,18E+05	8,43E-04	7,16E-09
A-1 G100, S101L	ні	ні	8,34E+04	6,49E-04	7,79E-09
A-1 G100, S101N	ні	ні	1,36E+05	7,97E-04	5,87E-09
A-1 G100, S101Q	ні	ні	1,03E+05	5,82E-04	5,64E-09
A-1 G100, S101R	ні	ні	1,02E+05	6,90E-04	6,75E-09
A-1 G100, S101T	ні	ні	1,31E+05	3,41E-04	2,61E-09
A-1 G100, S101V	ні	ні	1,20E+05	5,80E-04	4,84E-09

Як показано в таблиці 3, зміна амінокислотного залишку в позиції 101 знижує розщеплення до невизначеного рівня, за винятком S101H. Крім того, оскільки механізм розщеплення був невідомий, також була досліджена зміна в позиції 100, G100A. Мутант G100A усе ще піддавався розщепленню. Див. таблицю 3. Дивно, але при тому, що ці мутації були проведені в HVR-H3, мутантні за S101 антитіла зберігали здатність зв'язувати Jagged1.

Приклад 9: вплив температури і циклів заморожування-відтавання на розщеплення важкого ланцюга анти-Jagged1 антитіла

Для того, щоб оцінити, чи підсилюється розщеплення анти-Jagged1 антитіл при інкубації при підвищеній температурі, різні незалежні препарати анти-Jagged1 антитіл A-1 (послідовності варіабельних областей важкого ланцюга і легкого ланцюга з SEQ ID NO: 17 і 18, відповідно) і A-2 (послідовності варіабельних областей важкого ланцюга і легкого ланцюга з SEQ ID NO: 25 і 26, відповідно), а також контрольне ізотипне антитіло (не анти-Jagged1), інкубували протягом 10 хв при 70 або 95 °C. Ступінь розщеплення оцінювали за допомогою стандартного електрофорезу в ДСН-ПААГ і забарвлення білка. Результати показані на фіг. 16. Кожний із препаратів анти-Jagged1 антитіла розщеплювався при 70 °C, тоді як контрольне антитіло не розщеплювалося (фіг. 16A). Як показано в таблиці (фіг. 16B), ступінь розщеплення анти-Jagged1 антитіл вірогідно або відтворено не змінювалася при інкубації при 95 °C відносно 70 °C.

Для того, щоб оцінити, чи призводять до розщеплення цикли заморожування-відтавання, препарати анти-Jagged1 антитіл, антитіла A-1 (послідовності варіабельних областей важкого ланцюга і легкого ланцюга з SEQ ID NO: 17 і 18, відповідно) піддавали безлічі циклів заморожування при -80 °C з наступним відтаванням. 2 мкг кожного зразка потім аналізували електрофорезом у ДСН-ПААГ при умовах, які не відновлюються (-DTT) або відновлюються (+DTT), (як зазначено) і забарвленням білка. Пофарбований гель візуалізували за допомогою інструмента Biorad GelDoc Easy Imager, і денситометричний аналіз проводили з використанням програмного забезпечення Biorad Image Lab. Результати цього експерименту показані на фіг. 17. F/T1 стосується вихідного зразка, а числа, які збільшуються, вказують на кількість додаткових раундів циклів заморожування-відтавання. Для кожного циклу антитіло A-1 заморожували при -80 °C, а потім розморожували при кімнатній температурі. Аліквоту відбирали для електрофорезу в ДСН-ПААГ. Заморожування/відтавання повторювали ще два рази для в цілому 3 циклів заморожування/відтавання, причому аліквоти відбиралися після кожної стадії відтавання. У таблиці (фіг. 17B) зазначений відсоток розщеплення в кожних умовах. Експеримент показав, що додаткові раунди заморожування-відтавання впливали на ступінь розщеплення.

Приклад 10: активність A-1 і A-1 (S101T), яка блокує Jagged1, in vitro

In vitro аналіз Jag1 індукованої активності Notch-репортера шляхом спільного культивування проводили для вимірювання активності A-1, яка блокує Jag1, (послідовності варіабельних областей важкого ланцюга і легкого ланцюга з SEQ ID NO: 17 і 18, відповідно) і A-1 (S101T) (послідовності варіабельних областей важкого ланцюга і легкого ланцюга з SEQ ID NO: 33 і 34, відповідно). Клітини U87MG, які експресують високий рівень Notch2, спільно трансфікували репортером, який відповідає на Notch, з люциферазою світляка (FF), TP-1 (12X CSL), і репортером, який конститутивно експресується, з люциферазою з Renilla (pRL-CMV, Promega) для контролю ефективності трансфекції. Див. Wu et al., 2010, Nature 464: 1052-1057. Анти-Jagged1 антитіла A-1 або A-1 (S101T), контрольне ізотипне антитіло, 5 мкМ DAPT (Calbiochem) або контрольний носій DMSO додавали до клітин, які експресують ліганд, (клітини NIH-3T3, стабільно трансфіковані Jag1 людини або контролем без ліганда) через 6 годин після

трансфекції. Люциферазну активність вимірювали через 20 годин спільного культивування (Promega, набір Dual Glo Luciferase). Як правило, кожну умову аналізували в чотирьох повторах, і значення виражали у вигляді відносних люциферазних одиниць (сигнал від люциферази світляка, поділений на сигнал від люциферази з Renilla) і наносили на графік як відсоток від Jag1-індукованої активності щодо контролю з антитілами проти антигену з амброзії.

Результати цього експерименту показані на фіг. 18. Світіння люциферази світляка і з Renilla (фіг. 18B і C, відповідно) вимірювали відповідно до дози стандартними способами, і співвідношення світіння люциферази світляка і люциферази з Renilla наносили на графік у вигляді нормалізованого вимірювання Jag1-індукованої активності Notch (фіг. 18A). Результати показують, що обидва антитіла, A-1 і A-1 (S101T), інгібують Jag1-індукований Notch-сигнальний шлях дозозалежним чином. Див. фіг. 18A і B. Таким чином, A-1 (S101T) зберігає анти-Jagged1 активність батьківського антитіла, яке блокує, A-1.

Приклад 11: активність A-1 і A-1 (S101T), яка блокує Jagged 1, in vivo

Для оцінки активності анти-Jagged1 антитіл, яка блокує Jagged1, in vivo, присутність клітин Клара і війчастих клітин у бронхіолярному епітелії легких мишей вимірювали після введення мишам контрольних або анти-Jagged1 антитіл. Восьмитижневим самицям мишей BALB/c дикого типу (по три миші в кожній групі) вводили антитіла в день 0 (нульовий) у такий спосіб (усі групи включали анти-Jagged2 антитіло (B-3) для сенсибілізації бронхіолярного епітелію, щоб чітко виявити виміряні ефекти анти-Jagged1 активності):

1. Контроль 1X - контроль ізотипу (15 мг антитіла на кг ваги тіла миші) + анти-Jag2 B-3 (15 мг/кг; послідовності варіабельних областей важкого ланцюга і легкого ланцюга з SEQ ID NO: 41 і 42 відповідно)
2. A-1 1X - анти-Jag1 A-1 (15 мг/кг, послідовності варіабельних областей важкого ланцюга і легкого ланцюга з SEQ ID NO: 17 і 18, відповідно) + анти-Jag2 B-3 (15 мг/кг)
3. A-1 5X - анти-Jag1 A-1 (7,5 мг/кг) + анти-Jag2 B-3 (15 мг/кг)
4. A-1 25X - анти-Jag1 A-1 (3,75 мг/кг) + анти-Jag2 B-3 (15мг/кг)
5. A-1-S101T 2X - анти-Jag1 A-1(S101T) (30 мг/кг; послідовності варіабельних областей важкого ланцюга і легкого ланцюга з SEQ ID NO: 33 і 34, відповідно) + анти-Jag2 B-3 (15 мг/кг)
6. A-1-S101T 1X - анти-Jag1 A-1(S101T) (15мг/кг) + анти-Jag2 B-3 (15 мг/кг)
7. A-1-S101T 5X - анти-Jag1 A-1(S101T) (7,5 мг/кг) + анти-Jag2 B-3 (15мг/кг)
8. A-1-S101T 25X - анти-Jag1 A-1(S101T) (3,75 мг/кг) + анти-Jag2 B-3 (15мг/кг).

На 5-й день легені збирали, накачували, фіксували й забарвлювали для імунофлуоресценції (IF) у такий спосіб. Легені накачували з використанням 4 %-го PFA у PBS. Усю легеню переносили в 10 %-й нейтральний забуференізований формалін (NBF) і фіксували протягом ночі при кімнатній температурі. Фіксовані легені переносили в 70 %-й етанол не менше ніж на 24 години. Легені занурювали у парафін і робили зрізи по 5 мкм. Імунофлуоресцентне забарвлення війчастих клітин і клітин Клара проводили в такий спосіб. Слайди депарафінізували, і антигени виявляли шляхом кип'ятіння слайдів у цитратному буфері (Dako, кат. № S1700) у скороварці протягом 15 хвилин при температурі 125 °C. Слайди швидко промивали в 2X PBS, і потім пермеабілізували 0,2 %-м Triton-X100 у PBS протягом 45 або хвилин 3 рази по 15 хвилин. Зрізи блокували в 5 % FBS/2 % BSA протягом 1 години. Зрізи потім інкубували з козячими антитілами проти CC10 (1:1000) і мишачим антитілом проти ацетильованого альфа-тубуліну (1:200) у блокувальному буфері протягом 2-3 годин або протягом ночі. Зрізи промивали PBS 3 рази по 15 хвилин. Зрізи інкубували з вторинними антитілами протягом 1 год (вторинні антитіла від Invitrogen Alexa Fluor розводили у співвідношенні 1:1000), а потім двічі промивали PBS по 15 хвилин. Ядра забарвлювали DAPI (0,5 мкг/мл) протягом 15 хвилин. Слайди потім промивали PBS двічі по 15 хвилин і монтували під покривним склом.

Результати цього експерименту показані на фіг. 19. Блокування сигнальних шляхів Jagged1 і Jagged2 призводить до збільшення числа війчастих клітин (на який вказує імунофлуоресцентне виявлення альфа-тубуліну в червоному каналі) і зниження числа клітин Клара (на який вказує імунофлуоресцентне виявлення CC10 у зеленому каналі) у мишачому бронхіолярному епітелії. Одночасне блокування Jagged1 і Jagged2 призводить до майже повної втрати клітин Клара, так що в результаті епітелій складається в основному з війчастих клітин (пофарбованих червоним кольором, див. «A-1, 1X» і «A-1-S101T, 2X» на фіг. 19). Обидва антитіла, A-1 і A1 (S101T), інгібували Jagged1 індукований сигнальний шлях Notch in vivo залежно від дози. Таким чином, A-1 (S101T) зберігає анти-Jagged1 блокувальну активність батьківського антитіла A-1 in vivo.

Приклад 12: анти-Jagged1 антитіла A-1 і A-1 (S101T) інгібують ріст печінкових ракових пухлин in vivo

Ракову пухлину печінки людини, LIV#78 (Genendesign, Китай), вирощували у вигляді підшкірного ксенотрансплантата в лінії BALB-з безтимусних імунодефіцитних мишей. Коли

пухлини виростали до розміру 150-200 мм^3, мишей розділяли на сім груп лікування по десять мишей у кожній групі, яким вводили один раз у тиждень (за винятком групи 5, де введення здійснювали один раз у три тижні) у зазначеній дозі (мг антитіла на кг ваги тіла миші) зазначені антитіла (антитіло A-1 (S101T), яке має послідовності важкого ланцюга і легкого ланцюга з SEQ ID NO: 51 і 53, відповідно, «A-1-DANG (безефекторне)», яке має послідовності важкого і легкого ланцюга з SEQ ID NO: 52 і 53, відповідно, і антитіло A-1, яке має послідовності важкого ланцюга і легкого ланцюга з SEQ ID NO: 81 і 53, відповідно). Див. фіг. 20B. Об'єм пухлин оцінювали за результатами вимірювань штангенциркулем (довжина×ширина×висота/2).

На фіг. 20A показаний LME-графік (лінійних змішаних ефектів) об’єму пухлини в кожній групі лікування по ходу дослідження. На фіг. 20B об'єднана статистика росту, характеристики груп і схеми лікування. Анти-Jagged1 антитіла A-1 і A1 (S101T) значно інгібували ріст раку печінки in vivo; множинні PR (часткові відповіді) спостерігалися для кожного з анти-Jagged1 антитіл. Аналогічним чином, у жодній із груп, які одержували анти-Jagged1 антитіла, не спостерігалося подвоєння об’єму пухлини протягом 44 днів дослідження, у той час як у контрольної групи час до подвоєння пухлини (TTP 2X) склав 18,5 днів. Див. фіг. 20B. Відсоток інгібування росту пухлини (% TGI, де «нижнє» і «верхнє» значення стосуються мінімального і максимального вимірювань % TGI, відповідно, для окремих тварин у кожній групі) у вигляді функції площі під кривою в день (AUC/день), порівняно з контрольною групою, залежав від дози анти-Jagged1 A-1-S101T відповідно до інгібування росту пухлини, який відбиває ступінь інгібування Jagged1. Аналогічним чином, інгібування росту пухлини було схожим при використанні A-1 або A-1 (S101T). Можна порівняти, наприклад, групи 3 і 7, фіг. 20B. Інгібування росту пухлини не залежало від ефекторної функції антитіла, тому що N297G-мутантна форма A-1 за важким ланцюгом, у якого відсутні ефекторні функції, придушувала ріст пухлини настільки ж ефективно, як A-1. Можна порівняти групи 6 і 7, фіг. 20B.

На фіг. 21A показаний LME-графік (лінійних змішаних ефектів) ваги тіла мишей у динаміку для мишей, показаних на фіг. 20. На фіг. 20B показані різні параметри ваги тіла для груп лікування, включаючи % зміну ваги тіла в останній день дослідження (% BT в останній день), максимальна зміна (у %) ваги тіла (макс. % BT), день, коли відбулася максимальна зміна ваги тіла (день макс. % BT) і (AUC/день (нижнє, верхнє значення)). Графіки ваги тіла для груп лікування, включаючи контрольну групу, були статистично нерозрізнені, що вказує на те, що лікування анти-Jagged1 антитілами добре переносилося.

Приклад 13: блокування Jagged1 інгібує метаплазію келихоподібних клітин in vivo

Після 35-денного періоду сенсибілізації овальбуміном, який вводиться внутрішньоочеревинно, мишам аерозольно вводили овальбумін протягом 7 днів, після чого їх забивали й аналізували число келихоподібних клітин. Миші одержували контрольне антитіло, анти-Jagged1 антитіло A-2 (з Fc з мишачого IgG2a), анти-Jagged2 антитіло B-3 (з Fc з мишачого IgG2a) або комбінацію анти-Jagged1 і анти-Jagged2 антитіл через 24 години і 96 годин після першого аерозольного введення алергену.

На фіг. 23A показане забарвлення перйодною кислотою - реактивом Шиффа легеневих дихальних шляхів у мишей, які одержували анти-Jagged1, анти-Jagged2, комбінацію анти-Jagged1 і анти-Jagged2 або контрольне антитіло. На фіг. 23B показане визначення числа келихоподібних клітин у дихальних шляхах груп, які одержували різне лікування. Велика кількість келихоподібних клітин спостерігається в контрольній і анти-Jagged2 групах. Декілька келихоподібних клітин були присутні в групі анти-Jagged1 і келихоподібні клітини практично не детектувались у групі анти-Jagged1 + анти-Jagged2. На фіг. 23C наведений показник запалення, оцінений шляхом H&E-забарвлення (гематоксиліном/еозином). Обробка Jagged-1 або - 2 антитілами, які блокують, не впливає на запалення в легенях.

Jagged1-індукований Notch-сигнальний шлях зміщає диференціювання клітин у дихальних шляхах з диференціювання у війчасті клітини на диференціювання в секреторні клітини (включаючи келихоподібні клітини). Сигнальний шлях Jagged1 має важливе значення для підтримки секреторного диференціювання клітин, й інгібування Jagged1-сигнального шляху попереджає метаплазію келихоподібних клітин. Автори даного винаходу також показали, що перетворення клітин Клара у війчасті є прямим і не пов'язане з розподілом клітин (дані не показані). З клітин Клара в легенях утворяться келихоподібні клітини. Це трансдиференціювання одного типу клітин в іншій зустрічається в легенях дорослих людей і відрізняється від вибору шляху клітинного диференціювання, яке включає розподіл клітин-попередників, наприклад, після пошкодження або в процесі розвитку. Метаплазія келихоподібних клітин або надлишок слизу є ознакою ряду захворювань дихальних шляхів, таких як астма, кістозний фіброз, ХОХЛ і стравохід Барретта. Ці результати інгібування Jagged-сигнального шляху забезпечують основу для застосування в терапії, включаючи використання

інгібіторів Jagged1 або Jagged2 для попередження або інверсії метаплазії келихоподібних клітин і для лікування станів, які характеризуються надлишком слизу, як при захворюваннях дихальних шляхів (наприклад, при астмі, ХОХЛ, кістозному фіброзі) і стравоході Барретта.

Приклад 14: специфічність зв'язування анти-Jagged1 і анти-Jagged2 антитіл

Антитіла A-2 (фіг. 24, ліва панель) і C-1 (фіг. 24, права панель) були протестовані на зв'язування з рекомбінантним очищеним Notch-лігандами - Jagged1 людини (hJag-1), Jagged2 людини (hJag-2), мишачий Jagged2 (mJag-2), Delta-like 1 людини (hDLL1), мишачий Delta-like 1 (mDLL1) і Delta-like 4 людини (hDLL4), з використанням стандартного твердофазного імуноферментного аналізу (ELISA). 1 мкг/мл Notch-ліганда (як зазначено) у PBS, pH 7,4, наносили на планшети для ELISA (Nunc Maxisorp) при 40 °C протягом ночі. Планшети блокували казеїном у PBS (Pierce) протягом однієї години при кімнатній температурі. Послідовні 3-кратні розведення IgG-антитіл (як зазначено) у буфері PBST (PBT-буфер (PBS+0,05 % (об./об.) Tween-20) з 0,5 % (мас./об.) BSA) додавали в планшети й інкубували протягом однієї години при кімнатній температурі. Потім планшети промивали PBST, і зв'язані антитіла детектували за допомогою кон'югованих з пероксидазою козячих IgG-антитіл, специфічних до Fab людини (Sigma). Використовували TMB-субстрат (3,3′,5,5′-тетраметилбензидін), і поглинання при 630 нМ визначали з використанням стандартного планшетного спектрофотометра для ELISA. Поглинання наносили на графік щодо концентрації IgG, використовуючи KaleidaGraph (Synergy Software). На фіг. 24 показані результати, де A_{630} зу віссю у представляє ступінь зв'язування.

Антитіло A-2 зв'язувало людський і мишачий Jagged1, але не зв'язувало людський Jagged2, мишачий Jagged2, людський DLL1, мишачий DLL1, людський DLL4 або мишачий DLL4 (фіг. 24, ліва панель). Антитіло C-1 зв'язувало людський і мишачий Jagged1, людський і мишачий DLL1, людський і мишачий Jagged2, але не зв'язувало людський або мишачий DLL4 (фіг. 24, права панель).

Афінності зв'язування і константи швидкості для антитіл були виміряні за допомогою поверхневого плазмонного резонансу (SPR) з використанням інструмента BIAcore™-T200. Антитіла IgG1 людини були захоплені на сенсорному чіпі CM5, покритим мишачими антитілами проти людських IgG, до досягнення приблизно 150 одиниць відповіді (RU). Для вимірювання кінетики або афінності чотириразові серійні розведення людського Jagged1, мишачого Jagged1, людського Jagged2, мишачого Jagged2, людського DLL1, мишачого DLL1, людського DLL4, мишачого DLL4 і щурячого Jagged1 впорскували в буфері HBS-T (0,01 M HEPES, pH 7,4, 0,15 M NaCl, 0,05 % об./об. Surfactant P20, GE Healthcare) при 25 °C зі швидкістю потоку 30 мл/хв. Фрагментами ліганда були фрагменти DSL-EGF1-4, за винятком щурячого Jagged1, який був придбаний в R&D Systems. Для кінетичного аналізу, швидкості асоціації (k_{on}) і швидкості дисоціації (k_{off}) розраховували з використанням ленгмюрівської моделі простого зв'язування один до одного (BIAcore T200 Evaluation Software version 2.0). Рівноважну константу дисоціації (kd) розраховували як співвідношення k_{off}/k_{on}. Для аналізу афінності K_d розраховували з використанням моделі стаціонарної афінності (BIAcore T200 Evaluation Software version 2.0).

У таблиці 3 наведені константи зв'язування для антитіл A-2, B-3, C-1, A-1 і A-1S101T, які зв'язуються з очищеними людським Jagged1, мишачим Jagged1, людським Jagged2, мишачим Jagged2, людським DLL1, мишачим DLL1, людським DLL4, мишачим DLL4 і/або щурячим Jagged1. НВ = не виявлено, НТ = не тестовано. Антитіла A-2, A-1 і A-1-S101T.NG (антитіло A-1-S101T з мутацією N297G) специфічно зв'язується з Jagged1 людини і миші з високою афінністю. Антитіла A-1 і A-1-S101T.NG також зв'язуються з щурячим Jagged1 з високою афінністю. Антитіло B-3 специфічно зв'язується з людським і мишачим Jagged2 з високою афінністю. Антитіло C-1 специфічно зв'язується з Jagged1 і Jagged2 людини і миші. Антитіла B-3 і C-1, але не антитіло A-2, показали деяке зв'язування з людським і мишачим DLL1. Жодне з протестованих антитіл не зв'язувалося з людським або мишачим DLL4.

Таблиця 3

Константи зв'язування для анти-Jagged антитіл

	A-2			B-3			C-1		
	k_{on} (1/M•c)	k_{off} (1/c)	K_d (M)	k_{on} (1/M•c)	k_{off} (1/c)	K_d (M)	k_{on} (1/M•c)	k_{off} (1/c)	K_d(M)
hJag1	2,42E+05	9,23E-05	3,82E-10	НВ	НВ	>1,00E-06*	2,90E+05	9,00E-05	3,10E-10
mJag1	3,85E+05	5,77E-05	1,50E-10	НВ	НВ	>1,00E-06*	8,69E+05	1,54E-04	1,77E-10
hJag2	НВ	НВ	НВ	4,58E+06	1,88E-04	4,10E-11	7,64E+06	5,56E-04	7,28E-11
mJag2	НВ	НВ	НВ	7,71E+05	4,40E-05	5,71E-11	1,16E+06	8,03E-05	6,92E-11
hDLL1	НВ	НВ	НВ	НВ	НВ	3,49E-07*	НВ	НВ	7,83E-08*
mDLL1	НВ	НВ	НВ	НВ	НВ	7,23E-08*	НВ	НВ	5,55E-08*
hDLL4	НВ	НВ	НВ	НВ	НВ	НВ	НВ	НВ	НВ
mDLL4	НВ	НВ	НВ	НВ	НВ	НВ	НВ	НВ	НВ
rJag1	НТ	НТ	НТ	НТ	НТ	НТ	НТ	НТ	НТ

Продовження Таблиці 3

Константи зв'язування для анти-Jagged антитіл

	A-1			A-1.S101T.NG		
	k_{on} (1/M•c)	k_{off} (1/c)	K_d (M)	k_{on} (1/M•c)	k_{off} (1/c)	K_d (M)
hJag1	2,91E+04	2,25E-04	7,75E-09	2,09E+04	5,88E-04	2,82E-08
mJag1	1,59E+05	7,42E-05	4,57E-10	9,51E+04	6,22E-04	6,54E-09
hJag2	НВ	НВ	НВ	НВ	НВ	НВ
mJag2	НВ	НВ	НВ	НВ	НВ	НВ
hDLL1	НТ	НТ	НТ	НТ	НТ	НТ
mDLL1	НТ	НТ	НТ	НТ	НТ	НТ
hDLL4	НТ	НТ	НТ	НТ	НТ	НТ
mDLL4	НТ	НТ	НТ	НТ	НТ	НТ
rJag1	4,34E+04	9,80E-07	2,26E-11	4,55E+04	1,97E-04	4,32E-09

Приклад 15: фармакокінетика анти-Jagged1 антитіла A-1-S101T

Фармакокінетичний профіль анти-Jagged1 антитіла A-1-S101T після однократної внутрішньовенної ін'єкції в дозуванні 1, 10 і 100 мг/кг оцінювали в самиць безтимусних мишей Balb/c (Charles River Laboratories, Hollister, CA). Миші мали вік 5-8 тижнів і важили близько 17,3-21,8 г. Збирали зразки сироватки, і концентрації антитіл аналізували за допомогою твердофазного імуноферментного аналізу (ELISA) на специфічність зв'язування. Планшети для ІФА для оцінки специфічності зв'язування покривали позаклітинним доменом JAG1-гістидин, і виявлення проводили з використанням козячих антитіл проти Fc людини. Чутливість аналізу була нижче стандартного значення 6,25 нг/мл. Фармакокінетичні параметри оцінювали з використанням некомпартментної моделі з використанням Phoenix™ WinNonlin® (v.6.3; Pharsight Corporation; Mountain View, CA). Весь фармакокінетичний аналіз був заснований на вихідному пулі даних від індивідуальних тварин.

Більше, ніж пропорційне дозування, збільшення впливу спостерігалося після внутрішньовенного введення анти-Jagged1 антитіла A-1-S101T у діапазоні дозувань від 1 до 100 мг/кг, що вказує на механізм мішень-опосередкованого кліренсу антитіла (фіг. 25 і таблиця 4). Величини кліренсу знаходяться в діапазоні від приблизно 13 до 75 мл/день/кг.

Таблиця 4

Фармакокінетичні властивості анти-Jagged1 антитіла A-1-S101T

Обробка	ELISA	$C_{макс.}$ (мкг/мл)	$AUC_{остан.}$ (день*мкг/мл)	$AUC_{неск.}$ (день*мкг/мл)	CL (мл/день/кг	V_{ss} (мл/кг)
1 мг/кг анти-JAG1	Специфічно	14,5±0,497	13,3±0,552	13,3	75,0	80,7
10 мг/кг анти-JAG1	Специфічно	160±2,00	458±19,3	458	21,8	87,6
100 мг/кг анти-JAG1	Специфічно	1480±68,4	7220±443	7410	13,5	115

Хоча даний винахід був детально описаний як ілюстрація і приклад з метою ясності розуміння, опис і приклади не повинні бути витлумачені як обмежуючий обсяг даного винаходу. Розкриття всієї патентної і наукової літератури, яка цитується, у даному документі, прямо включене у всій своїй повноті шляхом посилання.

Таблиця

SEQ ID NO	Опис	Послідовність
1	Jag1 людини	MRSPRTRGRS GRPLSLLLAL LCALRAKVCG ASGQFELEIL SMQNVNGELQ NGNCCGGARN PGDRKCTRDE CDTYFKVCLK EYQSRVTAGG PCSFGSGSTP VIGGNTFNLK ASRGNDRNRI VLPFSFAWPR SYTLLVEAWD SSNDTVQPDS IIEKASHSGM INPSRQWQTL KQNTGVAHFE YQIRVTCDDY YYGFGCNKFC RPRDDFFGHY ACDQNGNKTC MEGWMGPECN RAICRQGCSP KHGSCKLPGD CRCQYGWQGL YCDKCIPHPG CVHGICNEPW QCLCETNWGG QLCDKDLNYC GTHQPCLNGG TCSNTGPDKY QCSCPEGYSG PNCEIAEHAC LSDPCHNRGS CKETSLGFEC ECSPGWTGPT CSTNIDDCSP NNCSHGGTCQ DLVNGFKCVC PPQWTGKTCQ LDANECEAKP CVNAKSCKNL IASYYCDCLP GWMGQNCDIN INDCLGQCQN DASCRDLVNG YRCICPPGYA GDHCERDIDE CASNPCLNGG HCQNEINRFQ CLCPTGFSGN LCQLDIDYCE PNPCQNGAQC YNRASDYFCK CPEDYEGKNC SHLKDHCRTT PCEVIDSCTV AMASNDTPEG VRYISSNVCG PHGKCKSQSG GKFTCDCNKG FTGTYCHENI NDCESNPCRN GGTCIDGVNS YKCICSDGWE GAYCETNIND CSQNPCHNGG TCRDLVNDFY CDCKNGWKGK TCHSRDSQCD EATCNNGGTC YDEGDAFKCM CPGGWEGTTC NIARNSSCLP NPCHNGGTCV VNGESFTCVC KEGWEGPICA QNTNDCSPHP CYNSGTCVDG DNWYRCECAP GFAGPDCRIN INECQSSPCA FGATCVDEIN GYRCVCPPGH SGAKCQEVSG RPCITMGSVI PDGAKWDDDC NTCQCLNGRI ACSKVWCGPR PCLLHKGHSE CPSGQSCIPI LDDQCFVHPC TGVGECRSSS LQPVKTKCTS DSYYQDNCAN TFTFNKEMM SPGLTTEHIC SELRNLNILK NVSAEYSIYI ACEPSPSANN EIHVAISAED IRDDGNPIKE ITDKIIDLVS KRDGNSSLIA AVAEVRVQRR PLKNRTDFLV PLLSSVLTVA WICCLVTAFY WCLRKRRKPG SHTHSASEDN TTNNVREQLN QIKNPIEKHG ANTVPIKDYE NKNSKMSKIR THNSEVEEDD MDKHQQKARF AKQPAYTLVD REEKPPNGTP TKHPNWTNKQ DNRDLESAQS LNRMEYIV
2	Jag1 миші	MRSPRTRGRP GRPLSLLLAL LCALRAKVCG ASGQFELEIL SMQNVNGELQ NGNCCGGVRN PGDRKCTRDE CDTYFKVCLK EYQSRVTAGG PCSFGSGSTP VIGGNTFNLK ASRGNDRNRI VLPFSFAWPR SYTLLVEAWD SSNDTIQPDS IIEKASHSGM INPSRQWQTL KQNTGIAHFE YQIRVTCDDH YYGFGCNKFC RPRDDFFGHY ACDQNGNKTC MEGWMGPDCN KAICRQGCSP KHGSCKLPGD CRCQYGWQGL YCDKCIPHPG CVHGTCNEPW QCLCETNWGG QLCDKDLNYC GTHQPCLNRG TCSNTGPDKY

		QCSCPEGYSG PNCEIAEHAC LSDPCHNRGS CKETSSGFEC ECSPGWTGPT CSTNIDDCSP NNCSHGGTCQ DLVNGFKCVC PPQWTGKTCQ LDANECEAKP CVNARSCKNL IASYYCDCLP GWMGQNCDIN INDCLGQCQN DASCRDLVNG YRCICPPGYA GDHCERDIDE CASNPCLNGG HCQNEINRFQ CLCPTGFSGN LCQLDIDYCE PNPCQNGAQC YNRASDYFCK CPEDYEGKNC SHLKDHCRTT TCEVIDSCTV AMASNDTPEG VRYISSNVCG PHGKCKSQSG GKFTCDCNKG FTGTYCHENI NDCESNPCKN GGTCIDGVNS YKCICSDGWE GAHCENNIND CSQNPCHYGG TCRDLVNDFY CDCKNGWKGK TCHSRDSQCD EATCNNGGTC YDEVDTFKCM CPGGWEGTTC NIARNSSCLP NPCHNGGTCV VNGDSFTCVC KEGWEGPICT QNTNDCSPHP CYNSGTCVDG DNWYRCECAP GFAGPDCRIN INECQSSPCA FGATCVDEIN GYQCICPPGH SGAKCHEVSG RSCITMGRVI LDGAKWDDDC NTCQCLNGRV ACSKVWCGPR PCRLHKSHNE CPSGQSCIPV LDDQCFVRPC TGVGECRSSS LQPVKTKCTS DSYYQDNCAN ITFTFNKEMM SPGLTTEHIC SELRNLNILK NVSAEYSIYI ACEPSLSANN EIHVAISAED IRDDGNPVKE ITDKIIDLVS KRDGNSSLIA AVAEVRVQRR PLKNRTDFLV PLLSSVLTVA WVCCLVTAFY WCVRKRRKPS SHTHSAPEDN TTNNVREQLN QIKNPIEKHG ANTVPIKDYE NKNSKMSKIR THNSEVEEDD MDKHQQKVRF AKQPVYTLVD REEKAPSGTP TKHPNWTNKQ DNRDLESAQS LNRMEYIV
3	Jag2 людини	MRAQGRGRLP RRLLLLLALW VQAARPMGYF ELQLSALRNV NGELLSGACC DGDGRTTRAG GCGHDECDTY VRVCLKEYQA KVTPTGPCSY GHGATPVLGG NSFYLPPAGA AGDRARARAR AGGDQDPGLV VIPFQFAWPR SFTLIVEAWD WDNDTTPNEE LLIERVSHAG MINPEDRWKS LHFSGHVAHL ELQIRVRCDE NYYSATCNKF CRPRNDFFGH YTCDQYGNKA CMDGWMGKEC KEAVCKQGCN LLHGGCTVPG ECRCSYGWQG RFCDECVPYP GCVHGSCVEP WQCNCETNWG GLLCDKDLNY CGSHHPCTNG GTCINAEPDQ YRCTCPDGYS GRNCEKAEHA CTSNPCANGG SCHEVPSGFE CHCPSGWSGP TCALDIDECA SNPCAAGGTC VDQVDGFECI CPEQWVGATC QLDANECEGK PCLNAFSCKN LIGGYYCDCI PGWKGINCHI NVNDCRGQCQ HGGTCKDLVN GYQCVCPRGF GGRHCELERD ECASSPCHSG GLCEDLADGF HCHCPQGFSG PLCEVDVDLC EPSPCRNGAR CYNLEGDYYC ACPDDFGGKN CSVPREPCPG GACRVIDGCG SDAGPGMPGT AASGVCGPHG RCVSQPGGNF SCICDSGFTG TYCHENIDDC LGQPCRNGGT CIDEVDAFRC FCPSGWEGEL CDTNPNDCLP DPCHSRGRCY DLVNDFYCAC DDGWKGKTCH SREFQCDAYT CSNGGTCYDS GDTFRCACPP GWKGSTCAVA KNSSCLPNPC VNGGTCVGSG ASFSCICRDG WEGRTCTHNT NDCNPLPCYN GGICVDGVNW FRCECAPGFA GPDCRINIDE CQSSPCAYGA TCVDEINGYR CSCPPGRAGP RCQEVIGFGR SCWSRGTPFP HGSSWVEDCN SCRCLDGRRD CSKVWCGWKP CLLAGQPEAL SAQCPLGQRC LEKAPGQCLR PPCEAWGECG AEEPPSTPCL PRSGHLDNNC ARLTLHFNRD HVPQGTTVGA ICSGIRSLPA TRAVARDRLL VLLCDRASSG ASAVEVAVSF SPARDLPDSS LIQGAAHAIV AAITQRGNSS LLLAVTEVKV ETVVTGGSST GLLVPVLCGA FSVLWLACVV LCVWWTRKRR KERERSRLPR EESANNQWAP LNPIRNPIER PGGHKDVLYQ CKNFTPPPRR ADEALPGPAG HAAVREDEED EDLGRGEEDS LEAEKFLSHK FTKDPGRSPG RPAHWASGPK VDNRAVRSIN EARYAGKE

4	Jag2 миші	MRARGWGRLP RRLLLLLVLC VQATRPMGYF ELQLSALRNV NGELLSGACC DGDGRTTRAG GCGRDECDTY VRVCLKEYQA KVTPTGPCSY GYGATPVLGG NSFYLPPAGA AGDRARARSR TGGHQDPGLV VIPFQFAWPR SFTLIVEAWD WDNDTTPDEE LLIERVSHAG MINPEDRWKS LHFSGHVAHL ELQIRVRCDE NYYSATCNKF CRPRNDFFGH YTCDQYGNKA CMDGWMGKEC KEAVCKQGCN LLHGGCTVPG ECRCSYGWQG KFCDECVPYP GCVHGSCVEP WHCDCETNWG GLLCDKDLNY CGSHHPCVNG GTCINAEPDQ YLCACPDGYL GKNCERAEHA CASNPCANGG SCHEVPSGFE CHCPSGWSGP TCALDIDECA SNPCAAGGTC VDQVDGFECI CPEQWVGATC QLDANECEGK PCLNAFSCKN LIGGYYCDCL PGWKGINCQI NINDCHGQCQ HGGTCKDLVN GYQCVCPRGF GGRHCELEYD KCASSPCRRG GICEDLVDGF RCHCPRGLSG LHCEVDMDLC EPSPCLNGAR CYNLEGDYYC ACPEDFGGKN CSVPRDTCPG GACRVIDGCG FEAGSRARGV APSGICGPHG HCVSLPGGNF SCICDSGFTG TYCHENIDDC MGQPCRNGGT CIDEVDSFRC FCPSGWEGEL CDINPNDCLP DPCHSRGRCY DLVNDFYCAC DDGWKGKTCH SREFQCDAYT CSNGGTCYDS GDTFRCACPP GWKGSTCTIA KNSSCVPNPC VNGGTCVGSG DSFSCICRDG WEGRTCTHNT NDCNPLPCYN GGICVDGVNW FRCECAPGFA GPDCRINIDE CQSSPCAYGA TCVDEINGYR CSCPPGRSGP RCQEVVIFTR PCWSRGMSFP HGSSWMEDCN SCRCLDGHRD CSKVWCGWKP CLLSGQPSDP SAQCPPGQQC QEKAVGQCLQ PPCENWGECT AEEPLPPSTP CQPRSSHLDN NCARLTLRFN RDQVPQGTTV GAICSGIRAL PATRAAAHDR LLLLLCDRAS SGASAVEVAM SFSPARDLPD SSLIQSTAHA IVAAITQRGN SSLLLAVTEV KVETVVMGGS STGLLVPVLC SVFSVLWLAC VVICVWWTRK RRKERERSRL PRDESTNNQW APLNPIRNPI ERPGGSGLGT GGHKDILYQC KNFTPPPRRA GEALPGPAGH GAGGEDEEDE ELSRGDGDSP EAEKFISHKF TKDPSCSLGR PACWAPGPKV DNRAVRSTKD VRRAGRE
5	Мишачий Jag1-DSL-EGF1-4 (мишачий Jag1-антиген)	ADLGSQFELE ILSMQNVNGE LQNGNCCGGV RNPGDRKCTR DECDTYFKVC LKEYQSRVTA GGPCSFGSGS TPVIGGNTFN LKASRGNDRN RIVLPFSFAW PRSYTLLVEA WDSSNDTIQP DSIIEKASHS GMINPSRQWQ TLKQNTGIAH FEYQIRVTCD DHYYGFGCNK FCRPRDDFFG HYACDQNGNK TCMEGWMGPD CNKAICRQGC SPKHGSCKLP GDCRCQYGWQ GLYCDKCIPH PGCVHGTCNE PWQCLCETNW GGQLCDKDLN YCGTHQPCLN RGTCSNTGPD KYQCSCPEGY SGPNCEIAEH ACLSDPCHNR GSCKETSSGF ECECSPGWTG PTCSTNIDDE FGLVPRGSGH HHHHH
6	Людський Jag1-DSL-EGF1-4 (людський Jag1-антиген)	QFELEILSMQ NVNGELQNGN CCGGARNPGD RKCTRDECDT YFKVCLKEYQ SRVTAGGPCS FGSGSTPVIG GNTFNLKASR GNDRNRIVLP FSFAWPRSYT LLVEAWDSSN DTVQPDSIIE KASHSGMINP SRQWQTLKQN TGVAHFEYQI RVTCDDYYYG FGCNKFCRPR DDFFGHYACD QNGNKTCMEG WMGPECNRAI CRQGCSPKHG SCKLGDCRCQ YGWQGLYCDK CIPHPGCVHG ICNEPWQCLC ETNWGGQLCD KDLNYCGTHQ PCLNGGTCSN TGPDKYQCSC PEGYSGPNCE IAEHACLSDP CHNRGSCKET SLGFECECSP GWTGPTCSTN IDD
7	Мишачий Jag2-DSL-EGF1-4 (мишачий Jag-антиген)	ADLGSMGYFE LQLSALRNVN GELLSGACCD GDGRTTRAGG CGRDECDTYV RVCLKEYQAK VTPTGPCSYG YGATPVLGGN SFYLPPAGAA GDRARARSRT GGHQDPGLVV IPFQFAWPRS FTLIVEAWDW DNDTTPDEEL LIERVSHAGM INPEDRWKSL HFSGHVAHLE LQIRVRCDEN YYSATCNKFC RPRNDFFGHY TCDQYGNKAC MDGWMGKECK EAVCKQGCNL LHGGCTVPGE CRCSYGWQGK FCDECVPYPG CVHGSCVEPW HCDCETNWGG LLCDKDLNYC GSHHPCVNGG TCINAEPDQY LCACPDGYLG KNCERAEHAC ASNPCANGGS CHEVPSGFEC HCPSGWNGPT CALDIDEEFG LVPRGSGHHH HHH

8	Людський Jag2-DSL-EGF1-4 (людський Jag2-антиген)	ARPMGYFELQ LSALRNVNGE LLSGACCDGD GRTTRAGGCG HDECDTYVRV CLKEYQAKVT PTGPCSYGHG ATPVLGGNSF YLPPAGAAGD RARARARAGG DQDPGLVVIP FQFAWPRSFT LIVEAWDWDN DTTPNEELLI ERVSHAGMIN PEDRWKSLHF SGHVAHLELQ IRVRCDENYY SATCNKFCRP RNDFFGHYTC DQYGNKACMD GWMGKECKEA VCKQGCNLLH GGCTVPGECR CSYGWQGRFC DECVPYPGCV HGSCVEPWQC NCETNWGGLL CDKDLNYCGS HHPCTNGGTC INAEPDQYRC TCPDGYSGRN CEKAEHACTS NPCANGGSCH EVPSGFECHC PSGWSGPTCA LDIDEEFGLV PRGSGHHHHH H
9	Варіабельна область важкого ланцюга антитіла A	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS NYGIHWVRQA PGKGLEWVGW ITPDGGYTDY ADSVKGRFTI SADTSKNTAY LQMNSLRAED TAVYYCARAG SWFAYWGQGT LVTVSS
10	Варіабельна область легкого ланцюга антитіла A	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDVS TAVAWYQQKP GKAPKLLIYS ASFLYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ SYTTPPTFGQ GTKVEIK
11	Гіпервaріа-бельна ділянка 1 важкого ланцюга антитіла A (HVR-H1)	GFTFSNYGIH
12	HVR-H2 антитіла A	WITPDGGYTDYADSVKG
13	HVR-H3 антитіла A	AGSWFAY
14	Гіпервaріа-бельна ділянка 1 легкого ланцюга антитіла A (HVR-L1)	RASQDVSTAVA
15	HVR-L2 антитіла A	SASFLYS
16	HVR-L3 антитіла A	QQSYTTPPT
17	Варіабельна область важкого ланцюга антитіла A-1	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS NYGIHWVRQA PGKGLEWVGW ITPDGGYTDY ADSVKGRFTI SADTSKNTAY LQMNSLRAED TAVYYCARAG SLFAYWGQGT LVTVSS
18	Варіабельна область легкого ланцюга антитіла A-1	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDVS TAVAWYQQKP GKAPKLLIYS ASFLYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YYTTATTFGQ GTKVEIK
19	HVR-H1 антитіла A-1	GFTFSNYGIH
20	HVR-H2 антитіла A-1	WITPDGGYTDYADSVKG
21	HVR-H3 антитіла A-1	AGSLFAY
22	HVR-L1 антитіла A-1	RASQDVSTAVA
23	HVR-L2 антитіла A-1	SASFLYS
24	HVR-L3 антитіла A-1	QQYYTTATT

25	Варіабельна область важкого ланцюга антитіла А-2	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS NYGIHWVRQA PGKGLEWVGW ITGNGGYSDY ADSVKGRFTI SADTSKNTAY LQMNSLRAED TAVYYCARAG SWFAYWGQGT LVTVSS
26	Варіабельна область легкого ланцюга антитіла А-2	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDVS TAVAWYQQKP GKAPKLLIYS ASFLYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ SYTTPPTFGQ GTKVEIK
27	HVR-H1 антитіла А-2	GFTFSNYGIH
28	HVR-H2 антитіла А-2	WITGNGGYSDYADSVKG
29	HVR-H3 антитіла А-2	AGSWFAY
30	HVR-L1 антитіла А-2	RASQDVSTAVA
31	HVR-L2 антитіла А-2	SASFLYS
32	HVR-L3 антитіла А-2	QQSYTTPPT
33	Варіабельна область важкого ланцюга антитіла А-1 (S101T)	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS NYGIHWVRQA PGKGLEWVGW ITPDGGYTDY ADSVKGRFTI SADTSKNTAY LQMNSLRAED TAVYYCARAG TLFAYWGQGT LVTVSS
34	Варіабельна область легкого ланцюга антитіла А-1 (S101T)	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDVS TAVAWYQQKP GKAPKLLIYS ASFLYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YYTTATTFGQ GTKVEIK
35	HVR-H1 антитіла А-1 (S101T)	GFTFSNYGIH
36	HVR-H2 антитіла А-1 (S101T)	WITPDGGYTDYADSVKG
37	HVR-H3 антитіла А-1(S101T)	AGTLFAY
38	HVR-L1 антитіла А-1(S101T)	RASQDVSTAVA
39	HVR-L2 антитіла А-1 (S101T)	SASFLYS
40	HVR-L3 антитіла А-1 (S101T)	QQYYTTATT
41	Варіабельна область важкого ланцюга антитіла В-3	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFT SYDIHWVRQA PGKGLEWVGG ISPADGDTDY ANSVKGRFTI SADTSKNTAY LQMNSLRAED TAVYYCARND YDVRFVGSGM DYWGQGTLVT VSS

42	Варіабельна область легкого ланцюга антитіла B-3	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDVS TAVAWYQQKP GKAPKLLIYS ASFLYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ SFTAPPTFGQ GTKVEIK
43	Каркасна область 1 легкого ланцюга (LC-FR1) антитіл A, A-1, A-2, A-1 (S101T), B-3	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITC
44	LC-FR2 антитіл A, A-1, A-2, A-1 (S101T), B-3	WYQQKP GKAPKLLIY
45	LC-FR3 антитіл A, A-1, A-2, A-1 (S101T), B-3	GVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYC
46	LC-FR4 антитіл A, A-1, A-2, A-1 (S101T), B-3	FGQ GTKVEIK
47	Каркасна область 1 важкого ланцюга (HC-FR1) антитіл A, A-1, A-2, A-1 (S101T), B-3	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAAS
48	HC-FR2 антитіл A, A-1, A-2, A-1 (S101T), B-3	WVRQA PGKGLEWVG
49	HC-FR3 антитіл A, A-1, A-2, A-1 (S101T), B-3	RFTI SADTSKNTAY LQMNSLRAED TAVYYCAR
50	HC-FR4 антитіл A, A-1, A-2, A-1 (S101T), B-3	WGQGT LVTVSS
51	IgG1-важкий ланцюг антитіла A-1 (S101T)	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS NYGIHWVRQA PGKGLEWVGW ITPDGGYTDY ADSVKGRFTI SADTSKNTAY LQMNSLRAED TAVYYCARAG TLFAYWGQGT LVTVSSASTK GPSVFPLAPS SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS LSSVVTVPSS SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKKVEPKSCD KTHTCPPCPA PELLGGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQYNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNKALPAP IEKTISKAKG QPREPQVYTL PPSREEMTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTPPVLDSD GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK
52	IgG1-важкий ланцюг антитіла A-1(S101T) з мутацією N297G	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS NYGIHWVRQA PGKGLEWVGW ITPDGGYTDY ADSVKGRFTI SADTSKNTAY LQMNSLRAED TAVYYCARAG TLFAYWGQGT LVTVSSASTK GPSVFPLAPS SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS LSSVVTVPSS SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKKVEPKSCD KTHTCPPCPA PELLGGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQYGSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNKALPAP IEKTISKAKG QPREPQVYTL PPSREEMTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTPPVLDSD GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK

53	Легкий ланцюг антитіла A-1 (S101T); легкий ланцюг антитіла A-1	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDVS TAVAWYQQKP GKAPKLLIYS ASFLYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YYTTATTFGQ GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC
54	Варіабельна область важкого ланцюга антитіла A-1 (S101X)	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS NYGIHWVRQA PGKGLEWVGW ITPDGGYTDY ADSVKGRFTI SADTSKNTAY LQMNSLRAED TAVYYCARAG XLFAYWGQGT LVTVSS X є будь-якою амінокислотою, крім S.
55	HVR-H3 антитіла A-1 (S101X)	AGXLFAY X є будь-якою амінокислотою, крім S.
56	IgG1-важкий ланцюг антитіла A-1 (S101X)	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS NYGIHWVRQA PGKGLEWVGW ITPDGGYTDY ADSVKGRFTI SADTSKNTAY LQMNSLRAED TAVYYCARAG XLFAYWGQGT LVTVSSASTK GPSVFPLAPS SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS LSSVVTVPSS SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKKVEPKSCD KTHTCPPCPA PELLGGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQYNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNKALPAP IEKTISKAKG QPREPQVYTL PPSREEMTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTPPVLDSD GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK X є будь-якою амінокислотою, крім S.
57	IgG1-важкий ланцюг антитіла A-1 (S101X) з мутацією N297G	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS NYGIHWVRQA PGKGLEWVGW ITPDGGYTDY ADSVKGRFTI SADTSKNTAY LQMNSLRAED TAVYYCARAG XLFAYWGQGT LVTVSSASTK GPSVFPLAPS SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS LSSVVTVPSS SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKKVEPKSCD KTHTCPPCPA PELLGGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQYGSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNKALPAP IEKTISKAKG QPREPQVYTL PPSREEMTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTPPVLDSD GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK X є будь-якою амінокислотою, крім S.
58	Варіабельна область важкого ланцюга антитіла A (S101X)	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS NYGIHWVRQA PGKGLEWVGW ITPDGGYTDY ADSVKGRFTI SADTSKNTAY LQMNSLRAED TAVYYCARAG XWFAYWGQGT LVTVSS X є будь-якою амінокислотою, крім S.
59	HVR-H3 антитіла A (S101X); HVR-H3 антитіла A-2(S101X)	AGXWFAY X є будь-якою амінокислотою, крім S.
62	Варіабельна область важкого ланцюга антитіла A-2 (S101X)	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS NYGIHWVRQA PGKGLEWVGW ITGNGGYSDY ADSVKGRFTI SADTSKNTAY LQMNSLRAED TAVYYCARAG XWFAYWGQGT LVTVSS X є будь-якою амінокислотою, крім S.

63	IgG1-важкий ланцюг антитіла A-1 з мутацією N297G	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS NYGIHWVRQA PGKGLEWVGW ITPDGGYTDY ADSVKGRFTI SADTSKNTAY LQMNSLRAED TAVYYCARAG SLFAYWGQGT LVTVSSASTK GPSVFPLAPS SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS LSSVVTVPSS SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKKVEPKSCD KTHTCPPCPA PELLGGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQYGSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNKALPAP IEKTISKAKG QPREPQVYTL PPSREEMTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTPPVLDSD GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK
64	HVR-H3 антитіла A (S101T); HVR-H3 антитіла A-2 (S101T)	AGTWFAY
65	Варіабельна область важкого ланцюга антитіла A(S101T)	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS NYGIHWVRQA PGKGLEWVGW ITPDGGYTDY ADSVKGRFTI SADTSKNTAY LQMNSLRAED TAVYYCARAG TWFAYWGQGT LVTVSS
66	Варіабельна область важкого ланцюга антитіла A-2 (S101T)	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS NYGIHWVRQA PGKGLEWVGW ITGNGGYSDY ADSVKGRFTI SADTSKNTAY LQMNSLRAED TAVYYCARAG TWFAYWGQGT LVTVSS
67	IgG1-важкий ланцюг антитіла A (S101X) з мутацією N297G	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS NYGIHWVRQA PGKGLEWVGW ITPDGGYTDY ADSVKGRFTI SADTSKNTAY LQMNSLRAED TAVYYCARAG XWFAYWGQGT LVTVSSASTK GPSVFPLAPS SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS LSSVVTVPSS SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKKVEPKSCD KTHTCPPCPA PELLGGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQYGSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNKALPAP IEKTISKAKG QPREPQVYTL PPSREEMTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTPPVLDSD GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK X є будь-якою амінокислотою, крім S.
68	IgG1-важкий ланцюг антитіла A-2 (S101X) з мутацією N297G	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS NYGIHWVRQA PGKGLEWVGW ITGNGGYSDY ADSVKGRFTI SADTSKNTAY LQMNSLRAED TAVYYCARAG XWFAYWGQGT LVTVSSASTK GPSVFPLAPS SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS LSSVVTVPSS SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKKVEPKSCD KTHTCPPCPA PELLGGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQYGSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNKALPAP IEKTISKAKG QPREPQVYTL PPSREEMTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTPPVLDSD GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK X є будь-якою амінокислотою, крім S.
69	IgG1-важкий ланцюг антитіла A (S101T) з мутацією N297G	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS NYGIHWVRQA PGKGLEWVGW ITPDGGYTDY ADSVKGRFTI SADTSKNTAY LQMNSLRAED TAVYYCARAG TWFAYWGQGT LVTVSSASTK GPSVFPLAPS SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS LSSVVTVPSS SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKKVEPKSCD KTHTCPPCPA PELLGGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG

		VEVHNAKTKP REEQYGSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNKALPAP IEKTISKAKG QPREPQVYTL PPSREEMTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTPPVLDSD GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK
70	IgG1-важкий ланцюг антитіла A-2 (S101T) з мутацією N297G	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS NYGIHWVRQA PGKGLEWVGW ITGNGGYSDY ADSVKGRFTI SADTSKNTAY LQMNSLRAED TAVYYCARAG TWFAYWGQGT LVTVSSASTK GPSVFPLAPS SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS LSSVVTVPSS SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKKVEPKSCD KTHTCPPCPA PELLGGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQYGSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNKALPAP IEKTISKAKG QPREPQVYTL PPSREEMTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTPPVLDSD GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK
71	Консенсус HVR-H2	WIT(X1)(X2)GGY(X3)DYADSVKG X1 є P або G; X2 є D або N; X3 є T або S
77	Консенсус HVR-H3	AG(X1)(X2)FAY X1 є S або T; X2 є W або L
72	Консенсус HVR-H3 (101X)	AG(X1)(X2)FAY X1 є будь-якою амінокислотою, крім S; X2 є W або L
73	Консенсус HVR-H3 (101T)	AGT(X1)FAY X1 є W або L
74	Консенсус HVR-L3	QQ(X1)YTT(X2)(X3)T X1 є S або Y; X2 є P або A; X3 є P або T
75	Легкий ланцюг антитіла A	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDVS TAVAWYQQKP GKAPKLLIYS ASFLYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ SYTTPPTFGQ GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC
76	Легкий ланцюг антитіла A-2	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDVS TAVAWYQQKP GKAPKLLIYS ASFLYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ SYTTPPTFGQ GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC
78	Альтернатив-ний HVR-H1 антитіл A, A-1, A-1 (S101T), A-2	NYGIH
79	IgG1-важкий ланцюг антитіла A (S101T)	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS NYGIHWVRQA PGKGLEWVGW ITPDGGYTDY ADSVKGRFTI SADTSKNTAY LQMNSLRAED TAVYYCARAG TWFAYWGQGT LVTVSSASTK GPSVFPLAPS SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS LSSVVTVPSS SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKKVEPKSCD KTHTCPPCPA PELLGGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQYNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNKALPAP IEKTISKAKG QPREPQVYTL PPSREEMTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTPPVLDSD GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK

80	IgG1-важкий ланцюг антитіла A-2 (S101T)	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS NYGIHWVRQA PGKGLEWVGW ITGNGGYSDY ADSVKGRFTI SADTSKNTAY LQMNSLRAED TAVYYCARAG TWFAYWGQGT LVTVSSASTK GPSVFPLAPS SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS LSSVVTVPSS SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKKVEPKSCD KTHTCPPCPA PELLGGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQYNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNKALPAP IEKTISKAKG QPREPQVYTL PPSREEMTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTPPVLDSD GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK
81	IgG1-важкий ланцюг антитіла A-1	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS NYGIHWVRQA PGKGLEWVGW ITPDGGYTDY ADSVKGRFTI SADTSKNTAY LQMNSLRAED TAVYYCARAG SLFAYWGQGT LVTVSSASTK GPSVFPLAPS SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS LSSVVTVPSS SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKKVEPKSCD KTHTCPPCPA PELLGGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQYNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNKALPAP IEKTISKAKG QPREPQVYTL PPSREEMTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTPPVLDSD GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK

ПЕРЕЛІК ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

<110> GENENTECH, INC.
SIEBEL, Christian W.
WU, Yan
HANG, Julie Q.
CHINN, Yvonne

<120> АНТИ-JAGGED1 АНТИТІЛА ТА СПОСОБИ ЗАСТОСУВАННЯ

<130> GENE-33748/US-1/PRO
<140> PCT/US15/15456
<141> 2015-02-11

<150> US 61/939,110
<151> 2014-02-12

<160> 111

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 1218
<212> Білок
<213> Homo sapiens

<220>
<221> інші ознаки
<223> Jag1 людини

<400> 1

Met Arg Ser Pro Arg Thr Arg Gly Arg Ser Gly Arg Pro Leu Ser Leu
1 5 10 15

Leu Leu Ala Leu Leu Cys Ala Leu Arg Ala Lys Val Cys Gly Ala Ser
20 25 30

Gly Gln Phe Glu Leu Glu Ile Leu Ser Met Gln Asn Val Asn Gly Glu
35 40 45

Leu Gln Asn Gly Asn Cys Cys Gly Gly Ala Arg Asn Pro Gly Asp Arg
50 55 60

Lys Cys Thr Arg Asp Glu Cys Asp Thr Tyr Phe Lys Val Cys Leu Lys
65 70 75 80

Glu Tyr Gln Ser Arg Val Thr Ala Gly Gly Pro Cys Ser Phe Gly Ser
85 90 95

Gly Ser Thr Pro Val Ile Gly Gly Asn Thr Phe Asn Leu Lys Ala Ser
100 105 110

Arg Gly Asn Asp Arg Asn Arg Ile Val Leu Pro Phe Ser Phe Ala Trp
115 120 125

Pro Arg Ser Tyr Thr Leu Leu Val Glu Ala Trp Asp Ser Ser Asn Asp
130 135 140

Thr Val Gln Pro Asp Ser Ile Ile Glu Lys Ala Ser His Ser Gly Met
145 150 155 160

Ile Asn Pro Ser Arg Gln Trp Gln Thr Leu Lys Gln Asn Thr Gly Val
165 170 175

Ala His Phe Glu Tyr Gln Ile Arg Val Thr Cys Asp Asp Tyr Tyr Tyr
180 185 190

Gly Phe Gly Cys Asn Lys Phe Cys Arg Pro Arg Asp Asp Phe Phe Gly
195 200 205

His Tyr Ala Cys Asp Gln Asn Gly Asn Lys Thr Cys Met Glu Gly Trp
210 215 220

Met Gly Pro Glu Cys Asn Arg Ala Ile Cys Arg Gln Gly Cys Ser Pro
225 230 235 240

Lys His Gly Ser Cys Lys Leu Pro Gly Asp Cys Arg Cys Gln Tyr Gly
245 250 255

Trp Gln Gly Leu Tyr Cys Asp Lys Cys Ile Pro His Pro Gly Cys Val
260 265 270

His Gly Ile Cys Asn Glu Pro Trp Gln Cys Leu Cys Glu Thr Asn Trp
275 280 285

Gly Gly Gln Leu Cys Asp Lys Asp Leu Asn Tyr Cys Gly Thr His Gln
290 295 300

Pro Cys Leu Asn Gly Gly Thr Cys Ser Asn Thr Gly Pro Asp Lys Tyr
305 310 315 320

Gln Cys Ser Cys Pro Glu Gly Tyr Ser Gly Pro Asn Cys Glu Ile Ala
325 330 335

Glu His Ala Cys Leu Ser Asp Pro Cys His Asn Arg Gly Ser Cys Lys
340 345 350

Glu Thr Ser Leu Gly Phe Glu Cys Glu Cys Ser Pro Gly Trp Thr Gly
355 360 365

Pro Thr Cys Ser Thr Asn Ile Asp Asp Cys Ser Pro Asn Asn Cys Ser
370 375 380

His Gly Gly Thr Cys Gln Asp Leu Val Asn Gly Phe Lys Cys Val Cys
385 390 395 400

Pro Pro Gln Trp Thr Gly Lys Thr Cys Gln Leu Asp Ala Asn Glu Cys
405 410 415

Glu Ala Lys Pro Cys Val Asn Ala Lys Ser Cys Lys Asn Leu Ile Ala
420 425 430

Ser Tyr Tyr Cys Asp Cys Leu Pro Gly Trp Met Gly Gln Asn Cys Asp

435 440 445

Ile Asn Ile Asn Asp Cys Leu Gly Gln Cys Gln Asn Asp Ala Ser Cys
450 455 460

Arg Asp Leu Val Asn Gly Tyr Arg Cys Ile Cys Pro Pro Gly Tyr Ala
465 470 475 480

Gly Asp His Cys Glu Arg Asp Ile Asp Glu Cys Ala Ser Asn Pro Cys
485 490 495

Leu Asn Gly Gly His Cys Gln Asn Glu Ile Asn Arg Phe Gln Cys Leu
500 505 510

Cys Pro Thr Gly Phe Ser Gly Asn Leu Cys Gln Leu Asp Ile Asp Tyr
515 520 525

Cys Glu Pro Asn Pro Cys Gln Asn Gly Ala Gln Cys Tyr Asn Arg Ala
530 535 540

Ser Asp Tyr Phe Cys Lys Cys Pro Glu Asp Tyr Glu Gly Lys Asn Cys
545 550 555 560

Ser His Leu Lys Asp His Cys Arg Thr Thr Pro Cys Glu Val Ile Asp
565 570 575

Ser Cys Thr Val Ala Met Ala Ser Asn Asp Thr Pro Glu Gly Val Arg
580 585 590

Tyr Ile Ser Ser Asn Val Cys Gly Pro His Gly Lys Cys Lys Ser Gln
595 600 605

Ser Gly Gly Lys Phe Thr Cys Asp Cys Asn Lys Gly Phe Thr Gly Thr
610 615 620

Tyr Cys His Glu Asn Ile Asn Asp Cys Glu Ser Asn Pro Cys Arg Asn
625 630 635 640

Gly Gly Thr Cys Ile Asp Gly Val Asn Ser Tyr Lys Cys Ile Cys Ser
645 650 655

Asp Gly Trp Glu Gly Ala Tyr Cys Glu Thr Asn Ile Asn Asp Cys Ser
660 665 670

Gln Asn Pro Cys His Asn Gly Gly Thr Cys Arg Asp Leu Val Asn Asp
675 680 685

Phe Tyr Cys Asp Cys Lys Asn Gly Trp Lys Gly Lys Thr Cys His Ser
690 695 700

Arg Asp Ser Gln Cys Asp Glu Ala Thr Cys Asn Asn Gly Gly Thr Cys
705 710 715 720

Tyr Asp Glu Gly Asp Ala Phe Lys Cys Met Cys Pro Gly Gly Trp Glu
725 730 735

Gly Thr Thr Cys Asn Ile Ala Arg Asn Ser Ser Cys Leu Pro Asn Pro
740 745 750

Cys His Asn Gly Gly Thr Cys Val Val Asn Gly Glu Ser Phe Thr Cys
755 760 765

Val Cys Lys Glu Gly Trp Glu Gly Pro Ile Cys Ala Gln Asn Thr Asn
770 775 780

Asp Cys Ser Pro His Pro Cys Tyr Asn Ser Gly Thr Cys Val Asp Gly
785 790 795 800

Asp Asn Trp Tyr Arg Cys Glu Cys Ala Pro Gly Phe Ala Gly Pro Asp
805 810 815

Cys Arg Ile Asn Ile Asn Glu Cys Gln Ser Ser Pro Cys Ala Phe Gly
820 825 830

Ala Thr Cys Val Asp Glu Ile Asn Gly Tyr Arg Cys Val Cys Pro Pro
835 840 845

Gly His Ser Gly Ala Lys Cys Gln Glu Val Ser Gly Arg Pro Cys Ile
850 855 860

Thr Met Gly Ser Val Ile Pro Asp Gly Ala Lys Trp Asp Asp Asp Cys
865 870 875 880

Asn Thr Cys Gln Cys Leu Asn Gly Arg Ile Ala Cys Ser Lys Val Trp
885 890 895

Cys Gly Pro Arg Pro Cys Leu Leu His Lys Gly His Ser Glu Cys Pro
900 905 910

Ser Gly Gln Ser Cys Ile Pro Ile Leu Asp Asp Gln Cys Phe Val His
915 920 925

Pro Cys Thr Gly Val Gly Glu Cys Arg Ser Ser Ser Leu Gln Pro Val
930 935 940

Lys Thr Lys Cys Thr Ser Asp Ser Tyr Tyr Gln Asp Asn Cys Ala Asn
945 950 955 960

Ile Thr Phe Thr Phe Asn Lys Glu Met Met Ser Pro Gly Leu Thr Thr
965 970 975

Glu His Ile Cys Ser Glu Leu Arg Asn Leu Asn Ile Leu Lys Asn Val
980 985 990

Ser Ala Glu Tyr Ser Ile Tyr Ile Ala Cys Glu Pro Ser Pro Ser Ala
995 1000 1005

Asn Asn Glu Ile His Val Ala Ile Ser Ala Glu Asp Ile Arg Asp
1010 1015 1020

Asp Gly Asn Pro Ile Lys Glu Ile Thr Asp Lys Ile Ile Asp Leu
1025 1030 1035

Val Ser Lys Arg Asp Gly Asn Ser Ser Leu Ile Ala Ala Val Ala
1040 1045 1050

Glu Val Arg Val Gln Arg Arg Pro Leu Lys Asn Arg Thr Asp Phe
1055 1060 1065

Leu Val Pro Leu Leu Ser Ser Val Leu Thr Val Ala Trp Ile Cys
1070 1075 1080

Cys Leu Val Thr Ala Phe Tyr Trp Cys Leu Arg Lys Arg Arg Lys
1085 1090 1095

Pro Gly Ser His Thr His Ser Ala Ser Glu Asp Asn Thr Thr Asn
1100 1105 1110

Asn Val Arg Glu Gln Leu Asn Gln Ile Lys Asn Pro Ile Glu Lys
1115 1120 1125

His Gly Ala Asn Thr Val Pro Ile Lys Asp Tyr Glu Asn Lys Asn
1130 1135 1140

Ser Lys Met Ser Lys Ile Arg Thr His Asn Ser Glu Val Glu Glu
1145 1150 1155

Asp Asp Met Asp Lys His Gln Gln Lys Ala Arg Phe Ala Lys Gln
1160 1165 1170

Pro Ala Tyr Thr Leu Val Asp Arg Glu Glu Lys Pro Pro Asn Gly
1175 1180 1185

Thr Pro Thr Lys His Pro Asn Trp Thr Asn Lys Gln Asp Asn Arg
1190 1195 1200

Asp Leu Glu Ser Ala Gln Ser Leu Asn Arg Met Glu Tyr Ile Val
1205 1210 1215

<210> 2
<211> 1218
<212> Білок
<213> Mouse sp.

<220>
<221> інші ознаки
<223> мишачий Jag1

<400> 2

Met Arg Ser Pro Arg Thr Arg Gly Arg Pro Gly Arg Pro Leu Ser Leu
1 5 10 15

Leu Leu Ala Leu Leu Cys Ala Leu Arg Ala Lys Val Cys Gly Ala Ser
20 25 30

Gly Gln Phe Glu Leu Glu Ile Leu Ser Met Gln Asn Val Asn Gly Glu
35 40 45

Leu Gln Asn Gly Asn Cys Cys Gly Gly Val Arg Asn Pro Gly Asp Arg
50 55 60

Lys Cys Thr Arg Asp Glu Cys Asp Thr Tyr Phe Lys Val Cys Leu Lys
65 70 75 80

Glu Tyr Gln Ser Arg Val Thr Ala Gly Gly Pro Cys Ser Phe Gly Ser
85 90 95

Gly Ser Thr Pro Val Ile Gly Gly Asn Thr Phe Asn Leu Lys Ala Ser
100 105 110

Arg Gly Asn Asp Arg Asn Arg Ile Val Leu Pro Phe Ser Phe Ala Trp
115 120 125

Pro Arg Ser Tyr Thr Leu Leu Val Glu Ala Trp Asp Ser Ser Asn Asp
130 135 140

Thr Ile Gln Pro Asp Ser Ile Ile Glu Lys Ala Ser His Ser Gly Met
145 150 155 160

Ile Asn Pro Ser Arg Gln Trp Gln Thr Leu Lys Gln Asn Thr Gly Ile
165 170 175

Ala His Phe Glu Tyr Gln Ile Arg Val Thr Cys Asp Asp His Tyr Tyr
180 185 190

Gly Phe Gly Cys Asn Lys Phe Cys Arg Pro Arg Asp Asp Phe Phe Gly
195 200 205

His Tyr Ala Cys Asp Gln Asn Gly Asn Lys Thr Cys Met Glu Gly Trp
210 215 220

Met Gly Pro Asp Cys Asn Lys Ala Ile Cys Arg Gln Gly Cys Ser Pro
225 230 235 240

Lys His Gly Ser Cys Lys Leu Pro Gly Asp Cys Arg Cys Gln Tyr Gly
245 250 255

Trp Gln Gly Leu Tyr Cys Asp Lys Cys Ile Pro His Pro Gly Cys Val
260 265 270

His Gly Thr Cys Asn Glu Pro Trp Gln Cys Leu Cys Glu Thr Asn Trp
275 280 285

Gly Gly Gln Leu Cys Asp Lys Asp Leu Asn Tyr Cys Gly Thr His Gln

290 295 300

Pro Cys Leu Asn Arg Gly Thr Cys Ser Asn Thr Gly Pro Asp Lys Tyr
305 310 315 320

Gln Cys Ser Cys Pro Glu Gly Tyr Ser Gly Pro Asn Cys Glu Ile Ala
325 330 335

Glu His Ala Cys Leu Ser Asp Pro Cys His Asn Arg Gly Ser Cys Lys
340 345 350

Glu Thr Ser Ser Gly Phe Glu Cys Glu Cys Ser Pro Gly Trp Thr Gly
355 360 365

Pro Thr Cys Ser Thr Asn Ile Asp Asp Cys Ser Pro Asn Asn Cys Ser
370 375 380

His Gly Gly Thr Cys Gln Asp Leu Val Asn Gly Phe Lys Cys Val Cys
385 390 395 400

Pro Pro Gln Trp Thr Gly Lys Thr Cys Gln Leu Asp Ala Asn Glu Cys
405 410 415

Glu Ala Lys Pro Cys Val Asn Ala Arg Ser Cys Lys Asn Leu Ile Ala
420 425 430

Ser Tyr Tyr Cys Asp Cys Leu Pro Gly Trp Met Gly Gln Asn Cys Asp
435 440 445

Ile Asn Ile Asn Asp Cys Leu Gly Gln Cys Gln Asn Asp Ala Ser Cys
450 455 460

Arg Asp Leu Val Asn Gly Tyr Arg Cys Ile Cys Pro Pro Gly Tyr Ala
465 470 475 480

Gly Asp His Cys Glu Arg Asp Ile Asp Glu Cys Ala Ser Asn Pro Cys
485 490 495

Leu Asn Gly Gly His Cys Gln Asn Glu Ile Asn Arg Phe Gln Cys Leu
500 505 510

Cys Pro Thr Gly Phe Ser Gly Asn Leu Cys Gln Leu Asp Ile Asp Tyr
515 520 525

Cys Glu Pro Asn Pro Cys Gln Asn Gly Ala Gln Cys Tyr Asn Arg Ala
530 535 540

Ser Asp Tyr Phe Cys Lys Cys Pro Glu Asp Tyr Glu Gly Lys Asn Cys
545 550 555 560

Ser His Leu Lys Asp His Cys Arg Thr Thr Thr Cys Glu Val Ile Asp
565 570 575

```
Ser Cys Thr Val Ala Met Ala Ser Asn Asp Thr Pro Glu Gly Val Arg
            580                 585                 590

Tyr Ile Ser Ser Asn Val Cys Gly Pro His Gly Lys Cys Lys Ser Gln
        595                 600                 605

Ser Gly Gly Lys Phe Thr Cys Asp Cys Asn Lys Gly Phe Thr Gly Thr
    610                 615                 620

Tyr Cys His Glu Asn Ile Asn Asp Cys Glu Ser Asn Pro Cys Lys Asn
625                 630                 635                 640

Gly Gly Thr Cys Ile Asp Gly Val Asn Ser Tyr Lys Cys Ile Cys Ser
                645                 650                 655

Asp Gly Trp Glu Gly Ala His Cys Glu Asn Asn Ile Asn Asp Cys Ser
            660                 665                 670

Gln Asn Pro Cys His Tyr Gly Gly Thr Cys Arg Asp Leu Val Asn Asp
        675                 680                 685

Phe Tyr Cys Asp Cys Lys Asn Gly Trp Lys Gly Lys Thr Cys His Ser
    690                 695                 700

Arg Asp Ser Gln Cys Asp Glu Ala Thr Cys Asn Asn Gly Gly Thr Cys
705                 710                 715                 720

Tyr Asp Glu Val Asp Thr Phe Lys Cys Met Cys Pro Gly Gly Trp Glu
                725                 730                 735

Gly Thr Thr Cys Asn Ile Ala Arg Asn Ser Ser Cys Leu Pro Asn Pro
            740                 745                 750

Cys His Asn Gly Gly Thr Cys Val Val Asn Gly Asp Ser Phe Thr Cys
        755                 760                 765

Val Cys Lys Glu Gly Trp Glu Gly Pro Ile Cys Thr Gln Asn Thr Asn
    770                 775                 780

Asp Cys Ser Pro His Pro Cys Tyr Asn Ser Gly Thr Cys Val Asp Gly
785                 790                 795                 800

Asp Asn Trp Tyr Arg Cys Glu Cys Ala Pro Gly Phe Ala Gly Pro Asp
                805                 810                 815

Cys Arg Ile Asn Ile Asn Glu Cys Gln Ser Ser Pro Cys Ala Phe Gly
            820                 825                 830

Ala Thr Cys Val Asp Glu Ile Asn Gly Tyr Gln Cys Ile Cys Pro Pro
        835                 840                 845

Gly His Ser Gly Ala Lys Cys His Glu Val Ser Gly Arg Ser Cys Ile
    850                 855                 860
```

Thr Met Gly Arg Val Ile Leu Asp Gly Ala Lys Trp Asp Asp Asp Cys
865 870 875 880

Asn Thr Cys Gln Cys Leu Asn Gly Arg Val Ala Cys Ser Lys Val Trp
885 890 895

Cys Gly Pro Arg Pro Cys Arg Leu His Lys Ser His Asn Glu Cys Pro
900 905 910

Ser Gly Gln Ser Cys Ile Pro Val Leu Asp Asp Gln Cys Phe Val Arg
915 920 925

Pro Cys Thr Gly Val Gly Glu Cys Arg Ser Ser Ser Leu Gln Pro Val
930 935 940

Lys Thr Lys Cys Thr Ser Asp Ser Tyr Tyr Gln Asp Asn Cys Ala Asn
945 950 955 960

Ile Thr Phe Thr Phe Asn Lys Glu Met Met Ser Pro Gly Leu Thr Thr
965 970 975

Glu His Ile Cys Ser Glu Leu Arg Asn Leu Asn Ile Leu Lys Asn Val
980 985 990

Ser Ala Glu Tyr Ser Ile Tyr Ile Ala Cys Glu Pro Ser Leu Ser Ala
995 1000 1005

Asn Asn Glu Ile His Val Ala Ile Ser Ala Glu Asp Ile Arg Asp
1010 1015 1020

Asp Gly Asn Pro Val Lys Glu Ile Thr Asp Lys Ile Ile Asp Leu
1025 1030 1035

Val Ser Lys Arg Asp Gly Asn Ser Ser Leu Ile Ala Ala Val Ala
1040 1045 1050

Glu Val Arg Val Gln Arg Arg Pro Leu Lys Asn Arg Thr Asp Phe
1055 1060 1065

Leu Val Pro Leu Leu Ser Ser Val Leu Thr Val Ala Trp Val Cys
1070 1075 1080

Cys Leu Val Thr Ala Phe Tyr Trp Cys Val Arg Lys Arg Arg Lys
1085 1090 1095

Pro Ser Ser His Thr His Ser Ala Pro Glu Asp Asn Thr Thr Asn
1100 1105 1110

Asn Val Arg Glu Gln Leu Asn Gln Ile Lys Asn Pro Ile Glu Lys
1115 1120 1125

His Gly Ala Asn Thr Val Pro Ile Lys Asp Tyr Glu Asn Lys Asn
1130 1135 1140

Ser Lys Met Ser Lys Ile Arg Thr His Asn Ser Glu Val Glu Glu
1145 1150 1155

Asp Asp Met Asp Lys His Gln Gln Lys Val Arg Phe Ala Lys Gln
1160 1165 1170

Pro Val Tyr Thr Leu Val Asp Arg Glu Glu Lys Ala Pro Ser Gly
1175 1180 1185

Thr Pro Thr Lys His Pro Asn Trp Thr Asn Lys Gln Asp Asn Arg
1190 1195 1200

Asp Leu Glu Ser Ala Gln Ser Leu Asn Arg Met Glu Tyr Ile Val
1205 1210 1215

<210> 3
<211> 1238
<212> Білок
<213> Homo sapiens

<220>
<221> інші ознаки
<223> Jag2 людини

<400> 3

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

Leu Ala Leu Trp Val Gln Ala Ala Arg Pro Met Gly Tyr Phe Glu Leu
20 25 30

Gln Leu Ser Ala Leu Arg Asn Val Asn Gly Glu Leu Leu Ser Gly Ala
35 40 45

Cys Cys Asp Gly Asp Gly Arg Thr Thr Arg Ala Gly Gly Cys Gly His
50 55 60

Asp Glu Cys Asp Thr Tyr Val Arg Val Cys Leu Lys Glu Tyr Gln Ala
65 70 75 80

Lys Val Thr Pro Thr Gly Pro Cys Ser Tyr Gly His Gly Ala Thr Pro
85 90 95

Val Leu Gly Gly Asn Ser Phe Tyr Leu Pro Pro Ala Gly Ala Ala Gly
100 105 110

Asp Arg Ala Arg Ala Arg Ala Arg Ala Gly Gly Asp Gln Asp Pro Gly
115 120 125

Leu Val Val Ile Pro Phe Gln Phe Ala Trp Pro Arg Ser Phe Thr Leu
130 135 140

Ile Val Glu Ala Trp Asp Trp Asp Asn Asp Thr Thr Pro Asn Glu Glu

```
145                 150                 155                 160

Leu Leu Ile Glu Arg Val Ser His Ala Gly Met Ile Asn Pro Glu Asp
                165                 170                 175

Arg Trp Lys Ser Leu His Phe Ser Gly His Val Ala His Leu Glu Leu
            180                 185                 190

Gln Ile Arg Val Arg Cys Asp Glu Asn Tyr Tyr Ser Ala Thr Cys Asn
        195                 200                 205

Lys Phe Cys Arg Pro Arg Asn Asp Phe Phe Gly His Tyr Thr Cys Asp
    210                 215                 220

Gln Tyr Gly Asn Lys Ala Cys Met Asp Gly Trp Met Gly Lys Glu Cys
225                 230                 235                 240

Lys Glu Ala Val Cys Lys Gln Gly Cys Asn Leu Leu His Gly Gly Cys
                245                 250                 255

Thr Val Pro Gly Glu Cys Arg Cys Ser Tyr Gly Trp Gln Gly Arg Phe
            260                 265                 270

Cys Asp Glu Cys Val Pro Tyr Pro Gly Cys Val His Gly Ser Cys Val
        275                 280                 285

Glu Pro Trp Gln Cys Asn Cys Glu Thr Asn Trp Gly Gly Leu Leu Cys
    290                 295                 300

Asp Lys Asp Leu Asn Tyr Cys Gly Ser His His Pro Cys Thr Asn Gly
305                 310                 315                 320

Gly Thr Cys Ile Asn Ala Glu Pro Asp Gln Tyr Arg Cys Thr Cys Pro
                325                 330                 335

Asp Gly Tyr Ser Gly Arg Asn Cys Glu Lys Ala Glu His Ala Cys Thr
            340                 345                 350

Ser Asn Pro Cys Ala Asn Gly Gly Ser Cys His Glu Val Pro Ser Gly
        355                 360                 365

Phe Glu Cys His Cys Pro Ser Gly Trp Ser Gly Pro Thr Cys Ala Leu
    370                 375                 380

Asp Ile Asp Glu Cys Ala Ser Asn Pro Cys Ala Ala Gly Gly Thr Cys
385                 390                 395                 400

Val Asp Gln Val Asp Gly Phe Glu Cys Ile Cys Pro Glu Gln Trp Val
                405                 410                 415

Gly Ala Thr Cys Gln Leu Asp Ala Asn Glu Cys Glu Gly Lys Pro Cys
            420                 425                 430
```

Leu Asn Ala Phe Ser Cys Lys Asn Leu Ile Gly Gly Tyr Tyr Cys Asp
435 440 445

Cys Ile Pro Gly Trp Lys Gly Ile Asn Cys His Ile Asn Val Asn Asp
450 455 460

Cys Arg Gly Gln Cys Gln His Gly Gly Thr Cys Lys Asp Leu Val Asn
465 470 475 480

Gly Tyr Gln Cys Val Cys Pro Arg Gly Phe Gly Gly Arg His Cys Glu
485 490 495

Leu Glu Arg Asp Glu Cys Ala Ser Ser Pro Cys His Ser Gly Gly Leu
500 505 510

Cys Glu Asp Leu Ala Asp Gly Phe His Cys His Cys Pro Gln Gly Phe
515 520 525

Ser Gly Pro Leu Cys Glu Val Asp Val Asp Leu Cys Glu Pro Ser Pro
530 535 540

Cys Arg Asn Gly Ala Arg Cys Tyr Asn Leu Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys
545 550 555 560

Ala Cys Pro Asp Asp Phe Gly Gly Lys Asn Cys Ser Val Pro Arg Glu
565 570 575

Pro Cys Pro Gly Gly Ala Cys Arg Val Ile Asp Gly Cys Gly Ser Asp
580 585 590

Ala Gly Pro Gly Met Pro Gly Thr Ala Ala Ser Gly Val Cys Gly Pro
595 600 605

His Gly Arg Cys Val Ser Gln Pro Gly Gly Asn Phe Ser Cys Ile Cys
610 615 620

Asp Ser Gly Phe Thr Gly Thr Tyr Cys His Glu Asn Ile Asp Asp Cys
625 630 635 640

Leu Gly Gln Pro Cys Arg Asn Gly Gly Thr Cys Ile Asp Glu Val Asp
645 650 655

Ala Phe Arg Cys Phe Cys Pro Ser Gly Trp Glu Gly Glu Leu Cys Asp
660 665 670

Thr Asn Pro Asn Asp Cys Leu Pro Asp Pro Cys His Ser Arg Gly Arg
675 680 685

Cys Tyr Asp Leu Val Asn Asp Phe Tyr Cys Ala Cys Asp Asp Gly Trp
690 695 700

Lys Gly Lys Thr Cys His Ser Arg Glu Phe Gln Cys Asp Ala Tyr Thr
705 710 715 720

Cys Ser Asn Gly Gly Thr Cys Tyr Asp Ser Gly Asp Thr Phe Arg Cys
725 730 735

Ala Cys Pro Pro Gly Trp Lys Gly Ser Thr Cys Ala Val Ala Lys Asn
740 745 750

Ser Ser Cys Leu Pro Asn Pro Cys Val Asn Gly Gly Thr Cys Val Gly
755 760 765

Ser Gly Ala Ser Phe Ser Cys Ile Cys Arg Asp Gly Trp Glu Gly Arg
770 775 780

Thr Cys Thr His Asn Thr Asn Asp Cys Asn Pro Leu Pro Cys Tyr Asn
785 790 795 800

Gly Gly Ile Cys Val Asp Gly Val Asn Trp Phe Arg Cys Glu Cys Ala
805 810 815

Pro Gly Phe Ala Gly Pro Asp Cys Arg Ile Asn Ile Asp Glu Cys Gln
820 825 830

Ser Ser Pro Cys Ala Tyr Gly Ala Thr Cys Val Asp Glu Ile Asn Gly
835 840 845

Tyr Arg Cys Ser Cys Pro Pro Gly Arg Ala Gly Pro Arg Cys Gln Glu
850 855 860

Val Ile Gly Phe Gly Arg Ser Cys Trp Ser Arg Gly Thr Pro Phe Pro
865 870 875 880

His Gly Ser Ser Trp Val Glu Asp Cys Asn Ser Cys Arg Cys Leu Asp
885 890 895

Gly Arg Arg Asp Cys Ser Lys Val Trp Cys Gly Trp Lys Pro Cys Leu
900 905 910

Leu Ala Gly Gln Pro Glu Ala Leu Ser Ala Gln Cys Pro Leu Gly Gln
915 920 925

Arg Cys Leu Glu Lys Ala Pro Gly Gln Cys Leu Arg Pro Pro Cys Glu
930 935 940

Ala Trp Gly Glu Cys Gly Ala Glu Glu Pro Pro Ser Thr Pro Cys Leu
945 950 955 960

Pro Arg Ser Gly His Leu Asp Asn Asn Cys Ala Arg Leu Thr Leu His
965 970 975

Phe Asn Arg Asp His Val Pro Gln Gly Thr Thr Val Gly Ala Ile Cys
980 985 990

Ser Gly Ile Arg Ser Leu Pro Ala Thr Arg Ala Val Ala Arg Asp Arg
995 1000 1005

Leu Leu Val Leu Leu Cys Asp Arg Ala Ser Ser Gly Ala Ser Ala
1010 1015 1020

Val Glu Val Ala Val Ser Phe Ser Pro Ala Arg Asp Leu Pro Asp
1025 1030 1035

Ser Ser Leu Ile Gln Gly Ala Ala His Ala Ile Val Ala Ala Ile
1040 1045 1050

Thr Gln Arg Gly Asn Ser Ser Leu Leu Leu Ala Val Thr Glu Val
1055 1060 1065

Lys Val Glu Thr Val Val Thr Gly Gly Ser Ser Thr Gly Leu Leu
1070 1075 1080

Val Pro Val Leu Cys Gly Ala Phe Ser Val Leu Trp Leu Ala Cys
1085 1090 1095

Val Val Leu Cys Val Trp Trp Thr Arg Lys Arg Arg Lys Glu Arg
1100 1105 1110

Glu Arg Ser Arg Leu Pro Arg Glu Glu Ser Ala Asn Asn Gln Trp
1115 1120 1125

Ala Pro Leu Asn Pro Ile Arg Asn Pro Ile Glu Arg Pro Gly Gly
1130 1135 1140

His Lys Asp Val Leu Tyr Gln Cys Lys Asn Phe Thr Pro Pro Pro
1145 1150 1155

Arg Arg Ala Asp Glu Ala Leu Pro Gly Pro Ala Gly His Ala Ala
1160 1165 1170

Val Arg Glu Asp Glu Glu Asp Glu Asp Leu Gly Arg Gly Glu Glu
1175 1180 1185

Asp Ser Leu Glu Ala Glu Lys Phe Leu Ser His Lys Phe Thr Lys
1190 1195 1200

Asp Pro Gly Arg Ser Pro Gly Arg Pro Ala His Trp Ala Ser Gly
1205 1210 1215

Pro Lys Val Asp Asn Arg Ala Val Arg Ser Ile Asn Glu Ala Arg
1220 1225 1230

Tyr Ala Gly Lys Glu
1235

<210> 4
<211> 1247
<212> Білок
<213> Mouse sp.

<220>
<221> інші ознаки
<223> мишачий Jag2

<400> 4

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

Leu Val Leu Cys Val Gln Ala Thr Arg Pro Met Gly Tyr Phe Glu Leu
20 25 30

Gln Leu Ser Ala Leu Arg Asn Val Asn Gly Glu Leu Leu Ser Gly Ala
35 40 45

Cys Cys Asp Gly Asp Gly Arg Thr Thr Arg Ala Gly Gly Cys Gly Arg
50 55 60

Asp Glu Cys Asp Thr Tyr Val Arg Val Cys Leu Lys Glu Tyr Gln Ala
65 70 75 80

Lys Val Thr Pro Thr Gly Pro Cys Ser Tyr Gly Tyr Gly Ala Thr Pro
85 90 95

Val Leu Gly Gly Asn Ser Phe Tyr Leu Pro Pro Ala Gly Ala Ala Gly
100 105 110

Asp Arg Ala Arg Ala Arg Ser Arg Thr Gly Gly His Gln Asp Pro Gly
115 120 125

Leu Val Val Ile Pro Phe Gln Phe Ala Trp Pro Arg Ser Phe Thr Leu
130 135 140

Ile Val Glu Ala Trp Asp Trp Asp Asn Asp Thr Thr Pro Asp Glu Glu
145 150 155 160

Leu Leu Ile Glu Arg Val Ser His Ala Gly Met Ile Asn Pro Glu Asp
165 170 175

Arg Trp Lys Ser Leu His Phe Ser Gly His Val Ala His Leu Glu Leu
180 185 190

Gln Ile Arg Val Arg Cys Asp Glu Asn Tyr Tyr Ser Ala Thr Cys Asn
195 200 205

Lys Phe Cys Arg Pro Arg Asn Asp Phe Phe Gly His Tyr Thr Cys Asp
210 215 220

Gln Tyr Gly Asn Lys Ala Cys Met Asp Gly Trp Met Gly Lys Glu Cys
225 230 235 240

Lys Glu Ala Val Cys Lys Gln Gly Cys Asn Leu Leu His Gly Gly Cys
245 250 255

Thr Val Pro Gly Glu Cys Arg Cys Ser Tyr Gly Trp Gln Gly Lys Phe
260 265 270

Cys Asp Glu Cys Val Pro Tyr Pro Gly Cys Val His Gly Ser Cys Val
275 280 285

Glu Pro Trp His Cys Asp Cys Glu Thr Asn Trp Gly Gly Leu Leu Cys
290 295 300

Asp Lys Asp Leu Asn Tyr Cys Gly Ser His His Pro Cys Val Asn Gly
305 310 315 320

Gly Thr Cys Ile Asn Ala Glu Pro Asp Gln Tyr Leu Cys Ala Cys Pro
325 330 335

Asp Gly Tyr Leu Gly Lys Asn Cys Glu Arg Ala Glu His Ala Cys Ala
340 345 350

Ser Asn Pro Cys Ala Asn Gly Gly Ser Cys His Glu Val Pro Ser Gly
355 360 365

Phe Glu Cys His Cys Pro Ser Gly Trp Ser Gly Pro Thr Cys Ala Leu
370 375 380

Asp Ile Asp Glu Cys Ala Ser Asn Pro Cys Ala Ala Gly Gly Thr Cys
385 390 395 400

Val Asp Gln Val Asp Gly Phe Glu Cys Ile Cys Pro Glu Gln Trp Val
405 410 415

Gly Ala Thr Cys Gln Leu Asp Ala Asn Glu Cys Glu Gly Lys Pro Cys
420 425 430

Leu Asn Ala Phe Ser Cys Lys Asn Leu Ile Gly Gly Tyr Tyr Cys Asp
435 440 445

Cys Leu Pro Gly Trp Lys Gly Ile Asn Cys Gln Ile Asn Ile Asn Asp
450 455 460

Cys His Gly Gln Cys Gln His Gly Gly Thr Cys Lys Asp Leu Val Asn
465 470 475 480

Gly Tyr Gln Cys Val Cys Pro Arg Gly Phe Gly Gly Arg His Cys Glu
485 490 495

Leu Glu Tyr Asp Lys Cys Ala Ser Ser Pro Cys Arg Arg Gly Gly Ile
500 505 510

Cys Glu Asp Leu Val Asp Gly Phe Arg Cys His Cys Pro Arg Gly Leu
515 520 525

Ser Gly Leu His Cys Glu Val Asp Met Asp Leu Cys Glu Pro Ser Pro
530 535 540

Cys Leu Asn Gly Ala Arg Cys Tyr Asn Leu Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys
545 550 555 560

Ala Cys Pro Glu Asp Phe Gly Gly Lys Asn Cys Ser Val Pro Arg Asp
565 570 575

Thr Cys Pro Gly Gly Ala Cys Arg Val Ile Asp Gly Cys Gly Phe Glu
580 585 590

Ala Gly Ser Arg Ala Arg Gly Val Ala Pro Ser Gly Ile Cys Gly Pro
595 600 605

His Gly His Cys Val Ser Leu Pro Gly Gly Asn Phe Ser Cys Ile Cys
610 615 620

Asp Ser Gly Phe Thr Gly Thr Tyr Cys His Glu Asn Ile Asp Asp Cys
625 630 635 640

Met Gly Gln Pro Cys Arg Asn Gly Gly Thr Cys Ile Asp Glu Val Asp
645 650 655

Ser Phe Arg Cys Phe Cys Pro Ser Gly Trp Glu Gly Glu Leu Cys Asp
660 665 670

Ile Asn Pro Asn Asp Cys Leu Pro Asp Pro Cys His Ser Arg Gly Arg
675 680 685

Cys Tyr Asp Leu Val Asn Asp Phe Tyr Cys Ala Cys Asp Asp Gly Trp
690 695 700

Lys Gly Lys Thr Cys His Ser Arg Glu Phe Gln Cys Asp Ala Tyr Thr
705 710 715 720

Cys Ser Asn Gly Gly Thr Cys Tyr Asp Ser Gly Asp Thr Phe Arg Cys
725 730 735

Ala Cys Pro Pro Gly Trp Lys Gly Ser Thr Cys Thr Ile Ala Lys Asn
740 745 750

Ser Ser Cys Val Pro Asn Pro Cys Val Asn Gly Gly Thr Cys Val Gly
755 760 765

Ser Gly Asp Ser Phe Ser Cys Ile Cys Arg Asp Gly Trp Glu Gly Arg
770 775 780

Thr Cys Thr His Asn Thr Asn Asp Cys Asn Pro Leu Pro Cys Tyr Asn
785 790 795 800

Gly Gly Ile Cys Val Asp Gly Val Asn Trp Phe Arg Cys Glu Cys Ala
805 810 815

Pro Gly Phe Ala Gly Pro Asp Cys Arg Ile Asn Ile Asp Glu Cys Gln
820 825 830

Ser Ser Pro Cys Ala Tyr Gly Ala Thr Cys Val Asp Glu Ile Asn Gly
835 840 845

Tyr Arg Cys Ser Cys Pro Pro Gly Arg Ser Gly Pro Arg Cys Gln Glu
850 855 860

Val Val Ile Phe Thr Arg Pro Cys Trp Ser Arg Gly Met Ser Phe Pro
865 870 875 880

His Gly Ser Ser Trp Met Glu Asp Cys Asn Ser Cys Arg Cys Leu Asp
885 890 895

Gly His Arg Asp Cys Ser Lys Val Trp Cys Gly Trp Lys Pro Cys Leu
900 905 910

Leu Ser Gly Gln Pro Ser Asp Pro Ser Ala Gln Cys Pro Pro Gly Gln
915 920 925

Gln Cys Gln Glu Lys Ala Val Gly Gln Cys Leu Gln Pro Pro Cys Glu
930 935 940

Asn Trp Gly Glu Cys Thr Ala Glu Glu Pro Leu Pro Pro Ser Thr Pro
945 950 955 960

Cys Gln Pro Arg Ser Ser His Leu Asp Asn Asn Cys Ala Arg Leu Thr
965 970 975

Leu Arg Phe Asn Arg Asp Gln Val Pro Gln Gly Thr Thr Val Gly Ala
980 985 990

Ile Cys Ser Gly Ile Arg Ala Leu Pro Ala Thr Arg Ala Ala Ala His
995 1000 1005

Asp Arg Leu Leu Leu Leu Leu Cys Asp Arg Ala Ser Ser Gly Ala
1010 1015 1020

Ser Ala Val Glu Val Ala Met Ser Phe Ser Pro Ala Arg Asp Leu
1025 1030 1035

Pro Asp Ser Ser Leu Ile Gln Ser Thr Ala His Ala Ile Val Ala
1040 1045 1050

Ala Ile Thr Gln Arg Gly Asn Ser Ser Leu Leu Leu Ala Val Thr
1055 1060 1065

Glu Val Lys Val Glu Thr Val Val Met Gly Gly Ser Ser Thr Gly
1070 1075 1080

Leu Leu Val Pro Val Leu Cys Ser Val Phe Ser Val Leu Trp Leu
1085 1090 1095

Ala Cys Val Val Ile Cys Val Trp Trp Thr Arg Lys Arg Arg Lys

1100 1105 1110

Glu Arg Glu Arg Ser Arg Leu Pro Arg Asp Glu Ser Thr Asn Asn
1115 1120 1125

Gln Trp Ala Pro Leu Asn Pro Ile Arg Asn Pro Ile Glu Arg Pro
1130 1135 1140

Gly Gly Ser Gly Leu Gly Thr Gly Gly His Lys Asp Ile Leu Tyr
1145 1150 1155

Gln Cys Lys Asn Phe Thr Pro Pro Pro Arg Arg Ala Gly Glu Ala
1160 1165 1170

Leu Pro Gly Pro Ala Gly His Gly Ala Gly Gly Glu Asp Glu Glu
1175 1180 1185

Asp Glu Glu Leu Ser Arg Gly Asp Gly Asp Ser Pro Glu Ala Glu
1190 1195 1200

Lys Phe Ile Ser His Lys Phe Thr Lys Asp Pro Ser Cys Ser Leu
1205 1210 1215

Gly Arg Pro Ala Cys Trp Ala Pro Gly Pro Lys Val Asp Asn Arg
1220 1225 1230

Ala Val Arg Ser Thr Lys Asp Val Arg Arg Ala Gly Arg Glu
1235 1240 1245

<210> 5
<211> 365
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> : мишачий Jag1-DSL-EGF1-4 (мишачий Jag1-антиген)
<400> 5

Ala Asp Leu Gly Ser Gln Phe Glu Leu Glu Ile Leu Ser Met Gln Asn
1 5 10 15

Val Asn Gly Glu Leu Gln Asn Gly Asn Cys Cys Gly Gly Val Arg Asn
20 25 30

Pro Gly Asp Arg Lys Cys Thr Arg Asp Glu Cys Asp Thr Tyr Phe Lys
35 40 45

Val Cys Leu Lys Glu Tyr Gln Ser Arg Val Thr Ala Gly Gly Pro Cys
50 55 60

Ser Phe Gly Ser Gly Ser Thr Pro Val Ile Gly Gly Asn Thr Phe Asn
65 70 75 80

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

Ser Phe Ala Trp Pro Arg Ser Tyr Thr Leu Leu Val Glu Ala Trp Asp
100 105 110

Ser Ser Asn Asp Thr Ile Gln Pro Asp Ser Ile Ile Glu Lys Ala Ser
115 120 125

His Ser Gly Met Ile Asn Pro Ser Arg Gln Trp Gln Thr Leu Lys Gln
130 135 140

Asn Thr Gly Ile Ala His Phe Glu Tyr Gln Ile Arg Val Thr Cys Asp
145 150 155 160

Asp His Tyr Tyr Gly Phe Gly Cys Asn Lys Phe Cys Arg Pro Arg Asp
165 170 175

Asp Phe Phe Gly His Tyr Ala Cys Asp Gln Asn Gly Asn Lys Thr Cys
180 185 190

Met Glu Gly Trp Met Gly Pro Asp Cys Asn Lys Ala Ile Cys Arg Gln
195 200 205

Gly Cys Ser Pro Lys His Gly Ser Cys Lys Leu Pro Gly Asp Cys Arg
210 215 220

Cys Gln Tyr Gly Trp Gln Gly Leu Tyr Cys Asp Lys Cys Ile Pro His
225 230 235 240

Pro Gly Cys Val His Gly Thr Cys Asn Glu Pro Trp Gln Cys Leu Cys
245 250 255

Glu Thr Asn Trp Gly Gly Gln Leu Cys Asp Lys Asp Leu Asn Tyr Cys
260 265 270

Gly Thr His Gln Pro Cys Leu Asn Arg Gly Thr Cys Ser Asn Thr Gly
275 280 285

Pro Asp Lys Tyr Gln Cys Ser Cys Pro Glu Gly Tyr Ser Gly Pro Asn
290 295 300

Cys Glu Ile Ala Glu His Ala Cys Leu Ser Asp Pro Cys His Asn Arg
305 310 315 320

Gly Ser Cys Lys Glu Thr Ser Ser Gly Phe Glu Cys Glu Cys Ser Pro
325 330 335

Gly Trp Thr Gly Pro Thr Cys Ser Thr Asn Ile Asp Asp Glu Phe Gly
340 345 350

Leu Val Pro Arg Gly Ser Gly His His His His His His
355 360 365

<210> 6
<211> 343

<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: людський Jag1-DSL-EGF1-4 (людський Jag1-антиген)

<400> 6

Gln Phe Glu Leu Glu Ile Leu Ser Met Gln Asn Val Asn Gly Glu Leu
1 5 10 15

Gln Asn Gly Asn Cys Cys Gly Gly Ala Arg Asn Pro Gly Asp Arg Lys
20 25 30

Cys Thr Arg Asp Glu Cys Asp Thr Tyr Phe Lys Val Cys Leu Lys Glu
35 40 45

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

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

Gly Asn Asp Arg Asn Arg Ile Val Leu Pro Phe Ser Phe Ala Trp Pro
85 90 95

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

Val Gln Pro Asp Ser Ile Ile Glu Lys Ala Ser His Ser Gly Met Ile
115 120 125

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

His Phe Glu Tyr Gln Ile Arg Val Thr Cys Asp Asp Tyr Tyr Tyr Gly
145 150 155 160

Phe Gly Cys Asn Lys Phe Cys Arg Pro Arg Asp Asp Phe Phe Gly His
165 170 175

Tyr Ala Cys Asp Gln Asn Gly Asn Lys Thr Cys Met Glu Gly Trp Met
180 185 190

Gly Pro Glu Cys Asn Arg Ala Ile Cys Arg Gln Gly Cys Ser Pro Lys
195 200 205

His Gly Ser Cys Lys Leu Gly Asp Cys Arg Cys Gln Tyr Gly Trp Gln
210 215 220

Gly Leu Tyr Cys Asp Lys Cys Ile Pro His Pro Gly Cys Val His Gly
225 230 235 240

Ile Cys Asn Glu Pro Trp Gln Cys Leu Cys Glu Thr Asn Trp Gly Gly
245 250 255

Gln Leu Cys Asp Lys Asp Leu Asn Tyr Cys Gly Thr His Gln Pro Cys
260 265 270

Leu Asn Gly Gly Thr Cys Ser Asn Thr Gly Pro Asp Lys Tyr Gln Cys
275 280 285

Ser Cys Pro Glu Gly Tyr Ser Gly Pro Asn Cys Glu Ile Ala Glu His
290 295 300

Ala Cys Leu Ser Asp Pro Cys His Asn Arg Gly Ser Cys Lys Glu Thr
305 310 315 320

Ser Leu Gly Phe Glu Cys Glu Cys Ser Pro Gly Trp Thr Gly Pro Thr
325 330 335

Cys Ser Thr Asn Ile Asp Asp
340

<210> 7
<211> 383
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: мишачий Jag2-DSL-EGF1-4 (мишачий Jag-антиген)

<400> 7

Ala Asp Leu Gly Ser Met Gly Tyr Phe Glu Leu Gln Leu Ser Ala Leu
1 5 10 15

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

Gly Arg Thr Thr Arg Ala Gly Gly Cys Gly Arg Asp Glu Cys Asp Thr
35 40 45

Tyr Val Arg Val Cys Leu Lys Glu Tyr Gln Ala Lys Val Thr Pro Thr
50 55 60

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

Ser Phe Tyr Leu Pro Pro Ala Gly Ala Ala Gly Asp Arg Ala Arg Ala
85 90 95

Arg Ser Arg Thr Gly Gly His Gln Asp Pro Gly Leu Val Val Ile Pro
100 105 110

Phe Gln Phe Ala Trp Pro Arg Ser Phe Thr Leu Ile Val Glu Ala Trp
115 120 125

Asp Trp Asp Asn Asp Thr Thr Pro Asp Glu Glu Leu Leu Ile Glu Arg
130 135 140

Val Ser His Ala Gly Met Ile Asn Pro Glu Asp Arg Trp Lys Ser Leu
145 150 155 160

His Phe Ser Gly His Val Ala His Leu Glu Leu Gln Ile Arg Val Arg
165 170 175

Cys Asp Glu Asn Tyr Tyr Ser Ala Thr Cys Asn Lys Phe Cys Arg Pro
180 185 190

Arg Asn Asp Phe Phe Gly His Tyr Thr Cys Asp Gln Tyr Gly Asn Lys
195 200 205

Ala Cys Met Asp Gly Trp Met Gly Lys Glu Cys Lys Glu Ala Val Cys
210 215 220

Lys Gln Gly Cys Asn Leu Leu His Gly Gly Cys Thr Val Pro Gly Glu
225 230 235 240

Cys Arg Cys Ser Tyr Gly Trp Gln Gly Lys Phe Cys Asp Glu Cys Val
245 250 255

Pro Tyr Pro Gly Cys Val His Gly Ser Cys Val Glu Pro Trp His Cys
260 265 270

Asp Cys Glu Thr Asn Trp Gly Gly Leu Leu Cys Asp Lys Asp Leu Asn
275 280 285

Tyr Cys Gly Ser His His Pro Cys Val Asn Gly Gly Thr Cys Ile Asn
290 295 300

Ala Glu Pro Asp Gln Tyr Leu Cys Ala Cys Pro Asp Gly Tyr Leu Gly
305 310 315 320

Lys Asn Cys Glu Arg Ala Glu His Ala Cys Ala Ser Asn Pro Cys Ala
325 330 335

Asn Gly Gly Ser Cys His Glu Val Pro Ser Gly Phe Glu Cys His Cys
340 345 350

Pro Ser Gly Trp Asn Gly Pro Thr Cys Ala Leu Asp Ile Asp Glu Glu
355 360 365

Phe Gly Leu Val Pro Arg Gly Ser Gly His His His His His His
370 375 380

<210> 8
<211> 381
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: людський Jag2-DSL-EGF1-4 (людський Jag2-антиген)

<400> 8

```
Ala Arg Pro Met Gly Tyr Phe Glu Leu Gln Leu Ser Ala Leu Arg Asn
1               5                   10                  15

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

Thr Thr Arg Ala Gly Gly Cys Gly His Asp Glu Cys Asp Thr Tyr Val
        35                  40                  45

Arg Val Cys Leu Lys Glu Tyr Gln Ala Lys Val Thr Pro Thr Gly Pro
    50                  55                  60

Cys Ser Tyr Gly His Gly Ala Thr Pro Val Leu Gly Gly Asn Ser Phe
65                  70                  75                  80

Tyr Leu Pro Pro Ala Gly Ala Ala Gly Asp Arg Ala Arg Ala Arg Ala
                85                  90                  95

Arg Ala Gly Gly Asp Gln Asp Pro Gly Leu Val Val Ile Pro Phe Gln
            100                 105                 110

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

Asp Asn Asp Thr Thr Pro Asn Glu Glu Leu Leu Ile Glu Arg Val Ser
    130                 135                 140

His Ala Gly Met Ile Asn Pro Glu Asp Arg Trp Lys Ser Leu His Phe
145                 150                 155                 160

Ser Gly His Val Ala His Leu Glu Leu Gln Ile Arg Val Arg Cys Asp
                165                 170                 175

Glu Asn Tyr Tyr Ser Ala Thr Cys Asn Lys Phe Cys Arg Pro Arg Asn
            180                 185                 190

Asp Phe Phe Gly His Tyr Thr Cys Asp Gln Tyr Gly Asn Lys Ala Cys
        195                 200                 205

Met Asp Gly Trp Met Gly Lys Glu Cys Lys Glu Ala Val Cys Lys Gln
    210                 215                 220

Gly Cys Asn Leu Leu His Gly Gly Cys Thr Val Pro Gly Glu Cys Arg
225                 230                 235                 240

Cys Ser Tyr Gly Trp Gln Gly Arg Phe Cys Asp Glu Cys Val Pro Tyr
                245                 250                 255

Pro Gly Cys Val His Gly Ser Cys Val Glu Pro Trp Gln Cys Asn Cys
            260                 265                 270

Glu Thr Asn Trp Gly Gly Leu Leu Cys Asp Lys Asp Leu Asn Tyr Cys
        275                 280                 285
```

Gly Ser His His Pro Cys Thr Asn Gly Gly Thr Cys Ile Asn Ala Glu
290 295 300

Pro Asp Gln Tyr Arg Cys Thr Cys Pro Asp Gly Tyr Ser Gly Arg Asn
305 310 315 320

Cys Glu Lys Ala Glu His Ala Cys Thr Ser Asn Pro Cys Ala Asn Gly
325 330 335

Gly Ser Cys His Glu Val Pro Ser Gly Phe Glu Cys His Cys Pro Ser
340 345 350

Gly Trp Ser Gly Pro Thr Cys Ala Leu Asp Ile Asp Glu Glu Phe Gly
355 360 365

Leu Val Pro Arg Gly Ser Gly His His His His His His
370 375 380

<210> 9
<211> 116
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: варіабельна область важкого ланцюга антитіла A

<400> 9

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 Asn Tyr
20 25 30

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

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

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

Thr Val Ser Ser
115

<210> 10
<211> 107
<212> Білок

<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: варіабельна область легкого ланцюга антитіла A

<400> 10

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 Asp Val Ser Thr Ala
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 11
<211> 10
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: гіперваріабельна ділянка 1 важкого ланцюга антитіла A (HVR-H1)

<400> 11

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Gly Ile His
1 5 10

<210> 12
<211> 17
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: HVR-H2 антитіла A

<400> 12

Trp Ile Thr Pro Asp Gly Gly Tyr Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 13
<211> 7
<212> Білок

<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: HVR-H3 антитіла A

<400> 13

Ala Gly Ser Trp Phe Ala Tyr
1 5

<210> 14
<211> 11
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: гіперваріабельна ділянка 1 легкого ланцюга антитіла A (HVR-L1)

<400> 14

Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala Val Ala
1 5 10

<210> 15
<211> 7
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: HVR-L2 антитіла A

<400> 15

Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser
1 5

<210> 16
<211> 9
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: HVR-L3 антитіла A

<400> 16

Gln Gln Ser Tyr Thr Thr Pro Pro Thr
1 5

<210> 17
<211> 116
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: варіабельна область важкого ланцюга антитіла A-1

<400> 17

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 Asn Tyr
20 25 30

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

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

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

Thr Val Ser Ser
115

<210> 18
<211> 107
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: варіабельна область легкого ланцюга антитіла
A-1

<400> 18

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 Asp Val Ser Thr Ala
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 19
<211> 10
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>

<223> синтетична послідовність: HVR-H1 антитіла A-1
<400> 19

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Gly Ile His
1 5 10

<210> 20
<211> 17
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: HVR-H2 антитіла A-1

<400> 20

Trp Ile Thr Pro Asp Gly Gly Tyr Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 21
<211> 7
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: HVR-H3 антитіла A-1

<400> 21

Ala Gly Ser Leu Phe Ala Tyr
1 5

<210> 22
<211> 11
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: HVR-L1 антитіла A-1
<400> 22

Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala Val Ala
1 5 10

<210> 23
<211> 7
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: HVR-L2 антитіла A-1

<400> 23

Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser
1 5

<210> 24
<211> 9
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: HVR-L3 антитіла A-1
<400> 24

Gln Gln Tyr Tyr Thr Thr Ala Thr Thr
1 5

<210> 25
<211> 116
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: варіабельна область важкого ланцюга антитіла A-2

<400> 25

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 Asn Tyr
20 25 30

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

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

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

Thr Val Ser Ser
115

<210> 26
<211> 107
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: варіабельна область легкого ланцюга антитіла A-2

<400> 26

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 Asp Val Ser Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

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

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

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

<210> 27
<211> 10
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: HVR-H1 антитіла A-2

<400> 27

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Gly Ile His
1 5 10

<210> 28
<211> 17
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: HVR-H2 антитіла A-2
<400> 28

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

Gly

<210> 29
<211> 7
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: HVR-H3 антитіла A-2

<400> 29

Ala Gly Ser Trp Phe Ala Tyr
1 5

<210> 30
<211> 11
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: HVR-L1 антитіла A-2

<400> 30

Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala Val Ala
1 5 10

<210> 31
<211> 7
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: HVR-L2 антитіла A-2

<400> 31

Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser
1 5

<210> 32
<211> 9
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: HVR-L3 антитіла A-2

<400> 32

Gln Gln Ser Tyr Thr Thr Pro Pro Thr
1 5

<210> 33
<211> 116
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: варіабельна область важкого ланцюга антитіла A-1(S101T)

<400> 33

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 Asn Tyr
20 25 30

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

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

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

100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 34
<211> 107
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: варіабельна область легкого ланцюга антитіла A-1(S101T)
<400> 34

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 Asp Val Ser Thr Ala
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 35
<211> 10
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: HVR-H1 антитіла A-1(S101T)

<400> 35

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Gly Ile His
1 5 10

<210> 36
<211> 17
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: HVR-H2 антитіла A-1(S101T)

<400> 36

Trp Ile Thr Pro Asp Gly Gly Tyr Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 37
<211> 7
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: HVR-H3 антитіла A-1(S101T)

<400> 37

Ala Gly Thr Leu Phe Ala Tyr
1 5

<210> 38
<211> 11
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: HVR-L1 антитіла A-1(S101T)

<400> 38

Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala Val Ala
1 5 10

<210> 39
<211> 7
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: HVR-L2 антитіла A-1(S101T)

<400> 39

Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser
1 5

<210> 40
<211> 9
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: HVR-L3 антитіла A-1(S101T)

<400> 40

Gln Gln Tyr Tyr Thr Thr Ala Thr Thr
1 5

<210> 41
<211> 123
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: варіабельна область важкого ланцюга антитіла B-3

<400> 41

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 Thr Ser Tyr
20 25 30

Asp Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala 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 Asn Asp Tyr Asp Val Arg Phe Val Gly Ser Gly Met Asp Tyr
100 105 110

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

<210> 42
<211> 107
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: варіабельна область легкого ланцюга антитіла
B-3

<400> 42

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 Asp Val Ser Thr Ala
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 43
<211> 23
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: каркасна область 1 легкого ланцюга (LC-FR1) антитіл A, A-1, A-2, A-1(S101T), B-3

<400> 43

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
20

<210> 44
<211> 15
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: LC-FR2 антитіл A, A-1, A-2, A-1(S101T), B-3

<400> 44

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 45
<211> 32
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: LC-FR3 антитіл A, A-1, A-2, A-1(S101T), B-3

<400> 45

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

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

<210> 46
<211> 10
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: LC-FR4 антитіл A, A-1, A-2, A-1(S101T), B-3

<400> 46

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 47
<211> 25
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: каркасна область 1 важкого ланцюга (HC-FR1) антитіл A, A-1, A-2, A-1(S101T), B-3

<400> 47

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
20 25

<210> 48
<211> 14
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: HC-FR2 антитіл A, A-1, A-2, A-1(S101T), B-3

<400> 48

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

<210> 49
<211> 32
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: HC-FR3 антитіл A, A-1, A-2, A-1(S101T), B-3

<400> 49

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

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

<210> 50
<211> 11
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: HC-FR4 антитіл A, A-1, A-2, A-1(S101T), B-3

<400> 50

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

<210> 51
<211> 446
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: IgG1-важкий ланцюг антитіла A-1(S101T)

<400> 51

```
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 Asn Tyr
            20                  25                  30

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 52
<211> 446
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: IgG1-важкий ланцюг антитіла A-1(S101T) з мутацією N297G

<400> 52

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 Asn Tyr
20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val

355 360 365

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

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

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

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

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 53
<211> 214
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: легкий ланцюг антитіла A-1(S101T); легкий ланцюг антитіла A-1

<400> 53

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 Asp Val Ser Thr Ala
20 25 30

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

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

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

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

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

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 54
<211> 116
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: варіабельна область важкого ланцюга антитіла A-1(S101X)

<220>
<221> інші ознаки
<222> (101)..(101)
<223> Xaa може являти собою будь-яку амінокислоту, крім Ser

<400> 54

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 Asn Tyr
20 25 30

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

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala 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 Ala Gly Xaa Leu Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 55
<211> 7
<212> Білок

<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: HVR-H3 антитіла A-1(S101X)

<220>
<221> інші ознаки
<222> (3)..(3)
<223> Xaa може являти собою будь-яку амінокислоту, крім Ser

<400> 55

Ala Gly Xaa Leu Phe Ala Tyr
1 5

<210> 56
<211> 446
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: IgG1-важкий ланцюг антитіла A-1(S101X)

<220>
<221> інші ознаки
<222> (101)..(101)
<223> Xaa може являти собою будь-яку амінокислоту, крім Ser

<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 Asn Tyr
20 25 30

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

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala 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 Ala Gly Xaa Leu Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

435 440 445

<210> 57
<211> 446
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: IgG1-важкий ланцюг антитіла A-1(S101X) з мутацією N297G

<220>
<221> інші ознаки
<222> (101)..(101)
<223> Xaa може являти собою будь-яку амінокислоту, крім Ser

<400> 57

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 Asn Tyr
20 25 30

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

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala 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 Ala Gly Xaa Leu Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 58
<211> 116
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: варіабельна область важкого ланцюга антитіла A(S101X)

<220>

<221> інші ознаки
<222> (101)..(101)
<223> Xaa може являти собою будь-яку амінокислоту, крім Ser

<400> 58

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 Asn Tyr
20 25 30

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

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala 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 Ala Gly Xaa Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 59
<211> 7
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: HVR-H3 антитіла A(S101X); HVR-H3 антитіла A-2(S101X)

<220>
<221> інші ознаки
<222> (3)..(3)
<223> Xaa може являти собою будь-яку амінокислоту, крім Ser

<400> 59

Ala Gly Xaa Trp Phe Ala Tyr
1 5

<210> 60

<400> 60
000

<210> 61

<400> 61
000

<210> 62
<211> 116

<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: варіабельна область важкого ланцюга антитіла A-2(S101X)

<220>
<221> інші ознаки
<222> (101)..(101)
<223> Xaa може являти собою будь-яку амінокислоту, крім Ser

<400> 62

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 Asn Tyr
20 25 30

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

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala 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 Ala Gly Xaa Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 63
<211> 446
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: IgG1-важкий ланцюг антитіла A-1 з мутацією N297G
<400> 63

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 Asn Tyr
20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro

340 345 350

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

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

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

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

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

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 64
<211> 7
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: HVR-H3 антитіла A(S101T); HVR-H3 антитіла A-2(S101T)
<400> 64

Ala Gly Thr Trp Phe Ala Tyr
1 5

<210> 65
<211> 116
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: варіабельна область важкого ланцюга антитіла A(S101T)

<400> 65

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 Asn Tyr
20 25 30

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

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

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

Thr Val Ser Ser
115

<210> 66
<211> 116
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: варіабельна область важкого ланцюга антитіла A-2(S101T)

<400> 66

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 Asn Tyr
20 25 30

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

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

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

Thr Val Ser Ser
115

<210> 67
<211> 446
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: IgG1-важкий ланцюг антитіла A(S101X) з мутацією N297G

<220>
<221> інші ознаки
<222> (101)..(101)
<223> Xaa може являти собою будь-яку амінокислоту, крім Ser

<400> 67

```
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 Asn Tyr
            20                  25                  30

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

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala 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 Ala Gly Xaa Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
            100                 105                 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
```

275 280 285

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 68
<211> 446
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: IgG1-важкий ланцюг антитіла A-2(S101X) з мутацією N297G

<220>
<221> інші ознаки
<222> (101)..(101)
<223> Xaa може являти собою будь-яку амінокислоту, крім Ser

<400> 68

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 Asn Tyr
20 25 30

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

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala 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 Ala Gly Xaa Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 69
<211> 446
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: IgG1-важкий ланцюг антитіла A(S101T) з мутацією N297G

<400> 69

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 Asn Tyr
20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp

405 410 415

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

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 70
<211> 446
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: IgG1-важкий ланцюг антитіла A-2(S101T) з мутацією N297G

<400> 70

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 Asn Tyr
20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

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

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr

195 200 205

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 71
<211> 17
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: консенсус HVR-H2

<220>
<221> інші ознаки
<222> (4)..(4)
<223> Xaa є Pro або Gly

<220>
<221> інші ознаки
<222> (5)..(5)
<223> Xaa є Asp або Asn

<220>
<221> інші ознаки
<222> (9)..(9)
<223> Xaa є Thr або Ser

<400> 71

Trp Ile Thr Xaa Xaa Gly Gly Tyr Xaa Asp Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 72
<211> 7
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: консенсус HVR-H3 (101X)

<220>
<221> інші ознаки
<222> (3)..(3)
<223> Xaa є будь-якою амінокислотою, крім Ser

<220>
<221> інші ознаки
<222> (4)..(4)
<223> Xaa є Trp або Leu

<400> 72

Ala Gly Xaa Xaa Phe Ala Tyr
1 5

<210> 73
<211> 7
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: консенсус HVR-H3 (101T)

<220>
<221> інші ознаки
<222> (4)..(4)
<223> Xaa є Trp або Leu

<400> 73

Ala Gly Thr Xaa Phe Ala Tyr
1 5

<210> 74
<211> 9
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: консенсус HVR-L3

<220>
<221> інші ознаки
<222> (3)..(3)
<223> Xaa є Ser або Tyr

<220>
<221> інші ознаки
<222> (7)..(7)
<223> Xaa є Pro або Ala

<220>
<221> інші ознаки
<222> (8)..(8)
<223> Xaa є Pro або Thr

<400> 74

Gln Gln Xaa Tyr Thr Thr Xaa Xaa Thr
1 5

<210> 75
<211> 214
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: легкий ланцюг антитіла A
<400> 75

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 Asp Val Ser Thr Ala
20 25 30

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

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

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

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

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

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 76
<211> 214
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: легкий ланцюг антитіла A-2

<400> 76

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 Asp Val Ser Thr Ala
20 25 30

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

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

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

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

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

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 77
<211> 7
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: консенсус HVR-H3

<220>
<221> інші ознаки
<222> (3)..(3)
<223> Xaa є Ser або Thr

<220>
<221> інші ознаки
<222> (4)..(4)
<223> Xaa є Trp або Leu

<400> 77

Ala Gly Xaa Xaa Phe Ala Tyr
1 5

<210> 78
<211> 5
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: альтернативна HVR-H1 антитіл A, A-1, A-1(S101T), A-2

<400> 78

Asn Tyr Gly Ile His
1 5

<210> 79
<211> 446
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: IgG1-важкий ланцюг антитіла A(S101T)

<400> 79

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 Asn Tyr
20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val

290 295 300

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

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

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

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

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

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

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

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

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 80
<211> 446
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: IgG1-важкий ланцюг антитіла A-2(S101T)

<400> 80

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 Asn Tyr
20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly

370 375 380

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

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

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

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 81
<211> 446
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: IgG1-важкий ланцюг антитіла A-1
<400> 81

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 Asn Tyr
20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 82
<211> 5

<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: коротка лінкерна послідовність

<400> 82

Ala Asp Leu Gly Ser
1 5

<210> 83
<211> 6
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність: сайт розщеплення тромбіном

<400> 83

Leu Val Pro Arg Gly Ser
1 5

<210> 84
<211> 122
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетичний поліпептид

<400> 84

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 Thr Asn Ser
20 25 30

Asp Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala 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 Ser Tyr Trp Asn Asn Ser Pro Gly Ser Gly Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 85
<211> 122
<212> Білок

<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетичний поліпептид

<400> 85

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 Thr Asn Ser
20 25 30

Asp Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala 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 Ser Tyr Trp Ser Ser Ser Pro Gly Ser Ala Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 86
<211> 122
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетичний поліпептид

<400> 86

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 Thr Ser Asn
20 25 30

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

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

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

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 87
<211> 122
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетичний поліпептид
<400> 87

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 Thr Ser Asn
20 25 30

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

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

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

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

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

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 88
<211> 123
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетичний поліпептид

<400> 88

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 Thr Ser Tyr
20 25 30

Asp Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala 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 Asn Asp Tyr Asp Val Arg Ser Val Gly Ser Gly Met Asp Tyr
100 105 110

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

<210> 89
<211> 123
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетичний поліпептид

<400> 89

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 Thr Ser Tyr
20 25 30

Asp Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala 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 Asn Asp Tyr Asp Val Arg Thr Val Gly Ser Gly Met Asp Tyr
100 105 110

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

<210> 90
<211> 123
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетичний поліпептид

<400> 90

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 Thr Ser Tyr
20 25 30

Asp Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala 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 Asn Asp Tyr Asp Val Arg Ser Val Gly Ser Gly Met Asp Tyr
100 105 110

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

<210> 91
<211> 123
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетичний поліпептид
<400> 91

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 Thr Ser Tyr
20 25 30

Asp Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala 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 Asn Asp Tyr Asp Val Arg Phe Val Gly Ser Gly Met Asp Tyr
100 105 110

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

<210> 92
<211> 122
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетичний поліпептид

<400> 92

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 Ser Val Lys Pro Met
20 25 30

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

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

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

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 93
<211> 122
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетичний поліпептид

<400> 93

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 Ile Ser Asn
20 25 30

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

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

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

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 94
<211> 122
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетичний поліпептид
<400> 94

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 Val Thr Pro Leu
20 25 30

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

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

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

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 95
<211> 122
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетичний поліпептид

<400> 95

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 Val Thr Pro Met
20 25 30

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

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

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

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 96
<211> 107
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетичний поліпептид
<400> 96

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 Asp Val Ser Thr Ala
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 97
<211> 107
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетичний поліпептид

<400> 97

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 Asp Val Ser Thr Ala
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 98
<211> 107
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетичний поліпептид

<400> 98

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 Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 99
<211> 107
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетичний поліпептид

<400> 99

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 Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 100
<211> 107
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетичний поліпептид

<400> 100

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 Asp Val Ser Thr Ala
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 101
<211> 107
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетичний поліпептид

<400> 101

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 Asp Val Ser Thr Ala
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 102
<211> 107
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетичний поліпептид

<400> 102

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 Asp Val Ser Thr Ala
20 25 30

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

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

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

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

<210> 103
<211> 107
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетичний поліпептид

<400> 103

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 Asp Val Ser Thr Ala
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 104
<211> 107
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетичний поліпептид

<400> 104

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 Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 105
<211> 107
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетичний поліпептид

<400> 105

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 Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 106
<211> 107
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетичний поліпептид

<400> 106

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 Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 107
<211> 107
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> синтетичний поліпептид

<400> 107

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 Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 108
<211> 445
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> Синтетичний поліпептид

<400> 108

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 Asn Tyr
20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val

290 295 300

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

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

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

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

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

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

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

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

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 109
<211> 13
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> Синтетичний поліпептид

<400> 109

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

<210> 110
<211> 698
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> Синтетичний поліпептид

<400> 110

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Ala Tyr Ala Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
20 25 30

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

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

Glu Trp Val Gly Trp Ile Thr Pro Asp Gly Gly Tyr Thr Asp Tyr Ala
65 70 75 80

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

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

Tyr Tyr Cys Ala Arg Ala Gly Ser Leu Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
115 120 125

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

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

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

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

Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser
195 200 205

Thr Trp Pro Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser
210 215 220

Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys
225 230 235 240

Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro
245 250 255

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser
260 265 270

Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp
275 280 285

Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr
290 295 300

Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val
305 310 315 320

Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu
325 330 335

Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg
340 345 350

Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val
355 360 365

Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr
370 375 380

Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr
385 390 395 400

Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu
405 410 415

Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys
420 425 430

Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu
435 440 445

Gly Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly
450 455 460

Lys Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr
465 470 475 480

Gly Val His Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
485 490 495

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp
500 505 510

Val Ser Thr Ala Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
515 520 525

Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser
530 535 540

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
545 550 555 560

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr
565 570 575

Thr Thr Ala Thr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
580 585 590

Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln
595 600 605

```
Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr
    610                 615                 620

Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln
625                 630                 635                 640

Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
                645                 650                 655

Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg
            660                 665                 670

His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro
        675                 680                 685

Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
    690                 695


<210>  111
<211>  15
<212>  Білок
<213>  штучна послідовність

<220>
<223>  Синтетичний поліпептид

<400>  111

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

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Виділене антитіло, яке зв'язується з Jagged1 людини, де антитіло містить HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35 або 78; HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 28 або 36; HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55 або 59, де X являє собою будь-яку амінокислоту, крім S або H; HVR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38; HVR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39; і HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16 або 40.

2. Виділене антитіло за п. 1, де антитіло містить:

a) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 78; HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36; HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55; HVR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38; HVR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39; і HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 40; або

b) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 78; HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36; HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 59; HVR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38; HVR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39; і HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16; або

c) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 78; HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 28; HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 59; HVR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38; HVR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39; і HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16.

3. Виділене антитіло за п. 1 або 2, де антитіло містить:

a) послідовність VH, яка має щонайменше 95 % ідентичності з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 54, і послідовність VL, яка має щонайменше 95 % ідентичності з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 34; або

b) послідовність VH, яка має щонайменше 95 % ідентичності з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 58, і послідовність VL, яка має щонайменше 9 % ідентичності з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 10; або

c) послідовність VH, яка має щонайменше 95 % ідентичності з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 62, і послідовність VL, яка має щонайменше 95 % ідентичності з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 26.

4. Виділене антитіло, яке зв'язується з Jagged1 людини, яке містить:

a) послідовність VH з SEQ ID NO: 54, де X є будь-якою амінокислотою, крім S або H, і послідовність VL з SEQ ID NO: 34; або

b) послідовність VH з SEQ ID NO: 58, де X є будь-якою амінокислотою, крім S або H, і послідовність VL з SEQ ID NO: 10; або

c) послідовність VH з SEQ ID NO: 62, де X є будь-якою амінокислотою, крім S або H, і послідовність VL з SEQ ID NO: 26.

5. Виділене антитіло за п. 4, де антитіло містить послідовність VH з SEQ ID NO: 54 і послідовність VL з SEQ ID NO: 34.

6. Виділене антитіло за п. 5, де важкий ланцюг містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 56 і легкий ланцюг містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 53.

7. Виділене антитіло за п. 5, де важкий ланцюг містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 57 і легкий ланцюг містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 53.

8. Виділене антитіло за будь-яким із попередніх пп., де X вибирають з A, D, E, G, I, K, L, N, Q, R, T і V.

9. Виділене антитіло за будь-яким із попередніх пунктів, де X є T.

10. Виділене антитіло, яке зв'язується з Jagged1 людини, яке містить:

a) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 78; HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36; HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 37; HVR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38; HVR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39; і HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 40; або

b) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 78; HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36; HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 64; HVR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38; HVR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39; і HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16; або

c) HVR-H1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 78; HVR-H2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 28; HVR-H3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 64; HVR-L1, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38; HVR-L2, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39; і HVR-L3, яка містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16.

11. Виділене антитіло за п. 10, де антитіло містить:

a) послідовність VH з SEQ ID NO: 33 і послідовність VL з SEQ ID NO: 34; або

b) послідовність VH з SEQ ID NO: 65 і послідовність VL з SEQ ID NO: 10; або

c) послідовність VH з SEQ ID NO: 66 і послідовність VL з SEQ ID NO: 26.

12. Виділене антитіло за п. 11, де антитіло містить послідовність VH з SEQ ID NO: 33 і послідовність VL з SEQ ID NO: 34.

13. Антитіло за будь-яким із попередніх пп., яке являє собою повнорозмірне антитіло IgG1.

14. Антитіло за п. 13, де в антитіла по суті відсутня ефекторна функція.

15. Антитіло за п. 13, де важкий ланцюг містить мутацію N297G або N297A.

16. Виділене антитіло за п. 12, де важкий ланцюг містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 51 і легкий ланцюг містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 53.

17. Виділене антитіло за п. 12, де важкий ланцюг містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 52 і легкий ланцюг містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 53.

18. Антитіло за п. 11, де антитіло містить:

a) важкий ланцюг, який містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 69, і легкий ланцюг, який містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 75; або

b) важкий ланцюг, який містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 70, і легкий ланцюг, який містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 76; або

c) важкий ланцюг, який містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 79, і легкий ланцюг, який містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 75; або

d) важкий ланцюг, який містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 80, і легкий ланцюг, який містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 76.

19. Антитіло за будь-яким із попередніх пп., де антитіло являє собою антагоніст Jagged1-опосередкованого сигнального шляху.

20. Антитіло за будь-яким із попередніх пп., де антитіло не зв'язує Jagged2 людини.

21. Антитіло за будь-яким із попередніх пп., де антитіло не зв'язує DLL4 людини.
22. Антитіло за будь-яким із попередніх пп., де антитіло не зв'язує DLL1 людини.
23. Антитіло за будь-яким із попередніх пп., де антитіло не зв'язує мишачий Jagged2, мишачий DLL4 і/або мишачий DLL1.
24. Антитіло за будь-яким із попередніх пп., де антитіло зменшує ріст пухлини в мишачій ксенотрансплантатній моделі, не викликаючи втрати ваги.
25. Антитіло за п. 24, де мишача ксенотрансплантатна модель є моделлю ксенотрансплантата раку печінки.
26. Антитіло за п. 24 або п. 25, де ріст пухлини знижується щонайменше на 50, щонайменше на 60, щонайменше на 70, щонайменше на 80 або щонайменше на 90 % AUC/день (TGI%).
27. Виділена нуклеїнова кислота, яка кодує антитіло за будь-яким одним з попередніх пп.
28. Клітина-хазяїн, яка містить виділену нуклеїнову кислоту за п. 27.
29. Спосіб одержання антитіла, який включає культивування клітини-хазяїна за п. 28 таким чином, що продукується антитіло.
30. Імунокон'югат, який містить антитіло за будь-яким із пп. 1-26 і цитотоксичний агент.
31. Фармацевтична композиція, яка містить антитіло за будь-яким із пп. 1-26 і фармацевтично прийнятний носій.
32. Антитіло за будь-яким із пп. 1-26 або імунокон'югат за п. 30 для застосування як лікарського препарату.
33. Антитіло за будь-яким із пп. 1-26 або імунокон'югат за п. 30 для застосування при лікуванні раку.
34. Антитіло за п. 33, де рак вибраний з раку молочної залози, раку легень, раку головного мозку, раку шийки матки, раку товстої кишки, раку печінки, раку жовчної протоки, раку підшлункової залози, раку шкіри, В-клітинних злоякісних новоутворень і Т-клітинних злоякісних новоутворень.
35. Антитіло за будь-яким із пп. 1-26 для застосування в лікуванні захворювання, вибраного з алергії, астми, аутоімунного захворювання, захворювань, пов'язаних з метаплазією келихоподібних клітин, наприклад у легенях, і надлишком слизу, що включає введення суб'єкту з раком ефективної кількості антитіла за будь-яким із пп. 1-33 або імунокон'югата за п. 30.
36. Антитіло за п. 35 для застосування в лікуванні захворювання, пов'язаного з метаплазією келихоподібних клітин.
37. Антитіло за п. 36 для застосування в лікуванні астми, хронічної обструктивної хвороби легень (ХОХЛ), кістозного фіброзу і стравоходу Барретта.
38. Антитіло за будь-яким із пп. 1-26 або імунокон'югат за п. 30 для зменшення росту ракових клітин.
39. Застосування антитіла за будь-яким із пп. 1-26 або імунокон'югата за п. 30 у виробництві лікарського препарату.
40. Застосування за п. 39, де лікарський препарат призначений для лікування раку.
41. Застосування за п. 39, де лікарський препарат призначений для зниження росту ракових клітин.
42. Застосування за п. 39, де лікарський препарат призначений для лікування алергії, астми, аутоімунного захворювання, захворювань, пов'язаних з метаплазією келихоподібних клітин, наприклад, у легенях, і/або надлишком слизу.
43. Застосування за п. 42, де лікарський препарат призначений для лікування захворювання, пов'язаного з метаплазією келихоподібних клітин.
44. Застосування за п. 43, де лікарський препарат призначений для лікування астми, кістозного фіброзу, хронічної обструктивної хвороби легень або стравоходу Барретта.
45. Спосіб лікування раку, який включає введення суб'єкту з раком ефективної кількості антитіла за будь-яким із пп. 1-26 або імунокон'югата за п. 30.
46. Спосіб за п. 45, де рак вибраний з раку молочної залози, раку легень, раку головного мозку, раку шийки матки, раку товстої кишки, раку печінки, раку жовчної протоки, раку підшлункової залози, раку шкіри, В-клітинних злоякісних новоутворень і Т-клітинних злоякісних новоутворень.
47. Спосіб лікування захворювання, вибраного з алергії, астми, аутоімунного захворювання, захворювань, пов'язаних з метаплазією келихоподібних клітин, наприклад у легенях, і надлишком слизу, який включає введення суб'єкту з раком ефективної кількості антитіла за будь-яким із пп. 1-26 або імунокон'югата за п. 30.
48. Спосіб за п. 47, де захворювання пов'язане з метаплазією келихоподібних клітин.
49. Спосіб за п. 48, де захворювання вибирають з астми, хронічної обструктивної хвороби легень (ХОХЛ), кістозного фіброзу і стравоходу Барретта.
50. Виділене антитіло за будь-яким із пп. 1-26, кон'юговане з міткою.

51. Виділене антитіло за п. 50, де мітка являє собою позитронний емітер.
52. Виділене антитіло за п. 51, де позитронним емітером є ^{89}Zr.
53. Спосіб виявлення Jagged1 людини у біологічному зразку, який включає забезпечення контакту біологічного зразка з антитілом за будь-яким із пп. 1-26 і 50-52 при умовах, які дозволяють зв'язування антитіла з природним Jagged1 людини, і детекцію утворення комплексу між антитілом і природним Jagged1 людини у біологічному зразку.
54. Спосіб за п. 53, де біологічний зразок вибирають з раку молочної залози, раку легень, раку головного мозку, раку шийки матки, раку товстої кишки, раку печінки, раку жовчної протоки, раку підшлункової залози, раку шкіри, В-клітинних злоякісних новоутворень і Т-клітинних злоякісних новоутворень.

Jag1 людини (SEQ ID NO:1)

```
MRSPRTRGRSGRPLSLLLALLCALRAKVCGASGQFELEILSMQNVNGELQNGNCCGGARN
PGDRKCTRDECDTYFKVCLKEYQSRVTAGGPCSFGSGSTPVIGGNTFNLKASRGNDRNRI
VLPFSFAWPRSYTLLVEAWDSSNDTVQPDSIIEKASHSGMINPSRQWQTLKQNTGVAHFE
YQIRVTCDDYYYGFGCNKFCRPRDDFFGHYACDQNGNKTCMEGWMGPECNRAICRQGCSP
KHGSCKLPGDCRCQYGWQGLYCDKCIPHPGCVHGICNEPWQCLCETNWGGQLCDKDLNYC
GTHQPCLNGGTCSNTGPDKYQCSCPEGYSGPNCEIAEHACLSDPCHNRGSCKETSLGFEC
ECSPGWTGPTCSTNIDDCSPNNCSHGGTCQDLVNGFKCVCPPQWTGKTCQLDANECEAKP
CVNAKSCKNLIASYYCDCLPGWMGQNCDININDCLGQCQNDASCRDLVNGYRCICPPGYA
GDHCERDIDECASNPCLNGGHCQNEINRFQCLCPTGFSGNLCQLDIDYCEPNPCQNGAQC
YNRASDYFCKCPEDYEGKNCSHLKDHCRTTPCEVIDSCTVAMASNDTPEGVRYISSNVCG
PHGKCKSQSGGKFTCDCNKGFTGTYCHENINDCESNPCRNGGTCIDGVNSYKCICSDGWE
GAYCETNINDCSQNPCHNGGTCRDLVNDFYCDCKNGWKGKTCHSRDSQCDEATCNNGGTC
YDEGDAFKCMCPGGWEGTTCNIARNSSCLPNPCHNGGTCVVNGESFTCVCKEGWEGPICA
QNTNDCSPHPCYNSGTCVDGDNWYRCECAPGFAGPDCRININECQSSPCAFGATCVDEIN
GYRCVCPPGHSGAKCQEVSGRPCITMGSVIPDGAKWDDDCNTCQCLNGRIACSKVWCGPR
PCLLHKGHSECPSGQSCIPILDDQCFVHPCTGVGECRSSSLQPVKTKCTSDSYYQDNCAN
ITFTFNKEMMSPGLTTEHICSELRNLNILKNVSAEYSIYIACEPSPSANNEIHVAISAED
IRDDGNPIKEITDKIIDLVSKRDGNSSLIAAVAEVRVQRRPLKNRTDFLVPLLSSVLTVA
WICCLVTAFYWCLRKRRKPGSHTHSASEDNTTNNVREQLNQIKNPIEKHGANTVPIKDYE
NKNSKMSKIRTHNSEVEEDDMDKHQQKARFAKQPAYTLVDREEKPPNGTPTKHPNWTNKQ
DNRDLESAQSLNRMEYIV
```

Jag1 миші (SEQ ID NO:2)

```
MRSPRTRGRPGRPLSLLLALLCALRAKVCGASGQFELEILSMQNVNGELQNGNCCGGVRN
PGDRKCTRDECDTYFKVCLKEYQSRVTAGGPCSFGSGSTPVIGGNTFNLKASRGNDRNRI
VLPFSFAWPRSYTLLVEAWDSSNDTIQPDSIIEKASHSGMINPSRQWQTLKQNTGIAHFE
YQIRVTCDDHYYGFGCNKFCRPRDDFFGHYACDQNGNKTCMEGWMGPDCNKAICRQGCSP
KHGSCKLPGDCRCQYGWQGLYCDKCIPHPGCVHGTCNEPWQCLCETNWGGQLCDKDLNYC
GTHQPCLNRGTCSNTGPDKYQCSCPEGYSGPNCEIAEHACLSDPCHNRGSCKETSSGFEC
ECSPGWTGPTCSTNIDDCSPNNCSHGGTCQDLVNGFKCVCPPQWTGKTCQLDANECEAKP
CVNARSCKNLIASYYCDCLPGWMGQNCDININDCLGQCQNDASCRDLVNGYRCICPPGYA
GDHCERDIDECASNPCLNGGHCQNEINRFQCLCPTGFSGNLCQLDIDYCEPNPCQNGAQC
YNRASDYFCKCPEDYEGKNCSHLKDHCRTTTCEVIDSCTVAMASNDTPEGVRYISSNVCG
PHGKCKSQSGGKFTCDCNKGFTGTYCHENINDCESNPCKNGGTCIDGVNSYKCICSDGWE
GAHCENNINDCSQNPCHYGGTCRDLVNDFYCDCKNGWKGKTCHSRDSQCDEATCNNGGTC
YDEVDTFKCMCPGGWEGTTCNIARNSSCLPNPCHNGGTCVVNGDSFTCVCKEGWEGPICT
QNTNDCSPHPCYNSGTCVDGDNWYRCECAPGFAGPDCRININECQSSPCAFGATCVDEIN
GYQCICPPGHSGAKCHEVSGRSCITMGRVILDGAKWDDDCNTCQCLNGRVACSKVWCGPR
PCRLHKSHNECPSGQSCIPVLDDQCFVRPCTGVGECRSSSLQPVKTKCTSDSYYQDNCAN
ITFTFNKEMMSPGLTTEHICSELRNLNILKNVSAEYSIYIACEPSLSANNEIHVAISAED
IRDDGNPVKEITDKIIDLVSKRDGNSSLIAAVAEVRVQRRPLKNRTDFLVPLLSSVLTVA
WVCCLVTAFYWCVRKRRKPSSHTHSAPEDNTTNNVREQLNQIKNPIEKHGANTVPIKDYE
NKNSKMSKIRTHNSEVEEDDMDKHQQKVRFAKQPVYTLVDREEKAPSGTPTKHPNWTNKQ
DNRDLESAQSLNRMEYIV
```

Фіг. 1

Jag2 людини (SEQ ID NO:3)

```
MRAQGRGRLPRRLLLLLALWVQAARPMGYFELQLSALRNVNGELLSGACCDGDGRTTRAG
GCGHDECDTYVRVCLKEYQAKVTPTGPCSYGHGATPVLGGNSFYLPPAGAAGDRARARAR
AGGDQDPGLVVIPFQFAWPRSFTLIVEAWDWDNDTTPNEELLIERVSHAGMINPEDRWKS
LHFSGHVAHLELQIRVRCDENYYSATCNKFCRPRNDFFGHYTCDQYGNKACMDGWMGKEC
KEAVCKQGCNLLHGGCTVPGECRCSYGWQGRFCDECVPYPGCVHGSCVEPWQCNCETNWG
GLLCDKDLNYCGSHHPCTNGGTCINAEPDQYRCTCPDGYSGRNCEKAEHACTSNPCANGG
SCHEVPSGFECHCPSGWSGPTCALDIDECASNPCAAGGTCVDQVDGFECICPEQWVGATC
QLDANECEGKPCLNAFSCKNLIGGYYCDCIPGWKGINCHINVNDCRGQCQHGGTCKDLVN
GYQCVCPRGFGGRHCELERDECASSPCHSGGLCEDLADGFHCHCPQGFSGPLCEVDVDLC
EPSPCRNGARCYNLEGDYYCACPDDFGGKNCSVPREPCPGGACRVIDGCGSDAGPGMPGT
AASGVCGPHGRCVSQPGGNFSCICDSGFTGTYCHENIDDCLGQPCRNGGTCIDEVDAFRC
FCPSGWEGELCDTNPNDCLPDPCHSRGRCYDLVNDFYCACDDGWKGKTCHSREFQCDAYT
CSNGGTCYDSGDTFRCACPPGWKGSTCAVAKNSSCLPNPCVNGGTCVGSGASFSCICRDG
WEGRTCTHNTNDCNPLPCYNGGICVDGVNWFRCECAPGFAGPDCRINIDECQSSPCAYGA
TCVDEINGYRCSCPPGRAGPRCQEVIGFGRSCWSRGTPFPHGSSWVEDCNSCRCLDGRRD
CSKVWCGWKPCLLAGQPEALSAQCPLGQRCLEKAPGQCLRPPCEAWGECGAEEPPSTPCL
PRSGHLDNNCARLTLHFNRDHVPQGTTVGAICSGIRSLPATRAVARDRLLVLLCDRASSG
ASAVEVAVSFSPARDLPDSSLIQGAAHAIVAAITQRGNSSLLLAVTEVKVETVVTGGSST
GLLVPVLCGAFSVLWLACVVLCVWWTRKRRKERERSRLPREESANNQWAPLNPIRNPIER
PGGHKDVLYQCKNFTPPPRRADEALPGPAGHAAVREDEEDEDLGRGEEDSLEAEKFLSHK
FTKDPGRSPGRPAHWASGPKVDNRAVRSINEARYAGKE
```

Jag2 миші (SEQ ID NO:4)

```
MRARGWGRLPRRLLLLLVLCVQATRPMGYFELQLSALRNVNGELLSGACCDGDGRTTRAG
GCGRDECDTYVRVCLKEYQAKVTPTGPCSYGYGATPVLGGNSFYLPPAGAAGDRARARSR
TGGHQDPGLVVIPFQFAWPRSFTLIVEAWDWDNDTTPDEELLIERVSHAGMINPEDRWKS
LHFSGHVAHLELQIRVRCDENYYSATCNKFCRPRNDFFGHYTCDQYGNKACMDGWMGKEC
KEAVCKQGCNLLHGGCTVPGECRCSYGWQGKFCDECVPYPGCVHGSCVEPWHCDCETNWG
GLLCDKDLNYCGSHHPCVNGGTCINAEPDQYLCACPDGYLGKNCERAEHACASNPCANGG
SCHEVPSGFECHCPSGWSGPTCALDIDECASNPCAAGGTCVDQVDGFECICPEQWVGATC
QLDANECEGKPCLNAFSCKNLIGGYYCDCLPGWKGINCQININDCHGQCQHGGTCKDLVN
GYQCVCPRGFGGRHCELEYDKCASSPCRRGGICEDLVDGFRCHCPRGLSGLHCEVDMDLC
EPSPCLNGARCYNLEGDYYCACPEDFGGKNCSVPRDTCPGGACRVIDGCGFEAGSRARGV
APSGICGPHGHCVSLPGGNFSCICDSGFTGTYCHENIDDCMGQPCRNGGTCIDEVDSFRC
FCPSGWEGELCDINPNDCLPDPCHSRGRCYDLVNDFYCACDDGWKGKTCHSREFQCDAYT
CSNGGTCYDSGDTFRCACPPGWKGSTCTIAKNSSCVPNPCVNGGTCVGSGDSFSCICRDG
WEGRTCTHNTNDCNPLPCYNGGICVDGVNWFRCECAPGFAGPDCRINIDECQSSPCAYGA
TCVDEINGYRCSCPPGRSGPRCQEVVIFTRPCWSRGMSFPHGSSWMEDCNSCRCLDGHRD
CSKVWCGWKPCLLSGQPSDPSAQCPPGQQCQEKAVGQCLQPPCENWGECTAEEPLPPSTP
CQPRSSHLDNNCARLTLRFNRDQVPQGTTVGAICSGIRALPATRAAAHDRLLLLLCDRAS
SGASAVEVAMSFSPARDLPDSSLIQSTAHAIVAAITQRGNSSLLLAVTEVKVETVVMGGS
STGLLVPVLCSVFSVLWLACVVICVWWTRKRRKERERSRLPRDESTNNQWAPLNPIRNPI
ERPGGSGLGTGGHKDILYQCKNFTPPPRRAGEALPGPAGHGAGGEDEEDEELSRGDGDSP
EAEKFISHKFTKDPSCSLGRPACWAPGPKVDNRAVRSTKDVRRAGRE
```

Фіг. 2

Послідовність експресованого білка, мишачого Jag1-DSL-EGF1-4 (мишачого Jag1-антигену)

ADLGSQFELEILSMQNVNGELQNGNCCGGVRNPGDRKCTRDECDTYFKVCLKEYQSRVTAGGPC
SFGSGSTPVIGGNTFNLKASRGNDRNRIVLPFSFAWPRSYTLLVEAWDSSNDTIQPDSIIEKAS
HSGMINPSRQWQTLKQNTGIAHFEYQIRVTCDDHYYGFGCNKFCRPRDDFFGHYACDQNGNKTC
MEGWMGPDCNKAICRQGCSPKHGSCKLPGDCRCQYGWQGLYCDKCIPHPGCVHGTCNEPWQCLC
ETNWGGQLCDKDLNYCGTHQPCLNRGTCSNTGPDKYQCSCPEGYSGPNCEIAEHACLSDPCHNR
GSCKETSSGFECECSPGWTGPTCSTNIDD**EFGLVPRGSGHHHHHH** **(SEQ ID NO. 5)**

Фіг. 3А

Послідовність експресованого білка, людського Jag1-DSL-EGF1-4 (людського Jag1-антигену)

QFELEILSMQNVNGELQNGNCCGGARNPGDRKCTRDECDTYFKVCLKEYQSRVTAGGPCSFGSG
STPVIGGNTFNLKASRGNDRNRIVLPFSFAWPRSYTLLVEAWDSSNDTVQPDSIIEKASHSGMI
NPSRQWQTLKQNTGVAHFEYQIRVTCDDYYYGFGCNKFCRPRDDFFGHYACDQNGNKTCMEGWM
GPECNRAICRQGCSPKHGSCKLGDCRCQYGWQGLYCDKCIPHPGCVHGICNEPWQCLCETNWGG
QLCDKDLNYCGTHQPCLNGGTCSNTGPDKYQCSCPEGYSGPNCEIAEHACLSDPCHNRGSCKET
SLGFECECSPGWTGPTCSTNIDD **(SEQ ID NO. 6)**

Фіг. 3B

Послідовність експресованого білка, мишачого Jag2-DSL-EGF1-4 (мишачого Jag2-антигену)

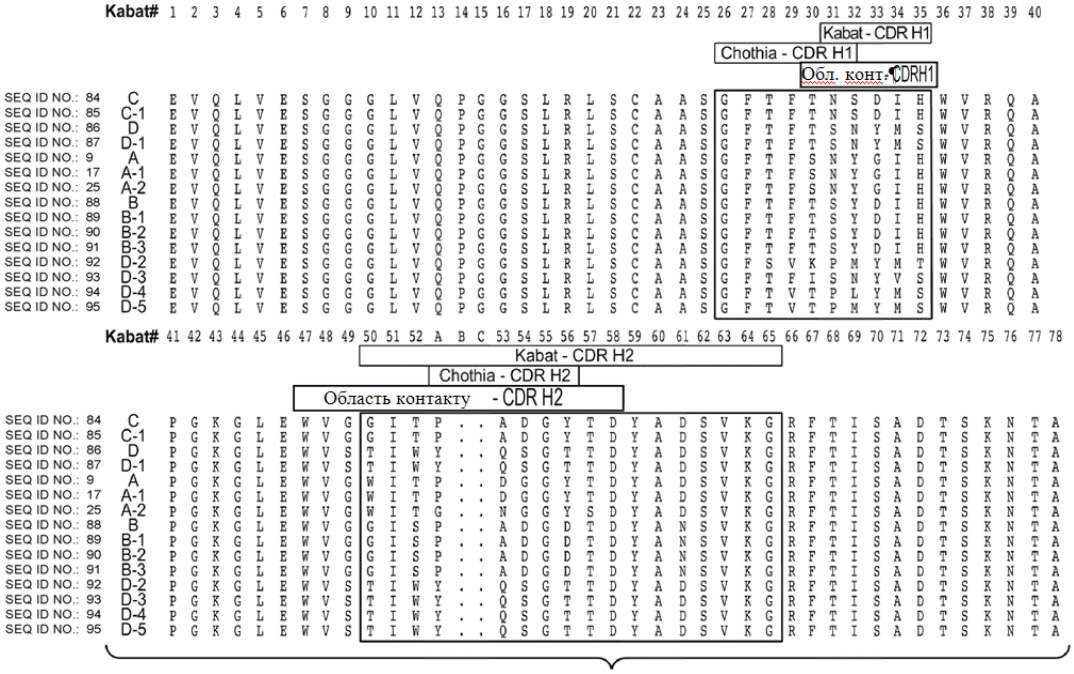
GPCSYGYGATPVLGGNSFYLPPAGAAGDRARARSRTGGHQDPGLVVIPFQFAWPRSFTLIVEAW
DWDNDTTPDEELLIERVSHAGMINPEDRWKSLHFSGHVAHLELQIRVRCDENYYSATCNKFCRP
RNDFFGHYTCDQYGNKACMDGWMGKECKEAVCKQGCNLLHGGCTVPGECRCSYGWQGKFCDECV
PYPGCVHGSCVEPWHCDCETNWGGLLCDKDLNYCGSHHPCVNGGTCINAEPDQYLCACPDGYLG
KNCERAEHACASNPCANGGSCHEVPSGFECHCPSGWNGPTCALDIDE**EFGLVPRGSGHHHHHH**
(SEQ ID NO. 7)

Фіг. 3C

Послідовність експресованого білка, людського Jag2-DSL-EGF1-4 (людського Jag2-антигену)

ARPMGYFELQLSALRNVNGELLSGACCDGDGRTTRAGGCGHDECDTYVRVCLKEYQAKVTPTGP
CSYGHGATPVLGGNSFYLPPAGAAGDRARARARAGGDQDPGLVVIPFQFAWPRSFTLIVEAWDW
DNDTTPNEELLIERVSHAGMINPEDRWKSLHFSGHVAHLELQIRVRCDENYYSATCNKFCRPRN
DFFGHYTCDQYGNKACMDGWMGKECKEAVCKQGCNLLHGGCTVPGECRCSYGWQGRFCDECVPY
PGCVHGSCVEPWQCNCETNWGGLLCDKDLNYCGSHHPCTNGGTCINAEPDQYRCTCPDGYSGRN
CEKAEHACTSNPCANGGSCHEVPSGFECHCPSGWSGPTCALDIDE**EFGLVPRGSGHHHHHH**
(SEQ ID NO. 8)

Фіг. 3D



Фіг. 4A-1

Kabat - CDR H3
Chothia - CDR H3
Область контакту - CDR H3

Kabat#	79	80	81	82	A	B	C	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	A	B	C	D	E	F	G	H	K	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	
C	Y	L	Q	M	N	S	L	R	A	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	R	S	Y	W	N	N	S	P	G	S	G	-	-	-	-	F	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	SEQ ID NO.: 84
C-1	Y	L	Q	M	N	S	L	R	A	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	R	S	Y	W	S	S	S	P	G	S	A	-	-	-	-	F	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	SEQ ID NO.: 85
D	Y	L	Q	M	N	S	L	R	A	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	R	S	S	P	W	S	G	E	G	F	G	-	-	-	-	M	D	V	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	SEQ ID NO.: 86
D-1	Y	L	Q	M	N	S	L	R	A	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	R	D	S	P	W	P	S	K	G	F	G	-	-	-	-	M	D	V	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	SEQ ID NO.: 87
A	Y	L	Q	M	N	S	L	R	A	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	R	A	G	S	W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	F	A	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	SEQ ID NO.: 9
A-1	Y	L	Q	M	N	S	L	R	A	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	R	A	G	S	L	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	F	A	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	SEQ ID NO.: 17
A-2	Y	L	Q	M	N	S	L	R	A	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	R	A	G	S	W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	F	A	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	SEQ ID NO.: 25
B	Y	L	Q	M	N	S	L	R	A	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	R	N	D	Y	D	V	R	S	V	G	S	G	-	-	-	M	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	SEQ ID NO.: 88
B-1	Y	L	Q	M	N	S	L	R	A	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	R	N	D	Y	D	V	R	T	V	G	S	G	-	-	-	M	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	SEQ ID NO.: 89
B-2	Y	L	Q	M	N	S	L	R	A	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	R	N	D	Y	D	V	R	S	V	G	S	G	-	-	-	M	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	SEQ ID NO.: 90
B-3	Y	L	Q	M	N	S	L	R	A	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	R	N	D	Y	D	V	R	F	V	G	S	G	-	-	-	M	D	Y	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	SEQ ID NO.: 91
D-2	Y	L	Q	M	N	S	L	R	A	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	R	S	S	P	W	S	G	E	G	F	G	.	.	.	.	M	D	V	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	SEQ ID NO.: 92
D-3	Y	L	Q	M	N	S	L	R	A	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	R	S	S	P	W	S	G	E	G	F	G	.	.	.	.	M	D	V	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	SEQ ID NO.: 93
D-4	Y	L	Q	M	N	S	L	R	A	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	R	S	S	P	W	S	G	E	G	F	G	.	.	.	.	M	D	V	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	SEQ ID NO.: 94
D-5	Y	L	Q	M	N	S	L	R	A	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	R	S	S	P	W	S	G	E	G	F	G	.	.	.	.	M	D	V	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	SEQ ID NO.: 95

Фіг. 4А-2

Kabat - CDR L1
Chothia - CDR L1
Обл. конт. - CDR L1

Kabat#	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	A	B	C	D	E	F	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	
C	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	R	A	S	Q	.	.	.	.	.	.	D	V	S	T	A	V	A	W	Y	Q	SEQ ID NO.: 96
C-1	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	R	A	S	Q	.	.	.	.	.	.	D	V	S	T	A	V	A	W	Y	Q	SEQ ID NO.: 97
D	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	R	A	S	Q	.	.	.	.	.	.	S	I	S	S	Y	L	A	W	Y	Q	SEQ ID NO.: 98
D-1	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	R	A	S	Q	.	.	.	.	.	.	S	I	S	S	Y	L	A	W	Y	Q	SEQ ID NO.: 99
A	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	R	A	S	Q	.	.	.	.	.	.	D	V	S	T	A	V	A	W	Y	Q	SEQ ID NO.: 10
A-1	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	R	A	S	Q	.	.	.	.	.	.	D	V	S	T	A	V	A	W	Y	Q	SEQ ID NO.: 18
A-2	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	R	A	S	Q	.	.	.	.	.	.	D	V	S	T	A	V	A	W	Y	Q	SEQ ID NO.: 26
B	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	R	A	S	Q	.	.	.	.	.	.	D	V	S	T	A	V	A	W	Y	Q	SEQ ID NO.: 100
B-1	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	R	A	S	Q	.	.	.	.	.	.	D	V	S	T	A	V	A	W	Y	Q	SEQ ID NO.: 101
B-2	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	R	A	S	Q	.	.	.	.	.	.	D	V	S	T	A	V	A	W	Y	Q	SEQ ID NO.: 102
B-3	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	R	A	S	Q	.	.	.	.	.	.	D	V	S	T	A	V	A	W	Y	Q	SEQ ID NO.: 103
D-2	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	R	A	S	Q	.	.	.	.	.	.	S	I	S	S	Y	L	A	W	Y	Q	SEQ ID NO.: 104
D-3	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	R	A	S	Q	.	.	.	.	.	.	S	I	S	S	Y	L	A	W	Y	Q	SEQ ID NO.: 105
D-4	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	R	A	S	Q	.	.	.	.	.	.	S	I	S	S	Y	L	A	W	Y	Q	SEQ ID NO.: 106
D-5	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	R	A	S	Q	.	.	.	.	.	.	S	I	S	S	Y	L	A	W	Y	Q	SEQ ID NO.: 107

Kabat - CDR L2
Chothia - CDR L2
Обл. контакту - CDR L2

Kabat#	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	
C	Q	K	P	G	K	A	P	K	L	L	I	Y	S	A	S	F	L	Y	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	SEQ ID NO.: 96
C-1	Q	K	P	G	K	A	P	K	L	L	I	Y	S	A	S	F	L	Y	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	SEQ ID NO.: 97
D	Q	K	P	G	K	A	P	K	L	L	I	Y	G	A	S	S	R	A	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	SEQ ID NO.: 98
D-1	Q	K	P	G	K	A	P	K	L	L	I	Y	G	A	S	S	R	A	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	SEQ ID NO.: 99
A	Q	K	P	G	K	A	P	K	L	L	I	Y	S	A	S	F	L	Y	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	SEQ ID NO.: 10
A-1	Q	K	P	G	K	A	P	K	L	L	I	Y	S	A	S	F	L	Y	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	SEQ ID NO.: 18
A-2	Q	K	P	G	K	A	P	K	L	L	I	Y	S	A	S	F	L	Y	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	SEQ ID NO.: 26
B	Q	K	P	G	K	A	P	K	L	L	I	Y	S	A	S	F	L	Y	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	SEQ ID NO.: 100
B-1	Q	K	P	G	K	A	P	K	L	L	I	Y	S	A	S	F	L	Y	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	SEQ ID NO.: 101
B-2	Q	K	P	G	K	A	P	K	L	L	I	Y	S	A	S	F	L	Y	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	SEQ ID NO.: 102
B-3	Q	K	P	G	K	A	P	K	L	L	I	Y	S	A	S	F	L	Y	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	SEQ ID NO.: 103
D-2	Q	K	P	G	K	A	P	K	L	L	I	Y	G	A	S	S	R	A	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	SEQ ID NO.: 104
D-3	Q	K	P	G	K	A	P	K	L	L	I	Y	G	A	S	S	R	A	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	SEQ ID NO.: 105
D-4	Q	K	P	G	K	A	P	K	L	L	I	Y	G	A	S	S	R	A	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	SEQ ID NO.: 106
D-5	Q	K	P	G	K	A	P	K	L	L	I	Y	G	A	S	S	R	A	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	T	I	S	S	L	Q	P	SEQ ID NO.: 107

Фіг. 4В-1

Kabat - CDR L3
Chothia - CDR L3
Область контакту CDR L3

Kabat#	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	
C	E	D	F	A	T	Y	Y	C	Q	Q	S	Y	T	T	P	P	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	SEQ ID NO.: 96
C-1	E	D	F	A	T	Y	Y	C	Q	Q	S	Y	I	S	P	S	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	SEQ ID NO.: 97
D	E	D	F	A	T	Y	Y	C	Q	Q	Y	Y	S	S	P	L	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	SEQ ID NO.: 98
D-1	E	D	F	A	T	Y	Y	C	Q	Q	Y	L	S	S	P	I	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	SEQ ID NO.: 99
A	E	D	F	A	T	Y	Y	C	Q	Q	S	Y	T	T	P	P	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	SEQ ID NO.: 10
A-1	E	D	F	A	T	Y	Y	C	Q	Q	Y	Y	T	T	A	T	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	SEQ ID NO.: 18
A-2	E	D	F	A	T	Y	Y	C	Q	Q	S	Y	T	T	P	P	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	SEQ ID NO.: 26
B	E	D	F	A	T	Y	Y	C	Q	Q	S	Y	T	T	P	P	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	SEQ ID NO.: 100
B-1	E	D	F	A	T	Y	Y	C	Q	Q	S	Y	T	S	A	P	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	SEQ ID NO.: 101
B-2	E	D	F	A	T	Y	Y	C	Q	Q	S	W	T	A	P	P	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	SEQ ID NO.: 102
B-3	E	D	F	A	T	Y	Y	C	Q	Q	S	F	T	A	P	P	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	SEQ ID NO.: 103
D-2	E	D	F	A	T	Y	Y	C	Q	Q	Y	S	S	S	P	L	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	SEQ ID NO.: 104
D-3	E	D	F	A	T	Y	Y	C	Q	Q	Y	H	S	S	P	L	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	SEQ ID NO.: 105
D-4	E	D	F	A	T	Y	Y	C	Q	Q	Y	S	S	S	P	L	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	SEQ ID NO.: 106
D-5	E	D	F	A	T	Y	Y	C	Q	Q	Y	S	S	S	P	L	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	SEQ ID NO.: 107

Фіг. 4B-2

Послідовності HVR-H1

	Номер за Кабатом (Kabat)										SEQ ID NO
№ антитіла	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	
A, A-1, A-2, A-1(S101T)	G	F	T	F	S	N	Y	G	I	H	35 (також 11, 19, 27)

Послідовності HVR-H2

	Номер за Кабатом (Kabat)																	SEQ ID NO
№ антитіла	50	51	52	52A	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	
A, A-1, A-1(S101T)	W	I	T	P	D	G	G	Y	T	D	Y	A	D	S	V	K	G	36 (також 12, 20)
A-2	W	I	T	G	N	G	G	Y	S	D	Y	A	D	S	V	K	G	28
консенсус	W	I	T	P/G	D/N	G	G	Y	T/S	D	Y	A	D	S	V	K	G	71

Фіг. 5A

Послідовності HVR-H3

	Номер за Кабатом							SEQ ID NO
№ антитіла	95	96	97	98	100k	101	102	
A, A-2	A	G	S	W	F	A	Y	13 (також 29)
A-1	A	G	S	L	F	A	Y	21
A-1(S101T)	A	G	T	L	F	A	Y	37
консенсус	A	G	S/T	W/L	F	A	Y	77

Фіг. 5B

Послідовності HVR-L1

	Номер за Кабатом											SEQ ID NO
№ антитіла	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	
A, A-1, A-2, A-1(S101T)	R	A	S	Q	D	V	S	T	A	V	A	38 (також 14, 22, 30)

Послідовності HVR-L2

	Номер за Кабатом							SEQ ID NO
№ антитіла	50	51	52	53	54	55	56	
A, A-1, A-2 A-1-S101T	S	A	S	F	L	Y	S	39 (також 15, 23, 31)

Послідовності HVR-L3

	Номер за Кабатом									SEQ ID NO
№ клона	89	90	91	92	93	94	95	96	97	
A, A-2	Q	Q	S	Y	T	T	P	P	T	16 (також 32)
A-1, A-1(S101T)	Q	Q	Y	Y	T	T	A	T	T	40 (також 24)
консенсус	Q	Q	S/Y	Y	T	T	P/A	P/T	T	74

Фіг. 6

Послідовності каркасних областей варіабельного домену легкого ланцюга антитіл A, A-1 і A-2

LC-FR1 ^{1}Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys^{23} (SEQ ID NO:43)

LC-FR2 ^{35}Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr^{49} (SEQ ID NO:44)

LC-FR3 ^{57}Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys^{88} (SEQ ID NO:45)

LC-FR4 ^{98}Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg^{108} (SEQ ID NO:46)

Послідовності каркасних областей варіабельного домену важкого ланцюга антитіл A, A-1 і A-2

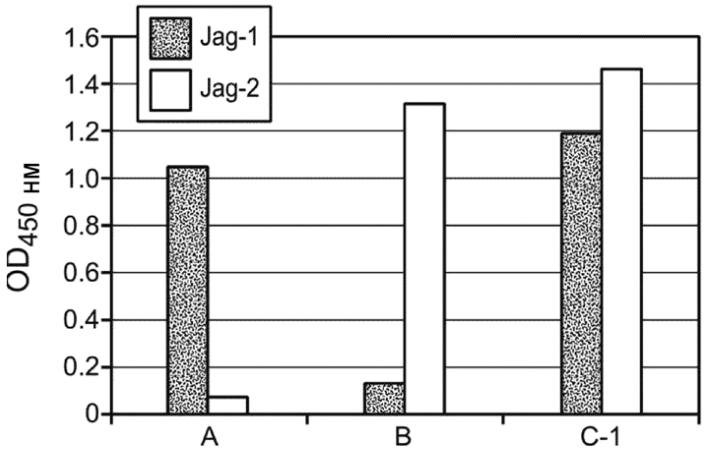
HC-FR1 ^{1}Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser^{25} (SEQ ID NO:47)

HC-FR2 ^{36}Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly^{49} (SEQ ID NO:48)

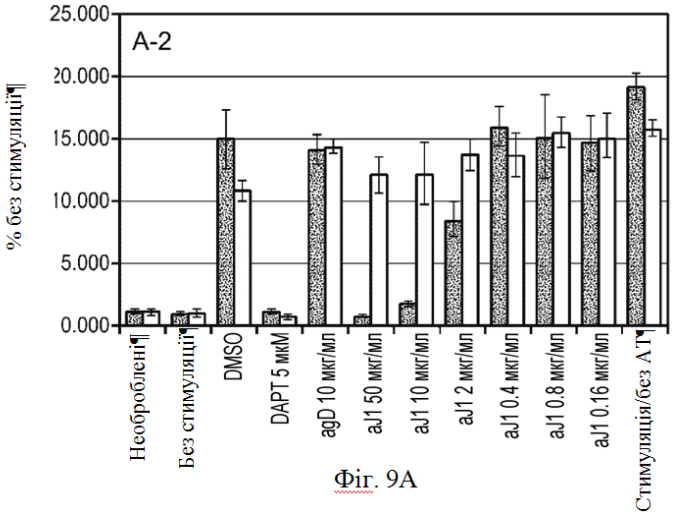
HC-FR3 ^{66}Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg^{94} (SEQ ID NO:49)

HC-FR4 ^{103}Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser^{113} (SEQ ID NO:50)

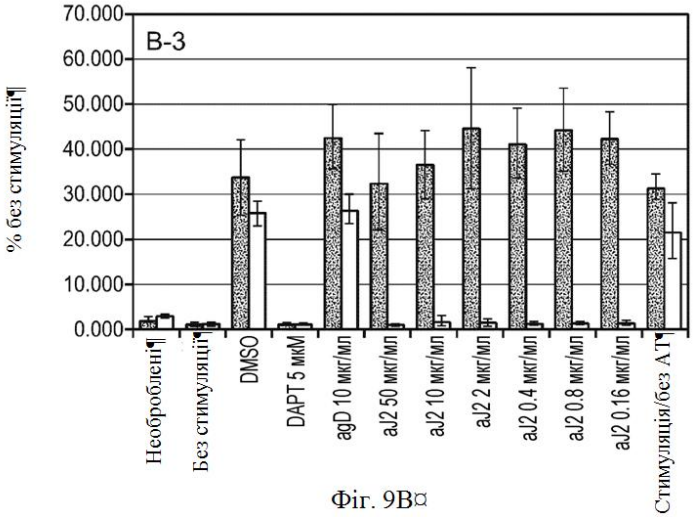
Фіг. 7



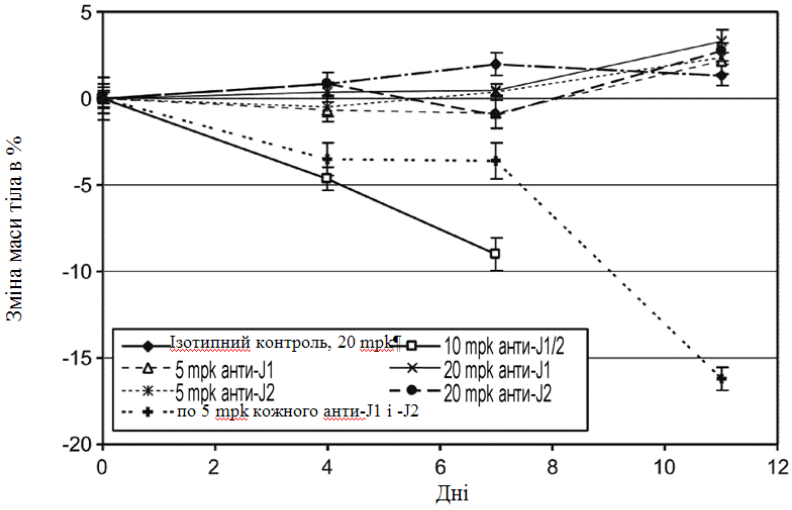
Фіг. 8



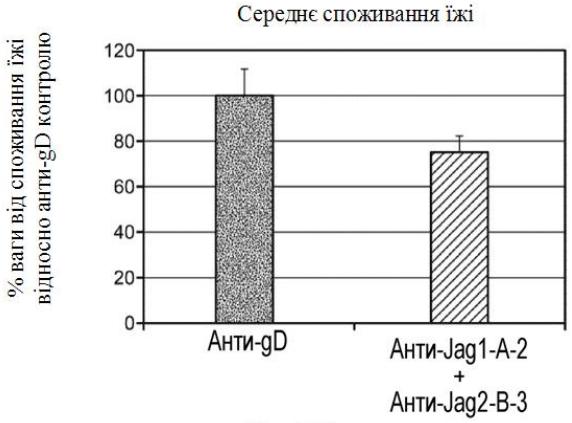
Фіг. 9А



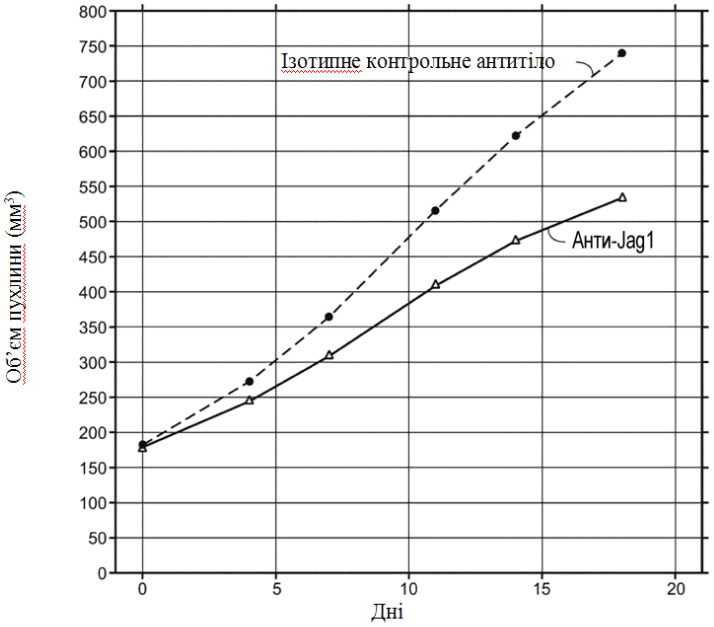
Фіг. 9В¤



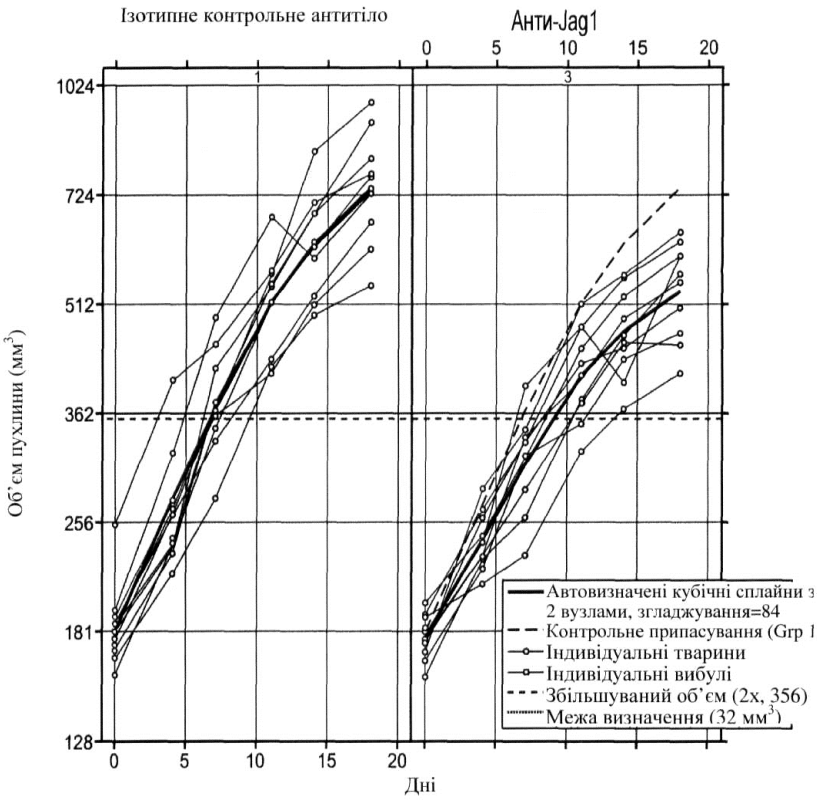
Фіг. 10А



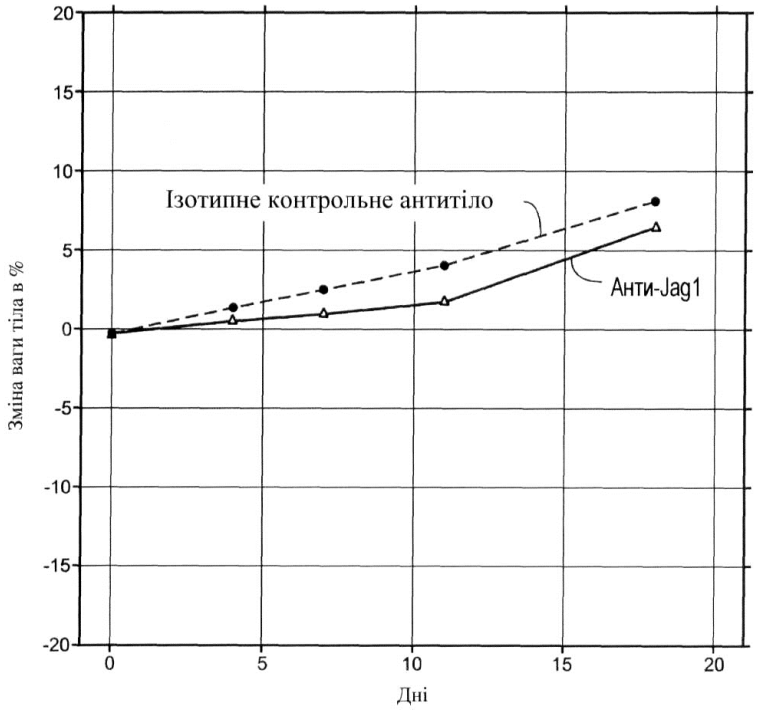
Фіг. 10B



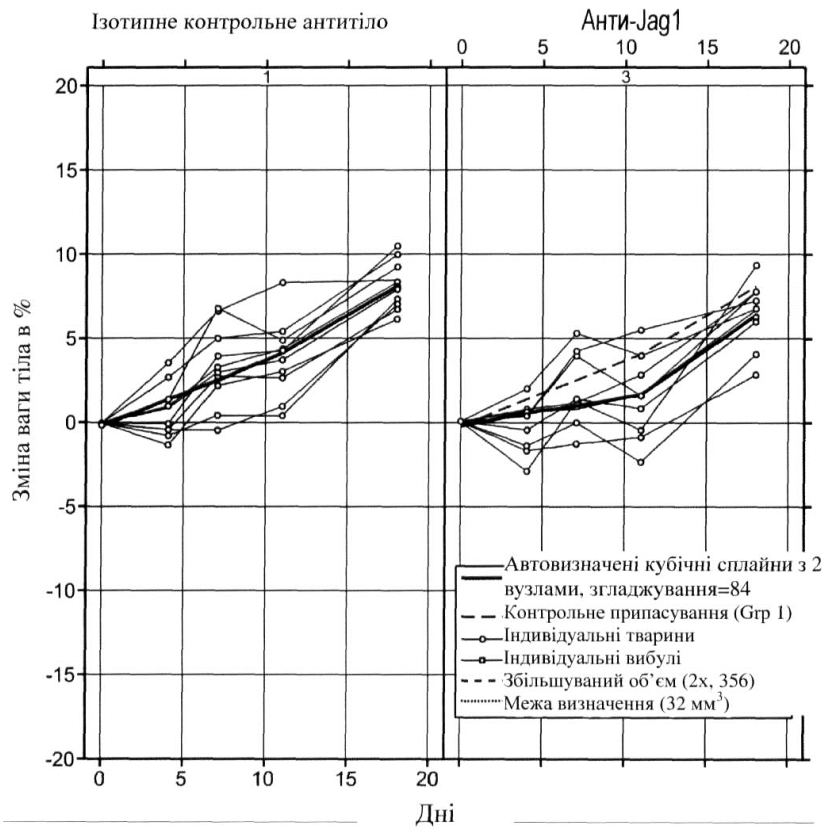
Фіг. 11A-1



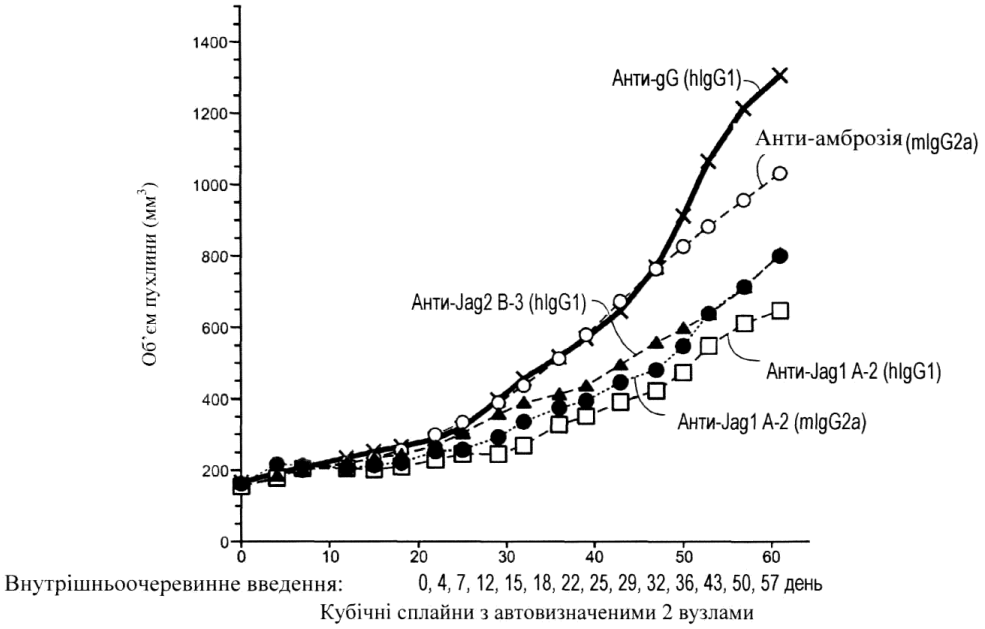
Фіг. 11A-2



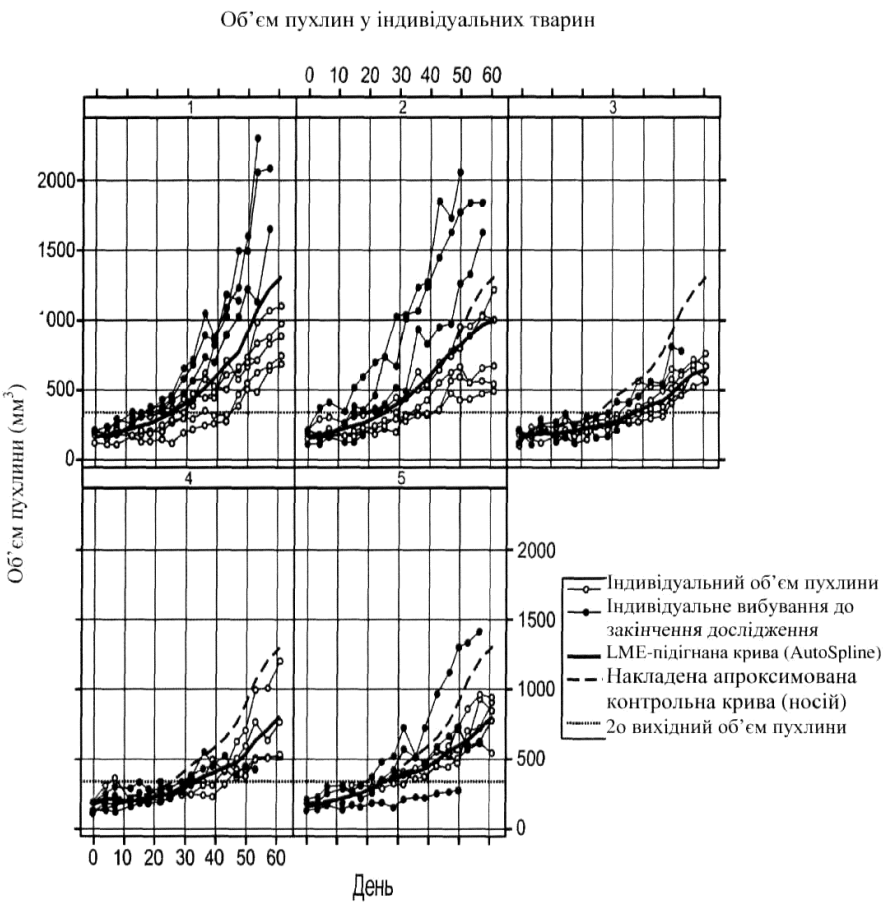
Фіг. 11B-1



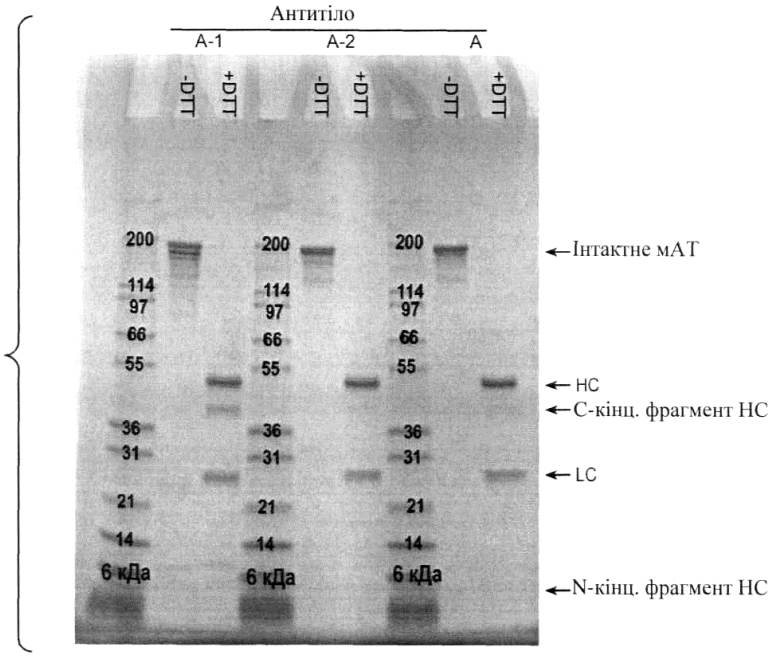
Фіг. 11B-2



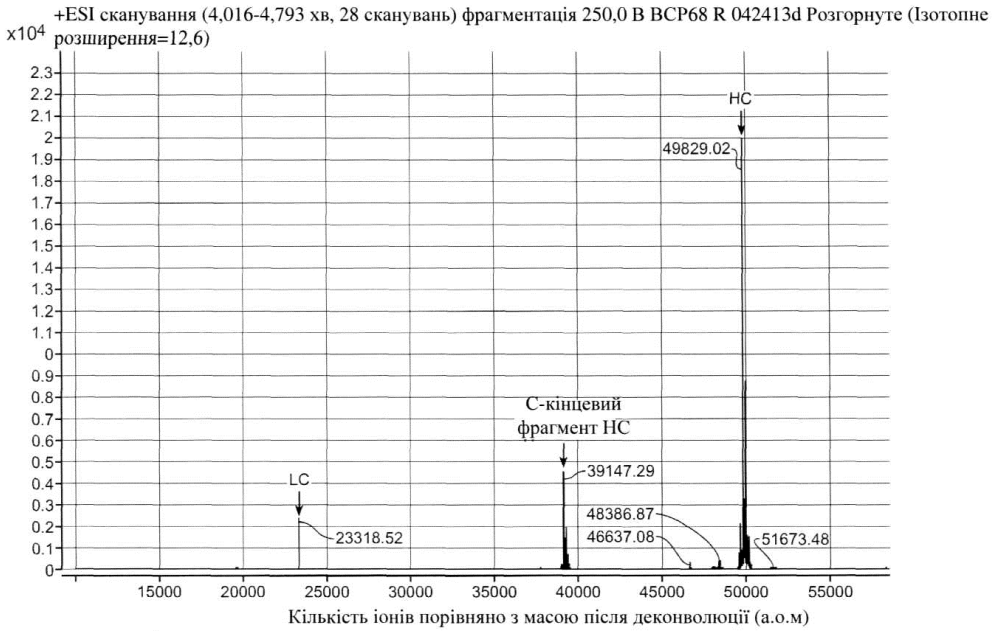
Фіг. 12A



Фіг. 12В



Фіг. 13А



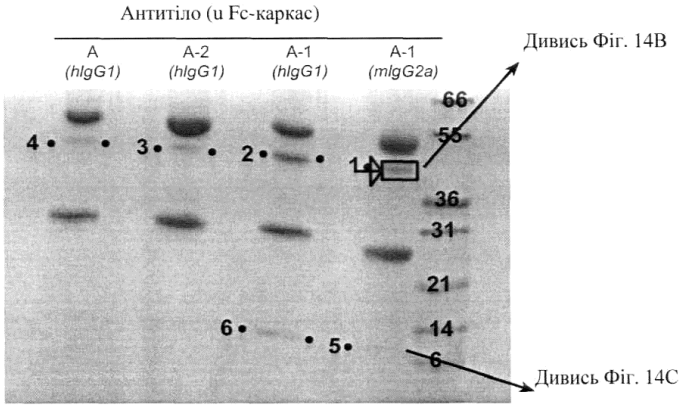
Фіг. 13B

```
1    EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS NYGIHWVRQA PGKGLEWVGW ITGNGGYSDY   60
61   ADSVKGRFTI SADTSKNTAY LQMNSLRAED TAVYYCARAG SWFAYWGQGT LVTVSSASTK  120
121  GPSVFPLAPS SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS  180
181  LSSVVTVPSS SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKKVEPKSCD KTHTCPPCPA PELLGGPSVF  240
241  LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQYNSTYR  300
301  VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNKALPAP IEKTISKAKG QPREPQVYTL PPSREEMTKN  360
361  QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTPPVLDSD GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN  420
421  VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPG     445
```

SEQ ID NO: 108

=CDR

Фіг. 13C



Фіг. 14A

Результати секвенування																
Цикл/прогін	1/3	2/4	3/5	4/6	5/7	6/8	7/9	8/10	9/11	10/12	11/13	12/14	13/15	14/16	15/17	
Послідовн. 1	S 0.527	L 0.785	F	A 0.745	Y 1.177	-	G 0.166	Q 0.377	G 0.206	T 0.231	L 0.241	V 0.231	(T) 0.162	V 0.109	-	SEQ ID NO: 109

p1.PUR42676

```
  1  MGWSCIILFLVATATGAYAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGIHWVRQAPGKGLEWVGWITPDGGYTDYA
                         |
 81  DSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARAGSLFAYWGQGTLVTVSSASTKGPSVYPLAPVCGDTTGSSVTL
                                            120------------
161  GCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIK
241  PCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRV
321  VSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEBEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWT
401  NNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGKMGWSCIILFLVATAT
481  GVHSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS
561  SLQPEDFATYYCQQYYTTATTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQ
641  NGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC          SEQ ID NO: 110
```

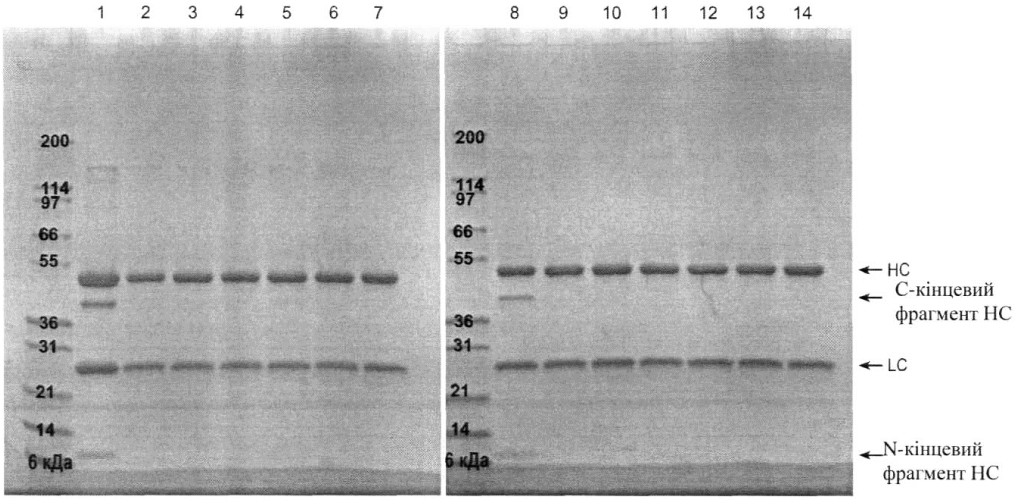
Фіг. 14B

Результати секвенування																
Цикл/прогін	1/20	2/21	3/22	4/23	5/24	6/25	7/26	8/27	9/28	10/29	11/30	12/31	13/32	14/33	15/34	
Послідовн. 1	E 0.704	V 0.761	Q 0.500	L 0.754	V 0.579	E 0.411	S 0.319	G 0.473	G 0.573	G 0.632	L 0.380	V 0.238	Q 0.265	P 0.443	G	SEQ ID NO: 111

p1.PUR42676

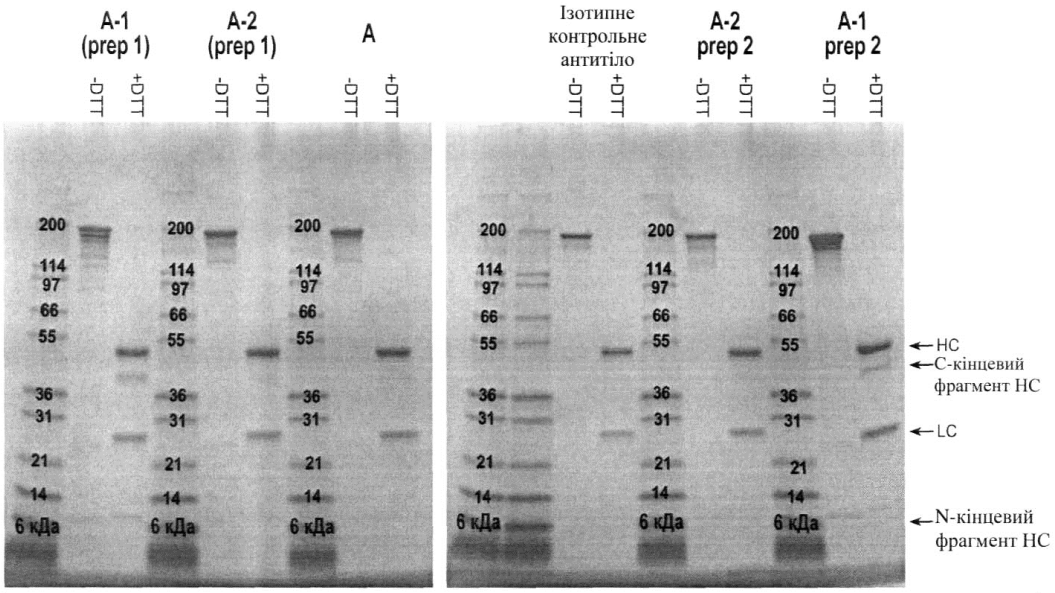
```
  1  MGWSCIILFLVATATGAYAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGIHWVRQAPGKGLEWVGWITPDGGYTDYA
                         |0-------------
 81  DSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARAGSLFAYWGQGTLVTVSSASTKGPSVYPLAPVCGDTTGSSVTL
161  GCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIK
241  PCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRV
321  VSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWT
401  NNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGKMGWSCIILFLVATAT
481  GVHSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS
561  SLQPEDFATYYCQQYYTTATTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQ
641  NGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC          SEQ ID NO: 110
```

Фіг. 14C

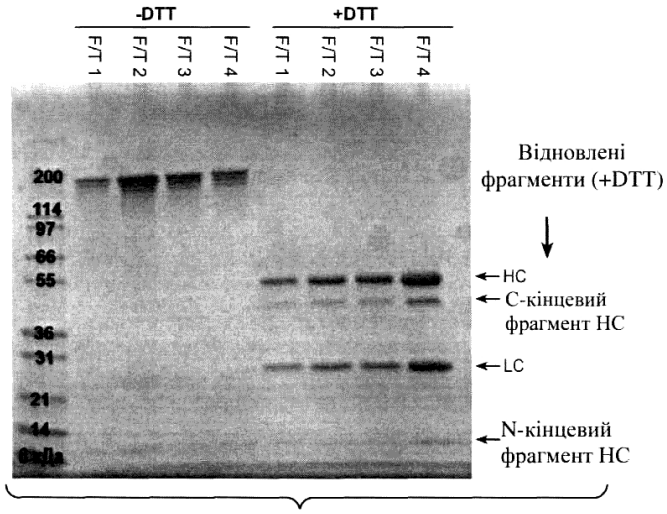


1. A-1 (S101, дикий тип)
2. A-1 S101D
3. A-1 S101E
4. A-1 S101G
5. A-1 S101H
6. A-1 S101I
7. A-1 S101K
8. A-1 (S101, дикий тип)
9. A-1 S101L
10. A-1 S101N
11. A-1 S101Q
12. A-1 S101R
13. A-1 S101T
14. A-1 S101V

Фіг. 15



Фіг. 16А



Фіг. 17А

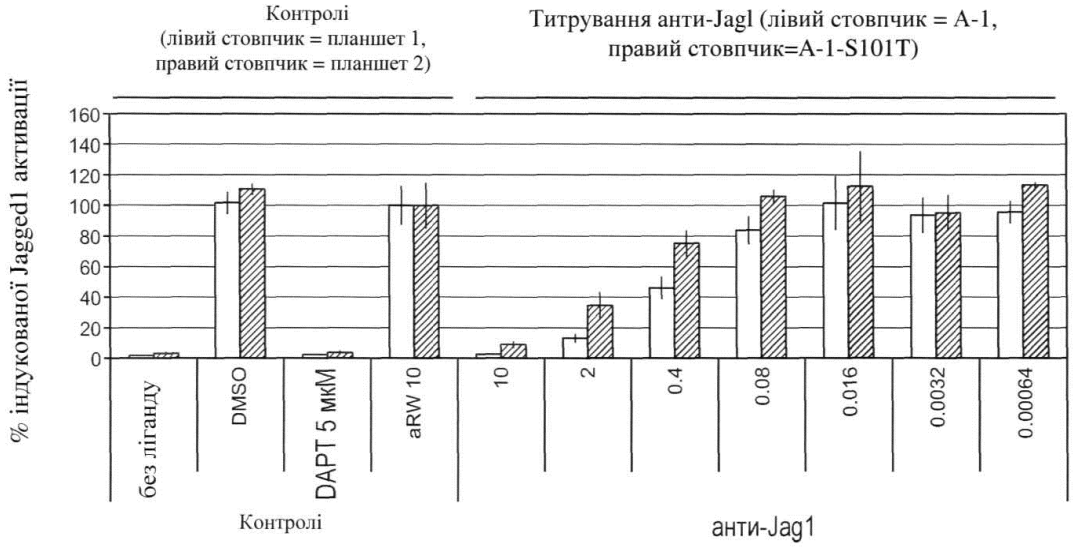
% вміст С-кінцевого

	% вміст С-кінцевого фрагмента HC	
	70°	95°
A-1 (Prep 1)	24.2	27.0
A-2 (Prep 2)	5.1	6.0
A-2 (Prep 2)	3.7	4.4
A	7.1	8.2
A-1 (Prep 2)	18.4	14.4

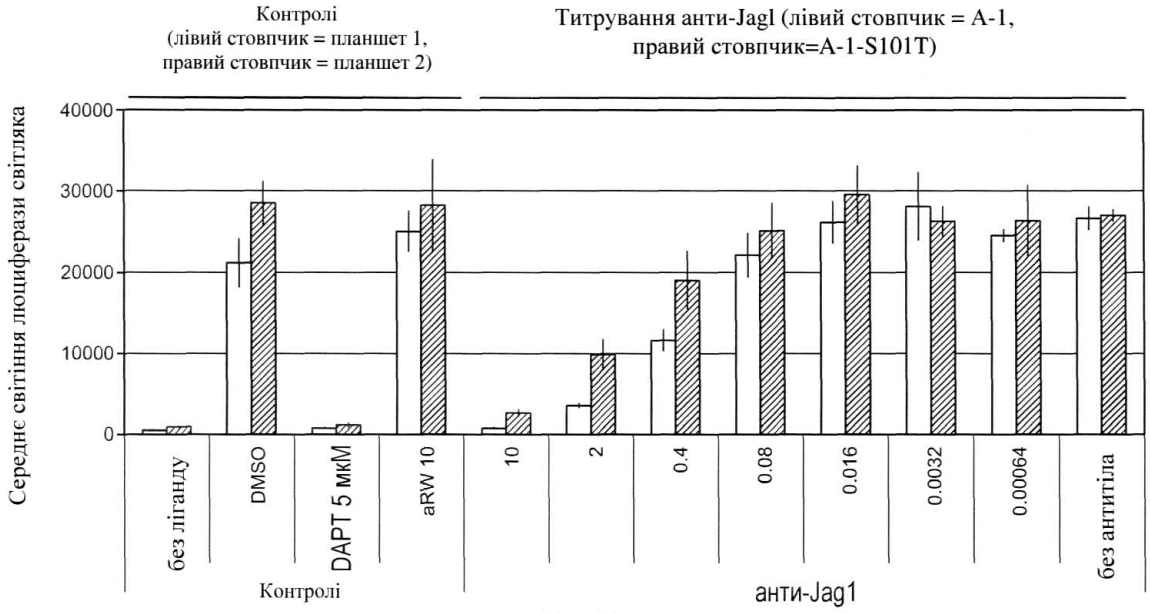
Фіг. 16В

	% вміст С-кінцевого фрагмента НС
F/T 1	14.8
F/T 2	14.1
F/T 3	14.8
F/T 4	19.6

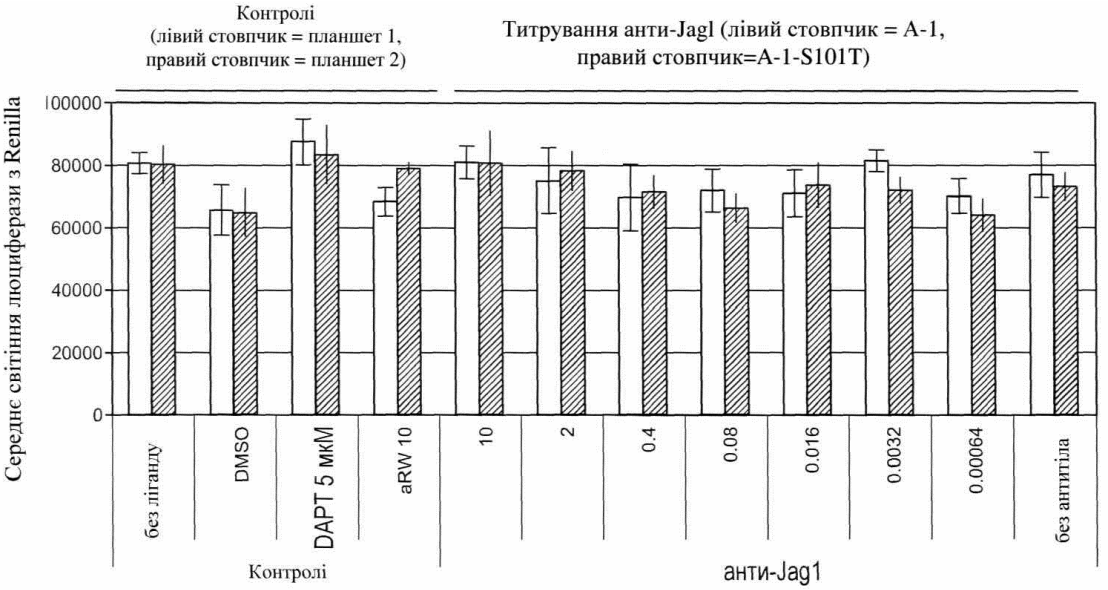
Фіг. 17В



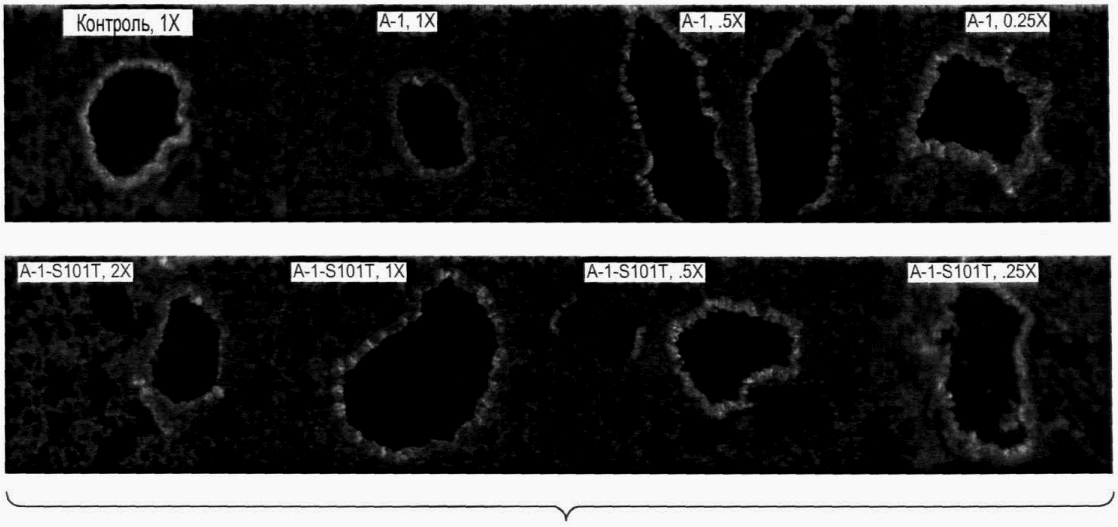
Фіг. 18А



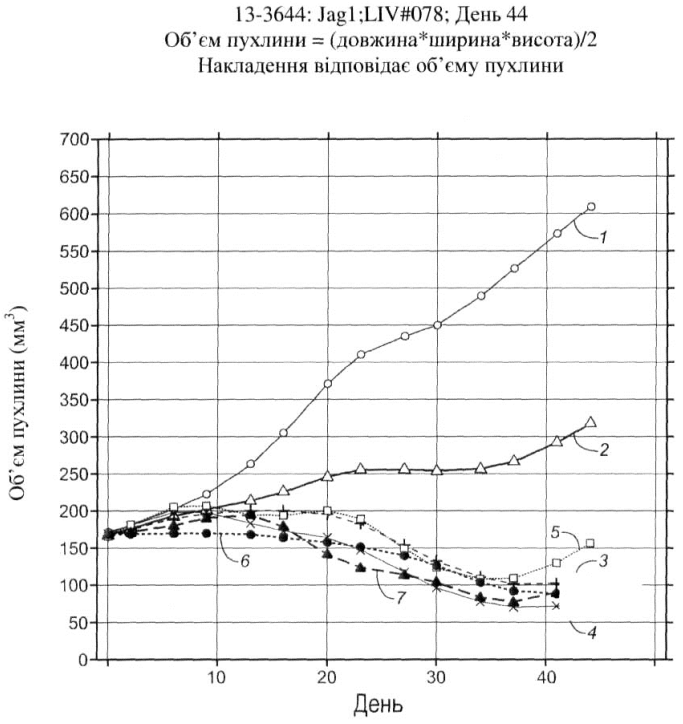
Фіг. 18В



Фіг. 18C



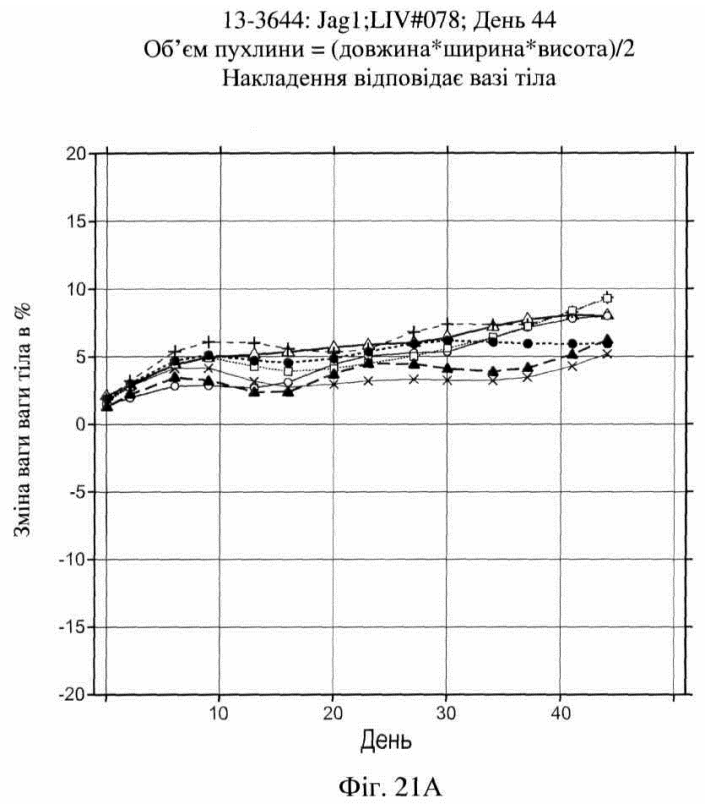
Фіг. 19



Фіг. 20А

#	Назва групи	Доза (мг/кг)	Об'м в ост. день	AUC/день, %TGI (нижнє, верхнє)	TTP 2X	PR
1	Анти-амброзія (контроль ізотипу)	10	610	0 (0, 0)	18.5	0
2	Анти-Jag1 A-1-S101T	3	318	65 (3, 93)	Немає даних	0
3	Анти-Jag1 A-1-S101T	10	106	103 (80, 129)	Немає даних	7
4	Анти-Jag1 A-1-S101T	30	76	114 (95, 142)	Немає даних	7
5	Анти-Jag1 A-1-S101T(один раз на три тижні)	30	156	100 (73, 124)	Немає даних	5
6	Анти-Jag1 A-1-DANG(без ефекторної функції)	10	88	114 (94, 144)	Немає даних	6
7	Анти-Jag1 A-1	10	109	115 (92, 146)	Немає даних	6

Фіг. 20В



Фіг. 21A

#	Назва групи	Доза (мг/кг)	%ВТ в ост. день	Макс. %ВТ	День макс. %ВТ	AUC/день, (нижнє, верхнє)
1	Анти-амброзія (контроль ізотипу)	10	7.48	8.69	41	213 (129,338)
2	Анти-Jag1 A-1-S101T	3	7.84	8.71	37	77 (26, 137)
3	Анти-Jag1 A-1-S101T	10	9.53	9.53	44	15 (-24, 64)
4	Анти-Jag1 A-1-S101T	30	5.08	5.5	2	-11 (-47, 24)
5	Анти-Jag1 A-1-S101T (один раз на три тижні)	30	8.72	9.13	41	33 (-9, 87)
6	Анти-Jag1 A-1-DANG(без ефекторної функції)	10	5.94	7.45	37	-10 (-52, 36)
7	Анти-Jag1 A-1	10	6.29	6.29	44	-13 (52, 25)

Фіг. 21B

Послідовності CDR за визначенням Кабата підкреслені

Варіабельна область легкого ланцюга

CDRL1-Обл.контакту
CDR L1 - Chothia
CDR L1 - Kabat

Нумерація за Кабатом 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42
A-1 (S101T) D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C R A S Q D V S T A V A W Y Q Q K P G K

CDRL2-Обл.контакту
CDR L2 - Chothia
CDR L2 - Kabat

Нумерація за Кабатом 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84
A-1 (S101T) A P K L L I Y S A S F L Y S G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A

CDRL3-Обл.контакту
CDR L3 - Chothia
CDR L3 - Kabat

Нумерація за Кабатом 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99 100 101 102 103 104 105 106 107
A-1 (S101T) T Y Y C Q Q Y Y T T A T T F G Q G T K V E I K **SEQ ID NO: 34**

Фіг. 22А

Варіабельна область важкого ланцюга

CDRH1-Обл.контакту
CDR H1 - Chothia
CDR H1 - Kabat

Нумерація за Кабатом 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42
A-1 (S101T) E V Q L V E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F S N Y G I H W V R Q A P G

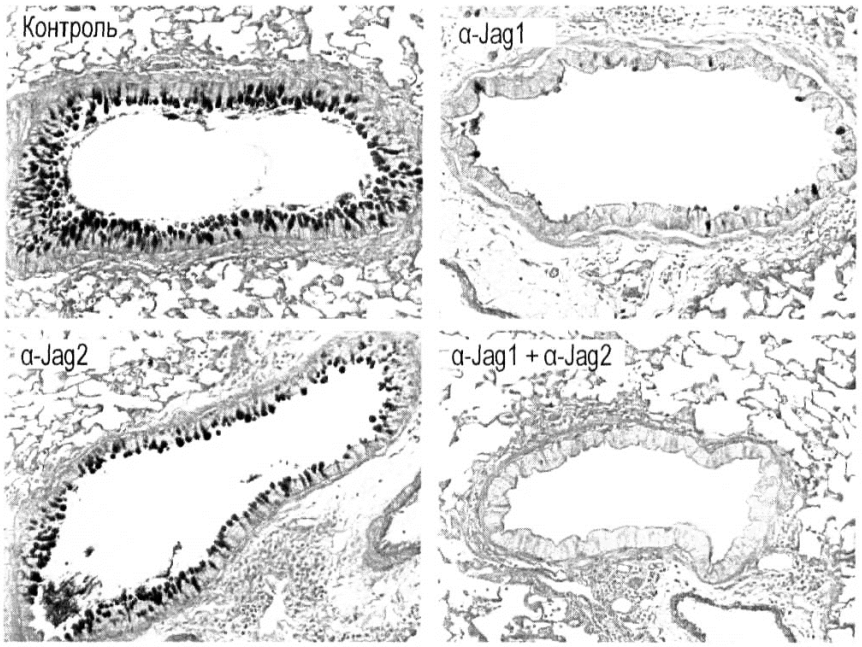
CDRH2-Обл.контакту
CDR H2 - Chothia
CDR H2 - Kabat

Нумерація за Кабатом 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 52a 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 82a
A-1 (S101T) K G L E W V G W I T P D G G Y T D Y A D S V K G R F T I S A D T S K N T A Y L Q M N

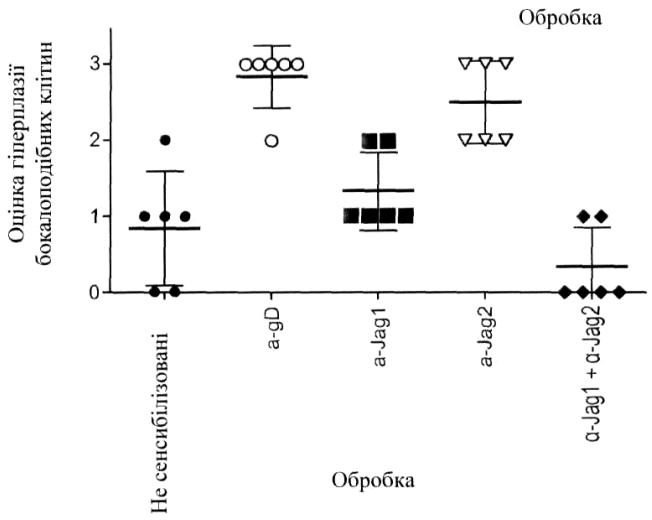
CDRH3-Обл.контакту
CDR H3 - Chothia
CDR H3 - Kabat

Нумерація за Кабатом 82b 82c 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99 101 102 103 104 105 106 107 108 109 110 111 112 113
A-1 (S101T) S L R A E D T A V Y Y C A R A G T L F A Y W G Q G T L V T V S S **SEQ ID NO: 33**

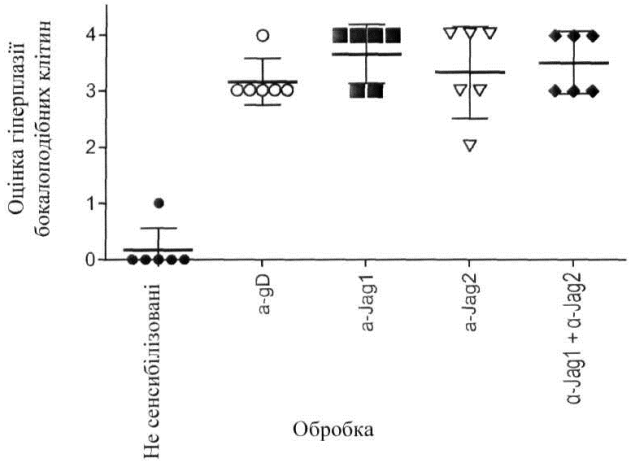
Фіг. 22В



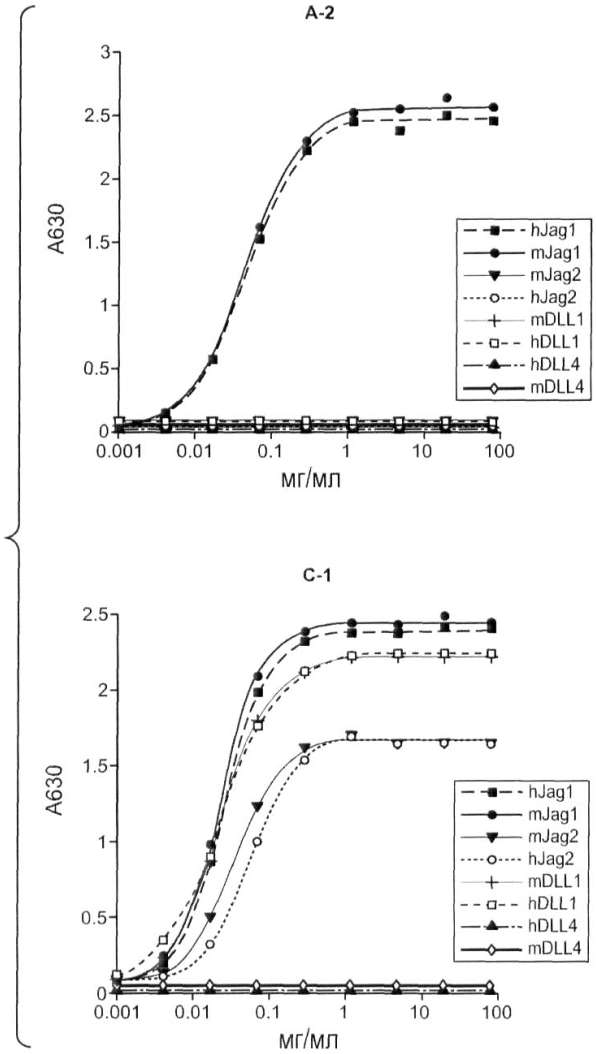
Фіг. 23А



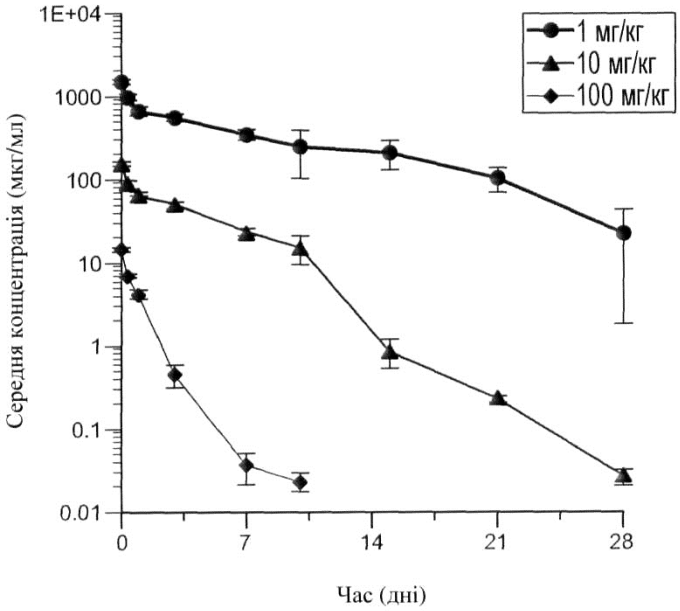
Фіг. 23B



Фіг. 23C


A-2
A630
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
мг/мл
hJag1
mJag1
mJag2
hJag2
mDLL1
hDLL1
hDLL4
mDLL4
C-1
A630
2.5
2
1.5
1
0.5
0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
мг/мл
hJag1
mJag1
mJag2
hJag2
mDLL1
hDLL1
hDLL4
mDLL4

Фіг. 24



Фіг. 25

Комп'ютерна верстка Л. Литвиненко

Міністерство розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України,
вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601