



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **122395** (13) **C2**
(51) МПК (2020.01)

C07K 16/28 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61K 39/00

A61P 37/02 (2006.01)

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
"УКРАЇНСЬКИЙ ІНСТИТУТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ"

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

<p>(21) Номер заявки: а 2017 02456</p> <p>(22) Дата подання заявки: 17.08.2015</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: 11.11.2020</p> <p>(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 62/038,912, 62/126,733</p> <p>(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 19.08.2014, 02.03.2015</p> <p>(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: US, US</p> <p>(41) Публікація відомостей про заявку: 25.09.2017, Бюл.№ 18</p> <p>(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: 10.11.2020, Бюл.№ 21</p> <p>(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: PCT/US2015/045447, 17.08.2015</p>	<p>(72) Винахідник(и): Вільямс Сибіл М. Г. (US), Лафейс Дрейк (US), Фаядат-Дилман Лоренс (US), Рагхунатхан Гопалан (US), Лян Лінда (US), Сеґеці Вольфганг (US)</p> <p>(73) Володілець (володільці): МЕРК ШАРП ЕНД ДОУМ КОРП., 126 East Lincoln Avenue, Rahway, New Jersey 07065-0907, United States of America (US)</p> <p>(74) Представник: Бочаров Максим Анатолійович, реєстр. №367</p> <p>(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: WO2009126688 A2, 15.10.2009 WO2014089169 A2, 12.06.2014 JOHNSTON ROBERT J et al. The immunoreceptor TIGIT regulates antitumor and antiviral CD8-hT CELL effector function. Cancer cell, Cell press, US, 2014, Vol. 26, no. 6, P. 923 – 937 LOZANO E. et al. The TIGIT/CD226 axis regulates human T cell function. The journal of immunology, 2012, Vol. 188, no. 8, P. 3869 – 3875 STANIETSKY N. et al. The interaction of TIGIT with PVRL2 inhibits human NK cell cytotoxicity. Proceedings of the national academy of sciences, 2009, Vol. 106, no. 42, P. 17858 – 17863 STEVEN D. LEVIN et al. Vstm3 is a member of the CD28 family and an important modulator of T-cell function. European journal of immunology, 2011, Vol. 41, no. 4, P. 902 – 915</p>
--	---

(54) АНТИТІЛО ПРОТИ TIGIT

(57) Реферат:

Винахід стосується антитіла проти TIGIT, а також застосування такого антитіла у лікуванні захворювань, таких як злоякісна пухлина й інфекційне захворювання.

UA 122395 C2

СПИСОК ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

Дана заявка містить список послідовностей, прийнятий в електронній формі у форматі ASCII, і його повний зміст, таким чином, приведений як посилання. Вказана копія у форматі ASCII, створена 27 липня 2015 р., названа 23808-US-PCT_SL.txt і її розмір складає 136039 байтів.

ГАЛУЗЬ ТЕХНІКИ, ДО ЯКОЇ НАЛЕЖИТЬ ВІНАХІД

Даний винахід стосується антитіл проти TIGIT, а також застосування цих антитіл у лікуванні захворювань, таких як злоякісна пухлина й інфекційне захворювання.

РІВЕНЬ ТЕХНІКИ ДЛЯ ВІНАХОДУ

Ключовий фактор для забезпечення імунотерапії пухлин виник у результаті відкриттів, що інгібувальні імунomodуючі рецептори (IMR), які звичайно функціонують як імунні контрольні точки для підтримки ауто толерантності, є центральними для здатності мікрооточення пухлин ухилятися від імунітету. Блокування інгібувальних IMR, очевидно, викликає сильні пухлиноспецифічні імунні відповіді більш ефективно, ніж пряма стимуляція протипухлинного імунітету за допомогою активувальних цитокінів або протипухлинних вакцин, і цей спосіб має потенціал для трансформації терапії злоякісних пухлин людини. Важливе значення і можливість у даний час виникає для потенціалу розробки нових антитіл-антагоністів для інших IMR і для комбінації антитіл-антагоністів проти більше ніж одного IMR для збільшення частки відповідаючих в онкологічних клінічних дослідженнях, а також для розширення онкологічних показань, при яких імунотерапія пухлин є ефективною.

Важливо, що інгібувальні IMR і ліганди, які регулюють клітинний імунітет, звичайно надекспресовані на клітинах пухлин і пухлиноасоційованих макрофагах (TAM). Варто уваги, що надекспресія PD-L1 у пухлинах асоційована з виснаженням пухлиноспецифічних Т-клітин і несприятливим прогнозом. Блокування лігування PD-1/PD-L1 у клінічних дослідженнях приводило до відповідей тривалої регресії пухлин у значної частки пацієнтів. У нещодавньому повідомленні показано, що спільна експресія PD-1 і іншого інгібувального IMR (TIM-3) в пухлиноспецифічних CD8⁺ Т-клітинах, отриманих від пацієнтів з меланомою, була асоційованою з фенотипами більш дисфункціонального виснаження Т-клітин у порівнянні з клітинами, які експресують будь-який з IMR окремо. Більше того, у декількох повідомленнях з використанням доклінічних моделей пухлин показано, що блокування множини IMR, включаючи PD-1, TIM-3, LAG-3 і CTLA-4, більш ефективно індукувало протипухлинні відповіді, ніж антагонізм одного PD-1. Ці результати підкреслюють важливість подальшого дослідження шляхів IMR.

TIGIT (Т-клітинний імунорецептор з доменами Ig і ITIM) являє собою імунomodуючий рецептор, який експресується переважно на активованих Т-клітинах і клітинах NK. TIGIT відомий також як VSIG9; VSTM3; і WUCAM. У його структурі показаний один позаклітинний імунoglobulinовий домен, трансмембранна область типу 1 і два мотиви ITIM. TIGIT формує частину костимулювальної мережі, що складається з позитивних (CD226) і негативних (TIGIT) імунomodуючих рецепторів на Т-клітинах, і лігандів, які експресуються на APC (CD155 і CD112).

Важливою ознакою структури TIGIT є присутність імунорецепторного зв'язувального тирозин інгібувального мотиву (ITIM) у його цитоплазматичному хвостовому домені. Як і для PD-1 і CTLA-4, передбачено, що домен ITIM у цитоплазматичній області TIGIT призначений для залучення тирозинфосфатаз, таких як SHP-1 і SHP-2, і наступного дефосфорилювання залишків тирозину за допомогою основаних на тирозині мотивів активації імунорецептора (ITAM) на субодиницях Т-клітинного рецептора (TCR). Таким чином, лігування TIGIT за допомогою рецептора-лігандів CD155 і CD112, які експресуються клітинами пухлин, або TAMS, може вносити вклад у супресію передачі сигналів TCR і активації Т-клітин, що є необхідним для розвитку ефективного протипухлинного імунітету. Таким чином, антитіло-антагоніст, специфічне для TIGIT, може інгібувати індуковану CD155 і CD112 супресію відповідей Т-клітин і підсилювати протипухлинний імунітет. Метою даного винаходу є одержання антитіла проти TIGIT, яке можна використовувати для лікування злоякісних пухлин, або окремо, або в комбінації з іншими реагентами.

СУТЬ ВІНАХОДУ

Винахід стосується антитіл проти TIGIT і їх антигензв'язувальних фрагментів, які містять структурні і функціональні ознаки, вказані нижче.

В одному варіанті здійснення винахід стосується антитіла або його антигензв'язувального фрагмента, який зв'язується з TIGIT людини, що містить: CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 3, 79, 80, 81, 82, 83, 59, 90, 140, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166 або 167. В одному варіанті здійснення антитіла або його антигензв'язувальний фрагмент, необов'язково, має щонайменше

одну з наступних характеристик: (i) зв'язується з TIGIT людини зі значенням KD від приблизно 1×10^{-9} М до приблизно 1×10^{-12} М, як визначено за допомогою поверхневого плазмонного резонансу (наприклад, BIACORE) або подібного способу (наприклад, KinExa або OCTET); (ii) вступає в перехресну реакцію з TIGIT яванської макаки і макаки-резусу; (iii) блокує зв'язування TIGIT людини з CD155 людини і CD112 людини; (iv) збільшує активацію Т-клітин; (v) стимулює продукцію IL-2 і IFN γ антигенспецифічними Т-клітинами; (vi) блокує індукцію супресії активації Т-клітин, індуковану лігуванням TIGIT зі спорідненими лігандами CD155 і CD112.

В іншому варіанті здійснення винахід стосується антитіла або його антигензв'язувального фрагмента, який зв'язується з TIGIT людини, що містить: CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 6, 62, 74, 75, 76, 77, 78 або 93. В одному варіанті здійснення антитіла, необов'язково, має щонайменше одну з наступних характеристик: (i) зв'язується з TIGIT людини зі значенням KD від приблизно 1×10^{-9} М до приблизно 1×10^{-12} М, як визначено за допомогою поверхневого плазмонного резонансу (наприклад, BIACORE) або подібного способу (наприклад, KinExa або OCTET); (ii) вступає в перехресну реакцію з TIGIT яванської макаки і макаки-резусу; (iii) блокує зв'язування TIGIT людини з CD155 людини і CD112 людини; (iv) збільшує активацію Т-клітин; (v) стимулює продукцію IL-2 і IFN γ антигенспецифічними Т-клітинами; (vi) блокує індукцію супресії активації Т-клітин, індуковану лігуванням TIGIT зі спорідненими лігандами CD155 і CD112.

В іншому варіанті здійснення винахід стосується антитіла або його антигензв'язувального фрагмента, який зв'язується з TIGIT людини, що містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 2; і (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 140. В одному варіанті здійснення антитіла або його антигензв'язувальний фрагмент містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 2; і (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 3, 79, 80, 81, 82 або 83. В одному варіанті здійснення антитіла або його антигензв'язувальний фрагмент містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 2; і (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 3. В одному варіанті здійснення антитіла або його антигензв'язувальний фрагмент, необов'язково, має щонайменше одну з наступних характеристик: (i) зв'язується з TIGIT людини зі значенням KD від приблизно 1×10^{-9} М до приблизно 1×10^{-12} М, як визначено за допомогою поверхневого плазмонного резонансу (наприклад, BIACORE) або подібного способу (наприклад, KinExa або OCTET); (ii) вступає в перехресну реакцію з TIGIT яванської макаки і макаки-резусу; (iii) блокує зв'язування TIGIT людини з CD155 людини і CD112 людини; (iv) збільшує активацію Т-клітин; (v) стимулює продукцію IL-2 і IFN γ антигенспецифічними Т-клітинами; (vi) блокує індукцію супресії активації Т-клітин, індуковану лігуванням TIGIT зі спорідненими лігандами CD155 і CD112.

В іншому варіанті здійснення винахід стосується антитіла або його антигензв'язувального фрагмента, який зв'язується з TIGIT людини, що містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 57; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 58; і (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 59. В одному варіанті здійснення антитіла або його антигензв'язувальний фрагмент, необов'язково, має щонайменше одну з наступних характеристик: (i) зв'язується з TIGIT людини зі значенням KD від приблизно 1×10^{-9} М до приблизно 1×10^{-12} М, як визначено за допомогою поверхневого плазмонного резонансу (наприклад, BIACORE) або подібного способу (наприклад, KinExa або OCTET); (ii) вступає в перехресну реакцію з TIGIT яванської макаки і макаки-резусу; (iii) блокує зв'язування TIGIT людини з CD155 людини і CD112 людини; (iv) збільшує активацію Т-клітин; (v) стимулює продукцію IL-2 і IFN γ антигенспецифічними Т-клітинами; (vi) блокує індукцію супресії активації Т-клітин, індуковану лігуванням TIGIT зі спорідненими лігандами CD155 і CD112.

В іншому варіанті здійснення винахід стосується антитіла або його антигензв'язувального фрагмента, який зв'язується з TIGIT людини, що містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 147; і (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 153. В одному варіанті здійснення антитіла або його антигензв'язувальний фрагмент містить: (i)

[illegible]

фрагмент містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 134; і (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 164. В одному варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 134; і (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 165. В одному варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 134; і (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 166. В одному варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 134; і (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 167. В одному варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент, необов'язково, має щонайменше одну з наступних характеристик: (i) зв'язується з TIGIT людини зі значенням KD від приблизно 1×10^{-9} М до приблизно 1×10^{-12} М, як визначено за допомогою поверхневого плазмонного резонансу (наприклад, BIACORE) або подібного способу (наприклад, KinExa або OCTET); (ii) вступає в перехресну реакцію з TIGIT яванської макаки і макаки-резусу; (iii) блокує зв'язування TIGIT людини з CD155 людини і CD112 людини; (iv) збільшує активацію Т-клітин; (v) стимулює продукцію IL-2 і IFN γ антигенспецифічними Т-клітинами; (vi) блокує індукцію супресії активації Т-клітин, індуковану лігуванням TIGIT зі спорідненими лігандами CD155 і CD112.

В іншому варіанті здійснення винахід стосується антитіла або його антигензв'язувального фрагмента, який зв'язується з TIGIT людини, що містить: (i) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 4; (ii) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 141; і (iii) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 142. В одному варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент містить: (i) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 4; (ii) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 5, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72 або; і (iii) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, утримуючу амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 6, 74, 75, 76, 77 або 78. В одному варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент містить: (i) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 4; (ii) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 5; і (iii) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 6. В одному варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент, необов'язково, має щонайменше одну з наступних характеристик: (i) зв'язується з TIGIT людини зі значенням KD від приблизно 1×10^{-9} М до приблизно 1×10^{-12} М, як визначено за допомогою поверхневого плазмонного резонансу (наприклад, BIACORE) або подібного способу (наприклад, KinExa або OCTET); (ii) вступає в перехресну реакцію з TIGIT яванської макаки і макаки-резусу; (iii) блокує зв'язування TIGIT людини з CD155 людини і CD112 людини; (iv) збільшує активацію Т-клітин; (v) стимулює продукцію IL-2 і IFN γ антигенспецифічними Т-клітинами; (vi) блокує індукцію супресії активації Т-клітин, індуковану лігуванням TIGIT зі спорідненими лігандами CD155 і CD112.

В іншому варіанті здійснення винахід стосується антитіла або його антигензв'язувального фрагмента, який зв'язується з TIGIT людини, що містить: (i) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 60; (ii) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 61; і (iii) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 62. В одному варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент, необов'язково, має щонайменше одну з наступних характеристик: (i) зв'язується з TIGIT людини зі значенням KD від приблизно 1×10^{-9} М до приблизно 1×10^{-12} М, як визначено за допомогою поверхневого плазмонного резонансу (наприклад, BIACORE) або подібного способу (наприклад, KinExa або OCTET); (ii) вступає в перехресну реакцію з TIGIT яванської макаки і макаки-резусу; (iii) блокує зв'язування TIGIT людини з CD155 людини і CD112 людини; (iv) збільшує активацію Т-клітин; (v)

стимулює продукцію IL-2 і IFN γ антигенспецифічними Т-клітинами; (vi) блокує індукцію супресії активації Т-клітин, індуковану лігуванням TIGIT зі спорідненими лігандами CD155 і CD112.

В іншому варіанті здійснення винахід стосується антитіла або його антигензв'язувального фрагмента, який зв'язується з TIGIT людини, що містить: (i) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 91; (ii) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 148; і (iii) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 93. В одному варіанті здійснення антитіла або його антигензв'язувальний фрагмент містить: (i) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 91; (ii) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 92, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121 або 122; і (iii) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 93. В одному варіанті здійснення антитіла або його антигензв'язувальний фрагмент містить: (i) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 91; (ii) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 92; і (iii) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 93. В одному варіанті здійснення антитіла або його антигензв'язувальний фрагмент, необов'язково, має щонайменше одну з наступних характеристик: (i) зв'язується з TIGIT людини зі значенням KD від приблизно 1×10^{-9} М до приблизно 1×10^{-12} М, як визначено за допомогою поверхневого плазмонного резонансу (наприклад, BIACORE) або подібного способу (наприклад, KinExa або OCTET); (ii) вступає в перехресну реакцію з TIGIT яванської макаки і макаки-резусу; (iii) блокує зв'язування TIGIT людини з CD155 людини і CD112 людини; (iv) збільшує активацію Т-клітин; (v) стимулює продукцію IL-2 і IFN γ антигенспецифічними Т-клітинами; (vi) блокує індукцію супресії активації Т-клітин, індуковану лігуванням TIGIT зі спорідненими лігандами CD155 і CD112.

В іншому варіанті здійснення винахід стосується антитіла або його антигензв'язувального фрагмента, що зв'язується з TIGIT людини, що містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 2; (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 140; (iv) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 4; (v) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 141; і (vi) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 142.

В одному варіанті здійснення антитіла або його антигензв'язувальний фрагмент містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 2; (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 3, 79, 80, 81, 82 або 83; (iv) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 4; (v) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 5, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72 або 73; і (vi) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 6, 74, 75, 76, 77 або 78. В одному варіанті здійснення антитіла або його антигензв'язувальний фрагмент містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 2; (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 3; (iv) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 4; (v) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 5; і (vi) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 6. В одному варіанті здійснення антитіла або його антигензв'язувальний фрагмент є гуманізованим. В одному варіанті здійснення антитіла або його антигензв'язувальний фрагмент містить варіабельну область важкого ланцюга, вибрану з групи, яка складається з SEQ ID NO: 9-24, 37-47, 143 і 144; і варіабельну область легкого ланцюга, вибрану з групи, яка складається з SEQ ID NO: 25-30, 48-52, 146 і 147. В одному варіанті здійснення антитіла або його антигензв'язувальний фрагмент, необов'язково, має щонайменше одну з наступних характеристик: (i) зв'язується з TIGIT людини зі значенням KD від приблизно 1×10^{-9} М до приблизно 1×10^{-12} М, як визначено за допомогою поверхневого плазмонного резонансу (наприклад, BIACORE) або подібного способу (наприклад, KinExa або OCTET); (ii) вступає в перехресну реакцію з TIGIT яванської макаки і макаки-резусу; (iii) блокує

зв'язування TIGIT людини з CD155 людини і CD112 людини; (iv) збільшує активацію Т-клітин; (v) стимулює продукцію IL-2 і IFN γ антигенспецифічними Т-клітинами; (vi) блокує індукцію супресії активації Т-клітин, індуковану лігуванням TIGIT зі спорідненими лігандами CD155 і CD112.

В іншому варіанті здійснення винахід стосується антитіла або його антигензв'язувального фрагмента, який зв'язується з TIGIT людини, що містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 2; (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 3, 79, 80, 81, 82 або 83; (iv) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 4; (v) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 5, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72 або 73; і (vi) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 6, 74, 75, 76, 77 або 78; де антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент містить варіабельну область важкого ланцюга, що має щонайменше 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентичність з варіабельною областю важкого ланцюга, вибраної з групи, яка складається з SEQ ID NO: 9-24 або 37-47, і варіабельну область легкого ланцюга, що має щонайменше 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентичність з варіабельною областю важкого ланцюга, вибраною з групи, яка складається з SEQ ID NO: 25-30 або 48-52. У цьому вказаному вище варіанті здійснення, варіанти послідовності зустрічаються в каркасних областях. В одному варіанті здійснення антитіло зв'язується з TIGIT людини зі значенням KD від приблизно 1×10^{-9} М до приблизно 1×10^{-12} М, як визначено за допомогою поверхневого плазмонного резонансу (наприклад, BIACORE) або подібного способу (наприклад, KinExa або OCTET).

В іншому варіанті здійснення винахід стосується також антитіла або його антигензв'язувального фрагмента, який зв'язується з TIGIT людини, що містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 2; (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 3; (iv) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 4; (v) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 5; і (vi) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 6. В одному варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент містить 1, 2 або 3 амінокислотні заміни в CDR важкого ланцюга (SEQ ID NO: 1-3) або в CDR легкого ланцюга (SEQ ID NO: 3-6). В одному варіанті здійснення антитіло містить одну амінокислотну заміну в CDR важкого ланцюга з SEQ ID NO: 3, де заміна виконана в положенні 13W, і де залишок 13W замінений на: F, Y, I, V або L. В одному варіанті здійснення антитіло містить двох амінокислотних замін у CDR легкого ланцюга з SEQ ID NO: 5, де заміни виконані в положенні 3-4, і де залишки 3N і 4S замінені на: SN, SS, ST, TT, SY, NQ, GS, SQ і DS. В одному варіанті здійснення антитіло містить одну амінокислотну заміну в CDR легкого ланцюга з SEQ ID NO: 6, де заміна виконана в положенні 7, і де залишок 7W замінений на: F, Y, I, V або L. Послідовності VH з SEQ ID NO: 9-24 і 37-47 мають CDR з SEQ ID NO: 1-3; і послідовності VL з SEQ ID NO: 25-30 і 48-52 мають CDR з SEQ ID NO: 4-6. У деяких варіантах здійснення заміни в CDR, описані вище, можна виконувати у відповідних CDR з послідовностей VH з SEQ ID NO: 9-24 і 37-37, і в CDR з послідовностей VL з SEQ ID NO: 25-30 і 48-52. В одному варіанті здійснення антитіло зв'язується з TIGIT людини зі значенням KD від приблизно 1×10^{-9} М до приблизно 1×10^{-12} М, як визначено за допомогою поверхневого плазмонного резонансу (наприклад, BIACORE) або подібного способу (наприклад, KinExa або OCTET).

В іншому варіанті здійснення винахід стосується антитіла або його антигензв'язувального фрагмента, який зв'язується з TIGIT людини, що містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 57; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 58; (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 59; (iv) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 60; (v) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 61; і (vi) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 62. В одному варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент є гуманізованим. В одному варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент містить 1, 2 або 3 амінокислотні заміни в CDR важкого ланцюга (SEQ ID NO: 57-59) або в CDR легкого ланцюга (SEQ ID NO: 60-62), і зберігає одну або декілька з його функціональних характеристик. В одному варіанті здійснення антитіло або його

антигензв'язувальний фрагмент необов'язково має щонайменше одну з наступних функціональних характеристик: (i) зв'язується з TIGIT людини зі значенням KD від приблизно 1×10^{-9} М до приблизно 1×10^{-12} М, як визначено за допомогою поверхневого плазмонного резонансу (наприклад, BIACORE) або подібного способу (наприклад, KinExa або OCTET), (ii) вступає в перехресну реакцію з TIGIT яванської макаки і макаки-резусу; (iii) блокує зв'язування TIGIT людини з CD155 людини і CD112 людини; (iv) збільшує активацію Т-клітин; (v) стимулює продукцію IL-2 і IFN γ антигенспецифічними Т-клітинами; (vi) блокує індукцію супресії активації Т-клітин, індуковану лігуванням TIGIT зі спорідненими лігандами CD155 і CD112.

В іншому варіанті здійснення винахід стосується також антитіла або його антигензв'язувального фрагмента, який зв'язується з TIGIT людини, що містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 147; (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 153; (iv) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 148; і (vi) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 93. В одному варіанті здійснення антитіла або його антигензв'язувальний фрагмент містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 89, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 134 або 135; (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 90, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166 або 167; (iv) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 92, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121 або 122; і (vi) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 93. В одному варіанті здійснення антитіла або його антигензв'язувальний фрагмент містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 89, 134 або 135; (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 92; і (vi) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 93. В одному варіанті здійснення антитіла або його антигензв'язувальний фрагмент містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 134; (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 92; і (vi) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 93. В одному варіанті здійснення антитіла або його антигензв'язувальний фрагмент є гуманізованим. В одному варіанті здійснення антитіла або його антигензв'язувальний фрагмент містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 134; (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 154; (iv) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 92; і (vi) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 93. В одному варіанті здійснення антитіла або його антигензв'язувальний фрагмент є гуманізованим. В одному варіанті здійснення антитіла або його антигензв'язувальний фрагмент містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 134; (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 155; (iv) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 92; і (vi) CDR3 варіабельної області

[illegible]

[illegible]

амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 89; (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 92; і (vi) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 93. В одному варіанті здійснення антитіло містить одну амінокислотну заміну в CDR2 важкого ланцюга з SEQ ID NO: 89, де заміна виконана в положенні 7, і де залишок D замінений на: R, L, K, F, S, Y або V. В іншому варіанті здійснення антитіло містить одну амінокислотну заміну в CDR2 важкого ланцюга з SEQ ID NO: 89, де заміна виконана в положенні 8, і де залишок G замінений на: R, N, Q, E, L K, S, Y або V. В іншому варіанті здійснення антитіло містить одну амінокислотну заміну в CDR2 важкого ланцюга з SEQ ID NO: 89, де заміна виконана в положенні 12, де N замінений на: A або S. В іншому варіанті здійснення антитіло містить одну амінокислотну заміну в CDR2 важкого ланцюга з SEQ ID NO: 89, де заміна виконана в положенні 13, де E замінений на Q. В іншому варіанті здійснення антитіло містить одну амінокислотну заміну в CDR2 важкого ланцюга з SEQ ID NO: 89, де заміна виконана в положенні 16, де K замінений на Q. В іншому варіанті здійснення антитіло містить три амінокислотних заміни в CDR2 важкого ланцюга з SEQ ID NO: 89, де амінокислотний залишок 12 замінений на: A або S, амінокислотний залишок 13 замінений на Q, і амінокислотний залишок 16 замінений на Q. В одному варіанті здійснення антитіло містить одну амінокислотну заміну в CDR3 важкого ланцюга з SEQ ID NO: 90, де амінокислотний залишок 6 замінений на: A, D, E, F, G, I, K, N, Q, R, S, T V або Y. В іншому варіанті здійснення антитіло містить одну амінокислотну заміну в CDR легкого ланцюга з SEQ ID NO: 92, де заміна виконана в положенні 1, і де залишок N замінений на A, Y, W, S, T, R, H, G, I або V. В іншому варіанті здійснення антитіло містить одну амінокислотну заміну в CDR легкого ланцюга з SEQ ID NO: 92, де заміна виконана в положенні 2, і де залишок A замінений на N, I, L, T, V. В одному варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент є гуманізованим. В одному варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент, необов'язково, має щонайменше одну з наступних характеристик: (i) зв'язується з TIGIT людини зі значенням KD від приблизно 1×10^{-9} М до приблизно 1×10^{-12} М, як визначено за допомогою поверхневого плазмонного резонансу (наприклад, BIACORE) або подібного способу (наприклад, KinExa або OCTET), (ii) вступає в перехресну реакцію з TIGIT яванської макаки і макаки-резусу; (iii) блокує зв'язування TIGIT людини з CD155 людини і CD112 людини; (iv) збільшує активацію Т-клітин; (v) стимулює продукцію IL-2 і IFN γ антигенспецифічними Т-клітинами; (vi) блокує індукцію супресії активації Т-клітин, індуковану лігуванням TIGIT зі спорідненими лігандами CD155 і CD112.

В іншому варіанті здійснення винахід стосується також антитіла або його антигензв'язувального фрагмента, який зв'язується з TIGIT людини, що містить: варіабельну область важкого ланцюга, що містить CDR1, CDR2 і CDR3 з будь-якої з SEQ ID NO: 124-129 і/або варіабельну область легкого ланцюга, що містить CDR1, CDR2 і CDR3 з будь-якої з SEQ ID NO: 130-133. В одному варіанті здійснення винахід стосується також виділеного антитіла або його антигензв'язувального фрагмента, який зв'язується з TIGIT людини, що містить: варіабельну область важкого ланцюга, вибрану з групи, яка складається з: SEQ ID NOs: 124-129 і/або варіабельну область легкого ланцюга, вибрану з групи, яка складається з: SEQ ID NO: 130-133. В одному варіанті здійснення залишок D у положенні 56 з будь-якої з SEQ ID NO: 124-129 може бути замінений на R, L, K, F, S, Y або V. В іншому варіанті здійснення залишок G у положенні 57 з будь-якої з SEQ ID NO: 124-129 може бути замінений на R, N, Q, E, L K, S, Y або V. В одному варіанті здійснення залишок W у положенні 104 з будь-якої з SEQ ID NO: 124-129 може бути замінений на: A, D, E, F, G, I, K, N, Q, R, S, T, V або Y. В іншому варіанті здійснення залишок N у положенні 50 з будь-якої з SEQ ID NO: 130-133 може бути замінений на A, Y, W, S, T, I або V. В іншому варіанті здійснення залишок A у положенні 51 з будь-якої з SEQ ID NO: 130-133 замінений на N, I, L, T або V. В одному варіанті здійснення винахід стосується виділеного антитіла або його антигензв'язувального фрагмента, який зв'язується з TIGIT людини, що містить: варіабельну область важкого ланцюга, що містить SEQ ID NO: 128, або варіабельну область легкого ланцюга, що містить SEQ ID NO: 132. В іншому варіанті здійснення винахід стосується виділеного антитіла або його антигензв'язувального фрагмента, який зв'язується з TIGIT людини, що містить: варіабельну область важкого ланцюга, що містить SEQ ID NO: 128 або варіабельну область легкого ланцюга, що містить SEQ ID NO: 133. В іншому варіанті здійснення винахід стосується також виділеного антитіла або його антигензв'язувального фрагмента, який зв'язується з TIGIT людини, що містить: варіабельну область важкого ланцюга, що містить SEQ ID NO: 127, або варіабельну область легкого ланцюга, що містить SEQ ID NO:

допомогою поверхневого плазмонного резонансу (наприклад, BIACORE) або подібного способу (наприклад, KinExa або OCTET).

В іншому варіанті здійснення винахід стосується антитіла або його антигензв'язувального фрагмента, що містить: варіабельну область важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 144 і/або вибрану варіабельну область легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 146, де антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент зв'язується з TIGIT людини. В одному варіанті здійснення антитіло зв'язується з TIGIT людини зі значенням KD від приблизно 1×10^{-9} М до приблизно 1×10^{-12} М, як визначено за допомогою поверхневого плазмонного резонансу (наприклад, BIACORE) або подібного способу (наприклад, KinExa або OCTET).

В іншому варіанті здійснення винахід стосується антитіла або його антигензв'язувального фрагмента, що містить: варіабельну область важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 63 і/або вибрану варіабельну область легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 64, де антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент зв'язується з TIGIT людини. В одному варіанті здійснення антитіло зв'язується з TIGIT людини зі значенням KD від приблизно 1×10^{-9} М до приблизно 1×10^{-12} М, як визначено за допомогою поверхневого плазмонного резонансу (наприклад, BIACORE) або подібного способу (наприклад, KinExa або OCTET).

В іншому варіанті здійснення винахід стосується антитіла або його антигензв'язувального фрагмента, що містить: варіабельну область важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 94 і/або вибрану варіабельну область легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 95, де антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент зв'язується з TIGIT людини. В одному варіанті здійснення антитіло зв'язується з TIGIT людини зі значенням KD від приблизно 1×10^{-9} М до приблизно 1×10^{-12} М, як визначено за допомогою поверхневого плазмонного резонансу (наприклад, BIACORE) або подібного способу (наприклад, KinExa або OCTET).

В одному варіанті здійснення винахід стосується також виділеного антитіла або його антигензв'язувального фрагмента, який зв'язується з TIGIT людини, що містить: варіабельну область важкого ланцюга, що містить SEQ ID NO: 149 і/або варіабельну область легкого ланцюга, що містить SEQ ID NO: 151. В одному варіанті здійснення антитіло зв'язується з TIGIT людини зі значенням KD від приблизно 1×10^{-9} М до приблизно 1×10^{-12} М, як визначено за допомогою поверхневого плазмонного резонансу (наприклад, BIACORE) або подібного способу (наприклад, KinExa або OCTET).

В одному варіанті здійснення винахід стосується також виділеного антитіла або його антигензв'язувального фрагмента, який зв'язується з TIGIT людини, що містить: варіабельну область важкого ланцюга, що містить SEQ ID NO: 150 і/або варіабельну область легкого ланцюга, що містить SEQ ID NO: 152. В одному варіанті здійснення антитіло зв'язується з TIGIT людини зі значенням KD від приблизно 1×10^{-9} М до приблизно 1×10^{-12} М, як визначено за допомогою поверхневого плазмонного резонансу (наприклад, BIACORE) або подібного способу (наприклад, KinExa або OCTET).

В іншому варіанті здійснення винахід стосується антитіла або його антигензв'язувального фрагмента, що зв'язується з тим же епітопом TIGIT людини, що й антитіло, яке містить варіабельну область важкого ланцюга з SEQ ID NO: 7 і варіабельну область легкого ланцюга з SEQ ID NO: 8, де антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент має щонайменше одну з наступних характеристик: (i) зв'язується з TIGIT людини зі значенням KD від приблизно 1×10^{-9} М, до приблизно 1×10^{-12} М, як визначено за допомогою поверхневого плазмонного резонансу (наприклад, BIACORE) або подібного способу (наприклад, KinExa або OCTET), (ii) блокує зв'язування TIGIT людини з CD155 людини і CD112 людини; (iii) збільшує активацію Т-клітин; (iv) стимулює продукцію IL-2 і IFN γ антигенспецифічними Т-клітинами; (v) блокує індукцію супресії активації Т-клітин, індуковану лігуванням TIGIT зі спорідненими лігандами CD155 і CD112. В одному варіанті здійснення антитіло має щонайменше 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентичність послідовності з варіабельною областю важкого ланцюга і/або варіабельною областю легкого ланцюга з будь-якою з SEQ ID NO: 7-30 або 37-52. В іншому варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент містить 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 або 30 амінокислотних замін у варіабельній області важкого ланцюга з будь-якої з SEQ ID NO: 7, 9-24 і 37-47 і/або у варіабельній області легкого ланцюга з будь-якої з SEQ ID NO: 8, 25-30 і 48-52.

В одному варіанті здійснення винахід стосується антитіла або його антигензв'язувального фрагмента, що зв'язується з епітопом TIGIT людини, що містить щонайменше одну з наступних областей: залишки 54-57 з SEQ ID NO: 31, залишки 68-70 з SEQ ID NO: 31 і залишки 76-81 з SEQ

ID NO: 31. В одному варіанті здійснення винахід стосується антитіла або його антигензв'язувального фрагмента, що зв'язується з епітопом TIGIT людини, що містить залишки: 54-57, 68-70 і 76-81 з SEQ ID NO:31.

В іншому варіанті здійснення винахід стосується антитіла або його антигензв'язувального фрагмента, що зв'язується з тим же епітопом TIGIT людини, що й антитіло, яке містить варіабельну область важкого ланцюга з SEQ ID NO: 63 і варіабельну область легкого ланцюга з SEQ ID NO: 64, де антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент має щонайменше одну з наступних характеристик: (i) зв'язується з TIGIT людини зі значенням KD від приблизно 1×10^{-9} М до приблизно 1×10^{-12} М, як визначено за допомогою поверхневого плазмонного резонансу (наприклад, BIACORE) або подібного способу (наприклад, KinExa або OCTET); (ii) вступає в перехресну реакцію з TIGIT яванської макаки і макаки-резусу; (iii) блокує зв'язування TIGIT людини з CD155 людини і CD112 людини; (iv) збільшує активацію Т-клітин; (v) стимулює продукцію IL-2 і IFN γ антигенспецифічними Т-клітинами; (vi) блокує індукцію супресії активації Т-клітин, індуковану лігуванням TIGIT зі спорідненими лігандами CD155 і CD112. В одному варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент має щонайменше 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентичність послідовності з варіабельною областю важкого ланцюга з SEQ ID NO: 63 і/або варіабельною областю легкого ланцюга з SEQ ID NO: 64. В іншому варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент містить 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 або 30 амінокислотних замін у варіабельній області важкого ланцюга з SEQ ID NO:63 і/або у варіабельній області легкого ланцюга з SEQ ID NO: 64. В іншому варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент містить 1, 2 або 3 амінокислотні заміни в CDR важкого ланцюга (SEQ ID NO: 57-59) або в CDR легкого ланцюга (SEQ ID NO: 60-62).

В іншому варіанті здійснення винахід стосується антитіла або його антигензв'язувального фрагмента, що зв'язується з тим же епітопом TIGIT людини, що й антитіло, яке містить варіабельну область важкого ланцюга з SEQ ID NO: 94 і варіабельну область легкого ланцюга з SEQ ID NO:95, де антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент має щонайменше одну з наступних характеристик: (i) зв'язується з TIGIT людини зі значенням KD від приблизно 1×10^{-9} М до приблизно 1×10^{-12} М, як визначено за допомогою поверхневого плазмонного резонансу (наприклад, BIACORE) або подібного способу (наприклад, KinExa або OCTET); (ii) вступає в перехресну реакцію з TIGIT яванської макаки і макаки-резусу; (iii) блокує зв'язування TIGIT людини з CD155 людини і CD112 людини; (iv) збільшує активацію Т-клітин; (v) стимулює продукцію IL-2 і IFN γ антигенспецифічними Т-клітинами; (vi) блокує індукцію супресії активації Т-клітин, індуковану лігуванням TIGIT зі спорідненими лігандами CD155 і CD112. В одному варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент має щонайменше 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентичність послідовності з варіабельною областю важкого ланцюга з будь-якої з SEQ ID NO:94 або 124-129, і/або з варіабельною областю легкого ланцюга з будь-якої з SEQ ID NO: 95 або 130-133. В іншому варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент містить 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 або 30 амінокислотних замін у варіабельній області важкого ланцюга з будь-якої з SEQ ID NO: 94 або 124-129, і/або у варіабельній області легкого ланцюга з будь-якої з SEQ ID NO: 95 або 130-133. В іншому варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент містить 1, 2 або 3 амінокислотні заміни в CDR важкого ланцюга (SEQ ID NO: 88-90) і/або в CDR легкого ланцюга (SEQ ID NO: 91-93). В іншому варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент містить CDR важкого ланцюга з SEQ ID NO: 88, 134 і 90 і/або CDR легкого ланцюга з SEQ ID NO: 91, 92 і 93.

В одному варіанті здійснення винахід стосується антитіла або його антигензв'язувального фрагмента, що зв'язується з епітопом TIGIT людини, що містить щонайменше одну з наступних областей: залишки 53-57, залишки 60-65, залишки 68-70, залишки 72-81, залишки 94-95, і залишки 109-119 з SEQ ID NO: 31. В одному варіанті здійснення винахід стосується антитіла або його антигензв'язувального фрагмента, що зв'язується з епітопом TIGIT людини, що містить залишки: 53-57, 60-65, 68-70, 72-81, 94-95 і 109-119 з SEQ ID NO: 31.

В іншому варіанті здійснення винахід стосується антитіла або його антигензв'язувального фрагмента, що перехресно блокує зв'язування антитіла (або конкурує з антитілом), що містить варіабельну область важкого ланцюга з SEQ ID NO: 7 і варіабельну область легкого ланцюга з SEQ ID NO: 8, з TIGIT людини, де антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент має щонайменше одну з наступних характеристик: (i) зв'язується з TIGIT людини зі значенням KD від приблизно 1×10^{-9} М до приблизно 1×10^{-12} М, як визначено за допомогою поверхневого плазмонного резонансу (наприклад, BIACORE) або подібного способу (наприклад, KinExa або

ОСТЕТ); (ii) вступає в перехресну реакцію з TIGIT яванської макаки і макаки-резусу; (iii) блокує зв'язування TIGIT людини з CD155 людини і CD112 людини; (iv) збільшує активацію Т-клітин; (v) стимулює продукцію IL-2 і IFN γ антигенспецифічними Т-клітинами; (vi) блокує індукцію супресії активації Т-клітин, індуковану лігуванням TIGIT зі спорідненими лігандами CD155 і CD112. В одному варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент має щонайменше 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентичність послідовності з варіабельною областю важкого ланцюга або варіабельними легкими ланцюгами з SEQ ID NO: 7-30 або 37-52. В іншому варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент містить 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 або 30 амінокислотних заміни у варіабельних областях важких ланцюгів з SEQ ID NO: 7, 9-24 і 37-47 або у варіабельних областях легких ланцюгів з SEQ ID NO: 8, 25-30 і 48-52. В іншому варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент містить 1, 2 або 3 амінокислотні заміни в CDR важкого ланцюга (SEQ ID NO: 1-3) або в CDR легкого ланцюга (SEQ ID NO: 3-6).

В іншому варіанті здійснення винахід стосується антитіла або його антигензв'язувального фрагмента, що перехресно блокує зв'язування антитіла (або конкурує з антитілом), що містить варіабельну область важкого ланцюга з SEQ ID NO: 63 і варіабельну область легкого ланцюга з SEQ ID NO: 64, з TIGIT людини, де антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент має щонайменше одну з наступних функціональних характеристик: (i) зв'язується з TIGIT людини зі значенням KD від приблизно 1×10^{-9} М до приблизно 1×10^{-12} М, як визначено за допомогою поверхневого плазмонного резонансу (наприклад, BIACORE) або подібного способу (наприклад, KinExa або ОСТЕТ); (ii) вступає в перехресну реакцію з TIGIT яванської макаки і макаки-резусу; (iii) блокує зв'язування TIGIT людини з CD155 людини і CD112 людини; (iv) збільшує активацію Т-клітин; (v) стимулює продукцію IL-2 і IFN γ антигенспецифічними Т-клітинами; (vi) блокує індукцію супресії активації Т-клітин, індуковану лігуванням TIGIT зі спорідненими лігандами CD155 і CD112. В одному варіанті здійснення антитіло має щонайменше 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентичність послідовності з варіабельною областю важкого ланцюга з SEQ ID NO: 63 або з варіабельною областю легкого ланцюга з SEQ ID NO: 64. В іншому варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент містить 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 або 30 амінокислотних заміни у варіабельній області важкого ланцюга з SEQ ID NO: 63 або у варіабельній області легкого ланцюга з SEQ ID NO: 64. В іншому варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент містить 1, 2 або 3 амінокислотні заміни в CDR важкого ланцюга (SEQ ID NO: 57-59) або в CDR легкого ланцюга (SEQ ID NO: 60-62).

В іншому варіанті здійснення винахід стосується антитіла або його антигензв'язувального фрагмента, що перехресно блокує зв'язування антитіла (або конкурує з антитілом), що містить варіабельну область важкого ланцюга з SEQ ID NO: 94 і варіабельну область легкого ланцюга з SEQ ID NO: 95, з TIGIT людини, де антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент має щонайменше одну з наступних характеристик: (i) зв'язується з TIGIT людини зі значенням KD від приблизно 1×10^{-9} М до приблизно 1×10^{-12} М, як визначено за допомогою поверхневого плазмонного резонансу (наприклад, BIACORE) або подібного способу (наприклад, KinExa або ОСТЕТ); (ii) вступає в перехресну реакцію з TIGIT яванської макаки і макаки-резусу; (iii) блокує зв'язування TIGIT людини з CD155 людини і CD112 людини; (iv) збільшує активацію Т-клітин; (v) стимулює продукцію IL-2 і IFN γ антигенспецифічними Т-клітинами; (vi) блокує індукцію супресії активації Т-клітин, індуковану лігуванням TIGIT зі спорідненими лігандами CD155 і CD112. В одному варіанті здійснення антитіло має щонайменше 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентичність послідовності з варіабельною областю важкого ланцюга з SEQ ID NO: 94 або з варіабельними легкими ланцюгами з SEQ ID NO: 95. В іншому варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент містить 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 або 30 амінокислотних заміни у варіабельній області важкого ланцюга з будь-якої з SEQ ID NO: 94 або 124-129, або у варіабельній області легкого ланцюга з будь-якої з SEQ ID NO: 95 або 130-133. В іншому варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент містить 1, 2 або 3 амінокислотні заміни в CDR важкого ланцюга (SEQ ID NOs: 88-90) або в CDR легкого ланцюга (SEQ ID NO: 91-93). В одному варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент містить: варіабельну область важкого ланцюга, що містить SEQ ID NO: 128, і варіабельну область легкого ланцюга, що містить SEQ ID NO: 132. В іншому варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент містить: варіабельну область важкого ланцюга, що містить SEQ ID NO: 127 і варіабельну область легкого ланцюга, що містить SEQ ID NO: 130. В іншому варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент

містить: варіабельну область важкого ланцюга, що містить SEQ ID NO: 128 і варіабельну область легкого ланцюга, що містить SEQ ID NO: 133.

В іншому варіанті здійснення винахід стосується антитіла або його антигензв'язувального фрагмента, який зв'язується з TIGIT людини, що містить варіабельну область важкого ланцюга, вибрану з групи, яка складається з будь-якої з SEQ ID NO: 9-24 і 37-47, і/або варіабельну область легкого ланцюга, вибрану з групи, яка складається з будь-якої з SEQ ID NO: 25-30 і 48-52. В одному варіанті здійснення антитіло містить амінокислотну заміну в FR4 важкого ланцюга, де заміна виконана в положенні 122 з SEQ ID NO: 9-24 і 37-47, де залишок М замінений на: V, L, A, R, N, P, Q, E, G, I, H, K, F, S, T, W або Y. В одному варіанті здійснення антитіло містить дві амінокислотні заміни в FR4 важкого ланцюга, де заміни виконані в положеннях 122 і 123 з SEQ ID NO: 9-24 і 37-47, де залишки М і V замінені на Т і L, відповідно.

В іншому варіанті здійснення винахід стосується антитіла або його антигензв'язувального фрагмента, який зв'язується з TIGIT людини, що містить варіабельну область важкого ланцюга, вибрану з групи, яка складається з будь-якої з SEQ ID NO: 9-24 і 37-47, і/або варіабельну область легкого ланцюга, вибрану з групи, яка складається з будь-якої з SEQ ID NO: 25-30 і 48-52. В одному варіанті здійснення антитіло містить амінокислотну заміну в FR4 важкого ланцюга, де заміна виконана в положенні 122 з SEQ ID NO: 9-24 і 37-47, де залишок М замінений на: V, L, A, R, N, P, Q, E, G, I, H, K, F, S, T, W або Y. В одному варіанті здійснення антитіло містить дві амінокислотні заміни в FR4 важкого ланцюга, де заміни виконані в положеннях 122 і 123 з SEQ ID NO: 9-24 і 37-47, де залишки М і V замінені на Т і L, відповідно.

В одному варіанті здійснення винахід стосується виділеного антитіла або антигензв'язувального фрагмента, що зв'язується з TIGIT людини, що містить: важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 7 або її варіант, що містить аж до 30 амінокислотних заміни, і/або легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 8, що містить аж до 12 амінокислотних заміни. В одному варіанті здійснення важкий ланцюг містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 7, що містить амінокислотні заміни в одному або декількох положеннях, вибраних із групи, яка складається з: 6, 9, 12, 15, 16, 17, 23, 25, 37, 39, 40, 43, 44, 45, 48, 67, 68, 70, 71, 79, 81, 83, 87, 88, 92, 94, 119, 122 і 123. В одному варіанті здійснення важкий ланцюг містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 7, що містить амінокислотні заміни в одному або декількох положеннях, вибраних із групи, яка складається з: 6, 9, 12, 15, 16, 17, 23, 25, 37, 39, 40, 43, 44, 45, 48, 67, 68, 70, 71, 79, 81, 83, 87, 88, 92, 94, 110, 119, 122 і 123, де: амінокислота в положенні 6 може являти собою Е або Q, амінокислота в положенні 9 може являти собою Р або А, амінокислота в положенні 12 може являти собою V або L, амінокислота в положенні 15 може являти собою S або Р, амінокислота в положенні 16 може являти собою Q або Е або G, амінокислота в положенні 17 може являти собою S або Т, амінокислота в положенні 23 може являти собою S або Т, амінокислота в положенні 25 може являти собою Т або S, амінокислота в положенні 37 може являти собою I або V, амінокислота в положенні 39 може являти собою K або Q, амінокислота в положенні 40 може являти собою F або Р, амінокислота в положенні 43 може являти собою N або K, амінокислота в положенні 44 може являти собою K або G, амінокислота у положенні 45 може являти собою M або L, амінокислота в положенні 48 може являти собою M або I, амінокислота в положенні 67 може являти собою I або V, амінокислота в положенні 68 може являти собою S або Т, амінокислота в положенні 70 може являти собою Т або S, амінокислота в положенні 71 може являти собою R або V, амінокислота в положенні 79 може являти собою F або S, амінокислота в положенні 81 може являти собою Q або K, амінокислота в положенні 83 може являти собою H або S, амінокислота в положенні 87 може являти собою Т або А, амінокислота в положенні 88 може являти собою D або А, амінокислота в положенні 92 може являти собою Т або V, амінокислота в положенні 94 може являти собою S або Y, амінокислота в положенні 110 може являти собою W, F, Y, I, V або L, амінокислота в положенні 119 може являти собою Р або Q, амінокислота в положенні 122 може являти собою M, V, L, A, R, N, P, Q, E, G, I, H, K, F, S, T, W або Y, і амінокислота в положенні 123 може являти собою V, Т або L. В одному варіанті здійснення легкий ланцюг містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 8, що містить амінокислотні заміни в одному або декількох положеннях, вибраних із групи, яка складається з: 10, 21, 22, 40, 42, 46, 52, 53, 58, 77, 83, 87, 95 і 106. В одному варіанті здійснення легкий ланцюг містить амінокислотна послідовність з SEQ ID NO: 8, що містить амінокислотні заміни в одному або декількох положеннях, вибраних із групи, яка складається з: 10, 21, 22, 40, 42, 46, 52, 53, 58, 77, 83, 87, 95 і 106, де: амінокислота в положенні 10 може являти собою L або S, амінокислота в положенні 21 може являти собою L або I, амінокислота в положенні 22 може являти собою N або Т, амінокислота в положенні 40 може являти собою L або Р, амінокислота в положенні 42 може являти собою Е або К, амінокислота в положенні 46 може являти собою F або L,

амінокислота в положенні 52 може являти собою N, S, T, G або D, амінокислота в положенні 53 може являти собою S, N, T, Y або Q, амінокислота в положенні 58 може являти собою I або V, амінокислота в положенні 77 може являти собою G або S, амінокислота в положенні 83 може являти собою V або F, амінокислота в положенні 87 може являти собою F або Y, амінокислота в положенні 95 може являти собою W, F, Y, I, V або L, і амінокислота в положенні 105 може являти собою L або I.

В іншому варіанті здійснення винахід стосується антитіла або антигензв'язувального фрагмента, який зв'язується з TIGIT людини, що містить: важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 9 і/або легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 25, де кожен з варіабельних ланцюгів може містити 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 або 8 амінокислотних замін. В одному варіанті здійснення антитіла може містити мутації в положеннях 27, 48, 67, 71, 83, 110, 122 і 123 з SEQ ID NO: 9. Наприклад, відносно SEQ ID NO: 9: амінокислота в положенні 27 може являти собою G або S; амінокислота в положенні 48 може являти собою I або M; амінокислота в положенні 67 може являти собою V або I; амінокислота в положенні 71 може являти собою V або R; амінокислота в положенні 83 може являти собою S або H; амінокислота в положенні 110 може являти собою W, F, Y, I, V або L; амінокислота в положенні 122 може являти собою M, V, L, A, R, N, P, Q, E, G, I, H, K, F, S, T, W або Y; і амінокислота в положенні 123 може являти собою V, T або L. В іншому варіанті здійснення антитіла може містити мутації в положеннях 46, 52, 53, 58 і 95 з SEQ ID NO: 25. Наприклад, відносно SEQ ID NO: 25, амінокислота в положенні 46 може являти собою L або F; амінокислота в положенні 52 може являти собою N, S, T, G або D, амінокислота в положенні 53 може являти собою S, N, T, Y або Q; амінокислота в положенні 58 може являти собою I або V; амінокислота в положенні 58 може являти собою V або I; і амінокислота в положенні 95 може являти собою W, F, Y, I, V або L.

В одному варіанті здійснення винахід стосується антитіла або антигензв'язувального фрагмента, який зв'язується з TIGIT людини, що містить: важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 94 або її варіант, що містить аж до 30 амінокислотних замін, і легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 95 або її варіант, що містить аж до 18 амінокислотних замін. В одному варіанті здійснення важкий ланцюг містить варіант амінокислотної послідовності з SEQ ID NO: 94, що містить амінокислотні заміни в одному або декількох положень, вибраних із групи, яка складається з: 5, 9, 11, 12, 16, 20, 38, 40, 44, 56, 57, 61, 62, 65, 67, 68, 72, 74, 76, 79, 85, 87, 89, 91, 92, 104 і 111. В одному варіанті здійснення важкий ланцюг містить варіант амінокислотної послідовності з SEQ ID NO: 94, що містить амінокислотні заміни в одному або декількох положеннях, вибраних із групи, яка складається з: 5, 9, 11, 12, 16, 20, 38, 40, 44, 56, 57, 61, 62, 65, 67, 68, 72, 74, 76, 79, 85, 87, 89, 91, 92, 104 і 111, де: амінокислота в положенні 5 може являти собою Q або V, амінокислота в положенні 9 може являти собою P або A, амінокислота в положенні 11 може являти собою V або L, амінокислота в положенні 12 може являти собою V або K, амінокислота в положенні 16 може являти собою S або A, амінокислота в положенні 20 може являти собою M або V, амінокислота в положенні 38 може являти собою K або R, амінокислота в положенні 40 може являти собою K або A, амінокислота в положенні 44 може являти собою G або R, амінокислота в положенні 56 може являти собою D, R, L, K, F, S, Y або V, амінокислота в положенні 57 може являти собою G, R, N, Q, E, L K, S, Y або V, амінокислота в положенні 61 може являти собою N, A або S, амінокислота в положенні 62 може являти собою E або Q, амінокислота в положенні 65 може являти собою K або Q, амінокислота в положенні 67 може являти собою R або K, амінокислота в положенні 68 може являти собою A або V, амінокислота в положенні 72 може являти собою S або R, амінокислота в положенні 74 може являти собою K або T, амінокислота в положенні 76 може являти собою S, I, A або T, амінокислота в положенні 79 може являти собою A або V, амінокислота в положенні 85 може являти собою R або S, амінокислота в положенні 87 може являти собою T або R, амінокислота в положенні 89 може являти собою D або E, амінокислота в положенні 91 може являти собою S або T, амінокислота в положенні 92 може являти собою A або V, амінокислота в положенні 104 може являти собою W, A, D, E, F, G, I, K, N, Q, R, S, T, V або Y, і амінокислота в положенні 111 може являти собою A або Q. В одному варіанті здійснення легкий ланцюг містить варіант амінокислотної послідовності з SEQ ID NO: 95, що містить амінокислотні заміни в одному або декількох положеннях, вибраних із групи, яка складається з: 9, 17, 18, 40, 43, 45, 48, 50, 51, 70, 72, 74, 76, 83, 84, 100, 103 і 106. В одному варіанті здійснення легкий ланцюг містить варіант амінокислотної послідовності з SEQ ID NO: 95, що містить амінокислотні заміни в одному або декількох положеннях, вибраних із групи, яка складається з: 9, 17, 18, 40, 43, 45, 48, 50, 51, 70, 72, 74, 76, 83, 84, 100, 103 і 106, де амінокислота в положенні 9 може являти собою A або S, амінокислота в положенні 17 може

являти собою E або D, амінокислота в положенні 18 може являти собою T або R, амінокислота в положенні 40 може являти собою Q або P, амінокислота в положенні 43 може являти собою S, A або V, амінокислота в положенні 45 може являти собою Q або K, амінокислота в положенні 48 може являти собою V або I, амінокислота в положенні 50 може являти собою N, A, Y, W, S, T, I або V, амінокислота в положенні 51 може являти собою A, N, I, L, T або V, амінокислота в положенні 70 може являти собою Q або D, амінокислота в положенні 72 може являти собою S або T, амінокислота в положенні 74 може являти собою K або T, амінокислота в положенні 76 може являти собою N або S, амінокислота в положенні 83 може являти собою F або V, амінокислота в положенні 84 може являти собою G або A, амінокислота в положенні 100 може являти собою A або Q, амінокислота в положенні 103 може являти собою T або R і амінокислота в положенні в положенні 106 може являти собою L або I.

В одному варіанті здійснення винахід стосується антитіла або антигензв'язувального фрагмента, який зв'язується з TIGIT людини, що містить: важкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 124 або її варіант, що містить аж до 10 амінокислотних заміни, і/або легкий ланцюг, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 130 або її варіант, що містить аж до 5 амінокислотних заміни. В іншому варіанті здійснення винахід стосується антитіла або його антигензв'язувального фрагмента, який зв'язується з TIGIT людини, що містить варіабельну область важкого ланцюга з SEQ ID NO: 124 або її варіант, де варіант містить заміни в одному або декількох положеннях, вибраних із групи, яка складається з: 16, 44, 56, 57, 61, 72, 74, 76, 79, 85, 89, 92 і 104. В іншому варіанті здійснення винахід стосується антитіла або його антигензв'язувального фрагмента, який зв'язується з TIGIT людини, що містить варіабельну область важкого ланцюга з SEQ ID NO: 124 або її варіант, де варіант містить заміни в одному або декількох положеннях, вибраних із групи, яка складається з: 16, 44, 56, 57, 61, 72, 74, 76, 79, 85, 89, 92 і 104, де амінокислота в положенні 16 може являти собою A або S, амінокислота в положенні 44 може являти собою R або G, амінокислота в положенні 56 може являти собою D, R, L, K, F, S, Y або V, амінокислота в положенні 57 може являти собою G, R, N, Q, E, L K, S, Y або V, амінокислота в положенні 61 може являти собою S або A, амінокислота у положенні 72 може являти собою R або S, амінокислота в положенні 74 може являти собою T або K, амінокислота в положенні 76 може являти собою A або T або I, амінокислота в положенні 79 може являти собою A або V, амінокислота в положенні 85 може являти собою S або R, амінокислота в положенні 89 може являти собою E або D, амінокислота в положенні 92 може являти собою A або V і амінокислота в положенні 104 може являти собою W, A, D, E, F, G, I, K, N, Q, R, S, T, V або Y. В іншому варіанті здійснення винахід стосується антитіла або його антигензв'язувального фрагмента, який зв'язується з TIGIT людини, що містить варіабельну область легкого ланцюга з SEQ ID NO: 130 або її варіант, що містить заміни в одному або декількох положеннях, вибраних із групи, яка складається з: 43, 50, 51, 70 і 83. В іншому варіанті здійснення винахід стосується антитіла або його антигензв'язувального фрагмента, який зв'язується з TIGIT людини, що містить варіабельну область легкого ланцюга з SEQ ID NO: 130 або її варіант, що містить заміни в одному або декількох положеннях, вибраних із групи, яка складається з: 43, 50, 51, 70 і 83, де амінокислота в положенні 43 може являти собою S, A або V, амінокислота в положенні 50 може являти собою N, A, Y, W, S, T, I або V, амінокислота в положенні 51 може являти собою A, N, I, L, T або V, амінокислота в положенні 70 може являти собою Q або D, і амінокислота в положенні 83 може являти собою F або V.

У будь-якому з вищевказаних варіантів здійснення, антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент є виділеним.

У будь-якому з вищевказаних варіантів здійснення, антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент являє собою рекомбінантне антитіло.

У будь-якому з вищевказаних варіантів здійснення, антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент являє собою повнорозмірне антитіло.

У будь-якому з вищезгаданих варіантів здійснення, антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент за винаходом може містити варіабельну область важкого ланцюга, що складається з: (а) будь-якої з варіабельних областей важких ланцюгів, описаних вище, і (b) лідерного пептиду (наприклад, лідерного пептиду з SEQ ID NO: 53). У будь-якому з вищезгаданих варіантів здійснення, антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент за винаходом може містити варіабельну область легкого ланцюга, що складається з: (а) будь-якої з варіабельних областей легких ланцюгів, описаних вище, і (b) лідерного пептиду (наприклад, лідерного пептиду з SEQ ID NO: 54).

У будь-якому з вищезгаданих варіантів здійснення, антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент за винаходом являє собою антитіло, що містить будь-який з варіабельних важких ланцюгів, описаних вище, і будь-який константний домен важкого ланцюга людини. В одному

варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент за винаходом стосується ізо типу IgG і містить константний домен важкого ланцюга IgG1, IgG2, IgG3 або IgG4 людини. В одному варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент за винаходом містить константний домен важкого ланцюга IgG1 людини (SEQ ID NO: 86) або його варіант, де

5 варіант містить аж до 20 модифікованих амінокислотних замінів. В одному варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент за винаходом являє собою антитіло, що містить константний домен важкого ланцюга IgG1 людини, де константний домен містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 86. В одному варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент за винаходом містить константний домен важкого ланцюга IgG1

10 людини, де константний домен IgG1 є афукозилованим. В одному варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент за винаходом містить константний домен важкого ланцюга IgG4 людини або його варіант, де варіант містить аж до 20 модифікованих амінокислотних замінів. В іншому варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент за винаходом містить константний домен важкого ланцюга IgG4 людини, де амінокислота в положенні 228 (з використанням системи нумерації EU) замінена з Ser на Pro. В

15 одному варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент за винаходом містить константний домен важкого ланцюга IgG4 людини, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 55.

У будь-якому з вищезгаданих варіантів здійснення, антитіло або його антигензв'язувальний

20 фрагмент за винаходом може містити будь-який з варіабельних легких ланцюгів, описаних вище, і константний домен легкого ланцюга людини. В одному варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент за винаходом містить константний домен легкого ланцюга каппа людини або його варіант, де варіант містить аж до 20 модифікованих амінокислотних замінів. В іншому варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент за

25 винаходом містить константний домен легкого ланцюга лямбда людини або його варіант, де варіант містить аж до 20 модифікованих амінокислотних замінів. В одному варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент за винаходом містить константний домен легкого ланцюга каппа людини, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 56.

В одному варіанті здійснення антитіло проти TIGIT за винаходом містить повну тетрамерну

30 структуру, яка має два легкі ланцюги і два важкі ланцюги, де кожен легкий ланцюг містить: варіабельну область, що містить SEQ ID NO: 132, і легкий ланцюг каппа людини (SEQ ID NO: 56); і кожен важкий ланцюг містить: варіабельну область, що містить SEQ ID NO: 128, константну область IgG1 людини (SEQ ID NO: 86).

В одному варіанті здійснення антитіло проти TIGIT за винаходом містить повну тетрамерну

35 структуру, яка має два легкі ланцюги і два важкі ланцюги, де кожен легкий ланцюг містить: варіабельну область, що містить SEQ ID NO: 130, і легкий ланцюг каппа людини (SEQ ID NO: 56); і кожен важкий ланцюг містить: варіабельну область, що містить SEQ ID NO: 127, константну область IgG1 людини (SEQ ID NO: 86).

В одному варіанті здійснення антитіло проти TIGIT за винаходом містить повну тетрамерну

40 структуру, яка має два легкі ланцюги і два важкі ланцюги, де кожен легкий ланцюг містить: варіабельну область, що містить SEQ ID NO: 133 і легкий ланцюг каппа людини (SEQ ID NO: 56); і кожен важкий ланцюг містить: варіабельну область, що містить SEQ ID NO: 128, константну область IgG1 людини (SEQ ID NO: 86).

У будь-якому з вищезгаданих варіантів здійснення, антитіло проти TIGIT або його

45 антигензв'язувальний фрагмент за винаходом може бути кон'югованим щонайменше з одним лікарським засобом. В одному варіанті здійснення, де лікарський засіб містить вторинне антитіло або його фрагмент, імуномодулятор, гормон, цитотоксичний засіб, фермент, радіоактивний ізотоп, вторинне антитіло кон'юговане щонайменше з одним імуномодулятором, ферментом, радіоактивною міткою, гормоном, антисмисловим олігонуклеотидом або

50 цитотоксичним засобом, або їх сполученням.

Винахід стосується також виділених поліпептидів, що містять амінокислотну послідовність з будь-якої з SEQ ID NOs: 1-30, 37-52, 57-83 або 88-151, або фрагмент будь-якої з вказаних послідовностей.

Винахід стосується також виділених нуклеїнових кислот, які кодують будь-яке з антитіл

55 проти TIGIT або антигензв'язувальних фрагментів за винаходом. В одному варіанті здійснення винахід стосується виділених нуклеїнових кислот, які кодують будь-який з поліпептидів з SEQ ID NO: 1-30, 37-52, 57-64 або 88-133, де вказані поліпептиди можуть, необов'язково, містити лідерну послідовність. Винахід стосується також експресуючих векторів, які містять нуклеїнову кислоту, яка кодує будь-який з поліпептидів з SEQ ID NO: 1-30, 37-52, 57-83 або 88-167 (де

60 вказані поліпептиди можуть, необов'язково, містити лідерну послідовність). Ці виділені

нуклеїнові кислоти і експресуючі вектори, які містять їх, можна використовувати для експресії антитіл за винаходом або їхніх антигензв'язувальних фрагментів у рекомбінантних клітинах-хазяях. Таким чином, винахід стосується також клітин-хазяїн, що містять виділені нуклеїнові кислоти, які кодують будь-який з поліпептидів з SEQ ID NO: 1-30, 37-52, 57-83 або 88-151 (де

5

вказані поліпептиди можуть, необов'язково, містити лідерну послідовність). В одному варіанті здійснення клітина-хазяїн являє собою клітину яєчника китайського хом'яка. В одному варіанті здійснення клітина-хазяїн являє собою клітину дріжджів, наприклад, клітину-хазяїна *Pichia* або клітину-хазяїна *Pichia pastoris*.

Винахід стосується також фармацевтичних композицій, які містять антитіло або

10 антигензв'язувальний фрагмент за винаходом і фармацевтично прийнятний носій або розріджувач. В одному варіанті здійснення композиція містить додатковий лікарський засіб. В одному варіанті здійснення додатковий лікарський засіб вибраний із групи, яка складається з: антитіла проти PD1 або його антигензв'язувального фрагмента; антитіла проти LAG3 або його антигензв'язувального фрагмента; антитіла проти VISTA або його антигензв'язувального

15 фрагмента; антитіла проти BTLA або його антигензв'язувального фрагмента; антитіла проти TIM3 або його антигензв'язувального фрагмента; антитіла проти CTLA4 або його антигензв'язувального фрагмента; антитіла проти HVEM або його антигензв'язувального фрагмента; антитіла проти CD27 або його антигензв'язувального фрагмента; антитіла проти CD137 або його антигензв'язувального фрагмента; антитіла проти OX40 або його

20 антигензв'язувального фрагмента; антитіла проти CD28 або його антигензв'язувального фрагмента; антитіла проти PDL1 або його антигензв'язувального фрагмента; антитіла проти PDL2 або його антигензв'язувального фрагмента; антитіла проти GITR або його антигензв'язувального фрагмента; антитіла проти ICOS або його антигензв'язувального фрагмента; антитіла проти SIRPα або його антигензв'язувального фрагмента; антитіла проти

25 ILT2 або його антигензв'язувального фрагмента; антитіла проти ILT3 або його антигензв'язувального фрагмента; антитіла проти ILT4 або його антигензв'язувального фрагмента; антитіла проти 4-1BB або його антигензв'язувального фрагмента. В одному варіанті здійснення антитіло проти PD1 або його антигензв'язувальний фрагмент вибраний із групи, яка складається з: пембролізумабу або його антигензв'язувального фрагмента і ніволумабу або його антигензв'язувального фрагмента. В одному варіанті здійснення антитіло проти TIGIT або антигензв'язувальний фрагмент за винаходом містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 2; (iii) CDR3

35 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 3, 79, 80, 81, 82, 83 або 140; (iv) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 4; (v) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 5, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73 або 141; і (vi) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ

40 ID NO: 6, 74, 75, 76, 77, 78 або 142. В одному варіанті здійснення антитіло проти TIGIT або його антигензв'язувальний фрагмент містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 89, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 134, 135 або 147; (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1

45 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 92, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122 або 148; і (vi) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 93. В одному

50 варіанті здійснення антитіло проти TIGIT або антигензв'язувальний фрагмент за винаходом містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 2; (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 3; (iv) CDR1 варіабельної області легкого

55 ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 4; (v) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 5; і (vi) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 6. В іншому варіанті здійснення антитіло проти TIGIT або антигензв'язувальний фрагмент за винаходом містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну

60 послідовність з SEQ ID NO: 57; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить

проти TIGIT або антигензв'язувальний фрагмент за винаходом містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 57; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 58; (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 59; (iv) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 60; (v) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 61; і (vi) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 62. В одному варіанті здійснення антитіло проти TIGIT або його антигензв'язувальний фрагмент містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 89, 134 або 135; (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 92; і (vi) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 93.

Винахід стосується також комбінації, яка містить антитіло проти TIGIT або антигензв'язувальний фрагмент за винаходом, у комбінації з одним, двома або більше лікарськими засобами; де другий лікарський засіб вибраний із групи, яка складається з: антитіла проти PD1 або його антигензв'язувального фрагмента; антитіла проти LAG3 або його антигензв'язувального фрагмента; антитіла проти VISTA або його антигензв'язувального фрагмента; антитіла проти BTLA або його антигензв'язувального фрагмента; антитіла проти TIM3 або його антигензв'язувального фрагмента; антитіла проти CTLA4 або його антигензв'язувального фрагмента; антитіла проти HVEM або його антигензв'язувального фрагмента; антитіла проти CD27 або його антигензв'язувального фрагмента; антитіла проти CD137 або його антигензв'язувального фрагмента; антитіла проти OX40 або його антигензв'язувального фрагмента; антитіла проти CD28 або його антигензв'язувального фрагмента; антитіла проти PDL1 або його антигензв'язувального фрагмента; антитіла проти PDL2 або його антигензв'язувального фрагмента; антитіла проти GITR або його антигензв'язувального фрагмента; антитіла проти ICOS або його антигензв'язувального фрагмента; антитіла проти SIRPα або його антигензв'язувального фрагмента; антитіла проти ILT2 або його антигензв'язувального фрагмента; антитіла проти ILT3 або його антигензв'язувального фрагмента; антитіла проти ILT4 або його антигензв'язувального фрагмента; і антитіла проти 4-1BB або його антигензв'язувального фрагмента. В одному варіанті здійснення антитіло проти TIGIT або антигензв'язувальний фрагмент за винаходом містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 2; (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 3, 79, 80, 81, 82, 83 або 140; (iv) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 4; (v) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 5, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73 або 141; і (vi) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 6, 74, 75, 76, 77, 78 або 142. В одному варіанті здійснення антитіло проти TIGIT або його антигензв'язувальний фрагмент містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 89, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 134, 135 або 147; (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 92, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122 або 148; і (vi) CDR3 варіабельної

[illegible]

[illegible]

Винахід стосується також способу лікування злоякісної пухлини у суб'єкта, який потребує цього, який включає введення суб'єкту ефективної кількості антитіла проти TIGIT або антигензв'язувального фрагмента за винаходом, необов'язково, у сполученні з додатковим лікарським засобом або терапевтичною процедурою. В одному варіанті здійснення суб'єкт, що піддається лікуванню, являє собою суб'єкта-людину. В одному варіанті здійснення додатковий лікарський засіб вибраний із групи, яка складається з: антитіла проти PD1 або його антигензв'язувального фрагмента; антитіла проти LAG3 або його антигензв'язувального фрагменти; антитіла проти VISTA або його антигензв'язувального фрагмента; антитіла проти BTLA або його антигензв'язувального фрагмента; антитіла проти TIM3 або його антигензв'язувального фрагменти; антитіла проти CTLA4 або його антигензв'язувального фрагменти; антитіла проти HVEM або його антигензв'язувального фрагмента; антитіла проти CD27 або його антигензв'язувального фрагмента; антитіла проти CD137 або його антигензв'язувального фрагмента; антитіла проти OX40 або його антигензв'язувального фрагмента; антитіла проти CD28 або його антигензв'язувального фрагмента; антитіла проти PDL1 або його антигензв'язувального фрагмента; антитіла проти PDL2 або його антигензв'язувального фрагменти; антитіла проти GITR або його антигензв'язувального фрагмента; антитіла проти ICOS або його антигензв'язувального фрагмента; антитіла проти SIRPα або його антигензв'язувального фрагмента; антитіла проти ILT2 або його

[illegible]

Винахід стосується також способу лікування злоякісної пухлини у суб'єкта, який потребує цього, що включає введення суб'єкту ефективної кількості антитіла проти TIGIT або антигензв'язувального фрагмента за винаходом, і додаткове введення антитіла проти PD1 або

його антигензв'язувального фрагмента. В одному варіанті здійснення антитіло проти PD1 або його антигензв'язувальний фрагмент вибраний із групи, яка складається з: пембролізумабу або його антигензв'язувального фрагмента і ніволумабу або його антигензв'язувального фрагмента. В одному варіанті здійснення антитіло проти TIGIT або антигензв'язувальний фрагмент за винаходом містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 2; (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 3, 79, 80, 81, 82, 83 або 140; (iv) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 4; (v) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 5, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73 або 141; і (vi) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 6, 74, 75, 76, 77, 78 або 142. В одному варіанті здійснення антитіло проти TIGIT або його антигензв'язувальний фрагмент містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 89, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 134, 135 або 147; (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 92, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122 або 148; і (vi) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 93. В одному варіанті здійснення антитіло проти TIGIT або антигензв'язувальний фрагмент за винаходом містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 2; (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 3; (iv) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 4; (v) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 5; і (vi) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 6. В іншому варіанті здійснення антитіло проти TIGIT або антигензв'язувальний фрагмент за винаходом містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 57; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 58; (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 59; (iv) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 60; (v) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 61; і (vi) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 62. В одному варіанті здійснення антитіло проти TIGIT або його антигензв'язувальний фрагмент містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 89, 134 або 135; (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 92; і (vi) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 93. В одному варіанті здійснення антитіло проти TIGIT або його антигензв'язувальний фрагмент містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 134; (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 92; і (vi) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 93.

Винахід стосується також способу лікування інфекції або інфекційного захворювання в суб'єкта, який включає введення суб'єкту ефективної кількості антитіла або антигензв'язувального фрагмента за винаходом, необов'язково, у сполученні з додатковим лікарським засобом або терапевтичною процедурою. В одному варіанті здійснення суб'єкт, що піддається лікуванню, являє собою суб'єкта-людину. В одному варіанті здійснення додатковий лікарський засіб вибраний із групи, яка складається з: антитіла проти PD1 або його

[illegible]

області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 93. В одному варіанті здійснення антитіло проти TIGIT або його антигензв'язувальний фрагмент містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 134; (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 92; і (vi) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 93.

[illegible]

області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 93. В одному варіанті здійснення вакцина додатково містить антиген.

Винахід стосується також способу детекції присутності пептиду TIGIT або його фрагмента в зразку, що включає приведення зразка в контакт із антитілом або його антигензв'язувальним фрагментом за винаходом і детекцію присутності комплексу між антитілом або фрагментом і пептидом; де детекція комплексу вказує на присутність пептиду TIGIT. В одному варіанті здійснення антитіло проти TIGIT або антигензв'язувальний фрагмент за винаходом містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 2; (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 3, 79, 80, 81, 82, 83 або 140; (iv) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 4; (v) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 5, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73 або 141; і (vi) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 6, 74, 75, 76, 77, 78 або 142. В одному варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 89, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 134, 135 або 147; (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 153; (iv) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 92, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122 або 148; і (vi) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 93. В одному варіанті здійснення антитіло або антигензв'язувальний фрагмент за винаходом містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 2; (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 3; (iv) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 4; (v) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 5; і (vi) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 6. В іншому варіанті здійснення антитіло або антигензв'язувальний фрагмент за винаходом містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 57; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 58; (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 59; (iv) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 60; (v) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 61; і (vi) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 62. В одному варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 89, 134 або 135; (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 92; і (vi) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 93. В одному варіанті здійснення антитіло проти TIGIT або його антигензв'язувальний фрагмент містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 134; (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 92; і (vi) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 93.

Винахід стосується також способу збільшення активності імунітетів, який включає приведення імунітетів у контакт із будь-яким з антитіл або антигензв'язувальних фрагментів за винаходом. В одному варіанті здійснення винахід стосується способу збільшення активності імунітетів, що включає введення суб'єкту, який потребує цього, ефективної кількості антитіла

або антигензв'язувальних фрагментів за винаходом. В одному варіанті здійснення спосіб використовують для: лікування злоякісної пухлини, лікування інфекції або інфекційного захворювання, або як ад'ювант для вакцин. В одному варіанті здійснення збільшення активності імунітетів можна детектувати за допомогою вимірювання проліферації імунітетів. Наприклад, збільшення активності Т-клітин можна детектувати за допомогою вимірювання проліферації Т-клітин. В одному варіанті здійснення збільшення активності імунітетів можна детектувати за допомогою вимірювання активації Т-клітин *ex vivo* у зразку, отриманому від суб'єкта. В одному варіанті здійснення збільшення активності Т-клітин визначають за допомогою: (i) вимірювання результатів реакції змішаної культури лімфоцитів або прямої стимуляції mAb проти CD3 передачі сигналу Т-клітинного рецептора (TCR) для індукції продукції цитокінів, вибраних із групи, яка складається з: IL-2, TNF α , IL-17, IFN γ , IL-1 β , GM-CSF, RANTES, IL-6, IL-8, IL-5 і IL-13; (ii) вимірювання індукованої SEB продукції одного або декількох цитокінів, вибраних із групи, яка складається з: IL-2, TNF α , IL-17, IFN γ , GM-CSF, RANTES, IL-6, IL-8, IL-5 і IL-13; або (iii) вимірювання індукованої ТТ продукції цитокіну, вибраного з групи, яка складається з: IL-2, TNF α , IL-17, IFN γ , GM-CSF, RANTES, IL-6, IL-8, IL-5 і IL-13. В одному варіанті здійснення антитіло проти TIGIT або антигензв'язувальний фрагмент за винаходом містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 2; (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 3, 79, 80, 81, 82, 83 або 140; (iv) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 4; (v) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 5, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73 або 141; і (vi) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 6, 74, 75, 76, 77, 78 або 142. В одному варіанті здійснення антитіло проти TIGIT або його антигензв'язувальний фрагмент містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 89, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 134, 135 або 147; (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 92, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122 або 148; і (vi) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 93. В одному варіанті здійснення антитіло проти TIGIT або антигензв'язувальний фрагмент за винаходом містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 2; (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 3; (iv) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 4; (v) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 5; і (vi) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 6. В іншому варіанті здійснення антитіло проти TIGIT або антигензв'язувальний фрагмент за винаходом містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 57; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 58; (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 59; (iv) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 60; (v) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 61; і (vi) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 62. В одному варіанті здійснення антитіло проти TIGIT або його антигензв'язувальний фрагмент містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 89, 134 або 135; (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 92; і (vi) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 93. В одному варіанті здійснення антитіло проти TIGIT або його антигензв'язувальний фрагмент містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 варіабельної області важкого

ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 134; (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 92; і (vi) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 93.

Винахід стосується також способу лікування злоякісної пухлини або інфекційного захворювання в суб'єкта, який включає введення суб'єкту ефективної кількості антитіла-антагоніста проти TIGIT і антитіла-антагоніста проти PD1, де антитіло проти TIGIT має посилену ефекторну функцію в порівнянні з вихідним антитілом. Як застосовують у даному документі, "вихідне антитіло" стосується антитіла, яке має Fc-область дикого типу і/або глікозилювання дикого типу (тобто, патерн глікозилювання, що виникає в результаті експресії поліпептиду в немодифікованій клітині-хазяїні ссавця). Ефекторну функцію вихідного антитіла можна підсилювати за допомогою мутагенезу його Fc-області або за допомогою зміни його глікозилювання (як більш детально обговорюють нижче). В одному варіанті здійснення антитіло проти PD1 уводять до введення вихідного антитіла. В одному варіанті здійснення антитіло проти PD1 уводять за 4-10 діб до введення антитіла проти TIGIT. В одному варіанті здійснення попередня обробка антитілом проти PD1 може модулювати імуніцити, що приводить до посиленої опосередкованої Fc функції антитіл проти TIGIT. В одному варіанті здійснення антитіло проти TIGIT містить константний домен IgG1 людини. В одному варіанті здійснення обробка антитілами проти TIGIT і антитілами проти PD1 не приводить до виснаження Treg. В одному варіанті здійснення антитіло проти PD1 або його антигензв'язувальний фрагмент вибраний із групи, яка складається з: пембролізумабу і ніволумабу. В одному варіанті здійснення антитіло проти TIGIT або антигензв'язувальний фрагмент за винаходом містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 2; (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 3 (iv) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 4; (v) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 5; і (vi) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 6. В одному варіанті здійснення антитіло проти TIGIT або антигензв'язувальний фрагмент за винаходом містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 89, 134 або 135; (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 90 (iv) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 92; і (vi) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 93. В одному варіанті здійснення антитіло проти TIGIT або його антигензв'язувальний фрагмент містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 134; (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 92; і (vi) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 93.

Винахід стосується також способу лікування злоякісної пухлини або інфекційного захворювання у суб'єкта, який включає введення суб'єкту ефективної кількості антитіла-антагоніста проти TIGIT і антитіла-антагоніста проти PD1, де антитіло проти TIGIT є афукозилованим. В одному варіанті здійснення антитіло проти TIGIT або антигензв'язувальний фрагмент за винаходом містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 2; (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 3 (iv) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 4; (v) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 5; і (vi) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 6. В одному варіанті здійснення антитіло проти TIGIT або антигензв'язувальний фрагмент за винаходом містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну

послідовність з SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 89, 134 або 135; (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 90 (iv) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 92; і (vi) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 93. В одному варіанті здійснення антитіло проти TIGIT або його антигензв'язувальний фрагмент містить: (i) CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 134; (iii) CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 92; і (vi) CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 93.

Винахід стосується також способу збільшення протипухлинної активності антитіла проти TIGIT, який включає: одержання вихідного антитіла проти TIGIT і посилення ефекторної функції вихідного антитіла проти TIGIT; де активність отриманого антитіла проти TIGIT збільшена в порівнянні з вихідним антитілом проти TIGIT. Як застосовують у даному документі, "вихідне антитіло" стосується антитіла, яке має Fc-область дикого типу і/або глікозилювання дикого типу (тобто, патерн глікозилювання, що виникає в результаті експресії поліпептиду в немодифікованій клітині-хазяїні ссавця). Ефекторну функцію вихідного антитіла можна підсилювати за допомогою мутагенезу його Fc-області або за допомогою зміни його глікозилювання, наприклад, роблячи антитіло афукозилюваним (як більш детально обговорюють нижче). В одному варіанті здійснення ефекторну функцію вихідного антитіла проти TIGIT підсилюють за допомогою мутагенезу в Fc-області вихідного антитіла проти TIGIT. В іншому варіанті здійснення ефекторну функцію вихідного антитіла проти TIGIT підсилюють за допомогою видалення залишків фукози з антитіла, або за допомогою експресії антитіла в клітині-хазяїні, генетично модифікованій для видалення активності ферменту, що додає фукозу до глікопротеїнів.

КОРОТКИЙ ОПИС КРЕСЛЕНЬ

На фігурі 1 показане зв'язування антитіла 14A6 з TIGIT людини і макаки-резусу (експресованими в клітинах CHO-K1).

На фігурі 2 показане зв'язування антитіла 28H5 з TIGIT людини і макаки-резусу (експресованими в клітинах CHO-K1).

На фігурі 3 показано, що антитіла 14A6 і 28H5 блокують взаємодію hCD155 з hTIGIT, як визначено за допомогою аналізу блокування ELISA на основі клітин.

На фігурі 4 показане зв'язування антитіла 31C6 з TIGIT людини і макаки-резусу (експресованими в клітинах CHO-K1), і показано також, що антитіло 31C6 блокує взаємодію hCD155 з hTIGIT.

На фігурі 5 показана активність антитіл 14A6 і 28H5 в аналізі Т-клітин in vitro.

На фігурі 6 показана активність антитіл 14A6 і 31C6 в аналізі Т-клітин in vitro.

На фігурі 7 показана експресія TIGIT, CD226, CD155 і CD96 у лініях первинних Т-клітин людини. На добу 3, для клону BC4-49 показана найвища підвищувальна регуляція TIGIT (негативного) і знижувальна регуляція CD226 (позитивного).

На фігурах 8А і 8В показана активність різних антитіл проти TIGIT в аналізі Т-клітин in vitro. Це показує, що MBS43 і антитіла проти TIGIT 14A6, 37D10 і 28H5 відновлюють відповіді IFN γ у первинних Т-клітинах людини.

На фігурах 9А-9D показаний ефект паралельного введення антитіла щура проти TIGIT миші (GIGD7) і антитіла проти PD-1 миші в порівнянні з групами лікування монотерапією на протипухлинну відповідь мишей з імплантацією лінії клітин CT26 (n=10/групу). Лікування починали, коли пухлини досягали 75 мм³-115 мм³.

На фігурі 10 показаний ефект ізотипу Fc на протипухлинну активність антитіла проти TIGIT (18G10) у комбінації з антитілом проти PD-1 у моделі пухлини на тварин.

На фігурах 11А-11С показаний ефект ізотипу Fc на протипухлинну активність антитіла проти TIGIT (18G10) у комбінації з антитілом проти PD-1 у моделі пухлини на тварин.

На фігурі 12 показаний ефект ізотипу Fc на протипухлинну активність антитіла проти TIGIT (11A11) у комбінації з антитілом проти PD-1 у моделі пухлини на тварин.

На фігурах 13А-13С показаний ефект ізотипу Fc на протипухлинну активність антитіла проти TIGIT (11A11) у комбінації з антитілом проти PD-1 у моделі пухлини на тварин.

На фігурі 14 показана теплова карта, яка показує області TIGIT людини, сильно або слабо захищені від дейтерування за допомогою зв'язування антитіла 14A6. Амінокислотна послідовність, показана на тепловій карті, відповідає SEQ ID NO: 87.

На фігурі 15 показана теплова карта, яка показує області TIGIT людини, сильно або слабо захищені від дейтерування за допомогою зв'язування антитіла 31C6. Амінокислотна послідовність, показана на тепловій карті, відповідає SEQ ID NO: 87.

На фігурі 16 показаний ефект різних гуманізованих клонів 31C6 у порівнянні з химерними і вихідними антитілами у функціональному аналізі модифікованих Т-клітин.

На фігурі 17 показаний ефект різних гуманізованих клонів 31C6 у порівнянні з химерними антитілами у функціональному аналізі первинних Т-клітин.

ДЕТАЛЬНИЙ ОПИС

Скорочення

На всьому протязі детального опису і прикладів за винаходом використовують наступні скорочення:

ADCC	Антитілозалежна клітинна цитотоксичність
CDC	Комплементзалежна цитотоксичність
CDR	Область, яка визначає комплементарність, у варіабельних областях імуноглобулінів, визначена з використанням системи нумерації Kabat
CHO	яєчник китайського хом'яка
ELISA	Твердофазний імуноферментний аналіз
FR	Каркасна область антитіла: варіабельні області імуноглобулінів, крім області CDR
HRP	Пероксидаза хрому
IFN	Інтерферон
IC50	Концентрація, що приводить до 50 % інгібування
IgG	Імуноглобулін G
Kabat	Система вирівнювання і нумерації імуноглобулінів, уведена Elvin A. Kabat ((1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md.)
mAb або Mab, або MAb	Моноклональне антитіло
SEB	Ентеротоксин В стафілокока
TT	Токсоїд правця
Область V	Ділянка ланцюгів IgG, яка є варіабельною по послідовності між різними антитілами. Вона продовжується до залишку по Kabat 109 у легкому ланцюзі і 113 у важкому ланцюзі.
VH	Варіабельна область важкого ланцюга імуноглобулінів
VK	Варіабельна область легкого ланцюга імуноглобуліну каппа

Визначення

Щоб винахід можна було легше зрозуміти, конкретні технічні і наукові терміни конкретно визначені нижче. Якщо конкретно не визначено інакше в іншому місці цього документа, всі інші технічні і наукові терміни, застосовувані в даному документі, мають значення, загальноприйняте для фахівця в галузі, до якої належить цей винахід.

Як застосовують у даному документі, включаючи прикладену формулу винаходу, форми однини слів, такі як "a", "an" і "the", включають посилання на їхню відповідну множину, якщо з контексту явно не випливає інакше.

"Уведення" і "лікування", як їх застосовують до тварини, людини, експериментального суб'єкта, клітини, тканини, органу або біологічної рідини, стосується приведення в контакт екзогенного фармацевтичного, терапевтичного, діагностичного засобу або композиції з твариною, людиною, суб'єктом, клітиною, тканиною, органом або біологічною рідиною. Обробка клітин включає приведення реагенту в контакт із клітиною, а також приведення реагенту в контакт із рідиною, де рідина знаходиться в контакт з клітиною. "Уведення" і "лікування" означає також обробки in vitro і ex vivo, наприклад, клітин, реагентом, діагностичним засобом, зв'язувальною сполукою або за допомогою інших клітин.

"Лікувати" або "лікування" означає введення лікарського засобу, такого як композиція, що містить будь-які з антитіл або антигензв'язувальних фрагментів за даним винаходом, внутрішньо або зовнішньо, суб'єкту або пацієнту, який має один або декілька симптомів

захворювання, або, як підозрюють, який страждає на захворювання, терапевтичну активність проти якого має засіб. Як правило, засіб вводять у кількості, ефективній для полегшення одного або декількох симптомів захворювання в суб'єкта, що піддається лікуванню, або в популяції, за допомогою або індукції регресії або інгібування прогресування такого симптому(симптомів) до будь-якого ступеня, що піддається клінічному вимірюванню. Кількість лікарського засобу, яка є ефективною для полегшення будь-якого конкретного симптому захворювання, може змінюватися відповідно до таких факторів, як стан захворювання, вік і маса пацієнта, і здатність лікарського засобу викликати бажану відповідь у суб'єкта. Чи полегшений симптом захворювання, можна оцінювати за допомогою будь-якого клінічного вимірювання, звичайно використовуюваного терапевтами або іншими кваліфікованими медичними працівниками для оцінки тяжкості або статусу прогресування цього симптому.

TIGIT

Термін TIGIT включає TIGIT людини, TIGIT яванської макаки і TIGIT макаки-резусу, а також їхні фрагменти, такі як їхні зрілі фрагменти, позбавлені сигнального пептиду. В одному з варіантів здійснення винаходу амінокислотна послідовність TIGIT людини містить амінокислотну послідовність, описану амінокислотними залишками 25-244 з номера доступу в Genbank NP_776160.2 (SEQ ID NO: 31) (амінокислотні залишки 1-24 з SEQ ID NO:31 відповідають лідерному пептиду).

В одному з варіантів здійснення винаходу амінокислотна послідовність TIGIT яванської макаки, наприклад, *Macaca fascicularis*, містить амінокислотну послідовність, описану в (SEQ ID NO: 32); також див. номер доступу в GeneBank XP_005548157. Амінокислотна послідовність TIGIT макаки-резусу є ідентичною амінокислотній послідовності TIGIT яванської макаки (амінокислотні залишки 1-24 з SEQ ID NO: 32 відповідають лідерному пептиду).

Антитіла проти TIGIT і їхні антигензв'язувальні фрагменти

Даний винахід стосується антитіл або їх антигензв'язувальних фрагментів, що зв'язуються з TIGIT людини, і застосувань таких антитіл або фрагментів. У деяких варіантах здійснення антитіла до TIGIT є виділеними.

Як застосовують у даному документі, антитіло проти TIGIT або його антигензв'язувальний фрагмент стосується антитіла або антигензв'язувального фрагмента, що специфічно зв'язуються з TIGIT людини. Антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент, які "специфічно зв'язуються з TIGIT людини", являють собою антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент, що зв'язуються з TIGIT людини з KD приблизно 1 нМ або більш високою афінністю (наприклад, 1 нМ-2 пМ, 1 нМ, 100 пМ, 10 пМ або 2 пМ), але не зв'язуються з іншими білками, позбавленими цієї послідовності. Наприклад, антитіло, яке "специфічно зв'язується" з TIGIT людини, не зв'язується з CD226 людини, CD155 людини і CD112 людини. Як додатковий приклад, антитіло або антигензв'язувальний фрагмент, які специфічно зв'язуються з TIGIT людини, можуть зв'язуватися з міченою FLAG[®] формою TIGIT людини, але не зв'язуються з іншими міченими FLAG[®] білками, позбавленими епітопів TIGIT людини. В одному варіанті здійснення антитіло за винаходом, яке специфічно зв'язується з TIGIT людини, має також перехресну реакційну здатність відносно TIGIT яванської макаки і макаки-резусу. Як застосовують у даному документі "перехресна реакційна здатність" стосується здатності антитіла вступати в реакцію з гомологічним білком з інших видів. Чи зв'язується антитіло специфічно з TIGIT людини, можна визначати з використанням будь-якого аналізу, відомого в даній галузі. Приклади аналізів, відомих в даній галузі для визначення афінності зв'язування, включають поверхневий плазмонний резонанс (наприклад, BIACORE) або подібний спосіб (наприклад, KinExa або OSTET).

Даний винахід стосується антитіл проти TIGIT і способів їхнього застосування. Як застосовують у даному документі, термін "антитіло" стосується будь-якої форми антитіла, що виявляє бажану біологічну активність. Таким чином, його використовують у найширшому змісті, і він конкретно охоплює, але без обмеження, моноклональні антитіла (включаючи повнорозмірні моноклональні антитіла, що містять два легкі ланцюги і два важкі ланцюги), поліклональні антитіла, мультиспецифічні антитіла (наприклад, біспецифічні антитіла), гуманізовані антитіла, повністю людські антитіла, химерні антитіла і верблужі ододоменні антитіла.

Даний винахід стосується вихідних антитіл проти TIGIT і їх антигензв'язувальних фрагментів, які не належать до людини (наприклад, з мишей і гризунів), і способів їхнього застосування. Ці антитіла можна модифікувати для призначеного застосування, наприклад, гуманізація антитіла для застосування як терапевтичного антитіла або фрагмента для людини.

Даний винахід стосується антигензв'язувальних фрагментів проти TIGIT і способів їхнього застосування. Як застосовують у даному документі, якщо не вказано інакше, "фрагмент антитіла" або "антигензв'язувальний фрагмент" стосується антигензв'язувальних фрагментів

антитіл, тобто фрагментів антитіла, що зберігають здатність специфічно зв'язуватися з антигеном, який зв'язується повнорозмірним антитілом, наприклад, фрагментів, що зберігають одну або кілька областей CDR. Приклади антигензв'язувальних фрагментів включають, але без обмеження, фрагменти Fab, Fab', F(ab')₂ і Fv; діатіла; лінійні антитіла; одноланцюжкові молекули антитіл, наприклад, sc-Fv; нанотіла і мультиспецифічні антитіла, сформовані з фрагментів антитіл.

Даний винахід стосується фрагментів Fab проти TIGIT і способів їхнього застосування. "Фрагмент Fab" складається з одного легкого ланцюга, і C_H1 і варіабельних областей одного важкого ланцюга. Важкий ланцюг молекули Fab не може формувати дисульфідний зв'язок з іншою молекулою важкого ланцюга. "Фрагмент Fab" може являти собою продукт розщеплення антитіла папаїном.

Даний винахід стосується антитіл проти TIGIT і їх антигензв'язувальних фрагментів, які містять Fc-область, і способів їхнього застосування. Область "Fc" містить два фрагменти важкого ланцюга, що містять домени C_H1 і C_H2 антитіла. Два фрагменти важкого ланцюга утримуються разом за допомогою двох або більше дисульфідних зв'язків і за допомогою гідрофобних взаємодій доменів C_H3.

Даний винахід стосується фрагментів Fab' проти TIGIT і способів їхнього застосування. "Фрагмент Fab'" містить один легкий ланцюг і частину або фрагмент одного важкого ланцюга, що містять домен V_H і домен C_H1, а також область між доменами C_H1 і C_H2, так що міжланцюговий дисульфідний зв'язок може формуватися між двома важкими ланцюгами двох фрагментів Fab' з формуванням молекули F(ab')₂.

Даний винахід стосується фрагментів F(ab')₂ проти TIGIT і способів їхнього застосування. "Фрагмент F(ab')₂" містить два легкі ланцюги і два важкі ланцюги, що містять частину константної області між доменами C_H1 і C_H2, так що міжланцюговий дисульфідний зв'язок формується між двома важкими ланцюгами. Фрагмент F(ab')₂, таким чином, складається з двох фрагментів Fab', утримуваних разом за допомогою дисульфідного зв'язку між двома важкими ланцюгами. "Фрагмент F(ab')₂" може являти собою продукт розщеплення антитіла пепсином.

Даний винахід стосується фрагментів антитіл проти TIGIT Fv і способів їхнього застосування. "Область Fv" містить варіабельні області як з важких, так і з легких ланцюгів, але позбавлена константних областей.

Даний винахід стосується фрагментів scFv проти TIGIT і способів їхнього застосування. Термін "одноланцюжкове Fv" або "scFv" антитіло стосується фрагментів антитіла, що містить домени V_H і V_L антитіла, де ці домени присутні в одному поліпептидному ланцюзі. Як правило, поліпептид Fv додатково містить поліпептидний лінкер між доменами V_H і V_L, що дозволяє scFv формувати бажану структуру для зв'язування антигену. Огляд scFv, див. у Pluckthun (1994) THE PHARMACOLOGY OF MONOCLONAL ANTIBODIES, vol. 113, Rosenberg and Moore eds. Springer-Verlag, New York, pp. 269-315. Також див., Публікацію міжнародної патентної заявки No. WO 88/01649 і Патенти США No. 4946778 і 5260203.

Даний винахід стосується доменних антитіл проти TIGIT і способів їхнього застосування. "Доменне антитіло" являє собою імунологічно функціональний фрагмент імуноглобуліну, що містить тільки варіабельну область важкого ланцюга або варіабельну область легкого ланцюга. У деяких випадках, дві або більше областей V_H ковалентно з'єднані за допомогою пептидного лінкера для одержання двовалентного доменного антитіла. Дві області V_H двовалентного доменного антитіла можуть бути націлені на однакові або різні антигени.

Даний винахід стосується двовалентних антитіл проти TIGIT і способів їхнього застосування. "Двовалентне антитіло" містить дві антигензв'язувальні ділянки. У деяких випадках, дві ділянки зв'язування мають однакові антигенні специфічності. Однак, двовалентні антитіла можуть бути біспецифічними (див. нижче).

Даний винахід стосується верблужих однодомених антитіл проти TIGIT і способів їхнього застосування. У конкретних варіантах здійснення антитіла в даному документі включають також верблужі однодомених антитіла. Див., наприклад, Muyldermans et al. (2001) Trends Biochem. Sci. 26:230; Reichmann et al. (1999) J. Immunol. Способи 231:25; WO 94/04678; WO 94/25591; Патент США No. 6005079). В одному варіанті здійснення даний винахід стосується однодомених антитіл, що містять два домени V_H з такими модифікаціями, що формуються однодомених антитіла.

Даний винахід стосується діатіл проти TIGIT і способів їхнього застосування. Як застосовують у даному документі, термін "діатіла" позначає малі фрагменти антитіл із двома антигензв'язувальними ділянками, де фрагменти містять варіабельний домен важкого ланцюга (V_H), з'єднаний з варіабельним доменом легкого ланцюга (V_L) в одному і тому ж поліпептидному ланцюзі (V_H-V_L або V_L-V_H). За допомогою використання лінкеру, що є занадто коротким, щоб

дозволяти спарювання між двома доменами в одному і тому ж ланцюзі, домени змушують спарюватися з комплементарними доменами іншого ланцюга й утворювати дві антигензв'язувальні ділянки. Діаїла більш повно описані, наприклад, у EP 404097; WO 93/11161; і Holliger et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448. Загальний огляд модифікованих варіантів антитіл див. у Holliger and Hudson (2005) Nat. Biotechnol. 23:1126-1136.

Як правило, антитіло або антигензв'язувальний фрагмент за винаходом, модифіковані яким-небудь чином, можуть зберігати щонайменше 10 % від його активності (у порівнянні з вихідним антитілом), коли така активність виражена на молярній основі. Переважно, антитіло або антигензв'язувальний фрагмент за винаходом зберігає щонайменше 20 %, 50 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 % або 100 % або більше від афінності зв'язування TIGIT вихідним антитілом. Передбачають також, що антитіло або антигензв'язувальний фрагмент за винаходом може включати консервативні або неконсервативні амінокислотні заміни (які позначаються як "консервативні варіанти" або "функціонально консервативні варіанти" антитіла), які істотно не змінюють його біологічну активність.

Даний винахід стосується виділених антитіл проти TIGIT і їх антигензв'язувальних фрагментів, і способів їхнього застосування. "Виділені" антитіла або їх антигензв'язувальні фрагменти є щонайменше частково вільними від інших біологічних молекул з клітин або культур клітин, у яких вони продуковані. Такі біологічні молекули включають нуклеїнові кислоти, білки, ліпіди, вуглеводи, або інші матеріали, такі як клітинний дебрис і середовище для вирощування. Виділене антитіло або антигензв'язувальний фрагмент можуть, крім того, бути щонайменше частково вільними від компонентів експресуючої системи, таких як біологічні молекули з клітини-хазяїна або із середовища для її вирощування. Як правило, термін "виділений" не призначений для позначення повної відсутності таких біологічних молекул або відсутності води, буферів або солей, компонентів або фармацевтичного складу, що містить антитіла або фрагменти.

Даний винахід стосується моноклональних антитіл проти TIGIT і їх антигензв'язувальних фрагментів, а також моноклональних композицій, що містять множину виділених моноклональних антитіл. Термін "моноклональні антитіла", як застосовують у даному документі, стосується популяції по суті гомогенних антитіл, тобто, молекули антитіл, які містяться в популяції, є ідентичними по амінокислотній послідовності, за винятком можливих природних мутацій, які можуть бути присутніми у незначних кількостях. На відміну від цього, загальноприйняті (поліклональні) препарати антитіл, як правило, включають множину різних антитіл, які мають різні амінокислотні послідовності в їхній варіабельних доменах, зокрема, у їхніх CDR, які часто є специфічними для різних епітопів. Визначення "моноклональне" указує на характер антитіла, як отриманого з по суті гомогенної популяції антитіл, і його не слід тлумачити як таке, що потребує одержання антитіла яким-небудь конкретним способом. Наприклад, моноклональні антитіла для використання відповідно до даного винаходу можна одержувати способом гібридоми, вперше описаним Kohler et al. (1975) Nature 256: 495, або їх можна одержувати способами рекомбінантної ДНК (див., наприклад, Патент США No. 4816567). "Моноклональні антитіла" можна виділяти також з фагових бібліотек антитіл з використанням способів, описаних у Clackson et al. (1991) Nature 352: 624-628 і Marks et al. (1991) J. Mol. Biol. 222: 581-597, наприклад. Також див. Presta (2005) J. Allergy Clin. Immunol. 116:731.

Даний винахід стосується химерним антитілом проти TIGIT (наприклад, людський константний домен/мишачий варіабельний домен) і способів їхнього застосування. Як застосовують у даному документі, "химерне антитіло" являє собою антитіло, яке має варіабельний домен з першого антитіла і константний домен із другого антитіла, де перше і друге антитіла походять з різних видів. (Патент США No. 4816567; і Morrison et al., (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81: 6851-6855). Як правило, варіабельні домени одержують з антитіла з експериментальної тварини ("вихідне антитіло"), такого як гризун, і послідовності константного домена одержують з антитілом людини, так що отримане химерне антитіло з меншою імовірністю викликає несприятливу імунну відповідь у суб'єкта-людини, ніж вихідне (наприклад, мишаче) антитіло.

Даний винахід стосується гуманізованих антитіл проти TIGIT і їх антигензв'язувальних фрагментів (наприклад, щурячих або мишачих антитіл, які були гуманізовані) і способів їхнього застосування. Винахід стосується гуманізованого варіанта антитіла 14A6 (що містить SEQ ID NO:7 і 8), антитіла 28H5 (що містить SEQ ID NO:63 і 64) і антитіла 31C6 (що містить SEQ ID NO: 94-95). Як застосовують у даному документі, термін "гуманізоване антитіло" стосується форм антитіл, що містять послідовності як з антитілом людини, так і з антитілом, які не належать до людини (наприклад, миші або щури). Як правило, гуманізоване антитіло може містити по суті усі з щонайменше одного, і як правило, двох, варіабельних доменів, у яких усі або в основному усіх з гіперваріабельних петель відповідають гіперваріабельним петлям з імуноглобуліну, який не

належить до людини, і всі або в основному усіх з каркасних (FR) областей являють собою каркасні області з послідовностей імуноглобуліну людини. Гуманізоване антитіло може, необов'язково, містити щонайменше частину константної області імуноглобуліну людини (Fc).

Як правило, основна структурна одиниця антитіла містить тетрамер. Кожен тетрамер містить дві ідентичні пари поліпептидних ланцюгів, де кожна пара має один "легкий" (приблизно 25 кДа) і один "важкий" ланцюг (приблизно 50-70 кДа). N-кінцева частина кожного ланцюга містить варіабельну область приблизно від 100 до 110 або більше амінокислот, переважно відповідальних за впізнавання антигену. Карбокси-кінцева частина важкого ланцюга може визначати константну область, переважно відповідальну за ефекторну функцію. Як правило, людські легкі ланцюги класифікують як легкі ланцюги каппа і лямбда. Крім того, людські важкі ланцюги, як правило, класифікують як мю, дельта, гамма, альфа або епсилон, і визначають ізотип антитіла як IgM, IgD, IgG, IgA і IgE, відповідно. Усередині легких і важких ланцюгів, варіабельні і константні області з'єднані за допомогою області "J" із приблизно 12 або більше амінокислот, де важкий ланцюг містить також область "D" із приблизно 10 додаткових амінокислот. Див. загалом, *Fundamental Immunology* Ch. 7 (Paul, W., ed., 2nd ed. Raven Press, N.Y. (1989)).

Варіабельні області кожної пари легкого/важкого ланцюга формують ділянку зв'язування антитіла. Таким чином, як правило, інтактне антитіло має дві ділянки зв'язування. За винятком біфункціональних або біспецифічних антитіл, дві ділянки зв'язування, як правило, є однаковими.

Як правило, варіабельні домени як важких, так і легких ланцюгів, містять три гіперваріабельні області, які називаються також областями, які визначають комплементарність (CDR), локалізовані усередині відносно консервативних каркасних областей (FR). CDR, як правило, вирівняні за допомогою каркасних областей, що дозволяє зв'язування зі специфічним епітопом. Як правило, від N-кінця до C-кінця, варіабельні домени як легких, так і важких ланцюгів містять FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 і FR4. Віднесення амінокислот до кожного домена, як правило, відповідає визначенням з *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Kabat, et al.; National Institutes of Health, Bethesda, Md.; 5th ed.; NIH Publ. No. 91-3242 (1991); Kabat (1978) *Adv. Prot. Chem.* 32:1-75; Kabat, et al., (1977) *J. Biol. Chem.* 252:6609-6616; Chothia, et al., (1987) *J. Mol. Biol.* 196:901-917 або Chothia, et al., (1989) *Nature* 342:878-883.

Як застосовують у даному документі, термін "гіперваріабельна область" стосується амінокислотних залишків антитіла або його антигензв'язувального фрагмента, відповідальних за зв'язування антигену. Гіперваріабельна область містить амінокислотні залишки з "області, яка визначає комплементарність" або "CDR" (тобто CDRL1, CDRL2 і CDRL3 у варіабельному домені легкого ланцюга і CDRH1, CDRH2 і CDRH3 у варіабельному домені важкого ланцюга). Див. Kabat et al. (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (визначення областей CDR антитіла по послідовності); також див. Chothia and Lesk (1987) *J. Mol. Biol.* 196: 901-917 (визначення областей CDR антитіла за структурою). Як застосовують у даному документі, термін "каркасні" або "FR" залишки стосується залишків варіабельного домена, відмінних від залишків гіперваріабельної області, визначених у даному документі як залишки CDR.

"Виділена молекула нуклеїнової кислоти" або "виділений полінуклеотид" позначає ДНК або РНК геномного, мРНК, кДНК, або синтетичного походження, або деяке їхнє сполучення, не асоційовані з усім або частиною полінуклеотиду, у якому виділений полінуклеотид виявлений у природі, або зчеплені з полінуклеотидом, з яким він не зчеплений у природі. Для цілей по цьому опису, варто розуміти, що "молекула нуклеїнової кислоти, що містить" конкретну нуклеотидну послідовність, не включає інтактні хромосоми. Виділені молекули нуклеїнової кислоти, "які містять" вказані послідовності нуклеїнової кислоти, можуть включати, на додаток до вказаних послідовностей, кодувальні послідовності для аж до десяти або навіть аж до двадцяти або більше інших білків, або їхніх частин або фрагментів, або можуть включати функціонально зв'язані регуляторні послідовності, які контролюють експресію кодувальної області вказаних послідовностей нуклеїнової кислоти, і/або можуть включати векторні послідовності.

Фраза "контрольні послідовності" стосується послідовностей ДНК, необхідних для експресії функціонально зв'язаної кодувальної послідовності у конкретному організмі-хазяїні. Контрольні послідовності, що підходять для прокариот, наприклад, включають промотор, необов'язково, послідовність оператора і ділянку зв'язування рибосоми. Відомо, що еукаріотичні клітини використовують промотори, сигнали поліаденілювання і енхансери.

Нуклеїнова кислота або полінуклеотид є "функціонально зв'язаною", коли її вміщують у функціональний взаємозв'язок з іншою послідовністю нуклеїнової кислоти. Наприклад, ДНК для препослідовності або секреторного лідера є функціонально зв'язаною з ДНК для поліпептиду, якщо він експресується у формі пребілка, який бере участь у секреції поліпептиду; промотор

або енхансер є функціонально зв'язаним з кодованою послідовністю, якщо він впливає на транскрипцію послідовності; або ділянка зв'язування рибосоми є функціонально зв'язаною з кодувальною послідовністю, якщо він розташований так, щоб полегшувати трансляцію. Як правило, але не завжди, "функціонально зв'язаний" означає, що зв'язані послідовності ДНК є суміжними, і, у випадку секреторного лідера, суміжними й у фазі зчитування. Однак енхансери не обов'язково повинні бути суміжними. Зв'язування виконують за допомогою лігування в зручних ділянках рестрикції. Якщо таких ділянок не існує, синтетичні олігонуклеотидні адаптори або лінкери використовують відповідно до загальноприйнятої практики.

Як застосовують у даному документі, вираз "клітина", "лінія клітин" і "культура клітин" використовують взаємозамінно, і всі такі визначення включають потомство. Таким чином, слова "трансформанти" і "трансформовані клітини" включають первинну розглянуту клітину і культури, які походять з неї, незалежно від кількості переносів. Також варто розуміти, що не все потомство буде мати точно ідентичний вміст ДНК, через навмисні або спонтанні мутації. Включено мутантне потомство, яке має ту ж функцію або біологічну активність, по яких проводили скринінг початково трансформованих клітин. Коли передбачені відмінні визначення, це зрозуміло з контексту.

Як застосовують у даному документі, "зародкова послідовність" стосується послідовності з не перегрупованих послідовностей ДНК імуноглобулінів. Можна використовувати будь-яке прийнятне джерело не перегрупованих послідовностей імуноглобулінів. Зародкові послідовності людини можна одержувати, наприклад, з баз даних зародкових послідовностей JOINSOLVER на веб-сайт National Institute of Arthritis and Musculoskeletal and Skin Diseases of the United States National Institutes of Health. Зародкові послідовності миші можна одержувати, наприклад, як описано в Giudicelli et al. (2005) Nucleic Acids Res. 33:D256-D261.

Фізичні і функціональні властивості ілюстративних антитіл проти TIGIT

Даний винахід стосується антитіл проти TIGIT і їх антигензв'язувальних фрагментів, які мають вказані структурні і функціональні ознаки, і способів застосування антитіл або їх антигензв'язувальних фрагментів у лікуванні або запобіганні захворювань (наприклад, злоякісної пухлини або інфекційного захворювання).

"Антитіло проти TIGIT або його антигензв'язувальний фрагмент за даним винаходом" включає: будь-яке антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент, обговорюваний у даному документі (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 або гуманізовані варіанти цих антитіл, описані в таблиці 4) або їхній варіант (наприклад, варіант послідовності або функціональний варіант); будь-яке антитіло або антигензв'язувальний фрагмент, що містять будь-яку одну або декілька з CDR, вказаних у таблиці 4; будь-яке антитіло або антигензв'язувальний фрагмент, що зв'язуються з тим же епітопом у TIGIT людини, що й антитіла, обговорювані в даному документі (наприклад, 14A6, 28H5 або 31C6); і будь-яке антитіло або антигензв'язувальний фрагмент, які перехресно блокують (частково або повністю) зв'язування з TIGIT антитіла, обговорюваного в даному документі, або зв'язування яких з TIGIT перехресно блоковано (частково або повністю) антитілом, обговорюваним у даному документі (наприклад, 14A6, 28H5 або 31C6).

Перехресне блокування антитіл і їх антигензв'язувальних фрагментів можна ідентифікувати на підставі їхньої здатності до перехресної конкуренції з антитілом за винаходом в стандартних аналізах зв'язування (наприклад, BIAcore, ELISA, проточна цитометрія). Наприклад, можна використовувати стандартні аналізи ELISA, у яких рекомбінантний білок TIGIT (наприклад, TIGIT людини) іммобілізують на планшеті, одне з антитіл піддають флуоресцентному міченню, і оцінюють здатність немічених антитіл конкурувати за зв'язування з міченим антитілом. Додатково або альтернативно, можна використовувати аналіз BIAcore для оцінки здатності антитіл до перехресної конкуренції. Здатність тестованого антитіла інгібувати зв'язування іншого антитіла (наприклад, антитіла 14A6 або 28H5 або 31C6) з TIGIT (наприклад, TIGIT людини) показує, що тестоване антитіло може конкурувати з іншим антитілом (наприклад, 14A6 або 28H5 або 31C6) за зв'язування з TIGIT (наприклад, TIGIT людини) і таким чином, може, у деяких випадках, зв'язуватися з тим же епітопом на TIGIT (наприклад, TIGIT людини), що й антитіло 14A6 або 28H5 або 31C6, або з епітопом, який перекривається.

Як вказано вище, антитіла і фрагменти, що зв'язуються з тим же епітопом, що і будь-яке з антитіл або їх антигензв'язувальних фрагментів проти TIGIT за даним винаходом, також складають частину даного винаходу. Крім того, антитіла, які зв'язуються з епітопом, що перекривається з епітопом, що зв'язується будь-яким з антитіл проти TIGIT за винаходом, також складають частину даного винаходу. Існує кілька способів, доступних для картування антитіла на антигенах-мішенях, включаючи: H/D-Ex мас-спектрометрію, рентгенівську кристалографію, аналіз перскап і сайт-направлений мутагенез. Наприклад, HDX (воднево-дейтерієвий обмін) у сполученні з протеолізом і мас-спектрометрією можна використовувати для визначення епітопа

антитіла на специфічному антигені Y. HDX-MS основана на точному вимірюванні і порівнянні ступеня включення дейтерію антигеном при інкубації з D₂O окремо й у присутності антитіла проти нього в різні часові інтервали. Дейтерій обмінюється з воднем на амідному кістяку білків в експонованих областях, у той час як області антигену, зв'язані з антитілом, захищені, і для них показаний менший обмін або відсутність обміну після аналізу протеолітичних фрагментів за допомогою LC-MS/MS. Приклад 9 ілюструє застосування HDX для картування епітопа, що зв'язується антитілом 14A6.

Імуноглобулінові ланцюга антитіл проти TIGIT за винаходом, а також їх CDR, включають, як необмежувальні приклади, описані в таблиці 4 (SEQ ID NO: 1-30, 37-52, 57-83 або 88-167). Даний винахід стосується будь-якого поліпептиду, що містить амінокислотні послідовності або складається з амінокислотних послідовностей з SEQ ID NO: 1-30, 37-52, 57-83 або 88-167, і рекомбінантних нуклеотидів, які кодують такі поліпептиди.

Обсяг даного винаходу включає виділені антитіла проти TIGIT і їхні антигензв'язувальні фрагменти (наприклад, гуманізовані антитіла), що містять варіант імуноглобулінового ланцюга, вказаного в даному документі, наприклад, будь-якої з SEQ ID NO: 7-30, 37-52, 63-64, 94-95 або 124-133; де варіант має одну або декілька з наступних властивостей: (i) зв'язує TIGIT людини; (ii) вступає в перехресну реакцію з TIGIT яванської макаки і макаки-резусу; (iii) блокує зв'язування TIGIT людини з CD155 людини і CD112 людини; (iv) збільшує активацію Т-клітин; (v) стимулює продукцію IL-2 і IFN γ антигенспецифічними Т-клітинами; (vi) блокує індукцію супресії активації Т-клітин, індуковану лігуванням TIGIT зі спорідненими лігандами CD155 і CD112.

В інших варіантах здійснення винахід стосується антитіл або їх антигензв'язувальних фрагментів, що зв'язуються з TIGIT людини (наприклад, гуманізовані антитіла) і мають домени V_L і домени V_H щонайменше з 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентичністю послідовності з SEQ ID NO: 7-30, 37-52, 63-64, 94-95 або 124-133; де варіант має бажане зв'язування і властивості, наприклад, (i) зв'язує TIGIT людини зі значенням K_D від приблизно 1×10⁻⁹ М до приблизно 1×10⁻¹² М, як визначено за допомогою поверхневого плазмонного резонансу (наприклад, BIACORE) або подібного способу (наприклад, KinExa або OCTET); (ii) вступає в перехресну реакцію з TIGIT яванської макаки і макаки-резусу; (iii) блокує зв'язування TIGIT людини з CD155 людини і CD112 людини; (iv) збільшує активацію Т-клітин; (v) стимулює продукцію IL-2 і IFN γ антигенспецифічними Т-клітинами; (vi) блокує індукцію супресії активації Т-клітин, індуковану лігуванням TIGIT зі спорідненими лігандами CD155 і CD112.

"Консервативно модифіковані варіанти" або "консервативна заміна" стосується заміни амінокислот у білку на інші амінокислоти, що мають подібні характеристики (наприклад, заряд, розмір бічних ланцюгів, гідрофобність/гідрофільність, конформацію і твердість, і т. д.), так що зміни часто можна здійснювати без зміни біологічної активності білка. Фахівцям в даній галузі відомо, що, як правило, одиночні амінокислотні заміни в областях поліпептиду, які не є необхідними, істотно не змінюють біологічну активність (див., наприклад, Watson et al. (1987) Molecular Biology of the Gene, The Benjamin/Cummings Pub. Co., p. 224 (4th Ed.)). Крім того, заміни на структурно або функціонально подібні амінокислоти з меншою імовірністю порушують біологічну активність. Ілюстративні консервативні заміни вказані в таблиці 1.

Таблиця 1

Ілюстративні консервативні амінокислотні заміни

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

Функціонально консервативні варіанти антитіл за винаходом також включені в даний винахід. "Функціонально консервативні варіанти", як застосовують у даному документі, стосується антитіл або фрагментів, у яких один або кілька амінокислотних залишків замінені без зміни бажаної властивості, такої як афінність і/або специфічність для антигену. Такі варіанти включають, але без обмеження, заміну амінокислоти на таку, що має подібні властивості, такі як консервативні амінокислотні заміни з Таблиці 1. Представлені також виділені поліпептиди, що містять домени V_L антитіл проти TIGIT за винаходом (наприклад, SEQ ID NO: 8, 25-30 і 48-52), і виділені поліпептиди, що містять домени V_H (наприклад, SEQ ID NO: 7, 9-24 і 37-47) антитіл проти TIGIT за винаходом, що містять аж до 0, 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 або більше амінокислотних заміни. Представлені також виділені поліпептиди, які містять домени V_L антитіл проти TIGIT за винаходом (наприклад, SEQ ID NO: 64) і виділені поліпептиди, які містять домени V_H (наприклад, SEQ ID NO: 63) антитіл проти TIGIT за винаходом, що містять аж до 0, 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 або більше амінокислотних заміни. Представлені також виділені поліпептиди, які містять домени V_L антитіл проти TIGIT за винаходом (наприклад, SEQ ID NO: 95 і 130-133) і виділені поліпептиди, що містять домени V_H (наприклад, SEQ ID NO: 94 і 124-129) антитіл проти TIGIT за винаходом, що містять аж до 0, 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 або більше амінокислотних заміни.

В іншому варіанті здійснення представлено антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент, що зв'язуються з TIGIT і мають домени V_L і домени V_H щонайменше з 99 %, 98 %, 97 %, 96 %, 95 %, 90 %, 85 %, 80 % або 75 % ідентичністю послідовності з одним або декількома з доменів V_L або доменів V_H , описаних у даному документі, і мають специфічне зв'язування з TIGIT. В іншому варіанті здійснення зв'язувальне антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент за даним винаходом містять домени V_L і V_H (із сигнальною послідовністю і без неї), що містять аж до 0, 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 або більше амінокислотних заміни, і мають специфічне зв'язування з TIGIT.

Полінуклеотиди і поліпептиди

Даний винахід, крім того, стосується полінуклеотидів, які кодують будь-які з поліпептидів або імуноглобулінових ланцюгів антитіл проти TIGIT і їх антигензв'язувальних фрагментів за винаходом. Наприклад, даний винахід стосується полінуклеотидів, які кодують амінокислоти,

описані в SEQ ID NO: 1-30, 37-52, 57-83 і 88-167, а також полінуклеотидів, які гібридизуються з ними, а також будь-якого поліпептиду, який кодується таким полінуклеотидом, який гібридизується. В одному варіанті здійснення винахід стосується послідовності нуклеїнової кислоти, що містить або складається в основному з SEQ ID NO:84 або SEQ ID NO: 85.

5 Як правило, полінуклеотиди гібридизуються в умовах низької, помірної або високої суворості, і кодують антитіла або їх антигензв'язувальні фрагменти, що зберігають здатність зв'язування з TIGIT (людини, макаки-резусу і/або яванської макаки, наприклад, *Mascas fascicularis*). Молекула першого полінуклеотиду є "здатною до гібридизації" з молекулою другого полінуклеотиду, коли одноланцюжкова форма молекули першого полінуклеотиду може
10 гібридизуватися з молекулою другого полінуклеотиду в умовах прийнятних температури й іонної сили розчину (див. Sambrook, et al., вище). Умови температури й іонної сили визначають "суворість" гібридизації. Типові умови низької суворості гібридизації включають 55 °C, 5X SSC, 0,1 % SDS і відсутність формаміду; або 30 % формамід, 5X SSC, 0,5 % SDS при 42 °C. Типові умови помірної суворості гібридизації являють собою 40 % формамід, з 5X або 6X SSC і 0,1 %
15 SDS при 42 °C. Умови високої суворості гібридизації являють собою 50 % формамід, 5X або 6X SSC при 42 °C або, необов'язково, при більш високій температурі (наприклад, 57 °C, 59 °C, 60 °C, 62 °C, 63 °C, 65 °C або 68 °C). Як правило, SSC являє собою 0,15M NaCl і 0,015M Na-цитрат. Гібридизація вимагає того, щоб два полінуклеотиди містили комплементарні послідовності, хоча, залежно від суворості гібридизації, можливі невідповідності між основами.
20 Прийнятна суворість для гібридизації полінуклеотидів залежить від довжини полінуклеотидів і ступеня комплементарності, змінних, добре відомих в даній галузі. Чим більший ступінь подібності або гомології між двома нуклеотидними послідовностями, тим вище суворість, при якій нуклеїнові кислоти можуть гібридизуватися. Для гібридів довжиною більше 100 нуклеотидів, розроблені рівняння для розрахунку температури плавлення (див. Sambrook, et al., вище, 9,50-9,51). Для гібридизації з більш короткими полінуклеотидами, наприклад, олігонуклеотидами, положення невідповідностей стають більш важливими, і довжина олігонуклеотиду визначає його специфічність (див. Sambrook, et al., вище, 11.7-11.8).

В іншому варіанті здійснення представлений виділений полінуклеотид, наприклад, ДНК, що кодує поліпептидні ланцюги виділених антитіл або антигензв'язувальних фрагментів, вказаних у
30 даному документі. В одному варіанті здійснення виділений полінуклеотид кодує антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент, що містять щонайменше один варіабельний домен (V_L) легкого ланцюга зрілого імуноглобуліну за винаходом і/або щонайменше один варіабельний домен (V_H) важкого ланцюга зрілого імуноглобуліну за винаходом. У деяких варіантах здійснення виділений полінуклеотид кодує як легкий ланцюг, так і важкий ланцюг на одній
35 полінуклеотидній молекулі, і в інших варіантах здійснення легкі і важкі ланцюги кодовані на окремих полінуклеотидних молекулах. В іншому варіанті здійснення полінуклеотид додатково кодує сигнальну послідовність.

В одному варіанті здійснення винахід стосується виділеного полінуклеотиду, що кодує варіабельний домен (V_H) важкого ланцюга антитіла або його антигензв'язувальний фрагмент,
40 що містить CDR-H1 (SEQ ID NO:1), CDR-H2 (SEQ ID NO:2) і CDR-H3 (SEQ ID NO:3 або 79 або 80 або 81 або 82, 83 або 140).

В одному варіанті здійснення винахід стосується виділеного полінуклеотиду, що кодує варіабельний домен (V_L) легкого ланцюга антитіла або його антигензв'язувальний фрагмент, що містить CDR-L1 (SEQ ID NO:4), CDR-L2 (SEQ ID NO:5 або 65, або 66, або 67, або 68, або 69, або
45 70, або 71, або 72, або 73, або 141) і CDR-L3 (SEQ ID NO:6 або 74, або 75, або 76, або 77, або 78).

В одному варіанті здійснення винахід стосується виділеного полінуклеотиду, що кодує варіабельний домен (V_H) важкого ланцюга імуноглобуліну з SEQ ID NO: 7.

В одному варіанті здійснення винахід стосується виділеного полінуклеотиду, що кодує
50 варіабельний домен (V_L) легкого ланцюга імуноглобуліну з SEQ ID NO: 8.

В одному варіанті здійснення винахід стосується виділеного полінуклеотиду, що кодує варіабельний домен (V_H) важкого ланцюга імуноглобуліну з будь-якої з SEQ ID NO: 9-24 або 37-47.

В одному варіанті здійснення винахід стосується виділеного полінуклеотиду, що кодує
55 варіабельний домен (V_L) легкого ланцюга імуноглобуліну з будь-якої з SEQ ID NO: 25-30 або 48-52

В одному варіанті здійснення винахід стосується виділеного полінуклеотиду, що кодує варіабельний домен (V_H) важкого ланцюга антитіла або його антигензв'язувальний фрагмент, що містить CDR-H1 (SEQ ID NO: 57), CDR-H2 (SEQ ID NO: 58) і CDR-H3 (SEQ ID NO: 59).

В одному варіанті здійснення винахід стосується виділеного полінуклеотиду, що кодує варіабельний домен (V_L) легкого ланцюга антитіла або його антигензв'язувальний фрагмент, що містить CDR-L1 (SEQ ID NO: 60), CDR-L2 (SEQ ID NO: 61) і CDR-L3 (SEQ ID NO: 62).

В одному варіанті здійснення винахід стосується виділеного полінуклеотиду, що кодує варіабельний домен (V_H) важкого ланцюга імуноглобуліну з SEQ ID NO: 63.

В одному варіанті здійснення винахід стосується виділеного полінуклеотиду, що кодує варіабельний домен (V_L) легкого ланцюга імуноглобуліну з SEQ ID NO: 64.

В одному варіанті здійснення винахід стосується виділеного полінуклеотиду, що кодує варіабельний домен (V_H) важкого ланцюга антитіла або його антигензв'язувальний фрагмент, що містить CDR-H1 (SEQ ID NO: 88), CDR-H2 (SEQ ID NO: 89, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 134 або 135) і CDR-H3 (SEQ ID NO: 90).

В одному варіанті здійснення винахід стосується виділеного полінуклеотиду, що кодує варіабельний домен легкого ланцюга (V_L) або антитіла його антигензв'язувальний фрагмент, що містить CDR-L1 (SEQ ID NO: 91), CDR-L2 (SEQ ID NO: 92, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122 або 123) і CDR-L3 (SEQ ID NO: 93).

В одному варіанті здійснення винахід стосується виділеного полінуклеотиду, що кодує варіабельний домен (V_H) важкого ланцюга імуноглобуліну з SEQ ID NO: 94.

В одному варіанті здійснення винахід стосується виділеного полінуклеотиду, що кодує варіабельний домен (V_L) легкого ланцюга імуноглобуліну з SEQ ID NO: 95.

В одному варіанті здійснення винахід стосується виділеного полінуклеотиду, що кодує варіабельний домен (V_H) важкого ланцюга імуноглобуліну з будь-якої з SEQ ID NO: 124-129.

В одному варіанті здійснення винахід стосується виділеного полінуклеотиду, що кодує варіабельний домен (V_L) легкого ланцюга імуноглобуліну з будь-якої з SEQ ID NO: 130-133.

В одному варіанті здійснення винахід стосується виділеного полінуклеотиду, що кодує варіабельний домен (V_H) важкого ланцюга імуноглобуліну з SEQ ID NO: 127.

В одному варіанті здійснення винахід стосується виділеного полінуклеотиду, що кодує варіабельний домен (V_H) важкого ланцюга імуноглобуліну з SEQ ID NO: 128.

В одному варіанті здійснення винахід стосується виділеного полінуклеотиду, що кодує варіабельний домен (V_L) легкого ланцюга імуноглобуліну з SEQ ID NO: 130.

В одному варіанті здійснення винахід стосується виділеного полінуклеотиду, що кодує варіабельний домен (V_L) легкого ланцюга імуноглобуліну з SEQ ID NO: 132.

В одному варіанті здійснення винахід стосується виділеного полінуклеотиду, що кодує варіабельний домен (V_L) легкого ланцюга імуноглобуліну з SEQ ID NO: 133.

Даний винахід стосується також векторів, наприклад, експресуючих векторів, таких як плазміди, які містять виділені полінуклеотиди за винаходом, де полінуклеотид є функціонально зв'язаним з контрольними послідовностями, які упізнаються клітиною-хазяїном, коли клітину-хазяїна трансфікують вектором. Представлені також клітини-хазяїни, що містять вектор за даним винаходом, і способи одержання антитіла або його антигензв'язувального фрагмента, або поліпептиду, описаного в даному документі, що включають культивування клітини-хазяїна, що несе експресуючий вектор або нуклеїнову кислоту, які кодують імуноглобулінові ланцюги антитіла або їх антигензв'язувальні фрагменти, у середовищі для культивування, і виділення антитіла або його антигензв'язувального фрагмента з клітини-хазяїна або середовища для культивування.

Даний винахід стосується також поліпептидів, наприклад, поліпептидів імуноглобулінів, що містять амінокислотні послідовності, які є щонайменше приблизно на 75 % ідентичними, на 80 % ідентичними, більш переважно, щонайменше приблизно на 90 % ідентичними і, найбільш переважно, щонайменше приблизно на 95 % ідентичними (наприклад, на 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 100 %) амінокислотним послідовностям антитіл, представлених у даному документі, коли порівняння виконують за допомогою алгоритму BLAST, де параметри алгоритму вибрані для одержання найбільшого збігу між відповідними послідовностями протягом повної довжини відповідних еталонних послідовностей (наприклад, очікуваний поріг: 10; розмір слова: 3; максимальна кількість збігів у діапазоні запиту: 0; матриця BLOSUM 62; вартість пропуску: існування 11, продовження 1; умовна структурна корекція матриці балів).

Ідентичність послідовності стосується ступеня, у якому амінокислоти з двох поліпептидів є однаковими в еквівалентних положеннях, коли дві послідовності оптимально вирівняні.

Наступні посилання стосуються алгоритмів BLAST, часто використовуваним для аналізу послідовностей: BLAST ALGORITHMS: Altschul et al. (2005) FEBS J. 272(20): 5101-5109; Altschul, S.F., et al., (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410; Gish, W., et al., (1993) Nature Genet. 3:266-272; Madden, T.L., et al., (1996) Meth. Enzymol. 266:131-141; Altschul, S.F., et al., (1997) Nucleic Acids Res. 25:3389-3402; Zhang, J., et al., (1997) Genome Res. 7:649-656; Wootton, J.C., et al., (1993)

Comput. Chem. 17:149-163; Hancock, J.M. et al., (1994) Comput. Appl. Biosci. 10:67-70; ALIGNMENT SCORING SYSTEMS: Dayhoff, M.O., et al., "A model of evolutionary change in proteins.» in Atlas of Protein Sequence and Structure, (1978) vol. 5, suppl. 3. M.O. Dayhoff (ed.), pp. 345-352, Natl. Biomed. Res. Found., Washington, DC; Schwartz, R.M., et al., "Matrices for detecting distant relationships.» in Atlas of Protein Sequence and Structure, (1978) vol. 5, suppl. 3.» M.O. Dayhoff (ed.), pp. 353-358, Natl. Biomed. Res. Found., Washington, DC; Altschul, S.F., (1991) J. Mol. Biol. 219:555-565; States, D.J., et al., (1991) Methods 3:66-70; Henikoff, S., et al., (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:10915-10919; Altschul, S.F., et al., (1993) J. Mol. Evol. 36:290-300; ALIGNMENT STATISTICS: Karlin, S., et al., (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:2264-2268; Karlin, S., et al., (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5877; Dembo, A., et al., (1994) Ann. Prob. 22:2022-2039; and Altschul, S.F. "Evaluating the statistical significance of multiple distinct local alignments.» in Theoretical and Computational Methods in Genome Research (S. Suhai, ed.), (1997) pp. 1-14, Plenum, New York.

Афінність зв'язування

Як приклад, і без обмеження, антитіла й антигензв'язувальні фрагменти, описані в даному документі, можуть зв'язувати TIGIT людини зі значенням K_D щонайменше приблизно 1×10^{-9} М (тобто, зі значенням K_D 1×10^{-9} М або нижче), як визначено за допомогою поверхневого плазмонного резонансу (наприклад, BIACORE) або подібного способу (наприклад, KinExa або OCTET). В одному варіанті здійснення антитіла й антигензв'язувальні фрагменти, описані в даному документі, можуть зв'язувати TIGIT людини зі значенням K_D щонайменше від приблизно 1×10^{-9} М до приблизно 1×10^{-12} М, як визначено за допомогою поверхневого плазмонного резонансу (наприклад, BIACORE) або подібного способу (наприклад, KinExa або OCTET). В одному варіанті здійснення антитіла й антигензв'язувальні фрагменти, описані в даному документі, можуть зв'язувати TIGIT людини зі значенням K_D від приблизно 1×10^{-9} М до приблизно 1×10^{-12} М, як визначено за допомогою поверхневого плазмонного резонансу (наприклад, BIACORE) або подібного способу (наприклад, KinExa або OCTET). В одному варіанті здійснення антитіла й антигензв'язувальні фрагменти, описані в даному документі, можуть зв'язувати TIGIT людини зі значенням K_D щонайменше приблизно 50 пМ (тобто, зі значенням K_D приблизно 50 пМ або нижче), як визначено за допомогою BIACORE або подібного способу. В одному варіанті здійснення антитіла й антигензв'язувальні фрагменти, описані в даному документі, можуть зв'язувати TIGIT людини зі значенням K_D щонайменше приблизно 10 пМ (тобто, зі значенням K_D приблизно 10 пМ або нижче), як визначено за допомогою BIACORE або подібного способу. В одному варіанті здійснення антитіла й антигензв'язувальні фрагменти за винаходом можуть зв'язувати TIGIT людини з K_D від приблизно від 50 пМ до приблизно 1 пМ, як визначено за допомогою BIACORE або подібного способу.

Активация імуніцитів

У деяких варіантах здійснення антитіла або антигензв'язувальні фрагменти за винаходом збільшують активність імуніцитів. Збільшення активності імуніцитів можна детектувати з використанням будь-якого способу, відомого в даній галузі. В одному варіанті здійснення збільшення активності імуніцитів можна детектувати за допомогою вимірювання проліферації імуніцитів. Наприклад, збільшення активності Т-клітин можна детектувати за допомогою вимірювання проліферації Т-клітин або подій передачі сигналу, таких як тирозинове фосфорилування імунних рецепторів або нижчерозташованих кіназ, які переносять сигнали до регуляторів транскрипції. В інших варіантах здійснення збільшення активності імуніцитів можна детектувати за допомогою вимірювання цитотоксичної функції клітин CTL або NK на специфічних клітинах-мішенях або відповідей цитокіну IFN γ , які асоційовані зі стимуляцією протипухлинного імунітету. В інших варіантах здійснення збільшення активності імуніцитів можна детектувати за допомогою вимірювання активації Т-клітин ex vivo у зразку, отриманому від суб'єкта. В одному варіанті здійснення збільшення активності Т-клітин визначають за допомогою: (i) вимірювання індукованої SEB (ентеротоксином B Staphylococcus) продукції одного або декількох прозапальних цитокінів, вибраних із групи, яка складається з: IL-2, TNF α , IL-17, IFN γ , IL-1 β , GM-CSF, RANTES, IL-6, IL-8, IL-5 і IL-13; або (ii) вимірювання реакцій змішаної культури лімфоцитів або прямої стимуляції за допомогою mAb проти CD3 передачі сигналу Т-клітинного рецептора (TCR) для індукції продукції цитокіну, вибраного з групи, яка складається з: IL-2, TNF α , IL-17, IFN γ , IL-1 β , GM-CSF, RANTES, IL-6, IL-8, IL-5 і IL-13. У конкретних варіантах здійснення антитіло проти TIGIT або його антигензв'язувальний фрагмент за даним винаходом може стимулювати продукцію IL-2 і/або IFN γ антигенспецифічними Т-клітинами щонайменше в 1,5 рази.

Даний винахід стосується антитіл-антагоністів проти TIGIT і їх антигензв'язувальних фрагментів, і способів їхнього застосування, наприклад, гуманізованих антитіл-антагоністів і

фрагментів проти TIGIT. Антитіло-антагоніст проти TIGIT або його антигензв'язувальний фрагмент виявляють антагонізм до активності TIGIT людини, наприклад, за допомогою інгібування зв'язування TIGIT з CD155 і CD112, і інгібування передачі сигналу функціонального ITIM за допомогою TIGIT при зв'язуванні з CD155 і CD112. Вимірювання антагоністичної активності проти TIGIT можна оцінювати за допомогою демонстрації блокування супресії Т-клітин після активації TCR, індукованої лігуванням TIGIT зі спорідненими лігандами CD155 і CD112. Таким чином, в одному варіанті здійснення збільшених відповідей, обробка антитілами-антагоністами проти TIGIT є здатною відновлювати відповіді IL-2 до рівнів, що спостерігаються в Т-клітинах, не репресованих шляхом індукції TIGIT за допомогою CD155 або CD112. При більш переважному рівні активації, відповіді, після обробки за допомогою антитіла-антагоніста проти TIGIT, можуть являти собою відповіді, збільшені до рівня, більш високого, ніж відповіді Т-клітин, не репресованих за допомогою CD155 або CD112.

Здатність антитіл проти hTIGIT блокувати зв'язування з hCD155 і hCD112

У деяких варіантах здійснення антитіла або антигензв'язувальні фрагменти проти TIGIT за винаходом є здатними блокувати зв'язування TIGIT людини з CD155 людини і CD112 людини. Здатність блокувати зв'язування TIGIT людини з CD155 людини і CD112 людини можна визначати з використанням будь-якого способу, відомого в даній галузі. В одному варіанті здійснення здатність антитіл блокувати зв'язування TIGIT людини з CD155 людини і CD112 людини визначають з використанням аналізу ELISA, як описано в прикладі 2.

Способи одержання антитіл і їх антигензв'язувальних фрагментів

Клітини гібридами, які продукують вихідні (наприклад, щурячі або мишачі) моноклональні антитіла проти TIGIT або їх антигензв'язувальні фрагменти, обговорювані в даному документі, можна одержувати способами, загальновідомими в даній галузі. Такі виділені гібридами є частиною даного винаходу. Ці способи включають, але без обмеження, спосіб гібридами, спочатку розроблений Kohler, et al., (1975) (Nature 256:495-497), а також спосіб триоми (Hering, et al., (1988) Biomed. Biochim. Acta. 47:211-216 і Hagiwara, et al., (1993) Hum. Antibod. Hybridomas 4:15), спосіб гібридами В-клітин людини (Kozbor, et al., (1983) Immunology Today 4:72 і Cote, et al., (1983) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A 80:2026-2030), спосіб EBV-гібридами (Cole, et al., in Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, Inc., pp. 77-96, 1985) і електрозлиття, обумовленого електричним полем, з використанням електропоратора для злиття клітин з великою камерою Cyto Pulse (Cyto Pulse Sciences, Inc., Glen Burnie, MD). Переважно, спленоцити миші виділяють і зливають за допомогою PEG або за допомогою електрозлиття з лінією клітин мієломи миші на основі стандартних способів. Потім можна виконувати скринінг отриманих гібридом по продукції антигенспецифічних антитіл. Наприклад, суспензії окремих клітин лімфоцитів селезінки від імунізованих мишей можна зливати з однією шостою кількості несекретуючих клітин мієломи миші P3X63-Ag8.653 (ATCC, CRL 1580) за допомогою 50 % ПЕГ. Клітини можна розсівати при приблизно 2×10^5 клітин/мл у плоскодонний мікропланшет для титрування, з наступними двома тижнями інкубації в селективному середовищі, що містить 20 % ембріональну сироватку fetal Clone, 18 % кондіціоноване середовище "653", 5 % origen (IGEN), 4 mM L-глутамін, 1 mM L-глутамін, 1 mM піруват натрію, 5 mM HEPES, 0,055 mM 2-меркаптоетанол, 50 одиниць/мл пеніцилін, 50 мг/мл стрептоміцин, 50 мг/мл гентаміцин і 1X NAT (Sigma; NAT додають через 24 години після злиття). Через два тижні, клітини можна культивувати в середовищі, у якому NAT замінений на HT. Потім можна виконувати скринінг індивідуальних ямок за допомогою ELISA по моноклональних антитілах IgG проти TIGIT. Після початку інтенсивного росту гібридами, можна виконувати спостереження за середовищем, як правило, через 10-14 діб. Гібридами, які секретують антитіло, можна пересівати, знову піддавати скринінгу, і якщо вони усе ще позитивні по IgG людини, моноклональні антитіла проти TIGIT, можна субклонувати щонайменше двічі за допомогою лімітуючого розведення. Стабільні субклони можна потім культивувати in vitro для одержання невеликих кількостей антитіла в культуральному середовищі для характеристики.

Таким чином, даний винахід стосується способів одержання антитіла проти TIGIT або його антигензв'язувального фрагмента за даним винаходом, що включає культивування клітин гібридами, яка експресує антитіло або фрагмент, в умовах, сприятливих для такої експресії, і, необов'язково, виділення антитіла або фрагмента з гібридами і/або середовища для вирощування (наприклад, середовища для культивування клітин).

Антитіла проти TIGIT, описані в даному документі, також можна одержувати рекомбінантним чином (наприклад, у експресуючій системі E. coli/T7, у експресуючій системі клітин ссавця або в експресуючій системі нижчих еукаріот). У цьому варіанті здійснення нуклеїнові кислоти, що кодуєть імуноглобулінові молекули антитіл за винаходом (наприклад, V_H або V_L), можна вставляти в плазмідну на основі pET і експресувати у системі E. coli/T7. Наприклад, даний

винахід стосується способів експресії антитіла або його антигензв'язувального фрагмента, або його імуноглобулінового ланцюга в клітині-хазяїні (наприклад, бактеріальній клітині-хазяїні, такий як *E.coli*, такий як BL21 або BL21DE3), що включає експресію РНК-полімерази Т7 у клітині, яка також містить полінуклеотид, який кодує імуноглобуліновий ланцюг, функціонально зв'язаний із промотором Т7. Наприклад, в одному з варіантів здійснення винаходу бактеріальна клітина-хазяїн, така як *E. coli*, містить полінуклеотид, який кодує ген РНК-полімерази Т7, функціонально зв'язаний із промотором *lac*, і експресію полімерази і ланцюга індують за допомогою інкубації клітини-хазяїна з IPTG (ізопропіл-бета-D-тіогалактопіранозидом).

Існує кілька способів одержання рекомбінантних антитіл, відомих в даній галузі. Один приклад способу рекомбінантного одержання антитіл описаний у Патенті США No. 4816567.

Трансформацію можна виконувати будь-яким відомим способом введення полінуклеотидів у клітину-хазяїна. Способи введення гетерологічних полінуклеотидів у клітини ссавців добре відомі в даній галузі і включають опосередковану декстраном трансфекцію, преципітацію фосфатом кальцію, опосередковану полібреном трансфекцію, злиття протопластів, електропорацію, інкапсуляцію полінуклеотиду (полінуклеотидів) у ліпосоми, біолістичну ін'єкцію і пряму мікроін'єкцію ДНК у ядра. Крім того, молекули нуклеїнової кислоти можна вводити в клітини ссавців за допомогою вірусних векторів. Способи трансформації клітин добре відомі в даній галузі. Див., наприклад, Патенти США No. 4399216; 4912040; 4740461 і 4959455.

Таким чином, даний винахід стосується рекомбінантних способів одержання антитіла проти TIGIT або його антигензв'язувального фрагмента за даним винаходом, або його імуноглобулінового ланцюга, що включає введення полінуклеотиду, який кодує один або декілька імуноглобулінових ланцюгів антитіла або фрагмента (наприклад, важкого і/або легкого ланцюга імуноглобуліну); культивування клітини-хазяїна (наприклад, CHO або *Pichia*, або *Pichia pastoris*) в умовах, сприятливих для такої експресії, і, необов'язково, виділення антитіла або фрагмента, або ланцюга з клітини-хазяїна і/або середовища, у якому вирощують клітину-хазяїна.

Антитіла проти TIGIT можна також синтезувати будь-яким зі способів, вказаних у Патенті США No. 6331415.

Еукаріотичні і прокаріотичні клітини-хазяїни, включаючи клітини ссавців, як хазяїв для експресії антитіл або фрагментів, або імуноглобулінових ланцюгів, описаних у даному документі, добре відомі в даній галузі і включають множину іморталізованих ліній клітин, доступних з Американської колекції типових культур (ATCC). Вони включають, серед іншого, клітини яєчника китайського хом'яка (CHO), NSO, клітини SP2, клітини HeLa, клітини нирки дитинчати хом'яка (BHK), клітини нирки мавпи (COS), клітини печінково-клітинної карциноми людини (наприклад, Hep G2), клітини A549, клітини 3T3, клітини HEK-293 і ряд інших ліній клітин. Клітини-хазяїни ссавців включають клітини людини, миші, щура, собаки, мавпи, свині, кози, бика, коня і хом'яка. Особливо переважні лінії клітин вибирають за допомогою визначення того, які лінії клітин мають високі рівні експресії. Іншими лініями клітин, які можна використовувати, є лінії клітин комах, такі як клітини Sf9, клітини амфібій, бактеріальні клітини, клітини рослин і клітини грибів. Клітини грибів включають клітини дріжджів і міцеліальних грибів, включаючи, наприклад, *Pichia minuta* (*Ogataea minuta*, *Pichia lindneri*), *Pichia opuntiae*, *Pichia thermotolerans*, *Pichia salictaria*, *Pichia guercuum*, *Pichia pijperi*, *Pichia stiptis*, *Pichia methanolica*, види *Pichia*, *Saccharomyces cerevisiae*, види *Saccharomyces*, *Hansenula polymorpha*, види *Kluyveromyces*, *Kluyveromyces lactis*, *Candida albicans*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Trichoderma reesei*, *Chrysosporium lucknowense*, *Fusarium sp.*, *Fusarium gramineum*, *Fusarium venenatum*, *Physcomitrella patens* і *Neurospora crassa*, види *Pichia*, будь-які види *Saccharomyces*, *Hansenula polymorpha*, будь-які види *Kluyveromyces*, *Candida albicans*, будь-які види *Aspergillus*, *Trichoderma reesei*, *Chrysosporium lucknowense*, будь-які види *Fusarium*, *Yarrowia lipolytica* і *Neurospora crassa*. Коли рекомбінантні експресуючі вектори, які кодують важкий ланцюг або його антигензв'язувальну частину, або фрагмент, легкий ланцюг і/або його антигензв'язувальний фрагмент, вводять у клітини-хазяїни ссавців, антитіла одержують за допомогою культивування клітини-хазяїни протягом періоду часу, достатнього, щоб дозволити експресію антитіла або фрагмента, або ланцюга в клітинах-хазяях, або секрецію в середовище для культивування, у якому вирощують клітини-хазяїни.

Антитіла і їх антигензв'язувальні фрагменти, і ланцюги імуноглобулінів можна виділяти із середовища для культивування з використанням стандартних способів очищення білка. Крім того, експресію антитіл і їх антигензв'язувальних фрагментів і ланцюгів імуноглобулінів за винаходом (або інших молекул з них) з лінії клітин-продуцентів можна поліпшувати з використанням ряду відомих способів. Наприклад, експресія генів системи глутамінсинтетази (системи GS) є загальнопоширеним способом поліпшення експресії у визначених умовах.

Систему GS обговорюють повністю або частково в зв'язку з Європейськими Патентами No. 0216846, 0256055 і 0323997 і Європейською Патентною заявкою No. 89303964.4. Таким чином, в одному з варіантів здійснення винаходу клітини-хазяїни ссавців (наприклад, CHO) позбавлені гена глутамінсинтетази, і їх вирощують під час відсутності глутаміну в середовищі, де, однак, полінуклеотид, який кодує ланцюг імуноглобуліну, містить ген глутамінсинтетази, який

комплементує відсутність гена в клітині-хазяїні.

Даний винахід стосується способів очищення антитіла проти TIGIT або його антигензв'язувального фрагмента за даним винаходом, що включає введення зразка, що містить антитіло або фрагмент, у середовище для очищення (наприклад, катіонообмінне середовище, аніонообмінне середовище, середовище для гідрофобного обміну, середовище для афінного очищення (наприклад, білок-A, білок-G, білок-A/G, білок-L)) і або збір очищеного антитіла або фрагмента з фракції фільтрату з вказаного зразка, що не зв'язується із середовищем; або відкидання фракції фільтрату і елюції зв'язаного антитіла або фрагмента із середовища і збору елюата. В одному з варіантів здійснення винаходу середовище знаходиться в колонії, на яку наносять зразок. В одному з варіантів здійснення винаходу спосіб очищення виконують після рекомбінантної експресії антитіла або фрагмента в клітині-хазяїні, наприклад, де клітину-хазяїна спочатку лізують і, необов'язково, лізат очищають від нерозчинних матеріалів перед очищенням на середовищі.

Як правило, глікопротеїни, які продукуються в конкретній лінії клітин або трансгенній тварині, мають патерн глікозилювання, характерний для глікопротеїнів, які продукуються у лінії клітин або трансгенній тварині. Таким чином, конкретний патерн глікозилювання антитіла залежить від конкретної лінії клітин або трансгенної тварини, використовуваних для продукції антитіла. Однак всі антитіла, які кодується молекулами нуклеїнової кислоти, представленими в даному документі, або містять амінокислотні послідовності, представлені в даному документі, включені в даний винахід, незалежно від патерна глікозилювання, який можуть мати антитіла. Подібним чином, у конкретних варіантах здійснення антитіла з патерном глікозилювання, що містить тільки нефукозиловані N-глікани, можуть надавати переваги, оскільки показано, що ці антитіла як правило, мають більш сильну ефективність, ніж їхні фукозиловані еквіваленти, як *in vitro*, так і *in vivo* (Див., наприклад, Shinkawa et al., J. Biol. Chem. 278: 3466-3473 (2003); Патенти США No. 6946292 і 7214775). Ці антитіла з нефукозилованими N-гліканами малоімовірно є імуногенними, оскільки їхні вуглеводні структури є нормальним компонентом популяції, що існує в IgG сироватки людини.

Даний винахід стосується поліклональних антитіл проти TIGIT і їх антигензв'язувальних фрагментів, наприклад, композиції, яка містить множину антитіл проти TIGIT і фрагментів, що включають одне або кілька антитіл проти TIGIT або їх антигензв'язувальних фрагментів за даним винаходом, і способів їхнього застосування. Поліклональне антитіло являє собою антитіло, отримане разом з одним або декількома іншими, не ідентичними, антитілами або в їхній присутності. Як правило, поліклональні антитіла одержують з наборів різних В-лімфоцитів, наприклад, В-лімфоцитів від тварини, обробленої імуногеном, який представляє інтерес, які продукують популяцію різних антитіл, але які усі спрямовані проти імуногена. Як правило, поліклональні антитіла одержують безпосередньо від імунізованої тварини, наприклад, із селазинки, сироватки або асцитної рідини.

Даний винахід стосується біспецифічних і біфункціональних антитіл, і антигензв'язувальних фрагментів, які мають специфічність зв'язування для TIGIT і іншого антигену, наприклад, такого як PD-1 або PD-L1, або LAG-3, і способів їхнього застосування. В одному з варіантів здійснення винаходу ланцюги проти TIGIT містять будь-яку з послідовностей VH/VL, описаних у таблиці 4, і ланцюги проти PD1 містять амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 33 і 34, або з SEQ ID NO: 35 і 36 (або антигензв'язувальний фрагмент із будь-якої з вказаних послідовностей). Біспецифічне або біфункціональне антитіло являє собою штучне гібридне антитіло, яке має дві різні пари важких/легких ланцюгів і дві різні ділянки зв'язування. Біспецифічні антитіла можна одержувати множиною способів, включаючи злиття гібридом або зв'язування фрагментів Fab'. Див., наприклад, Songsivilai, et al., (1990) Clin. Exp. Immunol. 79: 315-321, Kostelny, et al., (1992) J Immunol. 148:1547-1553. Крім того, біспецифічні антитіла можуть бути сформовані як "діатіла" (Holliger, et al., (1993) PNAS USA 90:6444-6448) або як "янусини" (Trautnecker, et al., (1991) EMBO J. 10:3655-3659 і Trautnecker, et al., (1992) Int. J. Cancer Suppl. 7:51-52).

Даний винахід, крім того, стосується спрямованих проти TIGIT антигензв'язувальних фрагментів антитіл проти TIGIT, описаних у даному документі. Фрагменти антитіл включають фрагменти F(ab)₂, які можна одержувати за допомогою ферментативного розщеплення IgG, наприклад, за допомогою пепсину. Фрагменти Fab можна одержувати, наприклад, за допомогою відновлення F(ab)₂ за допомогою дитіотреїтолу або меркаптоетиламіну.

Імуноглобуліни можна відносити до різних класів залежно від амінокислотних послідовностей константного домена їхніх важких ланцюгів. Існує щонайменше п'ять основних класів імуноглобулінів: IgA, IgD, IgE, IgG і IgM, і декілька з них можна далі підрозділяти на підкласи (ізотипи), наприклад, IgG1, IgG2, IgG3 і IgG4; IgG1 і IgG2. Винахід стосується антитіл і антигензв'язувальних фрагментів антитіл з будь-якого з цих класів або підкласів.

В одному варіанті здійснення антитіло або антигензв'язувальний фрагмент містить константну область важкого ланцюга, наприклад, людську константну область, таку як константна область важкого ланцюга $\gamma 1$, $\gamma 2$, $\gamma 3$ або $\gamma 4$ людини, або її варіант. В іншому варіанті здійснення антитіло або антигензв'язувальний фрагмент містить константну область легкого ланцюга, наприклад, людську константну область легкого ланцюга, таку як область легкого ланцюга лямбда або каппа людини, або його варіант. Як необмежувальний приклад, константна область важкого ланцюга людини може являти собою $\gamma 4$, і константна область легкого ланцюга людини може являти собою каппа. В альтернативному варіанті здійснення, Fc-область антитіла являє собою $\gamma 4$ з мутацією Ser228Pro (Schuurman, J et. al., Mol. Immunol. 38: 1-8, 2001).

В одному варіанті здійснення антитіло або антигензв'язувальний фрагмент містить константну область важкого ланцюга підтипу IgG1.

У деяких варіантах здійснення різні константні домени можна приєднувати до гуманізованих областей V_L і V_H , отриманих з CDR, представлених у даному документі. Наприклад, якщо конкретне намічене застосування антитіла (або фрагмента) за даним винаходом вимагає змінених ефекторних функцій, можна використовувати константний домен важкого ланцюга, відмінний від IgG1 людини, або можна використовувати гібрид IgG1/IgG4.

Хоча антитіла IgG1 людини забезпечують тривалий час напівжиття і ефекторні функції, такі як активація комплементу й антитілозалежна клітинна цитотоксичність, такі види активності можуть не бути бажаними для всіх застосувань антитіла. У таких випадках можна використовувати, наприклад, константний домен IgG4 людини. Даний винахід стосується антитіл проти TIGIT і їх антигензв'язувальних фрагментів, які містять константний домен IgG4, наприклад, антагоністичних, гуманізованих антитіл проти TIGIT і фрагментів, і способів їхнього застосування. В одному варіанті здійснення константний домен IgG4 може відрізнятися від природного константного домена IgG4 людини (номер доступу в Swiss-Prot Accession No. P01861.1) у положенні, що відповідає положенню 228 у системі EU і положенню 241 у системі KABAT, де природний Ser 108 замінений на Pro для запобігання потенційному міжланцюговому дисульфідному зв'язку між Cys 106 і Cys 109 (відповідними положеннями Cys 226 і Cys 229 у системі EU і положенням Cys 239 і Cys 242 у системі KABAT), що може заважати формуванню правильного внутрішньоланцюгового дисульфідного зв'язку. Див. Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30:105. В інших випадках, можна використовувати модифікований константний домен IgG1, модифікований для збільшення часу напівжиття або ослаблення ефекторної функції.

Конструювання антитіл

Далі включені варіанти здійснення, у яких антитіла проти TIGIT і їх антигензв'язувальні фрагменти являють собою антитіла, сконструйовані для включення модифікацій у каркасні залишки усередині варіабельних доменів вихідного (наприклад, мишачого або щурячого) моноклонального антитіла, наприклад, для поліпшення властивостей антитіла або фрагмента. Як правило, такі модифікації каркаса виконують для зменшення імуногенності антитіла або фрагмента. Це, як правило, здійснюють за допомогою заміни залишків у варіабельних доменах, які не належать до CDR (тобто каркасних залишків), у вихідному (наприклад, що належить до гризунів) антитілі або фрагменті на аналогічні залишки з імунного репертуару видів, використанню в яких підлягає антитіло, наприклад, людські залишки у випадку терапевтичного засобу для людини. Таке антитіло або фрагмент позначають як "гуманізоване" антитіло або фрагмент. У деяких випадках бажано збільшити афінність або змінити специфічність сконструйованого (наприклад, гуманізованого) антитіла. Одним зі способів є "зворотний мутагенез" одного або декількох каркасних залишків до відповідної зародкової послідовності. Більш конкретно, антитіло або фрагмент, що піддавалися соматичній мутації, можуть містити каркасні залишки, які відрізняються від зародкової послідовності, з якої походить антитіло. Такі залишки можна ідентифікувати за допомогою порівняння каркасних послідовностей антитіла або фрагмента з зародковими послідовностями, з яких походить антитіло або фрагмент. Іншим способом є повернення до вихідного батьківського (наприклад, що належить до гризунів) залишку в одному або декількох положеннях сконструйованого (наприклад, гуманізованого) антитіла, наприклад, для відновлення афінності зв'язування, яка може бути загублена в процесі заміни каркасних залишків. (Див., наприклад, Патент США No. 5693762, Патент США No. 5585089 і Патент США No. 5530101.)

У конкретних варіантах здійснення антитіла проти TIGIT і їх антигензв'язувальні фрагменти є сконструйованими (наприклад, гуманізованими), щоб включати модифікації в каркасі і/або CDR для поліпшення їхніх властивостей. Такі сконструйовані зміни можуть бути основані на молекулярному моделюванні. Молекулярну модель для варіабельної області для вихідної (яка не належить до людини) послідовності антитіла можна конструювати для розуміння структурних ознак антитіла і використовувати для ідентифікації потенційних областей на антитілі, що можуть взаємодіяти з антигеном. Загальноприйняті CDR основані на вирівнюванні послідовностей імуноглобулінів і ідентифікації варіабельних областей. Kabat et al., (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Kabat, et al.; National Institutes of Health, Bethesda, Md.; 5th ed.; NIH Publ. No. 91-3242; Kabat (1978) *Adv. Prot. Chem.* 32:1-75; Kabat, et al., (1977) *J. Biol. Chem.* 252:6609-6616. Chothia і співавтори ретельно досліджували конформації петель у кристалічних структурах антитіл і запропонували гіперваріабельні петлі. Chothia, et al., (1987) *J. Mol. Biol.* 196:901-917 або Chothia, et al., (1989) *Nature* 342:878-883. Існують відмінності між областями, класифікованими як "CDR" і "гіперваріабельні петлі". У більш пізніх дослідженнях (Raghunathan et al, (2012) *J. Mol. Recog.* 25, 3, 103-113) аналізували кілька кристалічних комплексів антитіло-антиген і спостерігали, що антигензв'язувальні області в антитілах не обов'язково приймають сувору конформацію по залишках "CDR" або "гіперваріабельних" петлях. Молекулярну модель для варіабельної області антитіла, яке не належить до людини, можна використовувати як посібник для вибору областей, які потенційно можуть зв'язуватися з антигеном. На практиці потенційні антигензв'язувальні області, основані на моделі, відрізняються від загальноприйнятих "CDR" або "гіперваріабельних" петель. Комерційне наукове програмне забезпечення, таке як MOE (Chemical Computing Group) можна використовувати для молекулярного моделювання. Людські каркасні області можна вибирати на підставі найкращих збігів з послідовністю, яка не належить до людини, як у каркасних областях, так і в CDR. Для FR4 (каркасної області 4) у VH, області VJ із зародкових послідовностей людини порівнюють з відповідною областю, яка не належить до людини. У випадку FR4 (каркасної області 4) у VL, області J-каппа і J-лямбда з зародкових послідовностей людини порівнюють з відповідною областю, яка не належить до людини. Після ідентифікації прийнятних людських каркасних областей, CDR прищеплюють у вибрані людські каркасні області. У деяких випадках конкретні залишки на поверхні розділення VL-VH можна залишати, як у послідовності (вихідній), яка не належить до людини. Молекулярні моделі можна також використовувати для ідентифікації залишків, що можуть потенційно змінювати конформації CDR, і таким чином, зв'язування з антигеном. У деяких випадках, ці залишки зберігають, як у послідовності (вихідній), яка не належить до людини. Молекулярні моделі можна також використовувати для ідентифікації експонованих для розчинника амінокислот, що можуть приводити до небажаних ефектів, таких як глікозилювання, дезамідування й окиснення. Фільтри, які виявляють, можна використовувати рано на стадії розробки для виключення/мінімізації цих потенційних проблем.

Інший тип модифікації каркаса включає мутагенез одного або декількох залишків у каркасній області, або навіть в одній або декількох областях CDR, для видалення епітопів для Т-клітин, щоб у такий спосіб зменшити потенційну імуногенність антитіла. Цей спосіб позначають також як "деімунізацію", і він більш детально описаний у Патенті США No. 7125689.

У конкретних варіантах здійснення бажано замінювати конкретні амінокислоти, що містять експоновані бічні ланцюги, на інший амінокислотний залишок, щоб забезпечувати більшу хімічну стабільність кінцевого антитіла, так щоб виключити дезамідування або ізомеризацію. Дезамідування аспарагіну може відбуватися в послідовностях NG, DG, NG, NS, NA, NT, QG або QS і приводить до утворення залишку ізоаспарагінової кислоти, що вводить перегин у поліпептидний ланцюг і зменшує його стабільність (ефект ізоаспарагінової кислоти). Ізомеризація може відбуватися в послідовностях DG, DS, TAK або DT. У конкретних варіантах здійснення антитіла за даним описом не містять ділянок дезамідування або ізомеризації аспарагіну.

Наприклад, залишок аспарагіну (Asn) можна замінювати на Gln або Ala для зменшення потенціалу утворення ізоаспартату в будь-якій з послідовностей Asn-Gly, зокрема, усередині CDR. Подібна проблема може виникати в послідовності Asp-Gly. Reissner and Aswad (2003) *Cell. Mol. Life Sci.* 60:1281. Формування ізоаспартату може послаблювати або повністю припиняти зв'язування антитіла з його антигеном-мішенню. Див., Presta (2005) *J. Allergy Clin. Immunol.* 116:731 at 734. В одному варіанті здійснення аспарагін замінюють на глутамін (Gln). Також може бути бажаним змінювати амінокислоту, суміжну з залишком аспарагіну (Asn) або глутаміну (Gln), для зменшення імовірності дезамідування, що відбувається з більшою частотою, коли невеликі амінокислоти виявляються суміжними з аспарагіном або глутаміном. Див., Bischoff & Kolbe (1994) *J. Chromatog.* 662:261. Крім того, будь-які залишки метіоніну (як правило, експонованого

- для розчинника Met) у CDR можна замінювати на Lys, Leu, Ala або Phe, або інші амінокислоти, для зменшення імовірності того, що сірка метіоніну буде окиснюватися, що може зменшувати афінність зв'язування з антигеном, а також вносити вклад у молекулярну гетерогенність у кінцевому препараті антитіла, там же. Крім того, для запобігання або мінімізації потенційного розщеплення пептидних зв'язків Asn-Pro, може бути бажаним замінювати будь-які комбінації Asn-Pro, виявлені в CDR, на Gln-Pro, Ala-Pro або Asn-Ala. Потім виконують скринінг антитіл з такими замінами, щоб упевнитися, що заміни не зменшують афінність або специфічність антитіла відносно TIGIT, або іншу бажану біологічну активність до неприйнятних рівнів.

Таблиця 2

Ілюстративні стабілізуючі CDR варіанти

Залишок CDR	Стабілізувальний варіант послідовності
Asn-Gly (N-G)	Gln-Gly, Ala-Gly, або Asn-Ala (Q-G), (A-G), або (N-A)
Asp-Gly (D-G)	Glu-Gly, Ala-Gly або Asp-Ala (E-G), (A-G), або (D-A)
Met (як правило, експонований для розчинника) (M)	Lys, Leu, Ala, або Phe (K), (L), (A), або (F)
Asn (N)	Gln або Ala (Q) або (A)
Asn-Pro (N-P)	Gln-Pro, Ala-Pro, або Asn-Ala (Q-P), (A-P), або (N-A)

10

- У деяких варіантах здійснення даного винаходу CDR3 з SEQ ID NO:3 можна модифікувати в положенні 110W для зменшення або виключення потенційного окиснення (де нумерація приведена відповідно до Kabat). Таким чином, наприклад, SEQ ID NO: 3 (MPSFITLASLSTWEGYFDF) можна модифікувати до будь-якої з наступних послідовностей: MPSFITLASLSTFEGYFDF (SEQ ID NO: 79), MPSFITLASLSTYEGYFDF (SEQ ID NO: 80), MPSFITLASLSTIEGYFDF (SEQ ID NO: 81), MPSFITLASLSTVEGYFDF (SEQ ID NO: 82) або MPSFITLASLSTLEGYFDF (SEQ ID NO: 83). Таким чином, у деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло проти TIGIT за винаходом містить варіабельну область важкого ланцюга, що містить CDR1 з SEQ ID NO:1, CDR2 з SEQ ID NO: 2 і CDR3 з SEQ ID NO: 3, 79, 80, 81, 82 або 83.

- У деяких варіантах здійснення даного винаходу CDR2 з SEQ ID NO: 5 можна модифікувати в положеннях 52N і 53S для зменшення або виключення потенційних ділянок дезамідування (де нумерація приведена відповідно до Kabat). Таким чином, наприклад, SEQ ID NO: 5 (YANSLQT) можна модифікувати до будь-якої з наступних послідовностей: YANSLQT (SEQ ID NO: 65), YASSLQT (SEQ ID NO: 66), YASTLQT (SEQ ID NO: 67), YATTLQT (SEQ ID NO: 68), YASYLQT (SEQ ID NO: 69), YANQLQT (SEQ ID NO:70), YAGSLQT (SEQ ID NO:71), YASQLQT (SEQ ID NO:72), YADSLQT (SEQ ID NO:73). Таким чином, у деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло проти TIGIT за винаходом містить варіабельну область легкого ланцюга, що містить CDR1 з SEQ ID NO: 4, CDR2 з SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 72 або SEQ ID NO: 73 і CDR3 з SEQ ID NO: 6.

- У деяких варіантах здійснення даного винаходу CDR3 з SEQ ID NO: 6 можна модифікувати в положенні 95W для зменшення або виключення потенційного окиснення (де нумерація приведена відповідно до Kabat). Таким чином, наприклад, SEQ ID NO: 6 (QQYYSGWT) можна модифікувати до будь-якої з наступних послідовностей: QQYYSGFT (SEQ ID NO: 74), QQYYSGYT (SEQ ID NO: 75), QQYYSGIT (SEQ ID NO: 76), QQYYSGVT (SEQ ID NO: 77), QQYYSGLT (SEQ ID NO: 78). Таким чином, у деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло проти TIGIT за винаходом містить варіабельну область легкого ланцюга, що містить CDR1 з SEQ ID NO: 4, CDR2 з SEQ ID NO: 5 і CDR3 з SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77 або SEQ ID NO: 78.

- У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло проти TIGIT за винаходом містить варіабельну область легкого ланцюга, що містить CDR1 з SEQ ID NO: 4, CDR2 з SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 72 або SEQ ID NO: 73 і CDR3 з SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77 або SEQ ID NO: 78.

В іншому варіанті здійснення даного винаходу антитіло проти TIGIT за винаходом містить область FR4 важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з будь-якої з SEQ ID NO: 7, 9-24 або 38-47, де М у положенні 122 замінений на V, L, A, R, N, P, Q, E, G, I, H, K, F, S, T, W або L для виключення потенційного окиснення.

5 В іншому варіанті здійснення даного винаходу антитіло проти TIGIT за винаходом містить область FR4 важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з будь-якої з SEQ ID NO: 7, 9-24 або 38-47, де М у положенні 122 і V у положенні 123 замінені на T і L, відповідно, для виключення потенційного окиснення.

10 У деяких варіантах здійснення даного винаходу CDR3 з SEQ ID NO: 90 можна модифікувати в положенні 6 для зменшення або виключення потенційного окиснення. Таким чином, наприклад, SEQ ID NO: 90 (GGPYGWYFDV) можна модифікувати до будь-якої з наступних послідовностей: SEQ ID NO: 154-167.

Конструювання Fc-області антитіла

15 Антитіла (наприклад, гуманізовані антитіла) і їх антигензв'язувальні фрагменти, описані в даному документі (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 і їх гуманізовані варіанти), також можна конструювати для включення модифікацій у Fc-область, як правило, для зміни однієї або декількох властивостей антитіла, таких як час напівжиття в сироватці, фіксація комплементу, зв'язування з рецептором Fc, і/або ефекторна функція (наприклад, антигензалежна клітинна цитотоксичність). Більше того, антитіла і їх антигензв'язувальні фрагменти, описані в даному документі (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 і їх гуманізовані варіанти), можна хімічно модифікувати (наприклад, одну або кілька хімічних груп можна приєднувати до антитіла) або модифікувати для зміни його глікозилювання, також для зміни однієї або декількох властивостей антитіла або фрагмента. Кожний з цих варіантів здійснення більш детально описаний нижче. Нумерація залишків у Fc-області являє собою індекс EU по Kabat.

25 Антитіла і їх антигензв'язувальні фрагменти, описані в даному документі (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 і їх гуманізовані варіанти), включають також антитіла і фрагменти з модифікованими (або блокованими) Fc-областями для забезпечення змінених ефекторних функцій. Див., наприклад, Патент США No. 5624821; WO2003/086310; WO2005/120571; WO2006/0057702. Такі модифікації можна використовувати для посилення або супресії різних реакцій імунної системи, з можливими сприятливими ефектами для діагностики і терапії. Зміни в Fc-області включають зміни амінокислот (заміни, делеції і вставки), глікозилювання або деглікозилювання і додавання множинних Fc-областей. Зміни в Fc можуть також змінювати час напівжиття антитіл у терапевтичних антитілах, дозволяючи менш часте дозування і таким чином, збільшену зручність і зменшене використання матеріалу. Див. Presta (2005) J. Allergy Clin. Immunol. 116:731 at 734-35.

35 В одному варіанті здійснення антитіло або антигензв'язувальний фрагмент за винаходом (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 або їх гуманізовані варіанти) являють собою антитіло або фрагмент ізотипу IgG4, що містять мутацію серину до проліну в положенні, що відповідає положенню 228 (S228P; індекс EU) у шарнірній області константної області важкого ланцюга. Опубліковано, що ця мутація виключає гетерогенність дисульфідних містків між важкими ланцюгами в шарнірній області (Angal et al. вище; положення 241 на підставі системи нумерації Kabat).

45 В одному варіанті здійснення винаходу шарнірну область C_H1 модифікують так, що кількість залишків цистеїну в шарнірній області збільшується або зменшується. Цей спосіб додатково описаний у Патенті США No. 5677425. Кількість залишків цистеїну в шарнірній області C_H1 змінюють, наприклад, для полегшення зборки легких і важких ланцюгів або для збільшення або зменшення стабільності антитіла.

50 В іншому варіанті здійснення шарнірну область Fc антитіла або антигензв'язувального фрагмента за винаходом (наприклад, 14A6, 28H5 або 31C6 або їх гуманізованих варіантів) піддають мутагенезу для зменшення біологічного часу напівжиття антитіла або фрагмента. Більш конкретно, одну або кілька амінокислотних мутацій вводять у поверхню контакту CH2-CH3 домена Fc-шарнірного фрагмента, так що антитіло або фрагмент мають порушене зв'язування стафілококового білка A (SpA) відносно зв'язування SpA природним Fc-шарнірним доменом. Цей спосіб більш детально описаний у Патенті США No. 6165745.

55 В іншому варіанті здійснення антитіло або антигензв'язувальний фрагмент за винаходом (наприклад, 14A6 або 28H5 або його гуманізований варіант) модифікують для збільшення його біологічного часу напівжиття. Можливі різні способи. Наприклад, можна вводити одну або декілька з наступних мутацій: T252L, T254S, T256F, як описано в Патенті США No. 6277375. Альтернативно, для збільшення біологічного часу напівжиття, антитіло можна змінювати посередині області CH1 або CL, щоб воно містило епітоп зв'язування рецептора порятунку,

узятий із двох петель домена CH2 Fc-області IgG, як описано в Патентах США No. 5869046 і 6121022.

В інших варіантах здійснення Fc-область змінюють за допомогою заміни щонайменше одного амінокислотного залишку на інший амінокислотний залишок для зміни ефекторної функції(функцій) антитіла або антигензв'язувального фрагмента. Наприклад, одну або кілька амінокислот, вибраних з амінокислотних залишків 234, 235, 236, 237, 297, 318, 320 і 322, можна замінювати на інший амінокислотний залишок, так щоб антитіло мало змінену афінність для ефекторного ліганду і зберігало антигензв'язувальну здатність вихідного антитіла. Ефекторний ліганд, афінність для якого змінюють, може являти собою, наприклад, рецептор Fc або компонент комплементу C1. Цей спосіб більш детально описаний у Патентах США No. 5624821 і 5648260.

В іншому прикладі, одну або кілька амінокислот, вибраних з амінокислотних залишків 329, 331 і 322, можна замінювати на інший амінокислотний залишок, так щоб антитіло мало змінене зв'язування C1q і/або зменшену або втрачену комплементзалежну цитотоксичність (CDC). Цей спосіб більш детально описаний у Патенті США No. 6194551.

В іншому прикладі, один або кілька амінокислотних залишків у положеннях амінокислот 231 і 239, змінюють, щоб у такий спосіб змінити здатність антитіла фіксувати комплемент. Цей спосіб додатково описаний у публікації PCT WO 94/29351.

В іншому прикладі, Fc-область модифікують для зменшення здатності антитіла або антигензв'язувального фрагмента за винаходом (наприклад, 14A6 або 28H5, або їх гуманізованого варіанта) опосередковувати антитілозалежну клітинну цитотоксичність (ADCC) і/або для зменшення афінності антитіла або фрагмента для рецептора Fcγ за допомогою модифікації однієї або декількох амінокислот у наступних положеннях: 238, 239, 243, 248, 249, 252, 254, 255, 256, 258, 264, 265, 267, 268, 269, 270, 272, 276, 278, 280, 283, 285, 286, 289, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 298, 301, 303, 305, 307, 309, 312, 315, 320, 322, 324, 326, 327, 329, 330, 331, 333, 334, 335, 337, 338, 340, 360, 373, 376, 378, 382, 388, 389, 398, 414, 416, 419, 430, 434, 435, 437, 438 або 439. Цей спосіб додатково описаний у публікації PCT WO 00/42072. Більше того, картовані ділянки зв'язування на IgG1 людини для FcγR1, FcγRII, FcγRIII і FcRn, і описані варіанти з поліпшеним зв'язуванням (див. Shields et al. (2001) J. Biol. Chem. 276:6591-6604).

В одному варіанті здійснення винаходу Fc-область модифікують для зменшення здатності антитіла за винаходом (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 і їх гуманізованих варіантів) опосередковувати ефекторну функцію і/або збільшувати протизапальні властивості за допомогою модифікації залишків 243 і 264. В одному варіанті здійснення Fc-область антитіла або фрагмента модифікують за допомогою зміни залишків у положеннях 243 і 264 на аланін. В одному варіанті здійснення Fc-область модифікують для зменшення здатності антитіла або фрагмента опосередковувати ефекторну функцію і/або для збільшення протизапальних властивостей за допомогою модифікації залишків 243, 264, 267 і 328.

Посилення ефекторної функції

У деяких варіантах здійснення Fc-область антитіла проти TIGIT модифікують для збільшення здатності антитіла або антигензв'язувального фрагмента опосередковувати ефекторну функцію і/або для посилення їхнього зв'язування з рецепторами Fc-гамма (FcγRs).

Термін "ефекторна функція", як застосовують у даному документі, призначений для позначення одного або декількох з антитілозалежної опосередкованої клітинами цитотоксичної активності (ADCC), відповідей, опосередкованих комплементзалежною цитотоксичною активністю (CDC), опосередкованого Fc або фагоцитозу антитілозалежного клітинного фагоцитозу (ADCP) і рециркуляції антитіла за допомогою рецептора FcRn.

Вважають, що взаємодія між константною областю антигензв'язувального білка і різних рецепторів Fc (FcR), включаючи Fc-гаммаRI (CD64), Fc-гаммаRII (CD32) і Fc-гаммаRIII (CD16), опосередковує ефекторні функції, такі як ADCC і CDC, антигензв'язувального білка. Рецептор Fc також є важливим для перехресного зв'язування антитіл, що може бути важливим для протипухлинного імунітету.

Ефекторну функцію можна вимірювати рядом способів, включаючи, наприклад, вимірювання за допомогою зв'язування Fc-гаммаRIII із клітинами природними кілерами або за допомогою зв'язування Fc-гаммаRI з моноцитами/макрофагами для вимірювання ефекторної функції ADCC. Наприклад, антигензв'язувальний білок за даним винаходом можна оцінювати по ефекторній функції ADCC в аналізі клітин природних кілерів. Приклади таких аналізів можна знайти в Shields et al, 2001 J. Biol. Chem., Vol. 276, p 6591-6604; Chappel et al, 1993 J. Biol. Chem., Vol 268, p 25124-25131; Lazar et al, 2006 PNAS, 103; 4005-4010.

Властивості ADCC або CDC антитіл за даним винаходом, або їхньої властивості перехресного зв'язування, можна підсилювати рядом способів.

Для константних областей IgG1 людини, які мають специфічні мутації або змінене глікозилювання на залишку Asn297, показане посилення зв'язування з рецепторами Fc. У деяких випадках показано також, що ці мутації підсилюють ADCC і CDC (Lazar et al. PNAS 2006, 103; 4005-4010; Shields et al. J Biol Chem 2001, 276; 6591-6604; Nechansky et al. Mol Immunol, 2007, 44; 1815-1817).

В одному варіанті здійснення даного винаходу такі мутації присутні в одному або декількох з положень, вибраних з 239, 332 і 330 (IgG1), або еквівалентних положень в інших ізотипах IgG. Прикладами прийнятих мутацій є S239D і I332E і A330L. В одному варіанті здійснення антигензв'язувальний білок за винаходом, описаний у даному документі, піддають мутагенезу в положеннях 239 і 332, наприклад, S239D і I332E, або в наступному варіанті здійснення, його піддають мутагенезу в трьох або більше положеннях, вибраних з 239 і 332 і 330, наприклад, S239D і I332E і A330L (нумерація по індексу EU).

В альтернативному варіанті здійснення даного винаходу представлено антитіло, яке містить константну область важкого ланцюга зі зміненим профілем глікозилювання, так що антигензв'язувальний білок має посилену ефекторну функцію. Наприклад, де антитіло має посилену ADCC або посилену CDC, або де воно має посилені обидві ефекторні функції ADCC і CDC. Приклади прийнятих способів одержання антигензв'язувальних білків зі зміненим профілем глікозилювання описані в WO2003011878, WO2006014679 і EP1229125.

У наступному аспекті, даний винахід стосується "нефукозилованих" або "афукозилованих" антитіл. Нефукозиловані антитіла несуть триманозидову корову структуру Fc з N-гліканів комплексного типу без залишків фукози. Ці глікомодифіковані антитіла, позбавлені корового фукозного залишку з N-гліканів Fc, можуть мати сильнішу ADCC, ніж фукозиловані еквіваленти через посилення здатності зв'язування з Fc-гаммаR1IIa.

Даний винахід також стосується способу одержання антитіла за винаходом, який включає стадії: а) культивування рекомбінантної клітини-хазяїна, яка містить експресуючий вектор, що містить виділену нуклеїнову кислоту, як описано в даному документі, де рекомбінантна клітина-хазяїн не містить альфа-1,6-фукозилтрансферази; і b) виділення антигензв'язувального білка. Рекомбінантна клітина-хазяїн може в нормі не містити ген, що кодує альфа-1,6-фукозилтрансферазу (наприклад, клітини-хазяїни дріжджів, такі як види *Pichia*), або може бути генетично модифікованою для інактивації альфа-1,6-фукозилтрансферази. Доступні рекомбінантні клітини-хазяїни, генетично модифіковані для інактивації гена FUT8, що кодує альфа-1,6-фукозилтрансферазу. Див., наприклад, систему технологій POTELLIGENT™, доступну від BioWa, Inc. (Princeton, N.J.), у якій клітини CHOK1SV, позбавлені функціональної копії гена FUT8, продукують моноклональні антитіла, що мають посилену активність антитілозалежної опосередкованої клітинами цитотоксичності (ADCC), збільшеної відносно ідентичного моноклонального антитіла, продукovanого в клітині з функціональним геном FUT8. Аспекти системи технологій POTELLIGENT™ описані в US7214775, US6946292, WO0061739 і WO0231240. Фахівцям в даній галузі відомі також інші прийнятні системи.

Фахівцям в даній галузі зрозуміло, що такі модифікації можна не тільки використовувати окремо, але можна використовувати в комбінації одну з одною для додаткового посилення ефекторної функції.

Одержання антитіл з модифікованим глікозилюванням

В іншому варіанті здійснення антитіла або антигензв'язувальні фрагменти за винаходом (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 і їх гуманізовані варіанти) містять конкретний патерн глікозилювання. Наприклад, можна одержувати афукозиловане або аглікозиловане антитіло або фрагмент (тобто, антитіло, позбавлене фукози або глікозилювання, відповідно). Патерн глікозилювання антитіла або фрагмента можна змінювати, наприклад, для збільшення афінності або авідності антитіла або фрагмента відносно антигену TIGIT. Такі модифікації можна виконувати, наприклад, за допомогою зміни однієї або декількох з ділянок глікозилювання в послідовності антитіла або фрагмента. Наприклад, можна здійснювати одну або кілька амінокислотних замінів, що приводять до видалення однієї або декількох ділянок глікозилювання з каркаса варіабельної області, щоб у такий спосіб виключити глікозилювання в цій ділянці. Таке аглікозилювання може збільшувати афінність або авідність антитіла або фрагмента для антигену. Див., наприклад, Патенти США No. 5714350 і 6350861.

Антитіла й антигензв'язувальні фрагменти, описані в даному документі (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 і їх гуманізовані варіанти) можуть, крім того, включати антитіла і фрагменти, продукovanі в клітинах-хазяях нижчих еукаріот, зокрема, у клітинах-хазяях грибів, таких як дріжджі і міцеліальні гриби, які генетично модифіковані для продукції глікопротеїнів, що мають патерни глікозилювання, подібні до патернів глікозилювання ссавців або людини (Див., наприклад, Choi et al, (2003) Proc. Natl. Acad. Sci. 100: 5022-5027; Hamilton et al., (2003) Science

301: 1244-1246; Hamilton et al., (2006) Science 313: 1441-1443; Nett et al., Yeast 28(3):237-52 (2011); Hamilton et al., Curr Opin Biotechnol. Oct;18(5):387-92 (2007)). Особливою перевагою цих генетично модифікованих клітин-хазяїнів над застосовуваними в даний час лініями клітин ссавців є можливість контролю профілю глікозилування глікопротеїнів, продукованих у клітинах, так що можна одержувати композиції глікопротеїнів, де переважає конкретна структура N-глікану (див., наприклад, Патент США No. 7029872 і Патент США No. 7449308). Ці генетично модифіковані клітини-хазяїни використовували для продукції антитіл з перевагою конкретних структур N-гліканів (Див., наприклад, Li et al., (2006) Nat. Biotechnol. 24: 210-215).

У конкретних варіантах здійснення антитіла і їх антигензв'язувальні фрагменти, описані в даному документі (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 і їх гуманізовані варіанти), крім того, включають антитіла і фрагменти, які продуковані в клітинах-хазяях низьких еукаріот і містять фукозилзовані і нефукозилзовані гібридні і комплексні N-глікани, включаючи розгалужені надвоє і мультиантенні молекули, включаючи, але без обмеження, N-глікани, такі як $\text{GlcNAc}_{(1-4)}\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$; $\text{Gal}_{(1-4)}\text{GlcNAc}_{(1-4)}\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$; $\text{NANA}_{(1-4)}\text{Gal}_{(1-4)}\text{GlcNAc}_{(1-4)}\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$.

У конкретних варіантах здійснення антитіла і їх антигензв'язувальні фрагменти, представлені в даному документі (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 і їх гуманізовані варіанти), можуть містити антитіла або фрагменти, що мають щонайменше один гібридний N-глікан, вибраний із групи, яка складається з $\text{GlcNAcMan}_5\text{GlcNAc}_2$; $\text{GalGlcNAcMan}_5\text{GlcNAc}_2$; і $\text{NANAGalGlcNAcMan}_5\text{GlcNAc}_2$. У конкретних аспектах, гібридний N-глікан є переважним видом N-гліканів у композиції.

У конкретних варіантах здійснення антитіла і їх антигензв'язувальні фрагменти, представлені в даному документі (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 і їх гуманізовані варіанти), містять антитіла і фрагменти, що мають щонайменше один комплексний N-глікан, вибраний із групи, яка складається з $\text{GlcNAcMan}_3\text{GlcNAc}_2$; $\text{GalGlcNAcMan}_3\text{GlcNAc}_2$; $\text{NANAGalGlcNAcMan}_3\text{GlcNAc}_2$; $\text{GlcNAc}_2\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$; $\text{GalGlcNAc}_2\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$; $\text{Gal}_2\text{GlcNAc}_2\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$; $\text{NANAGal}_2\text{GlcNAc}_2\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$; і $\text{NANA}_2\text{Gal}_2\text{GlcNAc}_2\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$. У конкретних аспектах, комплексні N-глікани є переважними видами N-гліканів у композиції. У наступних аспектах, комплексний N-глікан являє собою конкретний вид N-гліканів, що складає приблизно 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % з комплексних N-гліканів у композиції. В одному варіанті здійснення антитіла і його антигензв'язувальні фрагменти, представлені в даному документі, містять комплексні N-глікани, де щонайменше 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % з комплексних N-гліканів містять структуру $\text{NANA}_2\text{Gal}_2\text{GlcNAc}_2\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$, де така структура є афукозилованою. Такі структури можна одержувати, наприклад, у модифікованих клітинах-хазяях *Pichia pastoris*.

У конкретних варіантах здійснення N-глікан є фукозилзованих. Як правило, фукоза знаходиться на $\alpha 1,3$ -зв'язку з GlcNAc на відновлювальному кінці N-глікану, на $\alpha 1,6$ -зв'язку з GlcNAc на відновлювальному кінці N-глікану, на $\alpha 1,2$ -зв'язку з Gal на невідновлювальному кінці N-глікану, на $\alpha 1,3$ -зв'язку з GlcNAc на невідновлювальному кінці N-глікану, або на $\alpha 1,4$ -зв'язку з GlcNAc на невідновлювальному кінці N-глікану.

Таким чином, у конкретних аспектах вищевказаних глікопротеїнових композицій, глікоформа являє собою фукозу з $\alpha 1,3$ -зв'язком або $\alpha 1,6$ -зв'язком для одержання глікоформи, вибраної з групи, яка складається з $\text{Man}_5\text{GlcNAc}_2(\text{Fuc})$, $\text{GlcNAcMan}_5\text{GlcNAc}_2(\text{Fuc})$, $\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2(\text{Fuc})$, $\text{GlcNAcMan}_3\text{GlcNAc}_2(\text{Fuc})$, $\text{GlcNAc}_2\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2(\text{Fuc})$, $\text{GalGlcNAc}_2\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2(\text{Fuc})$, $\text{Gal}_2\text{GlcNAc}_2\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2(\text{Fuc})$, $\text{NANAGal}_2\text{GlcNAc}_2\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2(\text{Fuc})$, і $\text{NANA}_2\text{Gal}_2\text{GlcNAc}_2\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2(\text{Fuc})$; фукозу з $\alpha 1,3$ -зв'язком або $\alpha 1,4$ -зв'язком для одержання глікоформи, вибраної з групи, яка складається з $\text{GlcNAc}(\text{Fuc})\text{Man}_5\text{GlcNAc}_2$, $\text{GlcNAc}(\text{Fuc})\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$, $\text{GlcNAc}_2(\text{Fuc}_{1-2})\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$, $\text{GalGlcNAc}_2(\text{Fuc}_{1-2})\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$, $\text{Gal}_2\text{GlcNAc}_2(\text{Fuc}_{1-2})\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$, $\text{NANAGal}_2\text{GlcNAc}_2(\text{Fuc}_{1-2})\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$, і $\text{NANA}_2\text{Gal}_2\text{GlcNAc}_2(\text{Fuc}_{1-2})\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$; або фукозу з $\alpha 1,2$ -зв'язком для одержання глікоформи, вибраної з групи, яка складається з $\text{Gal}(\text{Fuc})\text{GlcNAc}_2\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$, $\text{Gal}_2(\text{Fuc}_{1-2})\text{GlcNAc}_2\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$, $\text{NANAGal}_2(\text{Fuc}_{1-2})\text{GlcNAc}_2\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$ і $\text{NANA}_2\text{Gal}_2(\text{Fuc}_{1-2})\text{GlcNAc}_2\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$.

У наступних аспектах, антитіла (наприклад, гуманізовані антитіла) або їх антигензв'язувальні фрагменти містять N-глікани з високим вмістом манози, включаючи, але без обмеження, $\text{Man}_8\text{GlcNAc}_2$, $\text{Man}_7\text{GlcNAc}_2$, $\text{Man}_6\text{GlcNAc}_2$, $\text{Man}_5\text{GlcNAc}_2$, $\text{Man}_4\text{GlcNAc}_2$, або N-глікани, які складаються з N-гліканової структури $\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$.

У наступних аспектах вищевказаного, комплексні N-глікани, крім того, включають фукозилзовані і нефукозилзовані розгалужені надвоє і мультиантенні молекули.

Як застосовують у даному документі, терміни "N-глікан" і "глікоформа" використовують взаємозамінно, і вони стосуються N-зв'язаного олігосахариду, наприклад, олігосахариду, приєднаного за допомогою зв'язку аспарагіну-N-ацетилглюкозаміну з залишком аспарагіну

поліпептиду. N-зв'язані глікопротеїни містять залишок N-ацетилглюкозаміну, зв'язаний з амідним азотом із залишку аспарагіну в білку. Переважними цукрами, виявленими на глікопротеїнах, є глюкоза, галактоза, маноза, фукоза, N-ацетилгалактозамін (GalNAc), N-ацетилглюкозамін (GlcNAc) і сіалова кислота (наприклад, N-ацетилнейрамінова кислота (NANA)). Процесинг груп цукру відбувається котрансляційно в просвіті ER і продовжується посттрансляційно в комплексі Гольджі для N-зв'язаних глікопротеїнів.

N-глікани мають спільний пентасахаридний кор $\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$ ("Man" позначає манозу; "Glc" позначає глюкозу; і "NAc" позначає N-ацетил; GlcNAc позначає N-ацетилглюкозамін). Як правило, структури N-гліканів представляють з невідновлювальним кінцем ліворуч і відновлювальним кінцем праворуч. Відновлювальний кінець N-глікану являє собою кінець, приєднаний до залишку Asn, що містить ділянку глікозилювання, на білку. N-глікани відрізняються відносно кількості розгалужень (антен), що містять периферичні цукри (наприклад, GlcNAc, галактозу, фукозу і сіалову кислоту), які додають до корової структури $\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$ ("Man3"), що позначається також як "триманозний кор", "пентасахаридний кор" або "олігоманозний кор". N-глікани класифікують відповідно до їх розгалужених складових частин (наприклад, з високим вмістом манози, комплексні або гібридні). Тип N-глікану "з високим вмістом манози" має п'ять або більше залишків манози. N-глікан "комплексного" типу, як правило, має щонайменше один GlcNAc, приєднаний до 1,3-манозного плеча, і щонайменше один GlcNAc, приєднаний до 1,6-манозного плеча "триманозного" кора. Комплексні N-глікани можуть також мати залишки галактози ("Gal") або залишки N-ацетилгалактозаміну ("GalNAc"), необов'язково, модифіковані сіаловою кислотою або похідними (наприклад, "NANA" або "NeuAc", де "Neu" позначає нейрамінову кислоту, і "Ac" позначає ацетил). Комплексні N-глікани можуть також мати внутрішньоланцюгові заміни, що включають "розгалужений надвоє" GlcNAc і корову фукозу ("Fuc"). Комплексні N-глікани можуть також мати множинні антени на "триманозному кору", які часто позначаються як "мультиантенні глікани". "Гібридний" N-глікан має щонайменше один GlcNAc на кінці 1,3-манозного плеча триманозного кора і нуль або більше залишків манози на 1,6-манозному плечі триманозного кора. Різні N-глікани також позначаються як "глікоформи".

Відносно комплексних N-гліканів, терміни "G-2", "G-1", "G0", "G1", "G2", "A1" і "A2" означають наступне. "G-2" стосується структури N-глікану, яку можна характеризувати як $\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$; термін "G-1" стосується структури N-глікану, яку можна характеризувати як $\text{GlcNAcMan}_3\text{GlcNAc}_2$; термін "G0" стосується структури N-глікану, яку можна характеризувати як $\text{GlcNAc}_2\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$; термін "G1" стосується структури N-глікану, яку можна характеризувати як $\text{GalGlcNAc}_2\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$; термін "G2" стосується структури N-глікану, яку можна характеризувати як $\text{Gal}_2\text{GlcNAc}_2\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$; термін "A1" стосується структури N-глікану, яку можна характеризувати як $\text{NANAGal}_2\text{GlcNAc}_2\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$; і термін "A2" стосується структури N-глікану, яку можна характеризувати як $\text{NANA}_2\text{Gal}_2\text{GlcNAc}_2\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$. Якщо не вказано інакше, терміни "G-2", "G-1", "G0", "G1", "G2", "A1", і "A2" стосуються молекул N-глікану, позбавлених фукози, приєднаної до залишку GlcNAc на відновлювальному кінці N-глікану. Коли термін включає "F", "F" указує на те, що молекула N-глікану містить залишок фукози на залишку GlcNAc на відновлювальному кінці N-глікану. Наприклад, G0F, G1F, G2F, A1F, і A2F усі вказують на те, що N-глікан, крім того, включає залишок фукози, приєднаний до залишку GlcNAc на відновлювальному кінці N-глікану. Нижчі еукаріоти, такі як дріжджі і міцеліальні гриби, у нормі не продукують N-глікани, що містять фукозу.

Відносно мультиантенних N-гліканів, термін "мультиантенні N-глікани" стосується N-гліканів, які додатково містять залишок GlcNAc на залишку манози, що містить невідновлювальний кінець на 1,6-плечі або на 1,3-плечі N-глікану або залишок GlcNAc на кожному із залишків манози, що містять невідновлювальний кінець на 1,6-плечі і 1,3-плечі N-глікану. Таким чином, мультиантенні N-глікани можна характеризувати формулами $\text{GlcNAc}_{(2-4)}\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$, $\text{Gal}_{(1-4)}\text{GlcNAc}_{(2-4)}\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$, або $\text{NANA}_{(1-4)}\text{Gal}_{(1-4)}\text{GlcNAc}_{(2-4)}\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$. Термін "1-4" стосується 1, 2, 3 або 4 залишків.

Відносно розгалужених надвоє N-гліканів, термін "розгалужений надвоє N-глікан" стосується N-гліканів, у яких залишок GlcNAc зв'язаний із залишком манози на відновлювальному кінці N-глікану. Розгалужений надвоє N-глікан можна характеризувати формулою $\text{GlcNAc}_3\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$, де кожен залишок манози зв'язаний на його невідновлювальному кінці із залишком GlcNAc. На відміну від цього, коли мультиантенний N-глікан характеризують як $\text{GlcNAc}_3\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$, формула показує, що два залишки GlcNAc зв'язані з залишком манози на невідновлювальному кінці одного з двох плечей N-гліканів, і один GlcNAc залишок зв'язаний із залишком манози на невідновлювальному кінці іншого плеча N-глікану.

Фізичні властивості антитіла

Антитіла і їх антигензв'язувальні фрагменти, описані в даному документі (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 і їх гуманізовані варіанти), можуть додатково містити одну або кілька ділянок глікозилювання у варіабельній області або легкого, або важкого ланцюга імуноглобуліну. Такі ділянки глікозилювання можуть приводити до збільшеної імуногенності антитіла або фрагмента, або до зміни рК антитіла через змінене зв'язування антигену (Marshall et al. (1972) *Annu Rev Biochem* 41:673-702; Gala and Morrison (2004) *J Immunol* 172:5489-94; Wallick et al (1988) *J Exp Med* 168:1099-109; Spiro (2002) *Glycobiology* 12:43R-56R; Parekh et al (1985) *Nature* 316:452-7; Mimura et al. (2000) *Mol Immunol* 37:697-706). Відомо, що глікозилювання відбувається на мотивах, що містять послідовність N-X-S/T.

Кожне антитіло або антигензв'язувальний фрагмент (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 або їх гуманізовані варіанти) має унікальну ізоелектричну точку (pI), як правило, яка потрапляє в діапазон рН між 6 і 9,5. pI для антитіла IgG1, як правило, потрапляє в діапазон рН 7-9,5, і pI для антитіла IgG4, як правило, потрапляє в діапазон рН 6-8.

Кожне антитіло або антигензв'язувальний фрагмент (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 або їх гуманізовані варіанти) має характерну температуру плавлення, де більш висока температура плавлення вказує на більшу загальну стабільність *in vivo* (Krishnamurthy R and Manning MC (2002) *Curr Pharm Biotechnol* 3:361-71). Як правило, T_m (температура початкового розгортання) може складати більше 60 °C, більше 65 °C або більше 70 °C. Температуру плавлення антитіла або фрагмента можна вимірювати з використанням диференціальної скануючої калориметрії (Chen et al (2003) *Pharm Res* 20:1952-60; Ghirlando et al (1999) *Immunol Lett* 68:47-52) або кругового дихроїзму (Murray et al. (2002) *J. Chromatogr Sci* 40:343-9).

У наступному варіанті здійснення антитіла і їх антигензв'язувальні фрагменти (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 і їх гуманізовані варіанти) вибрані так, щоб не деградувати швидко. Деградацію антитіла або фрагмента можна вимірювати з використанням капілярного електрофорезу (CE) і MALDI-MS (Alexander AJ and Hughes DE (1995) *Anal Chem* 67:3626-32).

У наступному варіанті здійснення антитіла (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 і їх гуманізовані варіанти) і їх антигензв'язувальні фрагменти вибрані так, щоб виявляти мінімальні ефекти агрегації, що можуть приводити до запуску небажаної імунної відповіді і/або до змінених або несприятливих фармакокінетичних властивостей. Як правило, є прийнятними антитіла і фрагменти з агрегацією 25 % або менше, 20 % або менше, 15 % або менше, 10 % або менше, або 5 % або менше. Агрегацію можна вимірювати декількома способами, включаючи ексклюзійну колонку (CIK), високоефективну рідинну хроматографію (ВЕРХ), і світлорозсіювання.

Кон'югати антитіл

Антитіла проти TIGIT і їх антигензв'язувальні фрагменти, описані в даному документі (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 і їх гуманізовані варіанти), також можна кон'югувати з хімічною групою. Хімічна група може являти собою, серед іншого, полімер, радіоактивний ізотоп або цитотоксичний фактор. У конкретних варіантах здійснення хімічна група являє собою полімер, що збільшує час напівжиття антитіла або фрагмента в організмі суб'єкта. Прийнятні полімери включають, але без обмеження, гідрофільні полімери, що включають, але без обмеження, поліетиленгліколь (ПЕГ) (наприклад, ПЕГ з молекулярною масою 2 кДа, 5 кДа, 10 кДа, 12 кДа, 20 кДа, 30 кДа або 40 кДа), декстран і монометоксиполіетиленгліколь (мПЕГ). У Lee, et al., (1999) (*Bioconj. Chem.* 10:973-981) описані кон'юговані з ПЕГ одноланцюжкові антитіла. У Wen, et al., (2001) (*Bioconj. Chem.* 12:545-553) описана кон'югація антитіл з ПЕГ, приєднаних до хелатора радіоактивних металів (діетилентриамінпентаоцтової кислоти (ДТРА)).

Антитіла і їх антигензв'язувальні фрагменти, описані в даному документі (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 і їх гуманізовані варіанти) також можна кон'югувати з мітками, такими як ^{99}Tc , ^{90}Y , ^{111}In , ^{32}P , ^{14}C , ^{125}I , ^3H , ^{131}I , ^{11}C , ^{15}O , ^{13}N , ^{18}F , ^{35}S , ^{51}Cr , ^{57}To , ^{226}Ra , ^{60}Co , ^{59}Fe , ^{57}Se , ^{152}Eu , ^{67}Cu , ^{217}Ci , ^{211}At , ^{212}Pb , ^{47}Sc , ^{109}Pd , ^{234}Th і ^{40}K , ^{157}Gd , ^{55}Mn , ^{52}Tr і ^{56}Fe .

Антитіла й антигензв'язувальні фрагменти, описані в даному документі (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 і їх гуманізовані варіанти) також можна пегілювати, наприклад, для збільшення їхнього біологічного часу напівжиття (наприклад, у сироватці). Для пегілювання антитіла або фрагмента, як правило, виконують реакцію антитіла або фрагмента з реакційноздатною формою поліетиленгліколю (ПЕГ), такою як реакційноздатний складний ефір або альдегідне похідне ПЕГ, в умовах, у яких одна або кілька груп ПЕГ приєднуються до антитіла або фрагмента антитіла. У конкретних варіантах здійснення пегілювання виконують за допомогою реакції ацилювання або реакції алкілювання з реакційноздатною молекулою ПЕГ (або аналогічного реакційноздатного водорозчинного полімеру). Як застосовують у даному документі, термін "поліетиленгліколь" призначений, щоб включати будь-яку з форм ПЕГ, що використовують для дериватизації інших білків, таку як моно(C1-C10) алкокси- або арилкокси-

поліетиленгліколь або поліетиленгліколь-малеїнімід. У конкретних варіантах здійснення антитіло або фрагмент, які підлягають пегілюванню, являють собою аглікозиловане антитіло або фрагмент. Способи пегілювання білків відомі в даній галузі, і їх можна застосовувати для антитіла за винаходом. Див., наприклад, EP 0154316 і EP 0401384.

Антитіла й антигензв'язувальні фрагменти, описані в даному документі (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 і їх гуманізовані варіанти), також можна кон'югувати із флуоресцентними або хемілюмінесцентними мітками, включаючи флуорофори, такі як хелати рідкісноземельних елементів, флуоресцеїн і його похідні, родамін і його похідні, ізотіоціанат, фікоеритрин, фікоціанін, алофікоціанін, о-фталевий альдегід, флюорескамін, ¹⁵²Eu, дансил, умбеліферон, люциферин, люміналова мітка, ізолюміналова мітка, мітка на основі ароматичного складного ефіру акридинію, імідазолова мітка, мітка на основі солі акридинію, мітка на основі складного ефіру оксалату, мітка на основі екворину, 2,3-дигідрофталазиндіони, біотин/авідин, спінові мітки і стабільні вільні радикали.

Антитіла і їх антигензв'язувальні фрагменти за винаходом (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 і їх гуманізовані варіанти) також можна кон'югувати з цитотоксичним фактором, таким як дифтерійний токсин, ланцюг А екзотоксину *Pseudomonas aeruginosa*, ланцюг А рицину, ланцюг А абрину, ланцюг А модецину, альфа-сарцин, білки і сполуки (наприклад, жирні кислоти) *Aleurites fordii*, білки з діантином, білки PAPI, PAPII, і PAP-S *Phytolacca americana*, інгібітор з *momordica charantia*, курцин, кротин, інгібітор з *saponaria officinalis*, мітогелін, рестриктоцин, феноміцин і еноміцин.

Можна використовувати будь-який спосіб, відомий в даній галузі, для кон'югації антитіла і їхній антигензв'язувальних фрагментів за винаходом (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 і їхніх гуманізованих варіантів) з різними групами, включаючи способи, описані в Hunter, et al., (1962) *Nature* 144:945; David, et al., (1974) *Biochemistry* 13:1014; Pain, et al., (1981) *J. Immunol. Meth.* 40:219; і Nygren, J., (1982) *Histochem. і Cytochem.* 30:407. Способи кон'югації антитіла і фрагментів є загальноприйнятими і дуже добре відомими в даній галузі.

Терапевтичні застосування антитіла проти TIGIT

Далі представлені способи лікування суб'єктів, включаючи суб'єктів-людей, які потребують такого лікування, за допомогою виділених антитіла або їх антигензв'язувальних фрагментів, описаних у даному документі (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 і їх гуманізованих варіантів). В одному варіанті здійснення винаходу такий суб'єкт страждає на інфекцію або інфекційне захворювання. В іншому варіанті здійснення винаходу такий суб'єкт страждає на злоякісну пухлину. В одному варіанті здійснення злоякісна пухлина являє собою солідну пухлину з інфільтрацією інфільтруючих у пухлину лімфоцитів, які експресують TIGIT. В одному варіанті здійснення злоякісна пухлина являє собою, наприклад, остеосаркому, рабдоміосаркому, нейробластому, рак нирки, лейкоз, перехідноклітинний рак нирки, рак сечового міхура, злоякісну пухлину Вільма, рак яєчника, рак підшлункової залози, рак молочної залози, рак передміхурової залози, злоякісну пухлину кістки, рак легені (наприклад, недрібноклітинний рак легені), рак шлунку, колоректальний рак, рак шийки матки, синовіальну саркому, рак голови і шиї, плоскоклітинну карциному, множинну мієлому, нирково-клітинний рак, ретинобластому, гепатобластому, печінково-клітинну карциному, меланому, рабдоїдну пухлину нирок, саркому Юїнга, хондросаркому, злоякісну пухлину мозку, гліобластому, менінгіому, аденому гіпофіза, вестибулярну шваному, примітивну нейроектодермальну пухлину, медулобластому, астроцитому, анапластичну астроцитому, олігодендрогліому, епендимому, папілому хоріоїдного сплетення, справжню поліцитемію, тромбоцитемію, ідіопатичний мієлофіброз, саркому м'яких тканин, рак щитовидної залози, рак ендометрія, карциноїдну злоякісну пухлину або рак печінки, рак молочної залози або рак шлунку. В одному з варіантів здійснення винаходу злоякісна пухлина являє собою метастазуючу злоякісну пухлину, наприклад, з варіантів, описаних вище.

В одному з варіантів здійснення винахід стосується способів лікування суб'єктів з використанням антитіла проти TIGIT або його антигензв'язувального фрагмента за винаходом (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 і їх гуманізованих варіантів), де суб'єкт страждає на вірусну інфекцію. В одному варіанті здійснення вірусна інфекція являє собою інфекцію вірусом, вибраним із групи, яка складається з вірусу імунodefіциту людини (ВІЛ), вірусу гепатиту (А, В або С), вірусу герпеса (наприклад, VZV, HSV-I, HAV-6, HSV-II і CMV, вірусу Епштейна-Барр), аденовірусу, вірусу грипу, флавівірусів, еховірусу, риновірусу, вірусу Коксаки, коронавірусу, респіраторно-синцитіального вірусу, вірусу свинки, ротавірусу, вірусу кору, вірусу краснухи, парвовірусу, вірусу осповакцини, вірусу HTLV, вірусу денге, папіломавірусу, вірусу молюска, вірусу поліомієліту, вірусу сказу, вірусу JC або вірусу арбовірусного енцефаліту.

В одному з варіантів здійснення винахід стосується способів лікування суб'єктів з використанням антитіла проти TIGIT або його антигензв'язувального фрагмента за винаходом, де суб'єкт страждає на бактеріальну інфекцію. В одному варіанті здійснення бактеріальна інфекція являє собою інфекцію бактеріями, вибраними з групи, яка складається з *Chlamydia*, рикетсіозних бактерій, мікобактерій, стафілококів, стрептококів, пневмококів, менінгококів і гонококів, клебсієли, протеси, серації, псевдомонад, *Legionella*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Salmonella*, бацил, *Vibrio cholerae*, *Clostridium tetan*, *Clostridium botulinum*, *Bacillus anthracis*, *Yersinia pestis*, *Mycobacterium leprae*, *Mycobacterium lepromatosis* і *Borriella*.

В одному з варіантів здійснення винахід стосується способів лікування суб'єктів з використанням антитіла проти TIGIT або його антигензв'язувального фрагмента за винаходом, де суб'єкт страждає на грибкову інфекцію. В одному варіанті здійснення грибкова інфекція являє собою інфекцію грибом, вибраним із групи, яка складається з *Candida* (*albicans*, *krusei*, *glabrata*, *tropicalis* і т.д.), *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus* (*fumigatus*, *niger* і т. д.), роду *Mucorales* (*mucor*, *absidia*, *rhizopus*), *Sporothrix schenckii*, *Blastomyces dermatitidis*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Coccidioides immitis* і *Histoplasma capsulatum*.

В одному з варіантів здійснення винахід стосується способів лікування суб'єктів з використанням антитіла проти TIGIT або його антигензв'язувального фрагмента за винаходом, де суб'єкт страждає на паразитичну інфекцію. В одному варіанті здійснення паразитична інфекція являє собою інфекцію паразитом, вибраним із групи, яка складається з *Entamoeba histolytica*, *Balantidium coli*, *Naegleria fowleri*, *Acanthamoeba*, *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium*, *Pneumocystis carinii*, *Plasmodium vivax*, *Babesia microti*, *Trypanosoma brucei*, *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania donovani*, *Toxoplasma gondii* і *Nippostrongylus brasiliensis*.

Крім того, даний винахід стосується способу запобігання або інгібування зв'язування TIGIT з МНС класу II, посилення активації антигенспецифічних Т-клітин або стимуляції продукції інтерлейкіну-2 Т-клітинами в суб'єкта (наприклад, людини), наприклад, де суб'єкт страждає на злоякісну пухлину або інфекційне захворювання (наприклад, як обговорюють у даному документі), що включає введення ефективної кількості антитіла проти TIGIT або його антигензв'язувального фрагмента (наприклад, 14A6, 28A5, 31C6 і їх гуманізовані варіанти), необов'язково, у сполученні з додатковим хіміотерапевтичним засобом.

"Суб'єкт" може являти собою ссавця, такого як людина, собака, кішка, кінь, корова, миша, щур, мавпа (наприклад, яванська макака, наприклад, *Macaca fascicularis*) або кролик. У переважних варіантах здійснення винаходу суб'єкт являє собою суб'єкта-людину.

У конкретних варіантах здійснення антитіла або їх антигензв'язувальні фрагменти, описані в даному документі (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 і їх гуманізовані варіанти) можна використовувати окремо або в сполученні з іншими, додатковими лікарськими засобами і/або терапевтичними процедурами, для лікування або запобігання будь-якого захворювання, такого як злоякісна пухлина, наприклад, як обговорюють у даному документі, у суб'єкта, який потребує такого лікування або запобігання. Композиції, наприклад, фармацевтичні композиції, які містять фармацевтично прийнятний носій, що містять такі антитіла і фрагменти в сполученні з іншими лікарськими засобами, також є частиною даного винаходу.

У конкретних варіантах здійснення антитіла або їх антигензв'язувальні фрагменти, описані в даному документі (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 і їх гуманізовані варіанти), можна використовувати окремо або в сполученні з протипухлинними вакцинами.

У конкретних варіантах здійснення антитіла або їх антигензв'язувальні фрагменти, описані в даному документі (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 і їх гуманізовані варіанти), можна використовувати окремо або в сполученні з хіміотерапевтичними засобами.

У конкретних варіантах здійснення антитіла або їх антигензв'язувальні фрагменти, описані в даному документі (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 і їх гуманізовані варіанти), можна використовувати окремо або в сполученні з радіотерапією.

У конкретних варіантах здійснення антитіла або їх антигензв'язувальні фрагменти, описані в даному документі (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 і їх гуманізовані варіанти), можна використовувати окремо або в сполученні зі спрямованою терапією. Приклади спрямованих терапевтичних засобів включають: гормональну терапію, інгібітори передачі сигналу (наприклад, інгібітори EGFR, такі як цетуксимаб (ербітукс) і ерлотиніб (тарцева)); інгібітори HER2 (наприклад, трастузумаб (герцептин) і пертузумаб (перьета)); інгібітори BCR-ABL (такі як іматиніб (глівек) і дазатиніб (спрайсел)); інгібітори ALK (такі як кризотиніб (ксалкори) і церитиніб (зикадія)); інгібітори BRAF (такі як вемурафеніб (зелбораф) і дабрафеніб (тафінлар)), модулятори експресії генів, індуктори апоптозу (наприклад, бортезоміб (велкад) і карфілзоміб (кіпроліс)), інгібітори ангіогенезу (наприклад, бевацизумаб (авастин) і рамуцирумаб (цирамза),

моноклональні антитіла, приєднані до токсинів (наприклад, брентуксимаб ведотин (адцетрис) і адо-трастузумаб емтанзин (кадсила)).

У конкретних варіантах здійснення антитіла проти TIGIT або їх антигензв'язувальні фрагменти за винаходом (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 і їх гуманізовані варіанти) можна використовувати в комбінації з протираковим лікарським засобом або імуномодуючим лікарським засобом, таким як інгібітор імуномодуючого рецептора, наприклад, антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент, які специфічно зв'язуються з рецептором.

Таким чином, даний винахід стосується композицій, які містять антитіло проти TIGIT або його антигензв'язувальний фрагмент за даним винаходом (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 і їх гуманізовані варіанти) у сполученні з пембролізумабом; а також способів лікування або запобігання злоякісній пухлині в суб'єкта, що включає введення ефективної кількості антитіла проти TIGIT або його антигензв'язувального фрагмента і пембролізумабу суб'єкту. Необов'язково, суб'єкту вводять також додатковий лікарський засіб.

В одному з варіантів здійснення винаходу антитіло проти TIGIT або його антигензв'язувальний фрагмент за даним винаходом (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 і їх гуманізовані варіанти) присутнє у сполученні з виділеним антитілом, що містить важкий ланцюг імуноглобуліну, який містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 33, і легкий ланцюг імуноглобуліну, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 34. SEQ ID NO: 33 і 34 кодують важкий і легкий ланцюги пембролізумабу.

В одному з варіантів здійснення винаходу антитіло проти TIGIT або його антигензв'язувальний фрагмент за даним винаходом (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 і їх гуманізовані варіанти) присутнє у сполученні з виділеним антитілом, що містить важкий ланцюг імуноглобуліну, який містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 35, і легкий ланцюг імуноглобуліну, який містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 36. SEQ ID NO: 35 і 36 кодують важкий і легкий ланцюги ніволумабу.

В одному з варіантів здійснення винаходу антитіло проти TIGIT або його антигензв'язувальний фрагмент за винаходом (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 і їх гуманізовані варіанти) присутнє у сполученні з одним або декількома з: антитіла проти PD1 (наприклад, пембролізумабу, ніволумабу, підилізумабу (CT-011)), антитіла проти PDL1, антитіла проти CTLA4, антитіла проти CS1 (наприклад, елотузумабу), антитіла проти KIR2DL1/2/3 (наприклад, лірилумабу), антитіла проти CD137 (наприклад, урелумабу), антитіла проти GITR (наприклад, TRX518), антитіла проти PD-L1 (наприклад, BMS-936559, MSB0010718C або MPDL3280A), антитіла проти PD-L2, антитіла проти ILT1, антитіла проти ILT2, антитіла проти ILT3, антитіла проти ILT4, антитіла проти ILT5, антитіла проти ILT6, антитіла проти ILT7, антитіла проти ILT8, антитіла проти CD40, антитіла проти OX40, антитіла проти ICOS, антитіла проти SIRPα, антитіла проти KIR2DL1, антитіла проти KIR2DL2/3, антитіла проти KIR2DL4, антитіла проти KIR2DL5A, антитіла проти KIR2DL5B, антитіла проти KIR3DL1, антитіла проти KIR3DL2, антитіла проти KIR3DL3, антитіла проти NKG2A, антитіла проти NKG2C, антитіла проти NKG2E, антитіла проти 4-1BB (наприклад, PF-05082566), антитіла проти TSLP, антитіла проти IL-10, IL-10 або пегільованого IL-10, або будь-якого низькомолекулярного органічного інгібітору таких мішеней.

В одному з варіантів здійснення винаходу антитіло проти TIGIT або його антигензв'язувальний фрагмент за винаходом (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 або їх гуманізовані варіанти) присутнє у сполученні з антитілом проти PD1.

В одному з варіантів здійснення винаходу антитіло проти TIGIT або його антигензв'язувальний фрагмент за винаходом (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 або їх гуманізовані варіанти) присутнє у сполученні з антитілом проти PDL1 (наприклад, BMS-936559, MSB0010718C або MPDL3280A).

В одному з варіантів здійснення винаходу антитіло проти TIGIT або його антигензв'язувальний фрагмент за винаходом (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 або їх гуманізовані варіанти) присутнє у сполученні з антитілом проти CTLA4.

В одному з варіантів здійснення винаходу антитіло проти TIGIT або його антигензв'язувальний фрагмент за винаходом (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 або їх гуманізовані варіанти) присутнє у сполученні з антитілом проти CS1.

В одному з варіантів здійснення винаходу антитіло проти TIGIT або його антигензв'язувальний фрагмент за винаходом (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 або їх гуманізовані варіанти) присутнє у сполученні з антитілом проти KIR2DL1/2/3.

В одному з варіантів здійснення винаходу антитіло проти TIGIT або його антигензв'язувальний фрагмент за винаходом (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 або їх гуманізовані варіанти) присутнє у сполученні з антитілом проти CD137 (наприклад, урелумабом).

В одному з варіантів здійснення винаходу антитіло проти TIGIT або його антигензв'язувальний фрагмент за винаходом (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 або їх гуманізовані варіанти) присутнє у сполученні з антитілом проти NKG2A.

5 В одному з варіантів здійснення винаходу антитіло проти TIGIT або його антигензв'язувальний фрагмент за винаходом (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 або їх гуманізовані варіанти) присутнє у сполученні з антитілом проти NKG2C.

В одному з варіантів здійснення винаходу антитіло проти TIGIT або його антигензв'язувальний фрагмент за винаходом (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 або їх гуманізовані варіанти) присутнє у сполученні з антитілом проти ICOS.

10 В одному з варіантів здійснення винаходу антитіло проти TIGIT або його антигензв'язувальний фрагмент за винаходом (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 або їх гуманізовані варіанти) присутнє у сполученні з антитілом проти SIRPα.

В одному з варіантів здійснення винаходу антитіло проти TIGIT або його антигензв'язувальний фрагмент за винаходом (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 або їх гуманізовані варіанти) присутнє у сполученні з антитілом проти 4-1BB.

15 В одному з варіантів здійснення винаходу антитіло проти TIGIT або його антигензв'язувальний фрагмент за винаходом (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 або їх гуманізовані варіанти) присутнє у сполученні з антитілом проти IL-10.

20 В одному з варіантів здійснення винаходу антитіло проти TIGIT або його антигензв'язувальний фрагмент за винаходом (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 або їх гуманізовані варіанти) присутнє у сполученні з антитілом проти TSLP.

В одному з варіантів здійснення винаходу антитіло проти TIGIT або його антигензв'язувальний фрагмент за винаходом (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 або їх гуманізовані варіанти) присутнє у сполученні з IL-10 або пегільованим IL-10.

25 В одному з варіантів здійснення винаходу антитіло проти TIGIT або його антигензв'язувальний фрагмент за винаходом (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 або їх гуманізовані варіанти) присутнє у сполученні з одним або декількома з інгібітору (наприклад, малої органічної молекули або антитіла, або його антигензв'язувального фрагмента), такого як: інгібітор MTOR (мішень для рапаміцину в ссавців), цитотоксичного засобу, засобу на основі платини, інгібітору EGFR, інгібітору VEGF, стабілізатора мікротрубочок, таксану, інгібітору CD20, інгібітору CD52, інгібітору CD30, інгібітору RANK (рецептора-активатора ядерного фактора каппа-В), інгібітору RANKL (ліганда рецептора-активатора ядерного фактора каппа-В), інгібітору ERK, інгібітору MAP-кінази, інгібітору AKT, інгібітору MEK, інгібітору PI3K, інгібітору HER1, інгібітору HER2, інгібітору HER3, інгібітору HER4, інгібітору Bcl2, інгібітору CD22, інгібітору CD79b, інгібітору ErbB2 або інгібітори фарнезил-протеїнтрансферази.

30 В одному з варіантів здійснення винаходу антитіло проти TIGIT або його антигензв'язувальний фрагмент за винаходом (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 або їх гуманізовані варіанти) присутнє у сполученні з будь-яким одним або декількома з: 13-цис-ретиноевої кислоти, 3-[5-(метилсульфонілпіперадинметил)-індоліл]-хінолону, 4-гідрокситамоксифену, 5-дезоксіуридину, 5'-дезоксид-5-фторуридину, 5-фторурацилу, 6-меркаптопурину, 7-гідроксистауроспорину, A-443654, абиратеронацетату, абраксану, ABT-578, аколбіфену, ADS-100380, ALT-110, алтретаміну, аміфостину, аміноглутетиміду, амрубіцину, амсакрину, анагреліду, анастрозолу, ангіостатину, AP-23573, ARQ-197, арзоксифену, AS-252424, AS-605240, аспарагінази, AT-9263, атрасентану, акситинібу, AZD1152, вакцини на основі бацили Кальметта-Герена (BCG), батабуліну, BC-210, безодутоксу, бевацизумабу, бікалутаміду, Bio111, BIO140, блеоміцину, BMS-214662, BMS-247550, BMS-275291, BMS-310705, бортезимибу, бузереліну, бусульфану, кальцитриолу, камптотецину, канертинібу, капецитабіну, карбоплатину, кармустину, CC8490, цедиранібу, CG-1521, CG-781, хламідоцину, хлорамбуцилу, хлоротоксину, цикленгітиду, цимітидину, цисплатину, кладрибіну, клодронату, COL-3, CP-724714, циклофосфаміду, ципротерону, ацетату ципротерону, цитарабіну, цитозинарабінозиду, декарбазину, дацинонстату, дактиноміцину, далотузумабу, данусертибу, дазатанібу, даунорубіцину, декатанібу, дегуеліну, денілейкіну, дезоксикоформіцину, депсипептиду, діарилпропіонітрилу, діетилстилбестролу, дифтитоксу, доцетакселу, довітинібу, доксорубіцину, дролоксифену, едотекарину, міченого ітрієм-90 едотреотиду, едотреотиду, EKB-569, EMD121974, ендостатину, ензалутаміду, ензастаурину, епірубіцину, епітилону В, ERA-923, ербітуксу, ерлотинібу, естрадіолу, естрамустину, етопозиду, еверолімусу, екземестану, фіклатузумабу, фінастериду, флавопіридолу, флоксуридину, флударабіну, флуорокортизону, флуоксиместерону, флутаміду, схеми лікування FOLFOX, фулвестранту, галетерону, гефітинібу, гемцитабіну, гіматекану, гозереліну, ацетату гозереліну, госсиполу, GSK461364, GSK690693, HMR-3339, гідроксипрогестеронкапроату, гідроксисечовини, IC87114, ідарубіцину,

60

ідоксифену, іфосфаміду, IM862, іматинібу, IMC-1C11, INCB24360, INO1001, інтерферону, інтерлейкіну-12, іпілімумабу, іринотекану, JNJ-16241199, кетоконазолу, KRX-0402, лапатинібу, лазофоксифену, лектрозолу, лейковорину, леупроліду, ацетату леупроліду, левамізолу, поміщеного в ліпосоми паклітакселу, ломустину, лонафарнібу, лукантону, LY292223, LY292696, LY293646, LY293684, LY294002, LY317615, маримастану, мехлоретаміну, медроксипрогестеронацетату, магестролацетату, мелфалану, меркаптопурина, месни, метотрексату, мітраміцину, мітоміцину, мітотану, мітоксантрону, тозасертибу, MLN8054, неовастану, нератинібу, нейрадіабу, нілотинібу, нілутиміду, нолатрекседу, NVP-BEZ235, облімерсену, октреотиду, офатумумабу, ореговомабу, ортеронелу, оксаліплатину, паклітакселу, палбоциклібу, памідронату, панітумумабу, пазопанібу, PD0325901, PD184352, ПЕГ-інтерферону, пеметрекседу, пентостатину, перифозину, фенілаланініприту, PI-103, піктилісибу, PIK-75, піпендоксифену, PKI-166, плікаміцину, порфімеру, преднізону, прокарбазину, прогестинів, PX-866, R-763, ралоксифену, ралтитрексиду, разоксину, ридафороліму, ритуксимабу, ромідепсину, RTA744, рубітекану, скриптейду, Sdx102, селіциклібу, селуметинібу, семаксанібу, SF1126, сироліму, SN36093, сорафенібу, спіронолактону, свкаламину, SR13668, стрептозоцину, SU6668, субероїланіліду гідроксамової кислоти, сунитинібу, синтетичного естрогену, талампанелу, талімогену лагерпарепвеку, тамоксифену, темозоломід, темсироліму, теніпозиду, тесміліфену, тестостерону, тетрандрину, TGX-221, талідомід, тіогуанін, тіотепа, тицилімумабу, типіфарнібу, тивозанібу, TKI-258, TLK286, топотекану, цитрату тореміфену, трабектедину, трастузумабу, третиноїну, трихостатину А, моногідрату трицирибінфосфату, памоату триптореліну, TSE-424, урамустину, вальпроєвої кислоти, валрубіцину, вандетанібу, ваталанібу, VEGF-пастки, вінбластину, вінкрістину, віндезину, вінорелбіну, вітаксину, вітеспану, вориностату, VX-745, вортманіну, Xr311, занолімумабу, ZK186619, ZK-304709, ZM336372, ZSTK474.

В одному з варіантів здійснення винаходу антитіло проти TIGIT або його антигензв'язувальний фрагмент за винаходом (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 або їх гуманізовані варіанти) присутнє у сполученні з одним або декількома протиблювотними засобами, включаючи, але без обмеження: касопітант (GlaxoSmithKline), нетупітант (MGI-Helsinn) і інші антагоністи рецептора NK-1, палоносетрон (який продається як Aloxi у MGI Pharma), апренітант (який продається як Emend у Merck і Co.; Rahway, NJ), дифенгідраміні (який продається як Benadryl® у Pfizer; New York, NY), гідроксизин (який продається як Atarax® у Pfizer; New York, NY), метоклопрамід (який продається як Reglan® у AN Robins Co.; Richmond, VA), лоразепам (який продається як Ativan® у Wyeth; Madison, NJ), альпразолам (який продається як Xanax® у Pfizer; New York, NY), галоперидол (який продається як Haldol® у Ortho-McNeil; Raritan, NJ), дроперидол (Inapsine®), дронабінол (який продається як Marinol® у Solvay Pharmaceuticals, Inc.; Marietta, GA), дексаметазон (який продається як Decadron® у Merck і Co.; Rahway, NJ), метилпреднізолон (який продається як Медрол® у Pfizer; New York, NY), прохлорперазин (який продається як Compazine® у Glaxosmithkline; Research Triangle Park, NC), гранісетрон (який продається як Kytrel® у Hoffmann-La Roche Inc.; Nutley, NJ), ондансетрон (який продається як Zofran® у Glaxosmithkline; Research Triangle Park, NC), долазетрон (який продається як Anzemet® у Sanofi-Aventis; New York, NY), тропісетрон (який продається як Navoban® у Novartis; East Hanover, NJ).

Інші побічні ефекти лікування злоякісних пухлин включають дефіцит еритроцитів і лейкоцитів. Відповідно, в одному з варіантів здійснення винаходу антитіло проти TIGIT або його антигензв'язувальний фрагмент (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 або їх гуманізовані варіанти) присутнє у сполученні з засобом, що здійснює лікування або запобігання такого дефіциту, наприклад, таким як філграстим, ПЕГ-філграстим, еритропоєтин, епоєтин альфа або дарбепоєтин альфа.

В одному з варіантів здійснення винаходу антитіло проти TIGIT або його антигензв'язувальний фрагмент за винаходом (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 або їх гуманізовані варіанти) вводять у сполученні з протираковою радіотерапією. Наприклад, в одному з варіантів здійснення винаходу радіотерапія являє собою зовнішню дистанційну променевою терапію (ЕВТ): спосіб доставки пучка рентгенівських променів високої енергії до локалізації пухлини. Пучок одержують поза організмом пацієнта (наприклад, за допомогою лінійного прискорювача) і націлюють на ділянку пухлини. Ці рентгенівські промені можуть руйнувати клітини злоякісних пухлин, і ретельне планування обробки дозволяє зберігати навколишні нормальні тканини. Ніяких джерел радіоактивності не вміщують усередину організму пацієнта. В одному з варіантів здійснення винаходу радіотерапія являє собою протонну терапію: тип конформної променевої терапії з бомбардуванням ураженої захворюванням тканини протонами замість рентгенівських променів. В одному з варіантів здійснення винаходу радіотерапія являє собою конформну

зовнішню дистанційну променеви терапію: спосіб, у якому використовують передову технологію, щоб підлаштовувати радіотерапію під будову організму індивідуума. В одному з варіантів здійснення винаходу радіотерапія являє собою брахітерапію: тимчасове вміщення радіоактивних речовин в організм, як правило, застосовуване для прикладення до області

5 додаткової дози або додаткової інтенсивності радіації.

В одному з варіантів здійснення винаходу хірургічна процедура, яка застосовується у сполученні з антитілом проти TIGIT або його антигензв'язувальним фрагментом (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 або їх гуманізованими варіантами), являє собою хірургічне видалення пухлини.

10 Термін "у сполученні з" указує на те, що компоненти, які вводяться способом за даним винаходом (наприклад, антитіло проти TIGIT (наприклад, гуманізоване антитіло) або його антигензв'язувальний фрагмент (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 або їхні гуманізовані варіанти) разом з пембrolізумабом) можна складати в одну композицію для одночасного введення або

15 складати окремо в дві або більше композицій (наприклад, набір). Кожен компонент можна вводити суб'єкту в момент часу, відмінний від моменту часу, коли вводять інший компонент; наприклад, кожне введення можна виконувати не одночасно (наприклад, окремо або послідовно) у кілька інтервалів протягом даного періоду часу. Більше того, окремі компоненти можна вводити суб'єкту однаковими або різними способами.

Експериментальні і діагностичні застосування

20 Антитіла проти TIGIT і їх антигензв'язувальні фрагменти, описані в даному документі (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 і їх гуманізовані варіанти) можна використовувати як засоби для афінного очищення. У цьому процесі, антитіла до TIGIT і їх антигензв'язувальні фрагменти іммобілізують на твердій фазі, такий як сефадекс, скло або агарозна смола, або фільтрувальний папір, з використанням способів, добре відомих в даній галузі. Іммобілізоване антитіло або

25 фрагмент приводять у контакт зі зразком, що містить білок TIGIT (або його фрагмент), що підлягає очищенню, і потім підкладку промивають прийнятним розчинником, що може видаляти по суті весь матеріал у зразку, за винятком білка TIGIT, який зв'язаний з іммобілізованим антитілом або фрагментом. Нарешті, підкладку промивають розчинником, який елює зв'язаний TIGIT (наприклад, білок A). Іммобілізовані антитіла і фрагменти складають частину даного

30 винаходу.

Представлені також антигени для одержання вторинних антитіл, які можна використовувати наприклад, для проведення Вестерн-блотингу й інших імунологічних аналізів, обговорюваних у даному документі. Зокрема, описані поліпептиди, які містять варіабельні області і/або послідовності CDR терапевтичного антитіла, описаного в даному документі (наприклад, 14A6,

35 28H5 або 31C6) і які можна використовувати для одержання антитіл проти ідіотипів для застосування в специфічній детекції присутності антитіла, наприклад, у терапевтичному контексті.

Антитіла проти TIGIT (наприклад, гуманізовані антитіла) і їх антигензв'язувальні фрагменти також можна використовувати в діагностичних аналізах білка TIGIT, наприклад, детекції його експресії в специфічних клітинах, тканинах, або сироватці, наприклад, клітинах пухлин, таких як

40 клітини меланоми. Такі діагностичні способи можна використовувати в діагностиці різних захворювань.

Даний винахід стосується аналізів ELISA (твердофазних імуоферментних аналізів), що включають застосування антитіла проти TIGIT або його антигензв'язувального фрагмента, описаних у даному документі (наприклад, 14A6 або його гуманізований варіант).

45

Наприклад, такий спосіб включає наступні стадії:

- (a) покриття субстрату (наприклад, поверхні ямки мікропланшета для титрування, наприклад, пластикового планшета) антитілом проти TIGIT або його антигензв'язувальним фрагментом;
- 50 (b) нанесення зразка, що підлягає тестуванню на присутність TIGIT, на субстрат;
- (c) промивання планшета, так що віддаляється незв'язаний матеріал у зразку;
- (d) введення мічених антитіл, які піддаються детекції міткою (наприклад, зв'язаних з ферментом антитіл), що також є специфічними для антигену TIGIT;
- (e) промивання субстрату, так що видаляються незв'язані, мічені антитіла;
- 55 (f) якщо мічені антитіла є зв'язаними з ферментом, введення хімічної речовини, яка перетворюється ферментом у флуоресцентний сигнал; і
- (g) детекція присутності міченого антитіла.

Детекція мітки, асоційованої із субстратом, указує на присутність білка TIGIT.

У наступному варіанті здійснення мічене антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент

60 є міченим за допомогою пероксидази, що вступає в реакцію з ABTS (наприклад, 2,2'-азино-біс(3-

етилбензтиазолін-6-сульфоною)) або 3,3',5,5'-тетраметилбензидином для одержання зміни забарвлення, що піддається детекції. Альтернативно, мічене антитіло або фрагмент є міченим за допомогою радіоактивного ізотопу, що піддається детекції (наприклад, ^3H), який можна детектувати за допомогою сцинтиляційного лічильника в присутності сцинтилятора.

Антитіло проти TIGIT або його антигензв'язувальний фрагмент за винаходом (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 або їх гуманізовані варіанти) можна використовувати в способі Вестерн-блотингу або імуноблотингу білків. Такий спосіб є частиною даного винаходу і включає, наприклад:

(1) необов'язково, перенесення білків зі зразка, що підлягає тестуванню на присутність TIGIT (наприклад, після електрофоретичного розділення білків у зразку за допомогою PAGE або SDS-PAGE), на мембрану або інший твердий субстрат з використанням способу, відомого в даній галузі (наприклад, напівсухого блотингу або блотингу в резервуарі); приведення мембрани або іншого твердого субстрату, що підлягає тестуванню на присутність зв'язаного TIGIT або його фрагмента, у контакт з антитілом проти TIGIT або його антигензв'язувальним фрагментом за винаходом.

Така мембрана може приймати форму мембрани на основі нітроцелюлози або вінілу (наприклад, полівініліденфториду (PVDF)), на яку перенесені білки, що підлягають тестуванню на присутність TIGIT у гелі для неденатуруючого PAGE (електрофорезу в поліакриламідному гелі) або в гелі для SDS-PAGE (електрофорезу в поліакриламідному гелі з додецилсульфатом натрію) (наприклад, після електрофоретичного розділення в гелі). Перед приведенням мембрани в контакт з антитілом проти TIGIT або фрагмента, мембрану, необов'язково, блокують, наприклад, за допомогою знежиреного сухого молока або т.п., щоб зв'язати неспецифічні ділянки зв'язування білка на мембрані.

(2) Промивання мембрани один або кілька разів для видалення антитіла проти TIGIT, яке не зв'язалося, або фрагмента й інших речовин, які не зв'язалися; і

(3) детекцію зв'язаного антитіла проти TIGIT або фрагмента.

Детекція зв'язаного антитіла або фрагмента вказує на те, що білок TIGIT присутній на мембрані або субстраті й у зразку. Детекцію зв'язаного антитіла або фрагмента можна виконувати за допомогою зв'язування антитіла або фрагмента з вторинним антитілом (антитілом проти імуноглобуліну), міченим міткою, яка піддається детекції, і, потім детекції присутності вторинного антитіла.

Антитіла проти TIGIT і їх антигензв'язувальні фрагменти, описані в даному документі (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 і їх гуманізовані варіанти), також можна використовувати для імуногістохімії. Такий спосіб складає частину даного винаходу і включає, наприклад,

(1) приведення клітини (наприклад, клітини пухлини, такої як клітина меланому), що підлягає тестуванню на присутність білка TIGIT, у контакт з антитілом проти TIGIT або його антигензв'язувальним фрагментом за винаходом; і

(2) детекцію антитіла або фрагмента на або в клітині.

Якщо власне антитіло або фрагмент є міченим міткою, яка піддається детекції, його можна детектувати прямо. Альтернативно, антитіло або фрагмент можна зв'язувати з міченим міткою, яка піддається детекції, вторинним антитілом, яке детектують.

Конкретні антитіла проти TIGIT і їх антигензв'язувальні фрагменти, описані в даному документі (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 і їх гуманізовані варіанти), також можна використовувати для візуалізації пухлин *in vivo*. Такий спосіб може включати ін'єкцію радіоактивно міченого антитіла проти TIGIT або його антигензв'язувального фрагмента, в організм пацієнта, що підлягає тестуванню на присутність пухлини, асоційованої з експресією TIGIT (наприклад, яка експресує TIGIT, наприклад, на поверхні клітин пухлини), з наступною радіонуклідною візуалізацією організму пацієнта для детекції присутності міченого антитіла або фрагмента, наприклад, у ділянках, що містять високу концентрацію антитіла або фрагмента, зв'язаних з пухлиною. Детекція ділянок указує на присутність TIGIT⁺ пухлин і клітин пухлин.

Способи візуалізації включають візуалізацію SPECT (однофотонну емісійну комп'ютерну томографію) або візуалізацію PET (позитронну емісійну томографію). Мітки включають, наприклад, іод-123 (^{123}I) і технецій-99m ($^{99\text{m}}\text{Tc}$), наприклад, у сполученні з візуалізацією SPECT або ^{11}C , ^{13}N , ^{15}O або ^{18}F , наприклад, у сполученні з візуалізацією PET, або індій-111 (Див., наприклад, Gordon et al., (2005) International Rev. Neurobiol. 67:385-440).

Фармацевтичні композиції і введення

Для одержання фармацевтичних або стерильних композицій антитіл проти TIGIT і антигензв'язувальних фрагментів за винаходом (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 і їх гуманізовані варіанти), антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент змішують з фармацевтично

прийнятим носієм або наповнювачем. Див., наприклад, Remington's Pharmaceutical Sciences і U.S. Pharmacopeia: National Formulary, Mack Publishing Company, Easton, PA (1984).

Склади терапевтичних і діагностичних засобів можна одержувати за допомогою змішування з прийнятими носіями, наповнювачами, або стабілізаторами у формі, наприклад, ліофілізованих порошків, суспензій, водних розчинів або суспензій (див., наприклад, Hardman, et al. (2001) Goodman and Gilman's Pharmacological Basis of Therapeutics, McGraw-Hill, New York, NY; Gennaro (2000) Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott, Williams, and Wilkins, New York, NY; Avis, et al. (eds.) (1993) Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications, Marcel Dekker, NY; Lieberman, et al. (eds.) (1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets, Marcel Dekker, NY; Lieberman, et al. (eds.) (1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems, Marcel Dekker, NY; Weiner and Kotkoskie (2000) Excipient Toxicity and Safety, Marcel Dekker, Inc., New York, NY).

Токсичність і терапевтичну ефективність антитіл за винаходом, уведених окремо або в комбінації з іншим лікарським засобом, можна визначати за допомогою стандартних фармацевтичних способів у культурах клітин або експериментальних тварин, наприклад, для визначення LD₅₀ (доза, летальної для 50 % популяції) і ED₅₀ (доза, терапевтично ефективною для 50 % популяції). Співвідношення доз між токсичним і терапевтичним ефектами являє собою терапевтичний індекс (LD₅₀/ED₅₀). Дані, отримані з цих аналізів культур клітин і досліджень на тваринах, можна використовувати в складанні діапазону дозування для застосування в людини. Доза таких сполук переважно лежить у діапазоні циркулюючих концентрацій, що включає ED₅₀ з невеликою токсичністю або з відсутністю токсичності. Доза може змінюватися в межах цього діапазону залежно від застосовуваної лікарської форми і способу введення.

У наступному варіанті здійснення додатковий лікарський засіб вводять суб'єкту в сполученні з антитілом проти TIGIT або його антигензв'язувальним фрагментом за винаходом (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6) відповідно до Physicians' Desk Reference 2003 (Thomson Healthcare; 57th edition (November 1, 2002)).

Спосіб введення може змінюватися. Способи введення включають пероральне, ректальне, трансмукозальне, кишкове, парентеральне; внутрішньом'язове, підшкірне, внутрішньошкірне, інтрамедулярне, інтратекальне, пряме інтравентрикулярне, внутрішньовенне, внутрішньоочеревинне, інтраназальне, внутрішньоочне, інгаляцію, інсуфляцію, місцеве, шкірне, черезшкірне або внутрішньоартеріальне.

У конкретних варіантах здійснення антитіла проти TIGIT або їх антигензв'язувальні фрагменти за винаходом (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 і їх гуманізовані варіанти) можна вводити інвазивним способом, наприклад, за допомогою ін'єкції. У наступних варіантах здійснення винаходу антитіло проти TIGIT або його антигензв'язувальний фрагмент, або його фармацевтичну композицію, вводять внутрішньовенно, підшкірно, внутрішньом'язово, внутрішньоартеріально, усередину пухлини або за допомогою інгаляції, аерозольної доставки. Введення неінвазивними способами (наприклад, перорально; наприклад, у пігулках, капсулах або таблетках) також включено в обсяг даного винаходу.

Даний винахід стосується посудини (наприклад, пластикового або скляного флакона, наприклад, із кришкою, або хроматографічної колонки, порожньої голки або циліндра шприца), яка містить будь-яке з антитіл або антигензв'язувальних фрагментів за винаходом (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 і їх гуманізовані варіанти) або їхню фармацевтичну композицію. Даний винахід також стосується пристрою для ін'єкції, який містить будь-яке з антитіл або антигензв'язувальних фрагментів за винаходом (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 і їх гуманізовані варіанти) або їхню фармацевтичну композицію. Пристрій для ін'єкції являє собою пристрій, який вводить речовину в організм пацієнта парентеральним способом, наприклад, внутрішньом'язовим, підшкірним або внутрішньовенним. Наприклад, пристрій для ін'єкції може являти собою шприц (наприклад, попередньо заповнений фармацевтичною композицією, такий як шприц для самоін'єкції), який, наприклад, включає циліндр або балон для утримування рідини, що підлягає ін'єкції (наприклад, антитіло або фрагмент, або його фармацевтична композиція), голку для проколювання шкіри і/або кровоносних судин для ін'єкції рідини; і поршень для виштовхування рідини з циліндра і через отвір голки. В одному з варіантів здійснення винаходу пристрій для ін'єкції, що містить антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент за даним винаходом, або його фармацевтичну композицію, являє собою пристрій для внутрішньовенної (в/в) ін'єкції. Такий пристрій містить антитіло або фрагмент, або їхню фармацевтичну композицію, у канюлі або трокарі/голці, які можна приєднувати до трубки, яку можна приєднувати до пакета або резервуару для утримування рідини (наприклад, сольового розчину; або лактованого розчину Рінгера, що містить NaCl, лактат натрію, KCl, CaCl₂ і необов'язково, що включає глюкозу), яка вводиться в організм пацієнта через канюлю або

трокар/голку. Антитіло або фрагмент, або їхню фармацевтичну композицію можна, в одному з варіантів здійснення винаходу, вводити в пристрій після того, як трокар і канюля вставлені у вену суб'єкта, і трокар вилучений із уставленої канюли. В/в пристрій можна, наприклад, вставляти в периферичну вену (наприклад, у руці або плечі); верхню порожнисту вену або нижню порожнисту вену, або в праве передсердя серця (наприклад, центральний внутрішньовенний катетер); або в підключичну, внутрішню яремну або стегову вену і, наприклад, просувати в напрямку до серця, поки він не досягне верхньої порожнистої вени або правого передсердя (наприклад, центральний венозний катетер). В одному з варіантів здійснення винаходу пристрій для ін'єкції являє собою шприц для самоін'єкції; безголковий пристрій для ін'єкції або зовнішній інфузійний насос. У безголковому пристрої для ін'єкції використовують вузький струмінь рідини під високим тиском, що проникає в епідерміс для введення антитіла або фрагмента, або їхньої фармацевтичної композиції в організм пацієнта. Зовнішні інфузійні насоси являють собою медичні пристрої, які доставляють антитіло або фрагмент, або їхню фармацевтичну композицію в організм пацієнта в контрольованих кількостях. Зовнішні інфузійні насоси можна пускати в хід електрично або механічно. Різні насоси діють різними способами, наприклад, шприцевий насос утримує рідину в резервуарі шприца, і рухомий поршень контролює доставку рідини, еластомерний насос утримує рідину в розтягнутому балонному резервуарі, і тиск еластичних стінок балона керує доставкою рідини. У перистальтичному насосі, набір роликів здійснює стиснення по довжині гнучкої трубки, проштовхуючи рідину вперед. У багатоканальному насосі, рідини можна доставляти з множини резервуарів з різною швидкістю.

Фармацевтичні композиції, описані в даному документі, також можна вводити за допомогою гіподермічного безголкового пристрою для ін'єкції; такого як пристрої, описані в Патентах США No. 6620135; 6096002; 5399163; 5383851; 5312335; 5064413; 4941880; 4790824 або 4596556. Такі безголкові пристрої, які містять фармацевтичну композицію, також складають частину даного винаходу. Фармацевтичні композиції, описані в даному документі, також можна вводити за допомогою інфузії. Приклади добре відомих імплантатів і модулів для введення фармацевтичних композицій включають приклади, описані в: Патенті США No. 4487603, де описаний імплантований насос для мікроінфузії для розподілу лікарського засобу з контрольованою швидкістю; Патенті США No. 4447233, де описаний насос для інфузії лікарського засобу для доставки лікарського засобу з точною швидкістю інфузії; Патенті США No. 4447224, де описаний імплантований пристрій для інфузії зі змінним потоком для безперервної доставки лікарського засобу; Патенті США. No. 4439196, де описана осмотична система доставки лікарського засобу, яка має багатокамерні відсіки. Множина інших імплантатів, систем і модулів для доставки добре відомі фахівцям в даній галузі, і ті з них, що містять фармацевтичні композиції за даним винаходом, включені в обсяг даного винаходу.

Альтернативно, можна вводити антитіло проти TIGIT або антигензв'язувальний фрагмент за винаходом (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 або їхні гуманізовані варіанти) місцевим, а не системним способом, наприклад, за допомогою ін'єкції антитіла або фрагмента безпосередньо в пухлину, наприклад, у TIGIT⁺ пухлину. Більше того, можна вводити антитіло або фрагмент у систему спрямованої доставки лікарського засобу, наприклад, у ліпосому, покриту тканиноспецифічним антитілом, націленим, наприклад, на пухлину, наприклад, на TIGIT⁺ пухлину, наприклад, що характеризується імунопатологією. Ліпосоми можуть бути націлені на уражену тканину і вибірково поглинатися ураженою тканиною. Такі способи і ліпосоми складають частину даного винаходу.

Режим введення залежить від декількох факторів, включаючи швидкість обміну терапевтичного антитіла або антигензв'язувального фрагмента в сироватці або тканині, рівень симптомів, імуногенність терапевтичного антитіла і приступність клітин-мішеней у біологічному матриксі. Переважно, режим введення забезпечує доставку достатньої кількості терапевтичного антитіла або фрагмента для ефекту поліпшення наміченого стану захворювання, з одночасною мінімізацією небажаних побічних ефектів. Відповідно, кількість біологічного засобу, що доставляється, частково залежить від конкретного терапевтичного антитіла і тяжкості стану, що піддається лікуванню. Доступні посібники з вибору прийнятних доз терапевтичних антитіл або фрагментів (див., наприклад, Wawrzynczak (1996) *Antibody Therapy*, Bios Scientific Pub. Ltd, Oxfordshire, UK; Kresina (ed.) (1991) *Monoclonal Antibodies, Cytokines and Arthritis*, Marcel Dekker, New York, NY; Bach (ed.) (1993) *Monoclonal Antibodies and Peptide Therapy in Autoimmune Diseases*, Marcel Dekker, New York, NY; Baert, et al. (2003) *New Engl. J. Med.* 348:601-608; Milgrom et al. (1999) *New Engl. J. Med.* 341:1966-1973; Slamon et al. (2001) *New Engl. J. Med.* 344:783-792; Beniaminovitz et al. (2000) *New Engl. J. Med.* 342:613-619; Ghosh et al. (2003) *New Engl. J. Med.* 348:24-32; Lipsky et al. (2000) *New Engl. J. Med.* 343:1594-1602).

Визначення прийнятної дози виконує медичний працівник, наприклад, з використанням параметрів або факторів, як відомо, або як вважають в даній галузі, що впливають на лікування. Як правило, дозування починають з кількості, дещо меншої, ніж оптимальна доза, і потім збільшують його з невеликим кроком, поки не буде досягнутий бажаний ефект або оптимальний ефект відносно будь-яких негативних побічних ефектів. Важливі діагностичні вимірювання включають вимірювання симптомів, наприклад, запалення або рівня продукції запальних цитокінів. Як правило, є бажаним, щоб біологічний засіб, який буде використаний, походив з того ж виду, що і тварина, намічена для лікування, щоб у такий спосіб мінімізувати будь-яку імунну відповідь на реагент. У випадку суб'єктів-людей, наприклад, гуманізовані і повністю людські антитіла можуть бути бажаними.

Антитіла або їх антигензв'язувальні фрагменти, описані в даному документі (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 і їх гуманізовані варіанти) можна надавати за допомогою безперервної інфузії або за допомогою доз, що вводяться, наприклад, щодоби, 1-7 разів на тиждень, щотижня, раз на два тижні, раз на місяць, раз на два місяці, раз у квартал, раз у півроку, щорічно і т. д. Дози можна вводити, наприклад, внутрішньовенно, підшкірно, місцево, перорально, інтраназально, ректально, внутрішньом'язово, інтрацеребрально, інтраспінально, або за допомогою інгаляції. Загальна щотижнева доза, як правило, складає щонайменше 0,05 мкг/кг маси тіла, більш звичайно, щонайменше 0,2 мкг/кг, 0,5 мкг/кг, 1 мкг/кг, 10 мкг/кг, 100 мкг/кг, 0,25 мг/кг, 1,0 мг/кг, 2,0 мг/кг, 5,0 мг/мл, 10 мг/кг, 25 мг/кг, 50 мг/кг або більше (див., наприклад, Yang, et al. (2003) New Engl. J. Med. 349:427-434; Herold, et al. (2002) New Engl. J. Med. 346:1692-1698; Liu, et al. (1999) J. Neurol. Neurosurg. Psych. 67:451-456; Portielji, et al. (20003) Cancer Immunol. Immunother. 52:151-144). Дози також можна надавати для досягнення визначеної наміченої концентрації антитіла проти TIGIT у сироватці суб'єкта, такій як 0,1, 0,3, 1, 3, 10, 30, 100, 300 мкг/мл або більше. В інших варіантах здійснення антитіло проти TIGIT за даним винаходом вводять, наприклад, підшкірно або внутрішньовенно, на підставі введення раз на тиждень, раз на два тижні, "кожні 4 тижні", раз на місяць, раз на два місяці, або раз у квартал 10, 20, 50, 80, 100, 200, 500, 1000 або 2500 мг/суб'єкта.

Як застосовують у даному документі, термін "ефективна кількість" позначає кількість антитіла проти TIGIT або його антигензв'язувального фрагмента за винаходом (наприклад, гуманізованого 14A6 або гуманізованого 28H5), що, при введенні окремо або в комбінації з додатковим лікарським засобом, у клітину, у тканину або суб'єкту, є ефективною, щоб викликати поліпшення, яке піддається вимірюванню, одного або декількох симптомів захворювання, наприклад, злоякісної пухлини або прогресування злоякісної пухлини. Ефективна доза, крім того, стосується кількості антитіла або фрагмента, достатньої, щоб приводити щонайменше до часткового поліпшення стану симптомів, наприклад, зменшення розміру або знищення пухлини, відсутності росту пухлини, збільшеної тривалості виживання. При застосуванні для індивідуального активного інгредієнта, що вводиться окремо, ефективна доза стосується одного цього інгредієнта. При застосуванні для комбінації, ефективна доза стосується об'єднаних кількостей активних інгредієнтів, що приводять до терапевтичного ефекту, що вводяться або в комбінації, або серіями, або одночасно. Ефективна кількість лікарського засобу приводить до поліпшення діагностичного вимірювання або параметра щонайменше на 10 %; як правило, щонайменше на 20 %; переважно, щонайменше приблизно на 30 %; більш переважно, щонайменше на 40 %, і найбільше переважно, щонайменше на 50 %. Ефективна кількість може також приводити до поліпшення суб'єктивного критерію, у випадках, коли суб'єктивні критерії використовують для оцінки тяжкості захворювання.

Набори

Далі представлені набори, які містять один або кілька компонентів, що включають, але без обмеження, антитіло проти TIGIT або антигензв'язувальний фрагмент, як обговорюють у даному документі (наприклад, гуманізоване 14A6 або гуманізоване 28H5 або гуманізоване 31C6) у сполученні з одним або декількома додатковими компонентами, включаючи, але без обмеження, фармацевтично прийнятний носій і/або лікарський засіб, як обговорюють у даному документі. Антитіло або фрагмент, і/або лікарський засіб можна складати у формі чистої композиції або в комбінації з фармацевтично прийнятним носієм, у фармацевтичній композиції.

В одному варіанті здійснення набір містить антитіло проти TIGIT або його антигензв'язувальний фрагмент за винаходом (наприклад, гуманізоване 14A6 або гуманізоване 28H5, або гуманізоване 31C6), або їхню фармацевтичну композицію в одному контейнері (наприклад, у стерильному скляному або пластиковому флаконі) і їхню фармацевтичну композицію і/або лікарський засіб в іншому контейнері (наприклад, у стерильному скляному або пластиковому флаконі).

В іншому варіанті здійснення набір містить комбінацію за винаходом, що включає антитіло проти TIGIT або його антигензв'язувальний фрагмент за винаходом (наприклад, гуманізоване 14A6 або гуманізоване 28H5 або гуманізоване 31C6) разом з фармацевтично прийнятним носієм, необов'язково, у комбінації з один або декількома лікарськими засобами, складені разом, необов'язково, у фармацевтичній композиції, в одному спільному контейнері.

Якщо набір включає фармацевтичну композицію для парентерального введення суб'єкту, набір може включати пристрій для проведення такого введення. Наприклад, набір може включати одну або декілька гіподермічних голок або інших пристроїв для ін'єкції, як вказано вище.

Набір може включати вкладиш в упаковку, який містить інформацію відносно фармацевтичних композицій і лікарських форм у наборі. Як правило, така інформація допомагає пацієнтам і терапевтам, щоб використовувати вкладені фармацевтичні композиції і лікарські форми ефективно і безпечно. Наприклад, наступна інформація відносно комбінації за винаходом може бути надана на вкладиші: фармакокінетика, фармакодинаміка, клінічні дослідження, параметри ефективності, показання і застосування, протипоказання, попередження, профілактичні міри, несприятливі реакції, передозування, правильні дозування і введення, форма випуску, прийнятні умови збереження, посилення, інформація про виробника/постачальника і патентна інформація.

Набори для детекції і терапевтичні набори

Для зручності, антитіло проти TIGIT або його антигензв'язувальний фрагмент за винаходом (наприклад, 14A6, 28H5, 31C6 або їх гуманізовані варіанти) можна надавати в наборі, тобто, упакованій комбінації реагентів у визначених кількостях з інструкціями для проведення діагностичного або детекуючого аналізу. Коли антитіло або фрагмент є міченими за допомогою ферменту, набір може включати субстрати і кофактори, необхідні для ферменту (наприклад, попередник субстрату, що забезпечує хромофор, який піддається детекції, або флуорофор). Крім того, можна включати інші добавки, такі як стабілізатори, буфери (наприклад, блокувальний буфер або буфер для лізису) і т. п. Відносні кількості різних реагентів можна змінювати для забезпечення концентрацій реагентів у розчині, що у значній мірі оптимізують чутливість аналізу. Зокрема, реагенти можна надавати у формі сухих порошків, як правило, ліофілізованих, включаючи наповнювачі, які при розчиненні забезпечують розчин реагентів, який має відповідну концентрацію.

Представлені також реагенти і набори для або діагностики детекції, які містять один або кілька таких реагентів для застосування в множині аналізів для детекції, включаючи, наприклад, імунологічні аналізи, такі як ELISA (сендвіч-типу або конкурентного формату). Компоненти набору можна попередньо зв'язувати з твердою підкладкою, або можна наносити на поверхню твердої підкладки, коли набір використовують. У деяких варіантах здійснення винаходу засобу для одержання сигналу можуть надходити попередньо зв'язаними з антитілом або фрагментом за винаходом, або можуть вимагати комбінації з одним або декількома компонентами, наприклад, буферами, кон'югатами антитіло-фермент, субстратами для ферментів або т.п., перед використанням. Набори також можуть включати додаткові реагенти, наприклад, блокувальні реагенти для зменшення неспецифічного зв'язування з поверхнею твердої фази, реагенти для промивання, субстрати для ферментів і т. п. Поверхня твердої фази може знаходитися у формі пробірки, намістини, мікропланшета для титрування, мікросфери, або інших матеріалів, що підходять для іммобілізації білків, пептидів або поліпептидів. У конкретних аспектах, фермент, який каталізує утворення хемілюмінесцентного або хромогенного продукту або витрата хемілюмінесцентного або хромогенного субстрату, є компонентом засобів одержання сигналу. Такі ферменти добре відомі в даній галузі. Набори можуть містити будь-які з засобів для зв'язування і реагентів для детекції, описаних у даному документі. Необов'язково, набір може також містити інструкції для здійснення способів за винаходом.

Представлений також набір, який містить антитіло проти TIGIT (наприклад, гуманізоване антитіло) або його антигензв'язувальний фрагмент, упаковані в контейнер, такий як флакон або пляшка, і додатково містить етикетку, прикріплену до контейнера або упаковану з контейнером, де на етикетці описаний вміст контейнера і представлені показання і/або інструкції відносно застосування вмісту контейнера для лікування одного або декількох станів захворювання, як описано в даному документі.

В одному аспекті набір призначений для лікування злоякісної пухлини і містить антитіло проти TIGIT (наприклад, гуманізоване антитіло) або його антигензв'язувальний фрагмент і додатковий лікарський засіб або вакцину. Набір може, необов'язково, додатково містити шприц для парентерального, наприклад, внутрішньовенного, введення. В іншому аспекті набір містить антитіло проти TIGIT (наприклад, гуманізоване антитіло) або його антигензв'язувальний

фрагмент, і етикетку, прикріплену до контейнера або упаковану з контейнером, що описує застосування антитіла або фрагмента з вакциною або додатковим лікарським засобом. В іншому аспекті, набір містить вакцину або додатковий лікарський засіб і етикетку, прикріплену до контейнера або упаковану з контейнером, що описує застосування вакцини або додаткового

5 лікарського засобу з антитілом проти TIGIT або фрагмента. У конкретних варіантах здійснення антитіло проти TIGIT і вакцина або додатковий лікарський засіб знаходяться в окремих флаконах або об'єднані разом в одній і тій же фармацевтичній композиції.

Як вказано вище в розділі комбінована терапія, паралельне введення двох лікарських засобів не вимагає того, щоб засоби вводили одночасно або за допомогою того самого способу,

10 за умови, що існує перекривання періодів часу, під час яких засоби виявляють їхній терапевтичний ефект. Передбачене одночасне або послідовне введення, як і введення в різну добу або тижні.

Можна одержувати також терапевтичні набори і набори для детекції, описані в даному документі, які містять щонайменше одне з антитіла, пептиду, антигензв'язувального фрагмента або полінуклеотиду, описаних у даному документі, і інструкції для використання композиції як

15 реагенту для детекції або лікарського засобу. Контейнери для застосування в таких наборах можуть, як правило, включати щонайменше один флакон, тестову пробірку, колбу, пляшку, шприц або інший прийнятний контейнер, у який можна вміщувати одну або декілька з композиції(композицій) для детекції і/або терапевтичної композиції(композицій), і переважно, прийнятним чином розділяти на аліквоти. Коли надають також другий лікарський засіб, набір може містити також другий окремий контейнер, у який можна вміщувати цю другу композицію для детекції і/або терапевтичну композицію. Альтернативно, можна одержувати множину сполук в одній фармацевтичній композиції, і можна упаковувати в один контейнерний засіб, такий як флакон, колба, шприц, пляшка, або інший прийнятний один контейнер. Набори, описані в

20 даному документі, можуть, як правило, включати засоби для вмісту флакона(флаконів) із щільною фіксацією для комерційного продажу, наприклад, такі як відлиті або отримані за допомогою формування з роздмухуванням і розтяганням пластиків контейнери, у яких зберігають бажаний флакон(и). Коли радіоактивна мітка, хромогенна, флуорогенна або інший тип мітки, що піддається детекції, або засобів для детекції включені в набір, засіб для мічення або може бути наданий в тому ж контейнері, що і сама композиція для детекції або терапевтична композиція, або альтернативно може бути вміщений в другий окремий контейнерний засіб, у якому ця друга композиція може бути вміщена і прийнятним чином розділена на аліквоти. Альтернативно, реагент для детекції і мітку можна одержувати в окремих контейнерних засобах, і в більшості випадків, набір, може також, як правило, включати засоби

25 для вмісту флакона(флаконів) із щільною фіксацією для комерційного продажу і/або зручного упакування і доставки.

Представлені також пристрій або апарат для здійснення способів детекції або моніторингування, описаних у даному документі. Такий апарат може включати камеру або пробірку, у яку можна вміщувати зразок, систему розливу рідин, необов'язково, яка включає

40 клапани або насоси, щоб спрямовувати потік зразка через пристрій, необов'язково, фільтри для відділення плазми або сироватки від крові, змішувальні камери для додавання зв'язувальних засобів або реагентів для детекції, і необов'язково, детектуючий пристрій для детекції кількості мітки, яка піддається детекції, зв'язаної з імунотоксичним зв'язувальним засобом. Потік зразка може бути пасивним (наприклад, за допомогою капілярних, гідростатичних або інших сил, що не вимагають додаткових маніпуляцій із пристроєм після нанесення зразка), або активним (наприклад, за допомогою прикладання сили, отриманої за допомогою механічних насосів, електроосмотичних насосів, відцентрової сили або збільшеного тиску повітря), або за допомогою комбінації активних і пасивних сил.

У наступних варіантах здійснення представлений також процесор, машиночитана пам'ять і

50 стандартна послідовність дій, яка зберігається в машиночитаній пам'яті й адаптована для виконання процесором для здійснення будь-якого зі способів, описаних у даному документі. Приклади прийнятних комп'ютерних систем, оточення і/або конфігурацій включають персональні комп'ютери, комп'ютери-сервери, портативні або переносні пристрої, багатопроекторні системи, мікропроцесорні системи, комп'ютерні приставки, програмувальну споживчу електроніку, мережні РС, мінікомп'ютери, центральні комп'ютери, розподілене обчислювальне середовище, що включає будь-які з вищевказаних систем або пристроїв, або будь-які інші системи, відомі в даній галузі.

ЗАГАЛЬНІ СПОСОБИ

Стандартні способи молекулярної біології описані в Sambrook, Fritsch and Maniatis (1982 &

60 1989 2nd Edition, 2001 3rd Edition) Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor

Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Sambrook and Russell (2001) *Molecular Cloning*, 3rd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Wu (1993) *Recombinant DNA*, Vol. 217, Academic Press, San Diego, CA). Стандартні способи представлені також у Ausbel, et al. (2001) *Current Protocols in Molecular Biology*, Vols.1-4, John Wiley and Sons, Inc. New York, NY, де описані клонування в клітинах бактерій і мутагенез ДНК (Vol. 1), клонування в клітинах ссавців і дріжджів (Vol. 2), глікокон'югати й експресія білка (Vol. 3) і біоінформатика (Vol. 4).

Описані способи очищення білка, включаючи імунопреципітацію, хроматографію, електрофорез, центрифугування і кристалізацію, (Coligan, et al. (2000) *Current Protocols in Protein Science*, Vol. 1, John Wiley and Sons, Inc., New York). Описані хімічний аналіз, хімічна модифікація, посттрансляційна модифікація, одержання злитих білків, глікозилювання білків (див., наприклад, Coligan, et al. (2000) *Current Protocols in Protein Science*, Vol. 2, John Wiley and Sons, Inc., New York; Ausubel, et al. (2001) *Current Protocols in Molecular Biology*, Vol. 3, John Wiley and Sons, Inc., NY, NY, pp. 16,0,5-16,22,17; Sigma-Aldrich, Co. (2001) *Products for Life Science Research*, St. Louis, MO; pp. 45-89; Amersham Pharmacia Biotech (2001) *BioDirectory*, Piscataway, N.J., pp. 384-391). Описано одержання, очищення і фрагментація поліклональних і моноклональних антитіл (Coligan, et al. (2001) *Current Protocols in Immunology*, Vol. 1, John Wiley and Sons, Inc., New York; Harlow and Lane (1999) *Using Antibodies*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Harlow і Lane, вище). Доступні стандартні способи для характеристики взаємодій ліганд/рецептор (див., наприклад, Coligan, et al. (2001) *Current Protocols in Immunology*, Vol. 4, John Wiley, Inc., New York).

Можна одержувати моноклональні, поліклональні і гуманізовані антитіла (див., наприклад, Sheperd and Dean (eds.) (2000) *Monoclonal Antibodies*, Oxford Univ. Press, New York, NY; Kontermann and Dubel (eds.) (2001) *Antibody Engineering*, Springer-Verlag, New York; Harlow and Lane (1988) *Antibodies A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, pp. 139-243; Carpenter, et al. (2000) *J. Immunol.* 165:6205; He, et al. (1998) *J. Immunol.* 160:1029; Tang et al. (1999) *J. Biol. Chem.* 274:27371-27378; Baca et al. (1997) *J. Biol. Chem.* 272:10678-10684; Chothia et al. (1989) *Nature* 342:877-883; Foote and Winter (1992) *J. Mol. Biol.* 224:487-499; Патент США No. 6329511).

Альтернативним гуманізації є використання бібліотек людських антитіл, експонованих на фарах, або бібліотек людських антитіл у трансгенних мишах (Vaughan et al. (1996) *Nature Biotechnol.* 14:309-314; Barbas (1995) *Nature Medicine* 1:837-839; Mendez et al. (1997) *Nature Genetics* 15:146-156; Hoogenboom and Chames (2000) *Immunol. Today* 21:371-377; Barbas et al. (2001) *Phage Display: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York; Kay et al. (1996) *Phage Display of Peptides and Proteins: A Laboratory Manual*, Academic Press, San Diego, CA; de Bruin et al. (1999) *Nature Biotechnol.* 17:397-399).

Описані одноланцюжкові антитіла і діатіла (див., наприклад, Malecki et al. (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99:213-218; Conrath et al. (2001) *J. Biol. Chem.* 276:7346-7350; Desmyter et al. (2001) *J. Biol. Chem.* 276:26285-26290; Hudson and Kortt (1999) *J. Immunol. Methods* 231:177-189; і Патент США No. 4946778). Представлені біфункціональні антитіла (див., наприклад, Mack, et al. (1995) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92:7021-7025; Carter (2001) *J. Immunol. Methods* 248:7-15; Volkel, et al. (2001) *Protein Engineering* 14:815-823; Segal, et al. (2001) *J. Immunol. Methods* 248:1-6; Brennan, et al. (1985) *Science* 229:81-83; Raso, et al. (1997) *J. Biol. Chem.* 272:27623; Morrison (1985) *Science* 229:1202-1207; Traunecker, et al. (1991) *EMBO J.* 10:3655-3659; і Патенти США No. 5932448, 5532210 і 6129914).

Представлені також біспецифічні антитіла (див., наприклад, Azzoni et al. (1998) *J. Immunol.* 161:3493; Kita et al. (1999) *J. Immunol.* 162:6901; Merchant et al. (2000) *J. Biol. Chem.* 275:9115; Pandey et al. (2000) *J. Biol. Chem.* 275:38633; Zheng et al. (2001) *J. Biol. Chem.* 276:12999; Propst et al. (2000) *J. Immunol.* 165:2214; Long (1999) *Ann. Rev. Immunol.* 17:875).

Очищення антигену не є необхідним для одержання антитіл. Тварин можна імунізувати клітинами, які несуть антиген, що представляє інтерес. Потім спленоцити можна виділяти з імунізованих тварин, і спленоцити можна зливати з лінією клітин мієломи для одержання гібридоми (див., наприклад, Meuyard et al. (1997) *Immunity* 7:283-290; Wright et al. (2000) *Immunity* 13:233-242; Preston et al., вище; Kaithamana et al. (1999) *J. Immunol.* 163:5157-5164).

Антитіла можна кон'югувати, наприклад, з низькомолекулярними лікарськими засобами, ферментами, ліпосомами, поліетиленгліколем (ПЕГ). Антитіла можна використовувати для терапевтичних, діагностичних цілей, у наборі або для інших цілей, і вони включають антитіла, зв'язані, наприклад, з барвниками, радіоактивними ізотопами, ферментами або металами, наприклад, колоїдним золотом (див., наприклад, Le Doussal et al. (1991) *J. Immunol.* 146:169-175; Gibellini et al. (1998) *J. Immunol.* 160:3891-3898; Hsing and Bishop (1999) *J. Immunol.* 162:2804-2811; Everts et al. (2002) *J. Immunol.* 168:883-889).

Доступні способи проточної цитометрії, включаючи активоване флуоресценцією сортування клітин (FACS), (див., наприклад, Owens, et al. (1994) *Flow Cytometry Principles for Clinical Laboratory Practice*, John Wiley and Sons, Hoboken, NJ; Givan (2001) *Flow Cytometry*, 2nd ed.; Wiley-Liss, Hoboken, NJ; Shapiro (2003) *Practical Flow Cytometry*, John Wiley and Sons, Hoboken, NJ). Доступні флуоресцентні реагенти, що підходять для модифікації нуклеїнових кислот, включаючи праймери і зонди з нуклеїнової кислоти, поліпептиди, і антитіла, для використання, наприклад, як діагностичні реагенти (Molecular Probes (2003) *Каталог*, Molecular Probes, Inc., Eugene, OR; Sigma-Aldrich (2003) *Каталог*, St. Louis, MO).

Описані стандартні способи гістології імунної системи (див., наприклад, Muller-Harmelink (ed.) (1986) *Human Thymus: Histopathology and Pathology*, Springer Verlag, New York, NY; Hiatt, et al. (2000) *Color Atlas of Histology*, Lippincott, Williams, and Wilkins, Phila, PA; Louis, et al. (2002) *Basic Histology: Text and Atlas*, McGraw-Hill, New York, NY).

Доступні пакети програмного забезпечення і бази даних для визначення, наприклад, антигенних фрагментів, лідерних послідовностей, зсідання білків, функціональних доменів, ділянок глікозилювання і вирівнювання послідовностей (див., наприклад, GenBank, Vector NTI[®] Suite (Informax, Inc, Bethesda, MD); GCG Wisconsin Package (Accelrys, Inc., San Diego, CA); DeCypher[®] (TimeLogic Corp., Crystal Bay, Nevada); Menne, et al. (2000) *Bioinformatics* 16: 741-742; Menne, et al. (2000) *Bioinformatics Applications Note* 16:741-742; Wren, et al. (2002) *Comput. Methods Programs Biomed.* 68:177-181; von Heijne (1983) *Eur. J. Biochem.* 133:17-21; von Heijne (1986) *Nucleic Acids Res.* 14:4683-4690).

Приклад 1

Одержання антитіл щура і миші проти hTIGIT

Для одержання антитіл проти TIGIT людини, щурів Lewis імунізували рекомбінантним білком - міченим his TIGIT людини з Sino Biologicals Кат. №10917-H08H) - з використанням ад'юванта RIBI і ін'єкції в подушечку стопи за розкладом раз на два тижні. Альтернативно, мишей Balb/C імунізували рекомбінантним білком - міченим Fc людини TIGIT людини - з використанням ад'юванта RIBI і ін'єкції в подушечку стопи за розкладом раз на два тижні. В імунізованих тварин відбирали кров і визначали титри сироватки для зв'язування з трансфікованими TIGIT людини клітинами CHO-K1 з використанням ELISA на основі клітин (описаного нижче). Тварин з найвищими титрами піддавали кінцевій бустер-ін'єкції рекомбінантним білком, і дренажні лімфатичні вузли виділяли через четверо діб. Гібридами одержували за допомогою електрозлиття виділених лімфоцитів з партнером по злиттю мієломою P3X63-AG8.653 з використанням системи для електрозлиття Cytopulse Hybrimmune. Злиті клітини висівали в 96-ячкові планшети в DMEM/F12, 15 % BCS, HAT, IL-6, добавку OPI і гентаміцин.

Супернатанти гібридом аналізували по зв'язуванню з експресуючими TIGIT людини клітинами CHO-K1 і перехресній реакційній здатності відносно експресуючих TIGIT макаки-резусу клітин CHO з використанням формату ELISA на основі клітин. Експресуючі TIGIT людини і TIGIT макаки-резусу клітини CHO-K1 висівали в 96-ячкові планшети для культивування клітин у 50 мкл DMEM/F12, 10 % BCS і гентаміцину (середовище CHO-K1). Клітини висівали або при 2×10^4 клітин/ямку за дві доби до аналізу, або при 4×10^4 клітин/ямку за одну добу до аналізу. Середовище видаляли з ямок до аналізу, і додавали 50 мкл супернатанта гібридами. Супернатанти гібридами інкубували протягом 30-60 хвилин при кімнатній температурі і промивали 3 рази за допомогою PBS/0,05 % Tween 20 з використанням протоколу промивання ELISA на клітинах у промивнику для планшетів Biotek EL405x Select CW. П'ятдесят мікролітрів антитіла для детекції (кон'югованого з HRP антитіла кози проти IgG щура (Southern Biotech кат. № 3030-05) або кон'югованого з HRP антитіла кози проти IgG миші (Southern Biotech кат. № 1043-05)), додавали в розведенні 1:2000 у середовищі CHO-K1 і інкубували при кімнатній температурі протягом 30-60 хвилин. Планшети для аналізу промивали, як показано вище, і виявляли з використанням TMB, і зупиняли реакцію за допомогою стоп-розчину для TMB (KPL кат. № 50-85-06) або 0,1 N фосфорної кислоти. Визначали оптичну густину при 450 нм-620 нм. Позитивні клони були реакційноздатними відносно клітин CHO-K1, трансфікованих як TIGIT людини, так і TIGIT макаки-резусу, і були негативними по зв'язуванню з вихідними клітинами CHO-K1. У цих аналізах, якщо для антитіла показували зв'язування з вихідними (нетрансфікованими) клітинами CHO-K1; автори даного винаходу відкидали це антитіло при скринінгу як не специфічне для TIGIT.

Позитивні гібридами субклонували за допомогою лімітуючого розведення або субклонували за допомогою розсіву гібридом на напівтверді середовища, і відбору клонів на ClonePix[®] (Genetix). Два цикли субклонування здійснювали для вихідних гібридом. Кінцеві субклони вирощували в дрібномасштабних культурах у безсироватковому середовищі для одержання гібридом і очищали для одержання очищеного антитіла для подальшої характеристики.

З використанням цих способів одержали приблизно 819 гібридом.

Приклад 2

Характеризація антитіл проти hTIGIT

Супернатанти з позитивних клонів тестували на їхню здатність блокувати зв'язування рекомбінантного білка CD155 людини - huFc із клітинами CHO-K1 з hTIGIT у форматі ELISA на основі клітин. Клітини TIGIT-CHO-K1 людини висівали в 96-ямкові планшети, як описано вище. Середовище видаляли з планшетів, і 50 мкл супернатанта гібридами інкубували з клітинами CHO-K1 з TIGIT людини при 4 °C протягом 30 хвилин. П'ятдесят мікролітрів CD155 людини - huFc додавали в планшет до кінцевої концентрації 0,5 мкг/мл CD155 людини - huFc і інкубували протягом 30 хвилин при 4 °C. Планшети для аналізу промивали 3 рази за допомогою PBS/0,05 % Tween-20, як вище. Зв'язування CD155 людини - huFc із клітинами hTIGIT-CHO-K1 детектували з використанням кон'югата з HRP вторинного антитіла F(ab)'2 кози проти IgG людини (Jackson 109-036-098) у розведенні 1:2000 у середовищі CHO-K1. Планшети виявляли з використанням TMB, і зупиняли реакцію за допомогою стоп-розчину для TMB, як описано вище, і визначали A450-620 нм.

Антитіло щура, отримане відповідно до вищеописаного способу, позначене як 14A6, і походить із клону LB155.14A6.G2.A8. Це антитіло щура (14A6) належить до ізотипу IgG2/каппа і містить варіабельну область важкого ланцюга з SEQ ID NO: 7 і варіабельну область легкого ланцюга з SEQ ID NO: 8. Очищене антитіло 14A6 зв'язується з TIGIT людини і TIGIT макаки-резусу, як визначено по зв'язуванню з клітинами CHO-K1 з TIGIT людини і TIGIT макаки-резусу за допомогою ELISA на основі клітин (фігура 1) з використанням способів, описаних вище. (Для контрольного антитіла того ж ізотипу не показано якого-небудь зв'язування (дані не представлені). Очищене антитіло 14A6 може також блокувати взаємодію hTIGIT і hCD155 з використанням аналізу блокування ELISA на основі клітин (фігура 3) з використанням способу, описаного вище.

Антитіло миші, отримане відповідно до вищеописаного способу, позначене як 28H5, і походить із клону TC167.28H5.H5. Це антитіло миші (28H5) належить до ізотипу IgG1/каппа і містить варіабельну область важкого ланцюга з SEQ ID NO: 63 і варіабельну область легкого ланцюга з SEQ ID NO: 64. Очищене антитіло 28H5 також зв'язується з TIGIT людини і TIGIT макаки-резусу, як визначено по зв'язуванню з клітинами CHO-K1 з TIGIT людини і TIGIT макаки-резусу за допомогою ELISA на основі клітин (фігура 2) з використанням способів, описаних вище. Очищене антитіло 28H5 також блокує взаємодію hTIGIT і hCD155 з використанням аналізу блокування ELISA на основі клітин (фігура 3) з використанням способу, описаного вище.

Інше антитіло миші, отримане відповідно до вищеописаного способу, позначене як 31C6, і походить із клону MEB125.31C6.A1.205. Це антитіло миші (31C6) належить до ізотипу IgG1/каппа і містить варіабельну область важкого ланцюга з SEQ ID NO: 94 і варіабельну область легкого ланцюга з SEQ ID NO: 95. Очищене антитіло 31C6 також зв'язується з TIGIT людини і TIGIT макаки-резусу, як визначено по зв'язуванню з клітинами CHO-K1 з TIGIT людини і TIGIT макаки-резусу за допомогою ELISA на основі клітин (фігура 4) з використанням способів, описаних вище. Очищене антитіло 31C6 також блокує взаємодію hTIGIT і hCD155 з використанням аналізу блокування ELISA на основі клітин (фігура 4) з використанням способу, описаного вище.

Визначення афінності зв'язування вихідного (яке не належить до людини) антитіла проти TIGIT з рекомбінантним білком з TIGIT людини: Кінетику активності зв'язування антитіл проти TIGIT людини 14A6 і 31C6 (отриманих, як описано в приклад 1), і комерційного антитіла MBSA43, вимірювали за допомогою поверхневого плазмонного резонансу з використанням системи Biacore T200 (Biacore, GE Healthcare, Piscataway, NJ). Приблизно 5000 RU антитіла проти IgG миші, GE Healthcare, каталоговий номер BR-1008-38, або приблизно 13000 RU специфічного для фрагмента антитіла кози проти Fc-гамма IgG щура, Jackson ImmunoResearch, каталоговий номер 112-006-071, іммобілізували за допомогою хімічних реакцій приєднання по аміногрупи на сенсорному чипі CM5 серії S, каталоговий номер BR-1005-30. Кожний із клонів антитіл миші проти TIGIT людини, 31C6 і MBSA43, ін'єктували над поверхнями іммобілізованих антитіл проти антитіл миші при 1 мк/мл до рівня зв'язування 40 RU. Клон антитіл щура проти TIGIT людини 14A6 ін'єктували над поверхнями іммобілізованих антитіл проти антитіл щура при 1 мкг/мл до рівня зв'язування 40 RU. Буфер HBS-EP+ (BR-1006-69) використовували як робочий буфер зі швидкістю потоку 30 мкл/хв. Різні концентрації білка TIGIT людини-His або білка TIGIT-Fc, у діапазоні від 0,29 нМ до 40 нМ, при швидкості потоку 45 мкл/хв ін'єктували над поверхнями антитіл. Після кожного циклу ін'єкції антитіл миші проти TIGIT людини для клонів 31C6 і MBSA43, поверхню чипа CM5 серії S регенерували з використанням однієї трихвилинної ін'єкції 10 мМ гліцину pH 1,7 при швидкості потоку 10 мкл/хв. Після кожного циклу ін'єкції антитіл щура

проти TIGIT людини, поверхню чипа CM5 серії S регенерували з використанням однієї 20-секундної ін'єкції 10 мМ гліцину pH 1,5 з наступними двома 10-секундними ін'єкціями 12,5 мМ NaOH при швидкості потоку 60 мкл/хв.

- 5 Сенсограми з вирахуванням фонового зв'язування використовували для аналізу константи швидкості зв'язування (k_a) і дисоціації (k_d), і рівноважної константи дисоціації K_D . Отримані набори даних приводили у відповідність з моделлю зв'язування 1:1 Ленгмюра з використанням програмного забезпечення для оцінки даних Biacore T200 (версії 2.0). У таблиці 3 узагальнені афінності антитіл проти TIGIT людини для білка TIGIT людини-His і білка TIGIT-Fc.

Таблиця 3

Вимірювання афінності антитіл проти TIGIT людини з білком TIGIT людини-His і білком TIGIT-Fc з використанням Biacore

Клон	KD по Biacore (TIGIT людини-his)	KD по Biacore (TIGIT людини-Fc)
	(пМ)	(пМ)
14A6 (rlgG2a/K)	3,09	3,12
31C6 (mlgG1/K)	34,4	10,9
Порівняльне MBSA43 (mlgG1)	36,3	16,5

10

Приклад 3

Аналіз активності Т-клітин *in vitro* для антагоністичних антитіл проти hTIGIT

- 15 3 тестованих антитіл, приблизно для 352 моноклональних антитіл, як показано, що блокують зв'язування CD155-Fc із клітинами CHO, які експресують hTIGIT, здійснювали скринінг по їхній здатності підсилювати активність Т-клітин *in vitro* з використанням функціональних аналізів на основі клітин.

- Один аналіз автори даного винаходу розробили для характеристики функціональних наслідків блокування рецептора TIGIT людини з використанням клітин Jurkat, іморталізованої лінії клітин Т-лімфоцитів людини (клон Е6-1; ATCC TIB-152), сконструйованої для надекспресії TIGIT людини (hTIGIT-Jurkat), що культивували разом із клітинами THP-1, лінією моноцитарних клітин людини в присутності або під час відсутності одного з лігандів TIGIT, CD155 і CD112. Клітини hTIGIT-Jurkat, культивовані разом із клітинами THP-1 і стимульовані зв'язаним із планшетом mAb проти CD3, продукують IL-2, але коли ліганд TIGIT (CD155 або CD112) додавали в спільну культуру, рівні IL-2 зменшувалися залежним від ліганда чином. Обробка антитілами, що блокують взаємодію CD155- або CD112-TIGIT, такими як комерційно доступне Ab проти hTIGIT, клон MBSA43 (eBioscience Кат. № 12-9500-42), відновлює продукцію IL-2 у цьому аналізі залежним від дози чином (фігура 5).

- 25 96-ямкові плоскодонні планшети покривали антитілом миші проти CD3 людини (1 мкг/мл у PBS; клон HIT3a; BD Pharmingen Кат. № 555336) протягом ночі при 4 °C. На наступні добу, клітини hTIGIT-Jurkat (50000) висівали в попередньо покриті планшети і проводили попередню інкубацію протягом 30-60 хвилин з mAb у різних концентраціях. Клітини THP-1 (50000) додавали в культуру, потім або CD155-Fc (ECD CD155 людини, злитий з Fc людини; 1,0 мкг/мл), або CD112-Fc (ECD CD112 людини, злитий з Fc людини; 0,5 мкг/мл). Після інкубації протягом 18-24 годин при 37 °C і 5,0 % CO₂, рівні IL-2 оцінювали в культуральних супернатантах за допомогою Meso Scale (Набір Human IL-2 Tissue Culture MESO: Кат. №K151AHB-2). Обробка MBSA43 (10 мкг/мл) відновлювала IL-2 до рівня, який дорівнює рівню, коли активовані клітини hTIGIT Jurkat культивують з THP-1 під час відсутності CD155 або CD112.

- 35 Як показано на фігурі 5, при титруванні антитіла проти hTIGIT, клону 14A6, від 30 мкг/мл зі зниженням до 0,04 мкг/мл, одержали EC₅₀ 0,190 мкг/мл у порівнянні з MBSA43 при 0,24 мкг/мл з використанням цього аналізу. Клон 14A6 (30 мкг/мл) відновлював рівень IL-2 до 82 % від MBSA43 (10 мкг/мл).

- 40 На фігурі 5 показано також, що при титруванні антитіла проти hTIGIT, клону 28H5, від 30 мкг/мл зі зниженням до 0,04 мкг/мл, одержали EC₅₀ 0,24 мкг/мл у порівнянні з MBSA43 при 0,24 мкг/мл з використанням цього аналізу.

- 45 На фігурі 6 показано також, що при титруванні антитіла проти hTIGIT, клону 31C6, від 30 мкг/мл зі зниженням до 0,04 мкг/мл, одержали EC₅₀ 0,14 мкг/мл у порівнянні з MBSA43 при 0,24 мкг/мл з використанням цього аналізу. Клон 31C6 (30 мкг/мл) відновлював рівень IL-2 до 118 % від MBSA43 (10 мкг/мл).

З 352 тестованих моноклональних антитіл, приблизно 113 були здатними підсилювати активність Т-клітин *in vitro* з використанням функціональних аналізів на основі клітин.

Приклад 4

Аналіз активності Т-клітин *in vitro* для антагоністичних антитіл проти hTIGIT

Автори даного винаходу далі аналізували відносний функціональний антагонізм TIGIT і відновлення активації Т-клітин і ефекторної функції з використанням первинної лінії Т-клітин людини, яка експресує ендogenous TIGIT при активації Т-клітинного рецептора (TCR). Лінія Т-клітин людини BC4-клон 49 являє собою специфічний для алоантигена клон CD4⁺ Т-клітин людини, який експресує TCR, специфічний для молекул МНС HLA-класу II, експресований на трансформованій EBV лінії клітин JY (HLA-DR1,4). Лінія Т-клітин людини BC4-клон 49 вимагає повторної стимуляції алоантигеном кожні два тижні, з використанням опромінених (5000 рад (50 Гр)) стимулюючих клітин JY, опромінених PBMC (4000 рад (40 Гр)), виділених із двох лейкоцитарних шарів, і PHA-P (2,5 мкг/мл; Sigma), а також 10 нг/мл IL-2 людини (R&D), що додається кожні 3-4 доби після повторної стимуляції і розмноження. Кілька клонів Т-клітин (BC1-6, BC4-27, BC4-49) аналізували за допомогою ПЛР і потім за допомогою проточної цитометрії по відносній експресії TIGIT після повторної стимуляції, і вибрали BC4-клон 49, оскільки він мав найвищу експресію TIGIT у порівнянні з іншими клонами. Відносну експресію і кінетику TIGIT, CD226, CD96 і CD155 моніторували після повторної стимуляції опроміненими (5000 рад (50 Гр)) стимулюючими клітинами JY, опроміненими PBMC і PHA-P, для оцінки найкращого часу для аналізу mAb-антагоністів по відносній антагоністичній активності відносно TIGIT. Пік експресії TIGIT спостерігали через 3-4 доби після повторної стимуляції, у той час як експресія CD226 і CD96 зменшувалася протягом того ж періоду часу. Потім експресія TIGIT зменшувалася, у той час як експресія CD226 і CD96 знову збільшувалася на добу 6 після повторної стимуляції (фігура 7). Відповідно, mAb - кандидати на антагоністи TIGIT - оцінювали через 3-4 доби після повторної стимуляції. Трансфектант JY, який надекспресує CD155 людини, одержували з використанням ретровірусних векторів rMX⁺-hTIGIT як засобів для супресії відповідей Т-клітин BC4-клон 47 у біологічному аналізі первинних Т-клітин і для оцінки відносної здатності mAb проти TIGIT виявляти антагонізм активації TIGIT за допомогою CD155 і відновлювати проліферацію Т-клітин і IFN γ через три доби.

Аналіз первинних Т-клітин по відносному антагонізму mAb проти hTIGIT здійснювали наступним чином. Лінію CD4⁺Т-клітин людини BC4-клон 49 спільно культивували з блокуючими CD155-Fc mAb, специфічними для hTIGIT, у різних концентраціях (33, 11, 3,7, 1,2, 0,4 і 0,1 мкг/мл) протягом 30 хвилин і потім розсівали в круглодонні 96-ямкові планшети (2 × 10⁴ клітин/ямку). Трансфектанти JY-hCD155, які експресують алоантиген і високі рівні hCD155, опромінювали (5000 рад (50 Гр)), промивали і потім додавали в ямки, що містять оброблені mAb проти TIGIT Т-клітини BC4-клон 49, до кінцевої концентрації 1 × 10⁴ (у співвідношенні 2:1 Т-клітина: клітина-мішень) або 5 × 10³ (у співвідношенні 1:4 Т-клітина: клітина-мішень) у загальному обсязі 200 мкл/ямку. Контроль включав відсутність обробки mAb, спільне культивування з обробленими mAb того ж ізо типу Т-клітинами, тільки Т-клітини і тільки клітини JY-CD155. Через три або чотири доби спільного культивування, супернатанти збирали для кількісної оцінки цитокіну інтерферон-гамма (IFN γ), і Т-клітини обробляли 6 годин тритованим тимідіном для оцінки відносної проліферації.

Як показано на фігурах 8A і 8B, обробка mAb проти hTIGIT 14A6, 28H5 і 31C6 Т-клітин BC4-клон 49 приводила до відновлення відповідей IFN γ і проліферативних відповідей, як оцінено по збільшених відповідях у порівнянні з обробленими антитілом того ж ізо типу і необробленими Т-клітинами. Для комерційного антитіла MBSA43 і антитіл 37D10 і 25G10 (антитіла проти TIGIT, отримані, як описано в прикладі 1) також показана активність у цьому аналізі. Збільшення продукції IFN γ після обробки 14A6, 28H5 і 31C6 було в середньому приблизно в 2 рази.

Приклад 5

Протипухлинна активність антитіл проти TIGIT і проти PD1 у моделі пухлини на тварин

Миші: Самиць мишей BALB/cAn у віці приблизно сім-вісім тижнів із середньою масою тіла 20 грам одержували з Taconic Laboratory (Germantown, NY). Загальноприйнятий корм для тварин і воду надавали без обмежень.

Реагенти-антитіла: моноклональне антитіло миші ізо типу IgG1 проти PD-1 миші і контрольне антитіло того ж ізо типу одержували з зовнішніх джерел у формі заморожених (-80 °C) вихідних розчинів. Антитіло щура проти TIGIT миші (GIGD7) одержували з eBioscience у формі вихідного розчину при 4 °C. Контрольне антитіло ізо типу IgG1 являло собою моноклональне антитіло миші, специфічне для аденовірусного гексону 25. Контрольне антитіло ізо типу IgG2a являло собою моноклональне антитіло щура, специфічне для бета-галактозидази. Ізотип IgG1 миші є мишачим еквівалентом ізо типу для людського ізо типу IgG4.

Склади реагентів-антитіл: Буфери складів були специфічними для кожного антитіла, щоб стабілізувати білки і запобігати осадженню. Склади були наступними: mIgG1:75 mM NaCl, 10 mM фосфат натрію, 3 % сахароза, pH 7,3; антитіло проти PD-1: 20 mM ацетат натрію, 7 % сахароза, pH 5,5; IgG2a щура: 20 mM ацетат натрію, 9 % сахароза pH 5,5; і антитіло проти TIGIT (GIGD7): PBS pH 7,0.

Одержання й імплантація лінії клітин пухлини: клітини карциноми ободової кишки CT26 культивували в середовищі RPMI, доповненому 10 % інактивованою нагріванням ембріональною бичачою сироваткою. 3×10^5 клітин, які знаходяться в логарифмічній фазі і субконфлюентних клітин CT26 ін'єктували підшкірно (п/ш) в об'ємі 100 мкл безсироваткової RPMI у нижню задню частину правого боку кожної миші. Мишей спочатку виголювали з використанням електронної машинки в області, що підлягає використанню для імплантації.

CT-26 являє собою лінію клітин колоректальної аденокарциноми миші, сингенної для лінії миші BALB/c. CT-26 є прийнятною модельною системою для оцінки механізму дії антитіла проти PD-1 завдяки трансльованому молекулярному профілю цієї пухлини після терапії антитілом проти PD-1.

Вимірювання пухлини і маси тіла: Пухлини вимірювали за добу до першої дози і двічі на тиждень після. Довжину і ширину пухлини вимірювали з використанням електронного штангенциркуля, і обсяг пухлини визначали з використанням формули обсяг (мм^3)= $0,5 \times \text{довжина} \times \text{ширина}^2$, де довжина являє собою довше вимірювання. Мишей періодично зважували для моніторингу загального стану здоров'я, а також для оцінки фактичної дози доставки в мг/кг на мишу, при необхідності. Перед обробкою, мишей зважували, і вимірювали пухлини індивідуальних мишей. Для запобігання зміщенню, будь-яких випадкових по масі або обсягу пухлини мишей видаляли, і мишей, що залишилися, випадковим чином розподіляли по різних групах лікування з еквівалентним середнім розміром пухлини. Коли середній обсяг пухлини у мишей, які несуть пухлину CT26, досягав $\sim 100 \text{ мм}^3$, приблизно через 7 діб після імплантації, тварин випадковим чином розподіляли по різних групах лікування по 10 мишей на групу, і починали дозування. Тваринам здійснювали дозування в концентраціях, вказаних нижче.

Одержання, введення й аналіз розчинів для дозування: Заморожені вихідні розчини антитіл, що підлягають тестуванню в моделі на тварин, разморожували і переносили у вологий лід. Щоб виключити повторне заморожування і разморожування, кожен флакон вихідного розчину разморожували один раз і розділяли на аліквоти в об'ємах, достатніх для однократного використання. Поліпропіленові пробірки з низькою адгезією використовували для цієї мети. Аліквоти швидко заморожували в сухому льоді і зберігали при -80°C . Перед кожним дозуванням, одну аліквоту разморожували і розводили до номінальної концентрації в прийнятному розріджувачі і здійснювали дозування негайно. Аліквоти розчинів для дозування швидко заморожували і зберігали при -80°C до аналізів. Розчини для дозування оцінювали з використанням платформи Meso Scale Discovery (MSD®, Rockville, MD), основаної на технології множинних масивів; комбінації електрохемілюмінесцентної детекції і структурованих масивів.

Результати лікування з дозуванням антитіл проти TIGIT/проти PD1: Мишам BALB/cAn, які несуть пухлину CT26, вводили антитіла щура проти TIGIT миші (GIGD7) у дозі 20 мг/кг, IP, кожні 4 доби протягом кожного з 5 циклів. Антитіла проти PD-1 миші (описані вище) вводили в дозі 10 мг/кг, IP, кожні 4 доби протягом кожного з 5 циклів. Після дозування, тварин продовжували моніторувати, і обсяги пухлин вимірювали до 36 доби. Лікування починали, коли середній розмір пухлини досягав 100 мм^3 (75 мм^3 - 115 мм^3). Пухлини вимірювали двічі на тиждень. Як демонструють результати, показані на фігурі 9, середня протипухлинна відповідь при комбінованій терапії антагоністом PD-1 і антагоністом TIGIT перевищувала протипухлинну відповідь, що спостерігається при монотерапії або антитілом проти PD1 ($p < 0,05$), або антитілом проти TIGIT ($p < 0,005$). Для монотерапії антитілом проти TIGIT, 21 % інгібування росту пухлини (TGI) спостерігали на добу 14. Для монотерапії антитілом проти PD1, 52 % TGI спостерігали на добу 14. Комбіноване лікування приводило до 85 % TGI на добу 14, і показано 40 % випадків повної регресії (CR), так що ніяких пухлин, що піддаються вимірюванню, не залишилося в 4 з 10 мишей на добу 36. Протипухлинна ефективність з будь-яким антитілом, що вводиться у формі монотерапії, складала 0-10 % CR.

Приклад 6

Гуманізація антитіл

Щуряче антитіло 14A6 і мишаче антитіло 31C6 гуманізували з використанням способів, описаних в описі. З щурячого антитіла 14A6, конструювали наступні гуманізовані варіабельні важкі ланцюги: SEQ ID NO: 9-24 і SEQ ID NO: 37-47; і конструювали наступні гуманізовані варіабельні легкі ланцюга: SEQ ID NO: 25-30 і SEQ ID NO: 48-52. З мишачого антитіла 31C6,

конструювали наступні гуманізовані варіабельні важкі ланцюги: SEQ ID NO: 124-129; і конструювали наступні гуманізовані варіабельні легкі ланцюги: SEQ ID No: 130-133.

Приклад 7

Ефект ізотипу Fc на протипухлинну активність антитіл проти TIGIT у моделі пухлини на тварин

Миші: Самиць мишей BALB/cAn у віці приблизно сім-вісім тижнів із середньою масою тіла 20 грам одержували з Taconic Laboratory (Germantown, NY). Загальноприйнятий корм для тварин і воду надавали без обмежень.

Реагенти-антитіла:

- Антитіло миші проти PD1 миші - підтип IgG1
- Антитіло щура проти TIGIT миші (18G10) - підтип IgG1 щура. Це антитіло описане на фігурах як вихідне 18G10. Антитіло 18G10 має послідовність VH з SEQ ID NO:136 і послідовністю VL з SEQ ID NO: 137.

- Химерне антитіло щура проти TIGIT миші (18G10) - яке містить мишачу Fc-область підтипу mIgG1. Це антитіло описане на фігурах як 18G10-G2a. (Ізотип IgG1 миші є мишачим ізотипом, еквівалентним людському ізотипу IgG4.)

- Химерне антитіло щура проти TIGIT миші 18G10 - яке містить мишачу Fc-область підтипу mIgG2a. Це антитіло описане на фігурах як 18G10-G2a. (Ізотип IgG2a миші є мишачим ізотипом, еквівалентним людському ізотипу IgG1.)

- Контрольне антитіло для ізотипу IgG1 миші (яке збігається по ізотипу IgG1 миші контрольне моноклональне антитіло, специфічне для аденовірусного гексону 25).

- Контрольне антитіло для ізотипу IgG1 щура (яке збігається по ізотипу IgG1 щура контрольне моноклональне антитіло, специфічне для IL-4 людини).

- Контрольне антитіло для ізотипу IgG2a миші (яке збігається по ізотипу IgG2a миші контрольне моноклональне антитіло, специфічне для аденовірусного гексону 25).

Склади реагентів-антитіл: Склади були наступними:

- mIgG1: 75 mM NaCl, 10 mM фосфат натрію, 3 % сахароза, pH 7,4;

- антитіло проти PD-1: 20 mM ацетат натрію, 9 % сахароза, pH 5,5; mIgG2a: 75 mM NaCl, 10 mM фосфат натрію, 3 % сахароза, pH 7,3;

- IgG1 щура: 20 mM ацетат натрію, 7 % сахароза pH 5,5; 18G10: 20 mM NaAc, 100 mM NaCl, 3 % сахароза; 18G10-G1: 20 mM NaAc, 9 % сахароза, pH 5,5; 18G10-G2a: 20 mM NaAc, 9 % сахароза, pH 5,5.

Одержання й імплантація лінії клітин пухлини: Клітини карциноми ободової кишки CT26 культивували в середовищі RPMI, доповненому 10 % інактивованою нагріванням ембріональною бичачою сироваткою. 3×10^5 клітин, які знаходяться в логарифмічній фазі і субконфлюентних клітин CT26 ін'єктували підшкірно (п/ш) в обсязі 100 мкл безсироваткової RPMI у нижню задню частину правого боку кожної миші. Мишей спочатку виголювали з використанням електронної машинки в області, що підлягає використанню для імплантації.

CT-26 являє собою лінію клітин колоректальної аденокарциноми миші, сингенної для лінії миші BALB/c. CT-26 є прийнятною модельною системою для оцінки механізму дії антитіла проти PD-1 завдяки трансльованому молекулярному профілю цієї пухлини після терапії антитілом проти PD-1.

Вимірювання пухлини і маси тіла: Пухлини вимірювали за добу до першої дози і двічі на тиждень після. Довжину і ширину пухлини вимірювали з використанням електронного штангенциркуля, і обсяг пухлини визначали з використанням формули обсяг (мм^3) = $0,5 \times \text{довжина} \times \text{ширина}^2$, де довжина являє собою довше вимірювання. Мишей періодично зважували для моніторингу загального стану здоров'я, а також для оцінки фактичної дози доставки в мг/кг на мишу, при необхідності. Перед обробкою, мишей зважували, і вимірювали пухлини індивідуальних мишей. Для запобігання зміщенню, будь-яких випадкових по масі або обсягу пухлини мишей видаляли і мишей, що залишилися, випадковим чином розподіляли по різних групах лікування з еквівалентним середнім розміром пухлини.

Одержання, введення й аналіз розчинів для дозування: Заморожені вихідні розчини антитіл, що підлягають тестуванню в моделі на тваринах, розморожували і переносили у вологий лід. Щоб виключити повторне заморожування і розморожування, кожен флакон вихідного розчину розморожували один раз і розділяли на аліквоти в об'ємах, достатніх для однократного використання. Поліпропіленові пробірки з низькою адгезією використовували для цієї мети. Аліквоти швидко заморожували в сухому льоді і зберігали при -80°C . Перед кожним дозуванням, одну аліквоту розморожували і розводили до номінальної концентрації в прийнятному розріджувачі, і проводили дозування негайно. Аліквоти розчинів для дозування швидко заморожували і зберігали при -80°C до аналізів. Розчини для дозування оцінювали з

використанням платформи Meso Scale Discovery (MSD®, Rockville, MD), основаної на технології множинних масивів; комбінації електрохемілюмінесцентної детекції і структурованих масивів.

Результати лікування з дозуванням антитіл проти TIGIT/ проти PD1: мишей BALB/cAn, які несуть пухлину CT26, випадковим чином розподіляли на 10 груп лікування, коли середній обсяг пухлини цих мишей досягав середнього розміру пухлини 100 мм³ (80 мм³-119 мм³): (1) контроль для ізотипу mIgG1+контроль для ізотипу IgG1 щура; (2) контроль для ізотипу mIgG1+контроль для ізотипу mIgG2a; (3) mDX400+контроль для ізотипу IgG1 щура; (4) mDX400+контроль для ізотипу mIgG2a; (5) контроль для ізотипу mIgG1+18G10; (6) контроль для ізотипу mIgG1+18G10-G1; (7) контроль для ізотипу mIgG1+18G10-G2a; (8) mDX400+18G10; (9) mDX400+18G10-G1; (10) mDX400+18G10-G2a. Тваринам вводили антитіла щура проти TIGIT миші (18G10) або химерні антитіла проти TIGIT 18G10-G1 або 18G10-G2a (описані вище) у дозі 18 мг/кг, IP, кожні 4 доби протягом кожного з 6 циклів. Антитіла проти PD-1 миші (описані вище) вводили в дозі 10 мг/кг, IP, кожні 4 доби протягом кожного з 6 циклів. Після дозування, тварин продовжували спостерігати, і обсяги пухлин вимірювали до 76 доби для деяких груп лікування. Пухлини вимірювали двічі на тиждень. Результати показані на фігурах 10 і 11. Для монотерапії антитілом проти TIGIT з використанням 18G10-G2a, показано 44 % інгібування росту пухлини (TGI) на добу 13; у той час як для вихідного антитіла 18G10 показано 38 %, і для антитіла 18G10-G1 показано 36 %. Для монотерапії антитілом проти PD1 у комбінації з контролем для ізотипу rIgG1, 51 % TGI спостерігали на добу 13. Коли антитіло проти PD-1 комбінували з контролем для ізотипу mIgG2a, 50 % TGI і 10 % випадків повної регресії (CR) спостерігали на добу 18, так що спостерігали 1 повну відповідь з 10 тварин. Для комбінації антитіла проти PD1 і вихідного 18G10 показано 80 % TGI на добу 13 і показано 300 % CR на добу 39. Для комбінації антитіла проти PD1 і 18G10-G1 показано 59 % TGI на добу 13 і показано 10 % CR на добу 13. Для комбінації антитіла проти PD1 і 18G10-G2a показано 88 % TGI на добу 13 і показано 60 % CR на добу 63. Для комбінації антитіла проти PD1 і 18G10-G2a показані більша протипухлинна активність і більш повна регресія в порівнянні з комбінаціями антитіла проти PD1 з вихідним 18G10 або 18G10-G1. Не було присутньо значної втрати маси тіла, асоційованої з проведенням монотерапії або комбінованої терапії, що вказує на те, що терапія була добре переносимою.

Приклад 8

Ефект ізотипу Fc на протипухлинну активність антитіл проти TIGIT у моделі пухлини на тварин

Повторювали експеримент, описаний у прикладі 7, за винятком того, що антитіло щура 18G10 заміняли на антитіло щура 11A11.

Миші: Самиць мишей BALB/cAn у віці приблизно сім-вісім тижнів із середньою масою тіла 20 грам одержували з Taconic Laboratory (Germantown, NY). Загальноприйнятий корм для тварин і воду надавали без обмежень.

Реагенти-антитіла:

- Антитіло миші проти PD1 миші - підтип IgG1
- Антитіло щура проти TIGIT миші (11A11) - підтип IgG1 щура. Це антитіло описане на фігурах як вихідне 11A11. Антитіло 11A11 має послідовність VH з SEQ ID NO:138 і послідовністю VL з SEQ ID NO:139.
- Химерне антитіло щура проти TIGIT миші (11A11) - яке містить мишачу Fc-область підтипу mIgG1. Це антитіло описане на фігурах як 11A11-G2a. (Ізотип IgG1 миші є мишачим ізотипом, еквівалентним людському ізотипу IgG4.)
- Химерне антитіло щура проти TIGIT миші 11A11 - яке містить мишачу Fc-область підтипу mIgG2a. Це антитіло описане на фігурах як 11A11-G2a. (Ізотип IgG2a миші є мишачим ізотипом, еквівалентним людському ізотипу IgG1.)
- Контрольне антитіло для ізотипу IgG1 миші (яке збігається по ізотипу IgG1 миші контрольне моноклональне антитіло, специфічне для аденовірусного гексону 25).
- Контрольне антитіло для ізотипу IgG1 щура (яке збігається по ізотипу IgG1 щура контрольне моноклональне антитіло, специфічне для IL-4 людини).
- Контрольне антитіло для ізотипу IgG2a миші (яке збігається по ізотипу IgG2a миші контрольне моноклональне антитіло, специфічне для аденовірусного гексону 25).

Склади реагентів-антитіл: Склади були наступними:

- mIgG1: 75 мМ NaCl, 10 мМ фосфат натрію, 3 % сахароза, pH 7,4;
- антитіло проти PD-1: 20 мМ ацетат натрію, 9 % сахароза, pH 5,5; mIgG2a: 75 мМ NaCl, 10 мМ фосфат натрію, 3 % сахароза, pH 7,3;
- IgG1 щура: 20 мМ ацетат натрію, 7 % сахароза pH 5,5; 11A11: 20 мМ NaAc, 100 мМ NaCl, 3 % сахароза pH 5,5; 11A11-G1: 20 мМ NaAc, 9 % сахароза, pH 5,5; 11A11-G2a: 20 мМ NaAc, 9 % сахароза, pH 5,5.

Одержання й імплантація лінії клітин пухлини: клітини карциноми ободової кишки CT26 культивували в середовищі RPMI, доповненому 10 % інактивованою нагріванням ембріональною бичачою сироваткою. 3×10^5 клітин, які знаходяться в логарифмічній фазі, і субконфлюентних клітин CT26 ін'єктували підшкірно (п/ш) в об'ємі 100 мкл безсироваткової RPMI у нижню задню частину правого боку кожної миші. Мишей спочатку виголювали з використанням електронної машинки в області, що підлягає використанню для імплантації.

CT-26 являє собою лінію клітин колоректальної аденокарциноми миші, сингенної для лінії миші BALB/c. CT-26 є прийнятною модельною системою для оцінки механізму дії антитіла проти PD-1 є прийнятною модельною системою для оцінки механізму дії антитіла проти PD-1.

Вимірювання пухлини і маси тіла: Пухлини вимірювали за добу до першої дози і двічі на тиждень після. Довжину і ширину пухлини вимірювали з використанням електронного штангенциркуля, і обсяг пухлини визначали з використанням формули обсяг (мм^3) = $0,5 \times \text{довжина} \times \text{ширина}^2$, де довжина являє собою довше вимірювання. Мишей періодично зважували для моніторингу загального стану здоров'я, а також для оцінки фактичної дози доставки в мг/кг на мишу, при необхідності. Перед обробкою, мишей зважували, і вимірювали пухлини індивідуальних мишей. Для запобігання зміщенню, будь-яких випадкових по масі або обсягу пухлини мишей видалляли і мишей, що залишилися, випадковим чином розподіляли по різних групах лікування з еквівалентним середнім розміром пухлини. Коли середній розмір пухлини у мишей, які несуть пухлину CT26, досягав $\sim 100 \text{ мм}^3$, приблизно через 7 діб після імплантації, тварин випадковим чином розподіляли по групах лікування по 10 мишей на групу, і починали дозування. Тваринам здійснювали дозування при концентраціях, вказаних нижче.

Одержання, введення й аналіз розчинів для дозування: Заморожені вихідні розчини антитіл, що підлягають тестуванню в моделі на тваринах, розморожували і переносили у вологий лід. Щоб виключити повторне заморожування і розморожування, кожен флакон вихідного розчину розморожували один раз і розділяли на аліквоти в об'ємах, достатніх для однократного використання. Поліпропіленові пробірки з низькою адгезією використовували для цієї мети. Аліквоти швидко заморожували в сухому льоді і зберігали при -80°C . Перед кожним дозуванням, одну аліквоту розморожували і розводили до номінальної концентрації в прийнятному розріджувачі і здійснювали дозування негайно. Аліквоти розчинів для дозування швидко заморожували і зберігали при -80°C до аналізів. Розчини для дозування оцінювали з використанням платформи Meso Scale Discovery (MSD®, Rockville, MD), основаної на технології множинних масивів; комбінації електрохемілюмінесцентної детекції і структурованих масивів.

Результати лікування з дозуванням антитіл проти TIGIT/ проти PD1: мишей BALB/cAn, які несуть пухлину CT26, випадковим чином розподіляли на 10 груп лікування, коли середній обсяг пухлини цих мишей досягав середнього розміру пухлини 100 мм^3 (75 мм^3 - 115 мм^3): (1) контроль для ізотипу muIgG1+контроль для ізотипу IgG1 щура; (2) контроль для ізотипу muIgG1+контроль для ізотипу muIgG2a; (3) muDX400+контроль для ізотипу IgG1 щура; (4) muDX400+контроль для ізотипу muIgG2a; (5) контроль для ізотипу muIgG1+11A11; (6) контроль для ізотипу muIgG1+11A11-G1; (7) контроль для ізотипу muIgG1+11A11-G2a; (8) muDX400+11A11; (9) muDX400+11A11_G1; (10) muDX400+11A11_G2a. Тваринам вводили антитіла щура проти TIGIT миші (11A11) або химерні антитіла проти TIGIT 11A11-G1 або 11A11-G2a (описані вище) у дозі 20 мг/кг, IP, кожні 4 доби протягом кожного з 6 циклів. Антитіла проти PD-1 миші (описані вище) вводили в дозі 10 мг/кг, IP, кожні 4 доби протягом кожного з 6 циклів. Після дозування, тварин продовжували моніторувати, і обсяги пухлин вимірювали до 54 доби для деяких груп лікування. Пухлини вимірювали двічі на тиждень. Результати показані на фігурах 12 і 13. Для монотерапії антитілом проти TIGIT з використанням 11A11-G2a показано 52 % інгібування росту пухлини (TGI) на добу 14; у той час як від невеликої активності до відсутності активності спостерігали з використанням вихідного антитіла 11A11 або антитіла 11A11-G1. Для монотерапії антитілом проти PD1, 40-50 % TGI спостерігали на добу 14. Коли антитіло проти PD-1 комбінували з контролем для ізотипу щура IgG1, показано 10 % випадків повної регресії (CR) на добу 28, так що спостерігали 1 повну відповідь з 10 тварин. Для комбінації антитіла проти PD1 і вихідного 11A11 показано 60 % TGI на добу 14 і показано 30 % CR на добу 54. Для комбінації антитіла проти PD1 і 11A11-G1 показано 56 % TGI на добу 14 і показано 30 % CR на добу 25. Для комбінації антитіла проти PD1 і 11A11-G2a показано 94 % TGI на добу 14 і показано 70 % CR на добу 42. Для комбінації антитіла проти PD1 і 11A11-G2a показані більша протипухлинна активність і більш повна регресія в порівнянні з комбінаціями антитіла проти PD1 з вихідним 11A11 або 11A11-G1. Не було присутньої значної втрати маси тіла, асоційованої з проведенням монотерапії або комбінованої терапії, що вказує на те, що терапія була добре переносимою.

Приклад 9

Епітопне картування антитіла проти hTIGIT 14A6 за допомогою мас-спектрометрії з воднево-дейтерієвим обміном

Області контакту між антитілом проти TIGIT 14A6 і TIGIT людини визначали з використанням аналізу мас-спектрометрії з воднево-дейтерієвим обміном (HDX-MS). HDX-MS вимірює обмін водню на дейтерій в амідному кістязку білка. На швидкість обміну впливає експонування водню для розчинника. Порівнянням рівнів обміну в антигені, коли зв'язане антитіло, можна ідентифікувати області білка, де зв'язується антитіло.

Матеріали

- TIGIT-His людини - який містить позаклітинний домен hTIGIT (залишки 25-150 з SEQ ID NO: 31) і гістидинову мітку (SEQ ID NO: 87).

- Антитіло щура проти hTIGIT 14A6 (яке містить послідовності VH/VL з SEQ ID NO: 7/8 (партія # 78AGU) і Fc-область IgG2a щура) (mAb щура х [TIGIT_H] (LB155.14A6.G2.A8) IgG2a/каппа (HY)).

Рідинна хроматографія-мас-спектрометрія

Мас-спектрометр являв собою Thermo Scientific Orbitrap-Velos. Для вимірювання мічених дейтерієм зразків, мас-спектрометр установлювали для одержання даних одного сканування MS у повному діапазоні в орбітальній іонній пастці при розрізняльній здатності 60000, кількості іонів-мішеней 1×10^6 , максимальному часі ін'єкції іона 500 мілісекунд і двох мікросканах. Для одержання даних MS/MS для ідентифікації пептидів, мас-спектрометр установлювали для одержання одного повного спектра сканування при розрізняльній здатності 60000 з наступними десятима спектрами MS/MS залежно від даних в іонній пастці.

Система рідинної хроматографії являла собою Waters® nanoACQUITY для градієнта аналітичної колонки і ізократичний насос Waters® 515 для розщеплення і нанесення зразка. Для розщеплення і нанесення зразка, використовуваний буфер являв собою 2 % ацетонітрил і 0,05 % трифтороцтову кислоту при швидкості потоку 80 мкл/хв. Для аналітичного градієнта, буфери являли собою буфер А) 0,1 % мурашина кислота у воді і буфер В) 0,1 % мурашина кислота в ацетонітрилі.

Градієнт пропускали при 40 мкл/хв від 2 % В до 36 % В за 10 хвилин, з наступним промиванням 80 % В протягом 2 хвилин і повторним врівноважуванням у 2 % В протягом 3 хвилин. Потім колонку промивали за допомогою періодичного пропускання градієнта від 2 % до 80 % В, три рази по 1 хвилині на кожній стадії, з наступним остаточним врівноважуванням 2 % В протягом 5 хвилин. Уловлювальна колонка являла собою захисну колонку Waters® Vanguard C18 BEH 1,7 мкм, і аналітична колонка являла собою колонку Waters® C18 BEH300, 1,7 мкм 1×50 мм.

Маніпуляції зі зразком для мічення дейтерієм виконували за допомогою системи Leaptec H/D-X PAL. У планшеті для мічення зразків установлювали температуру 25 °C, у планшеті для зупинки реакції встановлювали 1,5 °C, і в камері для пастки й аналітичної колонки встановлювали 1,5 °C. Колонку з іммобілізованим пепсином (Porosyme Immobilized Pepsin 2,1 \times 30 мм, Life Technologies) утримували поза камерою для колонок при кімнатній температурі.

Мічені дейтерієм

hTIGIT-His (30 пмоль/мкл) змішували з однаковим обсягом антитіла (14 пмоль/мкл) або, для контролю без зв'язування, з PBS pH 7,6. Зв'язані з антитілом зразки і контроль без зв'язування інкубували при кімнатній температурі протягом 1 години перед початком експерименту мічення.

Для мічення зразків дейтерієм, 2 мкл зразки змішували з 25 мкл PBS в оксиді дейтерію pH 7,6. Часові точки мічення складали 30, 300, 1500, 4500 або 9000 секунд. Після встановленого часу, 25 мкл суміші для мічення додавали до 35 мкл холодного буфера для зупинки реакції (8 М сечовина, 100 мМ TCEP). Зразок після зупинки реакції інкубували при 1,5 °C протягом однієї хвилини. Потім 55 мкл ін'єктували в колонки в охолоджувальній камері, де зразок пропускали через колонку з пепсином, і отримані пептиди наносили на вловлювальну колонку. Через три хвилини, переключенням клапана колонку з пепсином відключали від лінії, і пастку промивали додатково одну хвилину. Після цього пастку підключали до лінії з аналітичною колонкою, і підключали аналітичний градієнт і мас-спектрометр.

Повністю дейтерований зразок одержували за допомогою інкубації 2 мкл hTIGIT з 108 мкл дейтерованого денатуруючого буфера (4 М сечовина, 100 мМ TCEP, 0,01 % DDM у 99,5 % оксиді дейтерію). Зразок інкубували при кімнатній температурі протягом ночі. Потім 55 мкл прямо ін'єктували в колонки в камері, і дані одержували, як раніше.

Аналіз даних

Дані LC-MS/MS одержували для неміченого зразка і досліджували до мічення дейтерієм для верифікації успішного розщеплення білків і для одержання списку пептидів після розщеплення пепсином. Проводили пошук даних у базі даних з використанням Proteome Discoverer 1.4 і

алгоритму пошуку SEQUEST HT (ThermoFisher Scientific). Базу даних білків, використовувану для послідовностей TIGIT людини-His і антитіл проти hTIGIT, зв'язували з базою даних для дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* uniprot (5/20/13).

Дані MS для експериментів мічення дейтерієм обробляли за допомогою HDExамінг (версії 1.3, Sierra Analytics). Масу і час утримання, вибрані за допомогою програмного забезпечення для кожного пептиду, верифікували вручну.

Результати

Пептиди TIGIT людини, захищені за допомогою зв'язування антитіла 14A6, проілюстровані на тепловій карті з фігури 14 і відповідають амінокислотним залишкам 54-57, 68-70 і 76-81 з SEQ ID NO:31. (Ці ж амінокислоти показані як залишки 30-33, 44-46 і 52-57 з SEQ ID NO:87.)

Приклад 10

Епітопне картування антитіла проти hTIGIT 31C6 за допомогою мас-спектрометрії з воднево-дейтерієвим обміном

Області контакту між антитілом проти TIGIT 31C6 і TIGIT людини визначали з використанням аналізу мас-спектрометрії з воднево-дейтерієвим обміном (HDX-MS). HDX-MS вимірює обмін водню на дейтерій в амідному кістяку білка. Одним з факторів, що впливають на швидкість обміну, є експонування водню для розчинника. Порівнянням рівнів обміну в антигені, коли зв'язане антитіло, можна ідентифікувати області білка, де зв'язується антитіло.

Матеріали

- TIGIT-His людини - який містить позаклітинний домен hTIGIT (залишки 25-145 з SEQ ID NO: 31) і гістидинову мітку (SEQ ID NO: 87).
- Антитіло миші проти anti-hTIGIT 31C6 (партія # 41АНК) (mAb миші x [TIGIT_H] (MEB125.31C6.A1.205) IgG1/каппа (HY))

Рідинна хроматографія-мас-спектрометрія

Мас-спектрометр являв собою Thermo Scientific Orbitrap-Elite. Для вимірювання мічених дейтерієм зразків, мас-спектрометр установлювали для одержання даних одного сканування MS у повному діапазоні в орбітальній іонній пастці при розрізняльній здатності 120000, кількості іонів-мішеней 1Е6, максимальному часі ін'єкції іона 500 мілісекунд і двох мікросканах. Для одержання даних MS/MS для ідентифікації пептидів, мас-спектрометр установлювали для одержання одного повного спектра сканування при розрізняльній здатності 120000 з наступними десятима спектрами MS/MS залежно від даних в іонній пастці.

Система рідинної хроматографії являла собою Waters nanoAcquity для градієнта аналітичної колонки і ізократичний насос Waters 515 для розщеплення і нанесення зразка. Для розщеплення і нанесення зразка, використовуваний буфер являв собою 2 % ацетонітрил і 0,05 % трифтороцтову кислоту при швидкості потоку 80 мкл/хв. Для аналітичного градієнта, буфери являли собою буфер А) 0,1 % мурашина кислота у воді і буфер В) 0,1 % мурашина кислота в ацетонітрилі.

Градієнт пропускали при 40 мкл/хв від 2 % В до 36 % В за 10 хвилин, з наступним промиванням 80 % В протягом 2 хвилин і повторним врівноважуванням у 2 % В протягом 3 хвилин. Потім колонку промивали за допомогою періодичного пропускання градієнта від 2 % до 80 % В, три рази по 1 хвилині на кожній стадії, з наступним остаточним врівноважуванням 2 % В протягом 5 хвилин. Вловлювальна колонка являла собою захисну колонку Waters Vanguard CSH C18 1,7 мкм Guard Column, і аналітична колонка являла собою колонку Waters CSH C18, 1,7 мкм 1 × 50 мм.

Маніпуляції зі зразком для мічення дейтерієм виконували за допомогою системи Leptec H/D-X PAL. У планшеті для мічення зразків установлювали температуру 25 °С, у планшеті для зупинки реакції встановлювали 1,5 °С, і в камері для пастки й аналітичної колонки встановлювали 1,5 °С. Колонку з іммобілізованим пепсином (Enzymate BEN Pepsin, Waters corporation) утримували поза камерою для колонок при кімнатній температурі.

Мічені дейтерієм

hTIGIT-His (63 пмоль/мкл) змішували з однаковим об'ємом антитіла (32 пмоль/мкл) або, для контролю без зв'язування, з PBS pH 7,6. Зв'язані з антитілом зразки і контроль без зв'язування інкубували при кімнатній температурі протягом 1 години перед початком експерименту мічення.

Для мічення зразків дейтерієм, 2 мкл зразки змішували з 25 мкл PBS в оксиді дейтерію pH 7,6. Часові точки мічення складали 30, 300, 1500, 4500, 9000 і 13500 секунд. Після встановленого часу, 25 мкл суміші для мічення додавали до 35 мкл холодного буфера для зупинки реакції (8М сечовина, 100 мМ ТСЕР). Зразок після зупинки реакції інкубували при 1,5 °С протягом однієї хвилини. Потім 55 мкл ін'єктували в колонки в охолоджувальній камері, де зразок пропускали через колонку з пепсином, і отримані пептиди наносили на вловлювальну колонку. Через три хвилини, переключенням клапана колонку з пепсином відключали від лінії, і

пастку промивали додатково одну хвилину. Після цього пастку підключали до лінії з аналітичною колонкою, і підключали аналітичний градієнт, і починали збір мас-спектрометричних даних. Кожну часову точку одержували в трьох повторях у випадковому порядку.

- 5 Повністю дейтерований зразок одержували за допомогою інкубації 2 мкл hTIGIT (63 пмоль/мкл) з 108 мкл дейтерованого денатуруючого буфера (4 М сечовина, 100 мМ ТСЕР, 0,01 % DDM у 99,5 % оксиді дейтерію). Зразок інкубували при кімнатній температурі протягом ночі. Потім 55 мкл прямо ін'єктували в колонки в камері, і дані одержували, як раніше.

Аналіз даних

- 10 Дані LC-MS/MS одержували для неміченого зразка і виконували пошук у базі даних для верифікації успішного розщеплення білків і для одержання списку пептидів після розщеплення пепсином. Здійснювали пошук даних у базі даних з використанням Proteome Discoverer 1.4 і алгоритму пошуку SEQUEST HT (ThermoFisher Scientific). Базу даних білків, використовувану для послідовностей TIGIT людини-His і антитіл проти hTIGIT, зв'язували з базою даних для
- 15 дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* uniprot (5/20/13).

Дані MS для експериментів мічення дейтерієм обробляли за допомогою HDExaminr (версії 1.3, Sierra Analytics). Масу і час утримання, вибрані за допомогою програмного забезпечення для кожного пептиду, верифікували вручну.

Результати

- 20 Пептиди TIGIT людини, захищені за допомогою зв'язування антитіла 31C6, проілюстровані на тепловій карті з фігури 15 і відповідають амінокислотним залишкам 53-57, 60-65, 68-70, 72-81, 94-95, 109-119 з SEQ ID NO: 31. (Ці ж амінокислоти показані як залишки 29-33, 36-41, 44-46, 48-57, 70-71, 85-95 з SEQ ID NO: 87.)

Приклад 11

- 25 Аналіз активності Т-клітин *in vitro* для гуманізованих антитіл проти hTIGIT

Автори даного винаходу далі аналізували активність різних гуманізованих варіантів одного з антитіл за винаходом (31C6). В одному з аналізів автори даного винаходу характеризували функціональні наслідки блокування рецептора TIGIT людини з використанням клітин hTIGIT-Jurkat. У цьому аналізі hTIGIT-Jurkat культивували разом із клітинами JY, сконструйованими для експресії CD155 людини (hCD155-JY). Використовувана лінія клітин JY являє собою іморталізовану за допомогою вірусу Епштейна-Барр (EBV) лімфобластоїдну лінію В-клітин. Як в аналізі, описаному вище в прикладі 3, коли клітини hTIGIT Jurkat стимулюють з використанням зв'язаного з планшетом α -CD3 і культивують разом з вихідними клітинами JY (які не експресують CD155 людини), вони продукують IL-2. Однак коли hTIGIT-Jurkat культивували

30 разом з hCD155-JY, рівні IL-2 зменшувалися залежним від ліганда чином. Обробка антитілами проти hTIGIT відновлює продукцію IL-2 у цьому аналізі залежним від дози чином.

- 35 У цьому аналізі 96-ямкові плоскодонні планшети покривали антитілом миші проти CD3 людини (1 мкг/мл у PBS; Clone HIT3a; BD Pharmingen Кат. № 555336) протягом ночі при 4 °C. На наступні добу, експресуючі hTIGIT клітини Jurkat (50000) висівали в попередньо покриті
- 40 планшети і здійснювали попередню інкубацію протягом 30-60 хвилин з mAb у різних концентраціях. Експресуючі CD155 людини клітини JY (50000) додавали в культуру. Після інкубації протягом 18-24 годин при 37 °C і 5,0 % CO₂, рівні IL-2 у культуральних супернатантах оцінювали за допомогою mesoscale (Набір Human IL-2 Tissue Culture MESO Набір: Кат. № K151AHB-2). Результати показані на фігурі 16. При титруванні вихідного антитіла миші проти hTIGIT клону 31C6 (MEB125.31C6.A1,205 mIgG1) від 30 мкг/мл зі зниженням до 0,04 мкг/мл одержали EC₅₀ 0,730 мкг/мл, і при такому ж титруванні химерного мишачого-людського 31C6 (мишаче-людське химерне MEB125.31C6.A1.205 IgG1) одержали EC₅₀ 0,910 мкг/мл. (Мишаче-людське химерне 31C6 містило варіабельні області вихідного клону 31C6 (SEQ ID No: 94 і 95) і область IgG1 людини.) Подібним чином, при титруванні гуманізованих варіантів 31C6 від 30
- 45 мкг/мл зі зниженням до 0,04 мкг/мл одержали наступні EC₅₀:
- 50

Гуманізований варіант	EC ₅₀
MEB125.31C6.A1,205 VH4/VL1 (Антитіло, яке містить VH з SEQ ID NO: 127 і VL з SEQ ID NO:130, і Fc-область IgG1 людини)	0,620 мкг/мл
MEB125.31C6.A1,205 VH5/VL4 (Антитіло, яке містить VH з SEQ ID NO: 128 і VL з SEQ ID NO:133, і Fc-область IgG1 людини)	1,2 мкг/мл
MEB125.31C6.A1,205 VH5/VL3 (Антитіло, яке містить VH з SEQ ID NO: 128 і VL з SEQ ID NO:132, і Fc-область IgG1 людини)	1,2 мкг/мл

Автори даного винаходу використовували також аналіз на основі первинних клітин, щоб продемонструвати, що гуманізовані антитіла проти hTIGIT мають активність відносно первинних клітин. Виконували скринінг декількох партій мононуклеарних клітин периферичної крові (PBMC) людини по експресії TIGIT після стимуляції (стимуляція в реакції змішаної культури лімфоцитів і стимуляція α-CD3). Потім PBMC вибирали для аналізів на основі первинних клітин на підставі їхньої експресії TIGIT після стимуляції. З використанням HuCD155-Fc покривали планшети для культивування тканин, і PBMC стимулювали з використанням антитіла проти CD3.

У цьому аналізі 96-ямкові планшети з високим зв'язуванням (Corning 3361) покривали з використанням CD155-Fc людини (власного виробництва, 1 мкг/мл in PBS) протягом ночі при 4 °C. На наступну добу, 50000 PBMC людини (Precision Bioservice Кат. №83000C-1,0, партія #12920 у RPMI+10 % сироватка людини Bio-world кат. №30611043-1, партія # V15022401, RBC видаляли за допомогою BD Pharmlyse BD кат. №555899), висівали в попередньо покриті планшети і проводили попередню інкубацію протягом 30-60 хвилин з mAb проти TIGIT у різних концентраціях. Потім додавали антитіло проти CD3 (eBioscience 16-0037-85) у кінцевій концентрації 1 мкг/мл. Після інкубації протягом 48 година при 37 °C і 5,0 % CO₂, прозапальні цитокіни (IFNγ, IL1β, IL6 і TNFα) оцінювали в культуральних супернатантах за допомогою аналізу mesoscale (Набір Human Proinflammatory-4 I tissue culture MESO: Кат. №K15009B-4). Як показано на фігурі 17, гуманізовані варіанти 31C6 були здатними стимулювати IL-6, TNFα і IFNγ залежним від дози чином, подібно до мишачого-людського химерного антитіла 31C6.

Підпису на фігурі 17 відповідають наступним антитілам:

- Мишаче-людське химерне MEB125.31C6.A1.205 IgG1 відповідає антитілу, що містить варіабельні області вихідного 31C6 клону (SEQ ID No: 94 і 95) і область IgG1 людини.)

- MEB125.31C6.A1.205 VH4/VL1 відповідає антитілу, що містить VH з SEQ ID NO: 127 і VL з SEQ ID NO: 130, і Fc-область IgG1 людини,

- MEB125.31C6.A1.205 VH5/VL4 відповідає антитілу, що містить VH з SEQ ID NO: 128 і VL з SEQ ID NO: 133, і Fc-область IgG1 людини,

- MEB125.31C6.A1.205 VH5/VL3 відповідає антитілу, що містить VH з SEQ ID NO: 128 і VL з SEQ ID NO: 133, і Fc-область IgG1 людини.

Зміст усіх цитуємих у даному документі посилань приведено як посилання в тому ж ступені, як яби було конкретно й індивідуально вказано, що зміст кожної індивідуальної публікації, записи в базах даних (наприклад, послідовностей у Genbank або записів GenelD), патентної заявки, або патенту, приведено як посилання. Це твердження про включення як посилання призначено заявниками, відповідно до 37 C.F.R. 1.57(b) (1), щоб стосуватися усіх без винятку індивідуальних публікацій, записів у базах даних (наприклад, послідовностей у Genbank або записів GenelD), патентних заявок, або патентів, кожна з яких явно вказана відповідно до 37 C.F.R. 1.57(b) (2), навіть якщо таке цитування не належить безпосередньо до оголошеного твердження про включення як посилання. Включення оголошених тверджень про включення як посилання, якщо вони присутні, в опис, ніяким чином не послаблює цього загального твердження про включення як посилання. Цитування посилань у даному документі як не призначено як визнання того, що посилання стосується попереднього рівня техніки, так і не складає якого-небудь визнання відносно змісту або дати цих публікацій або документів.

Обсяг даного винаходу не призначений для обмеження конкретними варіантами здійснення, описаними в даному документі. Дійсно, різні модифікації винаходу на додаток до описаного в даному документі, будуть очевидні фахівцям в даній галузі з вказаного вище опису і супутніх фігур. Такі модифікації призначені для включення в обсяг прикладеної формули винаходу.

Вказаний вище письмовий опис вважають достатнім, щоб дозволяти фахівцю в даній галузі для практичного здійснення винаходу. Різні модифікації винаходу на додаток до показаних і

описаних у даному документі, будуть очевидні фахівцям в даній галузі з вказаного вище опису і включені в обсяг прикладеної формули винаходу.

Таблиця 4: Інформація про послідовність

Опис	SEQ ID NO:	ПОСЛІДОВНІСТЬ
14A6 H - CDR1	1	SDYWG
14A6 H - CDR2	2	FITYSGSTSYNPSLKS
14A6 H - CDR3	3	MPSFITLASLSTWEGYFDF
14A6 L - CDR1	4	KASQSIHKNLA
14A6 L - CDR2	5	YANSLQT
14A6 L - CDR3	6	QQYYSGWT
14A6 ВИХІДНА	7	EVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGSSIASDYW

VH		<u>GWIRKFPGNKMEWMGFITYSGSTSYNPSLKSRI</u> <u>SITRDTSKNQFFLQLHSVTTDDTATYSCARMPSE</u> <u>ITLASLSTWEGYFDFWGPGTMVTVSS</u>
14A6 ВИХІДНА VL	8	<u>DIQMTQSPSLLSASVGDRVTLNCKASQSIHKNL</u> <u>AWYQQKLGEAPKFLIYYANSLQTGIPSRFSGSGS</u> <u>GTDFTLTISGLQPEDVATYFCQQYYSGWTFGGG</u> TKVELK
Hu14A6VH.1	9	<u>EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSDYW</u> <u>GWIRQPPGKGLEWIGFITYSGSTSYNPSLKS</u> <u>SRVTI</u> <u>SVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMPSFI</u> <u>TLASLSTWEGYFDFWGQGTMTVTVSS</u>
Hu14A6VH.1a	10	<u>EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSDYW</u> <u>GWIRQPPGKGLEWIGFITYSGSTSYNPSLKS</u> <u>SRVTI</u> <u>SRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMPSFI</u> <u>TLASLSTWEGYFDFWGQGTMTVTVSS</u>
Hu14A6VH.1b	11	<u>EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSDYW</u> <u>GWIRQPPGKGLEWIGFITYSGSTSYNPSLKS</u> <u>RITI</u> <u>SRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMPSFI</u> <u>TLASLSTWEGYFDFWGQGTMTVTVSS</u>
Hu14A6VH.1c	12	<u>EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSDYW</u> <u>GWIRQPPGKGLEWMGFITYSGSTSYNPSLKS</u> <u>RIT</u> <u>ISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMPSFI</u> <u>TLASLSTWEGYFDFWGQGTMTVTVSS</u>
Hu14A6VH.1d	13	<u>EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSDYW</u> <u>GWIRQPPGKGLEWIGFITYSGSTSYNPSLKS</u> <u>SRVTI</u> <u>SRDTSKNQFSLKLHSVTAADTAVYYCARMPSFI</u> <u>TLASLSTWEGYFDFWGQGTMTVTVSS</u>

Hu14A6VH.1e	14	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSDYW <u>GWIRQPPGKGLEWIGFITYSGSTSYNPSLKS</u> SRITI SRDTSKNQFSLKLHSVTAADTAVYYCARMPSFI <u>TLASLSTWEGYFDFWGQGTMTVTVSS</u>
Hu14A6VH.1f	15	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSDYW <u>GWIRQPPGKGLEWIGFITYSGSTSYNPSLKS</u> SRITI SRDTSKNQFSLKLHSVTAADTAVYYCARMPSFI <u>TLASLSTWEGYFDFWGQGTMTVTVSS</u>
Hu14A6VH.1g	16	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSDYW <u>GWIRQPPGKGLEWMGFITYSGSTSYNPSLKS</u> SRIT ISVDTSKNQFSLKLHSVTAADTAVYYCARMPSF <u>ITLASLSTWEGYFDFWGQGTMTVTVSS</u>
Hu14A6VH.2	17	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSDYW <u>GWIRQPPGKGLEWIGFITYSGSTSYNPSLKS</u> SRVTI SVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMPSFI <u>TLASLSTWEGYFDFWGQGTMTVTVSS</u>
Hu14A6VH.2a	18	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSDYW <u>GWIRQPPGKGLEWIGFITYSGSTSYNPSLKS</u> SRVTI SRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMPSFI <u>TLASLSTWEGYFDFWGQGTMTVTVSS</u>
Hu14A6VH.2b	19	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSDYW <u>GWIRQPPGKGLEWIGFITYSGSTSYNPSLKS</u> SRITI SRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMPSFI <u>TLASLSTWEGYFDFWGQGTMTVTVSS</u>
Hu14A6VH.2c	20	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGSISSDYW

		<u>GWIRQPPGKGLEWMGFITYSGSTSYNPSLKS</u> RIT ISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARM <u>PSFI</u> <u>TLASLSTWEGYFDFWGQGTMTV</u> VSS
Hu14A6VH.2d	21	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSS <u>SDYW</u> <u>GWIRQPPGKGLEWIGFITYSGSTSYNPSLKS</u> RVTI SRDTSKNQFSLKLHSVTAADTAVYYCARM <u>PSFI</u> <u>TLASLSTWEGYFDFWGQGTMTV</u> VSS
Hu14A6VH.2e	22	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSS <u>SDYW</u> <u>GWIRQPPGKGLEWIGFITYSGSTSYNPSLKS</u> RITI SRDTSKNQFSLKLHSVTAADTAVYYCARM <u>PSFI</u> <u>TLASLSTWEGYFDFWGQGTMTV</u> VSS
Hu14A6VH.2f	23	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGSS <u>SDYW</u> <u>GWIRQPPGKGLEWIGFITYSGSTSYNPSLKS</u> RITI SRDTSKNQFSLKLHSVTAADTAVYYCARM <u>PSFI</u> <u>TLASLSTWEGYFDFWGQGTMTV</u> VSS
Hu14A6VH.2e	24	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGSS <u>SDYW</u> <u>GWIRQPPGKGLEWMGFITYSGSTSYNPSLKS</u> RIT ISRDTSKNQFSLKLHSVTAADTAVYYCARM <u>PSFI</u> <u>TLASLSTWEGYFDFWGQGTMTV</u> VSS
Hu14A6Vk.1	25	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCK <u>ASQSIHKNLA</u> WYQQKPGKAPKLLIYY <u>ANSLQT</u> GVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYC <u>QQYYSGWTF</u> GGG TKVEIK
Hu14A6Vk.1a	26	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCK <u>ASQSIHKNLA</u> WYQQKPGKAPKFLIYY <u>ANSLQT</u> GVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYC <u>QQYYSGWTF</u> GGG

		TKVEIK
Hu14A6Vk.1b	27	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSIHKNLA WYQQKPGKAPKFLIYYANSLQTGIPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQYYSGWTFGGG TKVEIK
Hu14A6Vk.2	28	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSIHKNLA WYQQKPGKVPKLLIYYANSLQTGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDVATYYCQYYSGWTFGGG TKVEIK
Hu14A6Vk.2a	29	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSIHKNLA WYQQKPGKVPKFLIYYANSLQTGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDVATYYCQYYSGWTFGGG TKVEIK
Hu14A6Vk.2b	30	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSIHKNLA WYQQKPGKVPKFLIYYANSLQTGIPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDVATYYCQYYSGWTFGGG TKVEIK
TIGIT человека	31	mrwclliwa qglrqaplas gmmgtgiett gnisaekggs iilqchlsst taqvtqvnwe qdqllaicn adlgwhisps fkdrvapggp lgltlqsltv ndtgeyfcy htypdgytg riflevless vaehgarfqi pllgammaatl vvictavivv valtrkkkal rihsvegdlr rksagqeews psapsppgsc vqaeaapagl cgeqrgedca elhdyfnvls yrslgncsff tetg
TIGIT яванської макаки/макаки- резусу	32	mrwclliwa qglrqaplas gmmgtgiett gnisakkggs vilqchlsst maqvtqvnwe qhdhslair naelgwhiyp afkdrvapgp glgtlqslt mndtgeyfet yhtypdgyr griflevles svaehsarfq ipllgamamm lviciaviv vvvlarckks

		lrihsvesgl qrkstgqeeq ipsapsppgs cvqaeapag lcgeqqgddc aelhdyfnvl syrslgscsf ftetg
Важкий ланцюг пембrolізумабу	33	QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNY YMYWVRQAPGQGLEWMGGINPSNGGTNFNEK FKNRVTLTTDSSTTTAYMELKSLQFDDTAVYYC ARRDYRFDMGFDYWGQGTITVTVSSASTKGPSV FPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL GTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPC PAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK GLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLGLK
Легкий ланцюг пембrolізумабу	34	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGY SYLHWYQQKPGQAPRLLIYLA SYLESGVPARFS GSGSGTDFLTITSSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLT FGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV TEQDSKDSYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC
Важкий ланцюг ніволумабу	35	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSG MHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSKRYYADS VKGRFTISRDN SKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYC ATNDDYWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSR STSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTKTYTC NVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQED PEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRV

		VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKT ISKAKGQPPEPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSLGK
Легкий ланцюг ніволумабу	36	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLA WYQQKPGQAPRLLIYDASNRTGIPARFSGSGS GTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQSSNWPRTFGQG TKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC
16AHA_tigit_14a 6_гуманізований _VH1 LB155.14A6.G2. A8_VH1	37	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGSSIADYW <u>G</u> WIRQPPGKGLEWIGFITYSGSTSYNPSLKSRVTI SVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMPSFI <u>TLASLSTWEGYFDFWGQGTMTVTVSS</u>
18AHA_tigit_14a 6_гуманізований _VH2 LB155.14A6.G2. A8_VH2	38	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGSSIADYW <u>G</u> WIRQPPGKGLEWIGFITYSGSTSYNPSLKSRVTI SRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMPSFI <u>TLASLSTWEGYFDFWGQGTMTVTVSS</u>
20AHA_tigit_14a 6_гуманізований _VH3 LB155.14A6.G2. A8_VH3	39	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGSSIADYW <u>G</u> WIRKPPGKGLEWIGFITYSGSTSYNPSLKSRVTI SRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMPSFI <u>TLASLSTWEGYFDFWGQGTMTVTVSS</u>
21AHA_tigit_14a	40	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGSSIADYW

6_гуманізований _VH4 LB155.14A6.G2. A8_VH4		<u>GWIRQPPGKKLEWIGFITYSGSTSYNPSLKSRVTI</u> <u>SRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMPSFI</u> <u>TLASLSTWEGYFDFWGQGTMTVTVSS</u>
19AHA_tigit_14a 6_гуманізований _VH5 LB155.14A6.G2. A8_VH5	41	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGSSIASDYW <u>GWIRQPPGKGMEWIGFITYSGSTSYNPSLKSRVT</u> <u>ISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMPSFI</u> <u>TLASLSTWEGYFDFWGQGTMTVTVSS</u>
22AHA_tigit_14a 6_гуманізований _VH6 LB155.14A6.G2. A8_VH6	42	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGSSIASDYW <u>GWIRKPPGKKMEWIGFITYSGSTSYNPSLKSRVT</u> <u>ISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMPSFI</u> <u>TLASLSTWEGYFDFWGQGTMTVTVSS</u>
23AHA_tigit_14a 6_гуманізований _VH7 LB155.14A6.G2. A8_VH7	43	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGSSIASDYW <u>GWIRQPPGKGLEWIGFITYSGSTSYNPSLKSRVTI</u> <u>SRDTSKNQFSLKLSSVTADDTAVYYCARMPSFI</u> <u>TLASLSTWEGYFDFWGQGTMTVTVSS</u>
24AHA_tigit_14a 6_гуманізований _VH8 LB155.14A6.G2. A8_VH8	44	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGSSIASDYW <u>GWIRKPPGKKMEWIGFITYSGSTSYNPSLKSRVT</u> <u>ISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMPSFI</u> <u>TLASLSTWEGYFDFWGQGTMTVTVSS</u>
25AHA_tigit_14a 6_гуманізований _VH9 LB155.14A6.G2.	45	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCSVTGSSIASDYW <u>GWIRQPPGKGLEWIGFITYSGSTSYNPSLKSRVTI</u> <u>SRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMPSFI</u> <u>TLASLSTWEGYFDFWGQGTMTVTVSS</u>

A8_VH9		
26AHA_tigit_14a 6_гуманізований _VH10 LB155.14A6.G2. A8_VH10	46	EVQLQQSGAGLLKPSETLSLTCSVTGSSIASDYW <u>G</u> WIRQPPGKGLEWIGFITYSGSTSYNPSLKSRVTI SVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMPSFI <u>TLASLSTWEGYFDF</u> WGQGTMTVTVSS
27AHA_tigit_14a 6_гуманізований _VH11 LB155.14A6.G2. A8_VH11	47	EVQLQESGPGLVKPPGTLSLTCSVTGSSIASDYW <u>G</u> WVRQPPGKGLEWIGFITYSGSTSYNPSLKSRV TISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMPS <u>FITLASLSTWEGYFDF</u> WGQGTMTVTVSS
09AHA_tigit_14a 6_гуманізований _VL1 LB155.14A6.G2. A8_VL1	48	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSIHKNLA WYQQKPGKAPKLLIYYANSLQTGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQYYSGWTFGGG TKVEIK
11AHA_tigit_14a 6_гуманізований _VL2 LB155.14A6.G2. A8_VL2	49	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSIHKNLA WYQQKPGKAPKFLIYYANSLQTGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQYYSGWTFGGG TKVEIK
12AHA_tigit_14a 6_гуманізований _VL3 LB155.14A6.G2. A8_VL3	50	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSIHKNLA WYQQKPGKAPKLLIYYANSLQTGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYFCQYYSGWTFGGG TKVEIK
13AHA_tigit_14a	51	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSIHKNLA

6_гуманізований _VL4 LB155.14A6.G2. A8_VL4		WYQQKPGKAPKFLIYY <u>ANSLQT</u> GVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYFC <u>QQYYSGWTF</u> GGG TKVEIK
15AHA_tigit_14a 6_гуманізований _VL5 LB155.14A6.G2. A8_VL5	52	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQSIHK NLA WYQQKPGKAPKLLIYY <u>ANSLQT</u> GIPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYC <u>QQYYSGWTF</u> GGG TKVEIK
Лідерна послідовність важких ланцюгів	53	MEWSWVFLFFLSVTTGVHS
Лідерна послідовність легких ланцюгів	54	MSVPTQVLGLLLLWLT DARC
Константний домен важкого ланцюга - IgG4, S228P	55	TKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVV TVPSSSLGKTYTCNV DH KPSNTKVDKRVESKY GPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT EVTCTVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEG NVFSCSV M HEALHNHYTQKSLSLSLGK
Константний домен легкого ланцюга каппа	56	VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLN N FYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC

28H5 H - CDR1	57	GYSITSDYAWN
28H5 H - CDR2	58	YISNSGSASYNPSLKS
28H5 H - CDR3	59	LIYYDYGGAMNF
28H5 L - CDR1	60	KASQGVSTTV
28H5 L - CDR2	61	SASYRYT
28H5 L - CDR3	62	QHYYSTPWT
28H5 ВІХІДНА VH	63	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDYA WNWIRQFPGNKLEWMGYISNSGSASYNPSLKS RISITRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCATLIY YDYGGAMNFWGQGTSVTVSS
28H5 ВІХІДНА VL	64	DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQGVSTTV AWYQQKPGQSPKLLIYSASYRYTGVPDRFTGSG SGTDFTFTISSVQSEDLAVYYCQHYYSTPWTFG GGTKLEIK
14H6 L - варіант CDR2	65	YASNLQT
14H6 L - варіант CDR2	65	YASSLQT
14H6 L - варіант CDR2	67	YASTLQT
14H6 L - варіант CDR2	68	YATTLQT
14H6 L - варіант CDR2	69	YASYLQT
14H6 L - варіант CDR2	70	YANQLQT
14H6 L - варіант CDR2	71	YAGSLQT
14H6 L - варіант CDR2	72	YASQLQT
14H6 L - варіант	73	YADSLQT

CDR2		
14H6 L - варіант CDR3	74	QQYYSGFT
14H6 L - варіант CDR3	75	QQYYSGYT
14H6 L - варіант CDR3	76	QQYYSGIT
14H6 L - варіант CDR3	77	QQYYSGVT
14H6 L - варіант CDR3	78	QQYYSGLT
14H6 H - варіант CDR3	79	MPSFITLASLSTFEGYFDF
14H6 H - варіант CDR3	80	MPSFITLASLSTYEGYFDF
14H6 H - варіант CDR3	81	MPSFITLASLSTIEGYFDF
14H6 H - варіант CDR3	82	MPSFITLASLSTVEGYFDF
14H6 H - варіант CDR3	83	MPSFITLASLSTLEGYFDF
Нуклеїнова кислота, яка кодує вихідну VH 28H5	84	GATGTGCAGCTTCAGGAGTCGGGACCTGGCCT GGTGAAACCTTCTCAGTCTCTGTCCCTCACCT GCACTGTCACTGGCTACTCAATCACCAGTGAT TATGCCTGGAAGTGGATCCGACAGTTTCCAGG AAACAAACTGGAGTGGATGGGCTACATAAGC AACAGTGGTAGCGCTAGCTACAACCCATCTCT CAAAAGTCGCATCTCTATCACTCGAGACACAT CCAAGAACCAGTTCTTCCTGCAGTTGAATTCT GTGACTACTGAGGACACAGCCACATATTACTG TGCAACCCTGATCTACTATGATTACGGGGGGG CTATGAACTTCTGGGGTCAAGGAACCTCAGTC

		ACCGTCTCCTCA
Нуклеїнова кислота, яка кодує вихідну VL 28H5	85	GACATTGTGATGACCCAGTCTCACAAATTCAT GTCCACATCAGTAGGAGACAGGGTCAGCATC ACCTGCAAGGCCAGTCAGGGTGTGAGTACTA CTGTGGCCTGGTATCAACAGAAACCAGGACA ATCTCCTAACTACTGATTTACTCGGCATCCT ACCGGTACACTGGAGTCCCTGATCGCTTCACT GGCAGTGGATCTGGGACGGATTTCACTTTCAC CATCAGCAGTGTGCAGTCTGAAGACCTGGCA GTTTATTACTGTCAGCATTATTATAGTACTCC GTGGACGTTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAA ATCAAA
Константний домен важкого ланцюга - IgG1	86	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG K
hTIGIT-HIS	87	gtiett gnisaekggs iilqchlsst taqvtqvnwe qdqllaicn adlgwhisps fkdrvapggp lgltlqsltv ndtgeyfcy htypdgytg riflevless vachgarfqi pllga hhhhhhhhhggq
31C6 H -CDR1	88	SYVMH
31C6 H -CDR2	89	YIDPYNDGAKYNEKFKG
31C6 H -CDR3	90	GGPYGWYFDV
31C6 L - CDR1	91	RASEHIYSYLS
31C6 L - CDR2	92	NAKTLAE

31C6 L - CDR3	93	QH HFGSPLT
31C6 ВИХІДНА VH (з підкресленими CDR)	94	EVQLQQSGPELVKPGSSVKMSCKASGYTFSSYV <u>MHWVKQKPGQGLEWIGYIDPYNDGAKYNEKF</u> <u>KGKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCA</u> <u>RGGPYGWYFDVWGAGTTVTVSS</u>
31C6 ВИХІДНА VL (з підкресленими CDR)	95	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASEHIYSYLS WYQQKQKGKSPQLLVYNAKTLAEGVPSRFSGSG SGTQFSLKINSLQPEDFGTYYCQH HFGSPLTFGA GTTLELK
31C6 H - BAPIAHT CDR2 (D56R)	96	YIDPYNrGAKYNEKFG
31C6 H - BAPIAHT CDR2 (D56L)	97	YIDPYNIGAKYNEKGF
31C6 H - BAPIAHT CDR2 (D56K)	98	YIDPYNkGAKYNEKFG
31C6 H - BAPIAHT CDR2 (D56F)	99	YIDPYNfGAKYNEKFG
31C6 H - BAPIAHT CDR2 (D56S)	100	YIDPYNsGAKYNEKFG
31C6 H - BAPIAHT CDR2 (D56Y)	101	YIDPYNyGAKYNEKFG
31C6 H - BAPIAHT CDR2	102	YIDPYNvGAKYNEKFG

(D56V)		
31C6 H - BAPIAHT CDR2 (G57R)	103	YIDPYND _r AKYNEKFKG
31C6 H - BAPIAHT CDR2 (G57N)	104	YIDPYNDNAKYNEKFKG
31C6 H - BAPIAHT CDR2 (G57Q)	105	YIDPYND _q AKYNEKFKG
31C6 H - BAPIAHT CDR2 (G57E)	106	YIDPYND _e AKYNEKFKG
31C6 H - BAPIAHT CDR2 (G57 л)	107	YIDPYNDIAKYNEKFKG
31C6 H - BAPIAHT CDR2 (G57K)	108	YIDPYND _k AKYNEKFKG
31C6 H - BAPIAHT CDR2 (G57S)	109	YIDPYND _s AKYNEKFKG
31C6 H - BAPIAHT CDR2 (G57Y)	110	YIDPYND _y AKYNEKFKG
31C6 H - BAPIAHT CDR2 (G57V)	111	YIDPYND _v AKYNEKFKG
31C6 L - варіант CDR2 (N50A)	112	AAKTLAE
31C6 L - варіант CDR2 (N50Y)	113	YAKTLAE

31C6 L - варіант CDR2 (N50W)	114	WAKTLAE
31C6 L - варіант CDR2 (N50S)	115	SAKTLAE
31C6 L - варіант CDR2 (N50T)	116	TAKTLAE
31C6 L - варіант CDR2 (N50I)	117	IAKTLAE
31C6 L - варіант CDR2 (N50V)	118	VAKTLAE
31C6 L - варіант CDR2 (A51N)	119	NNKTLAE
31C6 L - варіант CDR2 (A51I)	120	NIKTLAE
31C6 L - варіант CDR2 (A51L)	121	NLLTLAE
31C6 L - варіант CDR2 (A51T)	122	NTKTLAE
31C6 L - варіант CDR2 (A51V)	123	NVKTLAE
31C6_HUMZ_V H1 (з підкресленими CDR)	124	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSSY <u>VMH</u> WVRQAPGQRLEWIGYIDPYNDGAKYSQK <u>FQGR</u> VTLTRDTSASTAYMELSSLRSED ⁺ AVYYC ARGGPYGWYFDVWGQGTTVTVSS
31C6_HUMZ_V H2 (з підкресленими CDR)	125	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSSY <u>VMH</u> WVRQAPGQRLEWIGYIDPYNDGAKYSQK <u>FQGR</u> VTLTSDKSASTAYMELSSLRSED ⁺ AVYYC ARGGPYGWYFDVWGQGTTVTVSS
31C6_HUMZ_V H3 (з	126	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSSY <u>VMH</u> WVRQAPGQGLEWIGYIDPYNDGAKYAQK

підкресленими CDR)		<u>FQGRVTLTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYC</u> <u>ARGGPYGWYFDVWGQGTTVTVSS</u>
31C6_HUMZ_V H4 (з підкресленими CDR)	127	<u>EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSSY</u> <u>VMHWVRQAPGQGLEWIGYIDPYNDGAKYAQK</u> <u>FQGRVTLTSDKSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYC</u> <u>ARGGPYGWYFDVWGQGTTVTVSS</u>
31C6_HUMZ_V H5 (з підкресленими CDR)	128	<u>EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSYV</u> <u>MHWVRQAPGQGLEWIGYIDPYNDGAKYAQKF</u> <u>QGRVTLTSDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCA</u> <u>RGGPYGWYFDVWGQGTTVTVSS</u>
31C6_HUMZ_V H6 (з підкресленими CDR)	129	<u>EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSSY</u> <u>VMHWVRQAPGQGLEWIGYIDPYNDGAKYAQK</u> <u>FQGRVTLTSDKSISTAYMELSLRSDDTVVYYC</u> <u>ARGGPYGWYFDVWGQGTTVTVSS</u>
31C6_Humz_L1 (з підкресленими CDR)	130	<u>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASEHIYSYLS</u> <u>WYQQKPGKAPKLLIYNAKTLAEGVPSRFSGSGS</u> <u>GTDFLTISLQPEDFATYYCQH HFGSPLTFGQG</u> <u>TRLEIK</u>
31C6_Humz_L2 (з підкресленими CDR)	131	<u>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASEHIYSYLS</u> <u>WYQQKPGKAPKLLIYNAKTLAEGVPSRFSGSGS</u> <u>GTQFTLTISLQPEDFATYYCQH HFGSPLTFGQG</u> <u>TRLEIK</u>
31C6_Humz_L3 (з підкресленими CDR)	132	<u>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASEHIYSYLS</u> <u>WYQQKPGKVPKLLIYNAKTLAEGVPSRFSGSGS</u> <u>GTDFLTISLQPEDVATYYCQH HFGSPLTFGQG</u> <u>TRLEIK</u>
31C6_Humz_L4 (з підкресленими CDR)	133	<u>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASEHIYSYLS</u> <u>WYQQKPGKVPKLLIYNAKTLAEGVPSRFSGSGS</u> <u>GTQFTLTISLQPEDVATYYCQH HFGSPLTFGQG</u>

		TRLEIK
31C6 H - варіант CDR2	134	YIDPYNDGAKYAQKFQG
31C6 H - варіант CDR2	135	YIDPYNDGAKYSQKFQG
18G10 - послідовність VH	136	QVQLMESGPGLVQPSQTLSTCTVSGFPLTSYT VHWVRQPPGKGLEWIGAIWSSGSTDYNSALKS RLNINRDSSKSQVFLKMNSLQTEDTAIFYCTKSG WAFFDYWGQGVMVTVSS
18G10 - послідовність VL	137	DIQMTQSPSLLSASVGDRVTLNCLASQNIYKSLA WYQLKLGEAPKLLIYNANSLQAGIPSRFSGSGS GTDFALTISGLQPEDVATYFCQQYSGGYTFGAG TKLELK
11A11 - послідовність VH	138	EVQLVESGGDLVQPGRSLKISCVASGFTFSDYY MAWVRLAPQKGLEWVASISYEGSRTHYGDSVR GRFIISRDNPKNILYLQMNSLGSEDTATYFCARH TGTLDWL VYWGQGLVIVSS
11A11 - послідовність VL	139	NIVMAQSPKSMSSISAGDRVTMNCKASQNVDDN IAWYQQKPGQSPKLLIFYASNRYSGVPDRFTGG GYGTDFTLTIKSVQAEDAAFYYCQRIYNFPTFGS GTKLEIK
14A6 H - КОНЦЕНТУС CDR3	140	MPSFITLASLSTXEGYFDF X=W, F, Y, I, V, L
14A6 L - КОНЦЕНТУС CDR2	141	YAX ₁ X ₂ LQT X ₁ =N, S, T, G, D X ₂ =S, N, S, T, Y, Q
14A6 L - КОНЦЕНТУС CDR3	142	QQYYSGXT X=W, F, Y, I, V, L

14A6 КОНСЕНСУСН А ВИХІДНА VH	143	<p>EVQLQX₁SGX₂ GLX₃KPX₄X₅X₆LSLTCX₇VX₈ GX₃₀SIX₃₁<u>SDYWG</u>WX₉RX₁₀X₁₁PGX₁₂X₁₃X₁₄EWX₁₅ <u>GFITYSGSTSYNPSLKSRX</u>₁₆X₁₇IX₁₈X₁₉DTSKNQF X₂₀LX₂₁LX₂₂SVTX₂₃X₂₄DTAX₂₅Y X₂₆<u>CARMP</u>SFITLASLSTX₂₇<u>EGYFDF</u>WGX₃₂ GTX₂₈X₂₉TVSS</p> <p>X₁=E або Q X₂=P або A X₃=V або L X₄=S або P X₅=Q або E або G X₆=S або T X₇=S або T або A X₈=T або S X₉=I або V X₁₀=K або Q X₁₁=F або P X₁₂=N або K X₁₃=K або G X₁₄=M або L X₁₅=M або I X₁₆=I або V X₁₇=S або T X₁₈=T або S X₁₉=R або V X₂₀=F або S X₂₁=Q або K X₂₂=H або S X₂₃=T або A X₂₄=D або A X₂₅=T або V X₂₆=S або Y,</p>
------------------------------------	-----	--

		<p>X₂₇=W, F, Y, I, V або L</p> <p>X₂₈=M, V, L, A, R, N, P, Q, E, G, I, H, K, F, S, T, W або Y</p> <p>X₂₉=V, T або L</p> <p>X₃₀=S або G або Y</p> <p>X₃₁=A або S</p> <p>X₃₁=P або Q</p>
<p>14A6</p> <p>КОНЦЕПТУЧА</p> <p>ГУМАНІЗОВАНА</p> <p>VH</p>	144	<p>EVQLQX₁SGX₂ GLX₃KPX₄X₅TLSLTCX₆VX₇</p> <p>GX₈SIX₉SDYWGWX₁₀RX₁₁X₁₂PGKX₁₃X₁₄EWX₁₅</p> <p>GFITYSGSTSYNPSLKSRX₁₆TISX₁₇DTSKNQFSLK</p> <p>LX₁₈SVTAX₁₉DTAVYYCARMPSFITLASLSTX₂₀<u>E</u></p> <p><u>GYFDEFWGQGT</u>X₂₁X₂₂TVSS</p> <p>X₁=E або Q</p> <p>X₂=P або A</p> <p>X₃=V або L</p> <p>X₄=S або P</p> <p>X₅=E або G</p> <p>X₆=T або A або S</p> <p>X₇=S або T</p> <p>X₈=G або S або Y</p> <p>X₉=S або A</p> <p>X₁₀=I або V</p> <p>X₁₁=Q або K</p> <p>X₁₂=P або F</p> <p>X₁₃=G або K</p> <p>X₁₄=L або M</p> <p>X₁₅=I або M</p> <p>X₁₆=V або I</p> <p>X₁₇=V або R</p> <p>X₁₈=S або H</p> <p>X₁₉=A або D</p> <p>X₂₀=W, F, Y, I, V, L</p>

		<p>X₂₁=M, V, L, A, R, N, P, Q, E, G, I, H, K, F, S, T, W або Y</p> <p>X₂₂=V, T або L</p>
<p>14A6</p> <p>КОНСЕНСУСНА ВИХІДНА VL</p>	145	<p>DIQMTQSPSX₁LSASVGDRVTX₂X₃<u>CKASQSIHKN</u> <u>L</u>AWYQQKX₄ GX₅X₁₅PKX₆LIYYAX₇X₈<u>LOTGX</u>₉PSRFSGSGSGTD FTLTISX₁₀LQPEDX₁₁ATYX₁₂<u>CQQYYSGX</u>₁₃TFGG GTKVEX₁₄K</p> <p>X₁=L або S</p> <p>X₂=L або I</p> <p>X₃=N або T</p> <p>X₄=L або P</p> <p>X₅=E або K</p> <p>X₆=F або L</p> <p>X₇=N, S, T, G або D</p> <p>X₈=S, N, T, Y або Q</p> <p>X₉=I або V</p> <p>X₁₀=G або S</p> <p>X₁₁=V або F</p> <p>X₁₂=F або Y</p> <p>X₁₃=W, F, Y, I, V або L</p> <p>X₁₄=L або I</p> <p>X₁₅=A або V</p>
<p>14A6</p> <p>КОНСЕНСУСНА ГУМАНІЗОВАНА VL</p>	146	<p>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTITCKASQSIHKNLA WYQQKPGKX₆PKX₁LIYYAX₂X₃<u>LQTGX</u>₄PSRFSG SGSGTDFTLTISLQPEDX₇ATYYC<u>CQQYYSGX</u>₅TF GGGTKVEIK</p> <p>X₁=L або F</p> <p>X₂=N, S, T, G або D</p> <p>X₃=S, N, T, Y або Q</p> <p>X₄=V або I</p> <p>X₅=W, F, Y, I, V або L</p>

		<p>X₆=A або V</p> <p>X₇=F або V</p>
31C6 H - КОНСЕНСУС CDR2	147	<p>YIDPYNX₁X₂AKYX₃X₄KFX₅ G</p> <p>X₁=D, R, L, K, F, S, Y або V</p> <p>X₂=G, R, N, Q, E, L K, S, Y або V</p> <p>X₃=N, A або S</p> <p>X₄=E або Q</p> <p>X₅=K або Q</p>
31C6 L - КОНСЕНСУС CDR2	148	<p>X₁X₂KTLAE</p> <p>X₁=N, A, V, W, S, T, R, H G, I або V</p> <p>X₂=A, N, I, L, T або V</p>
31C6 КОНСЕНСУСНА ВИХІДНА VH	149	<p>EVQLX₁QSGX₂EX₃X₄KPGX₅SVKX₆SCKASGYTF</p> <p><u>SSYVMHWVX₇QX₈PGQX₉LEWIGYIDPYN</u></p> <p><u>X₁₀X₁₁AKYX₁₂X₁₃KFX₁₄</u></p> <p><u>GX₁₅X₁₆TLTX₁₇DX₁₈SX₁₉STX₂₀YMELSX₂₁LX₂₂SX₂₃</u></p> <p><u>DX₂₄X₂₅VYYCARGGPYGX₂₆YFDVWGX₂₇</u></p> <p>GTTVTVSS</p> <p>X₁=Q або V</p> <p>X₂=P або A</p> <p>X₃=V або L</p> <p>X₄=V або K</p> <p>X₅=S або A</p> <p>X₆=M або V</p> <p>X₇=K або R</p> <p>X₈=K або A</p> <p>X₉=G або R</p> <p>X₁₀=D, R, L, K, F, S, Y або V</p> <p>X₁₁=G, R, N, Q, E, L K, S, Y або V</p> <p>X₁₂=N, A або S</p> <p>X₁₃=E або Q</p> <p>X₁₄=K або Q</p> <p>X₁₅=R або K</p>

		<p> $X_{16}=A$ або V $X_{17}=S$ або R $X_{18}=K$ або T $X_{19}=S, I, A$ або T $X_{20}=A$ або V $X_{21}=R$ або S $X_{22}=T$ або R $X_{23}=D$ або E $X_{24}=S$ або T $X_{25}=A$ або V $X_{26}=W, A, D, E, F, G, I, K, N, Q, R, S, T, V$ або Y $X_{27}=A$ або Q </p>
<p>31C6</p> <p>КОНЦЕНТРАЦІЯ ГІДРОГЕНУ ВН</p>	150	<p> <u>EVQLVQSGAEVKKPGX₁SVKVSCKASGYTFSSY</u> <u>VMHWVRQAPGQX₂LEWIG</u> <u>YIDPYNX₃X₄AKYX₅X₅KFX₇</u> <u>GRVTLTX₈DX₉SX₁₀STX₁₁YMELSX₁₂LRSX₁₃DT</u> <u>X₁₄VYYCARGGPYGX₁₅YFDVWGQGTTVTVSS</u> $X_1=A$ або S $X_2=R$ або G $X_3=D, R, L, K, F, S, Y$ або V $X_4=G, R, N, Q, E, L, K, S, Y$ або V $X_5=N, A$ або S $X_6=E$ або Q $X_7=K$ або Q $X_8=R$ або S $X_9=T$ або K $X_{10}=A, T$ або I $X_{11}=A$ або V $X_{12}=S$ або R $X_{13}=E$ або D $X_{14}=A$ або V $X_{15}=W, A, D, E, F, G, I, K, N, Q, R, S, T, V$ або Y </p>

31C6 КОНСЕНСУСНА ВИХІДНА VL	151	DIQMTQSPX ₁ SLASVGX ₂ X ₃ VTITCRASEHIYSYL <u>SWYQQKX₄</u> GKX ₅ PX ₆ LLX ₇ YX ₈ X ₉ <u>KTLA</u> EGVPSRFSGSGSGTX ₁ ₀ FX ₁₁ LX ₁₂ IX ₁₃ SLQPEDX ₁₄ X ₁₅ TYYCQHHFGSPLTF GX ₁₆ GTX ₁₇ LEX ₁₈ K X ₁ =A або S X ₂ =E або D X ₃ =T або R X ₄ =Q або P X ₅ =S, A або V X ₆ =Q або K X ₇ =V або I X ₈ =N, A, Y, W, S, T, I або V X ₉ =A, N, I, L, T або V X ₁₀ =Q або D X ₁₁ =S або T X ₁₂ =K або T X ₁₃ =N або S X ₁₄ =F або V X ₁₅ =G або A X ₁₆ =A або Q X ₁₇ =T або R X ₁₈ =L або I
31C6 L - КОНСЕНСУСНА ГУМАНІЗОВАНА VL	152	DIQMTQSPSSLASVGDRVITITCRASEHIYSYLS WYQQKPGKX ₁ PKLLIY <u>X₂X₃KTLA</u> EGVPSRFSGSGSGTX ₄ FTLTISLQPED X ₅ ATYYCQHHFGSPLTFGQGTRLEIK X ₁ =A або V X ₂ =N, A, W, W, S, T, I або V X ₃ =A, N, I, L, T або V X ₄ =D або Q X ₅ =F або V

31C6 H - KOHCEHCYC CDR3	153	GGPYGXYFDV X ₁₅ =W, A, D, E, F, G, I, K, N, Q, R, S, T, V a6o Y
31C6 H - BAPIAHT CDR3	154	GGPYGAYFDV
31C6 H - BAPIAHT CDR3	155	GGPYGDYFDV
31C6 H - BAPIAHT CDR3	156	GGPYGEYFDV
31C6 H - BAPIAHT CDR3	157	GGPYGFYFDV
31C6 H - BAPIAHT CDR3	158	GGPYGGYFDV
31C6 H - BAPIAHT CDR3	159	GGPYGIYFDV
31C6 H - BAPIAHT CDR3	160	GGPYGKYFDV
31C6 H - BAPIAHT CDR3	161	GGPYGNYFDV
31C6 H - BAPIAHT CDR3	162	GGPYGQYFDV
31C6 H - BAPIAHT CDR3	163	GGPYGRYFDV
31C6 H - BAPIAHT CDR3	164	GGPYGSYFDV
31C6 H - BAPIAHT CDR3	165	GGPYGTYFDV
31C6 H - BAPIAHT CDR3	166	GGPYGVYFDV
31C6 H - BAPIAHT CDR3	167	GGPYGYFDV

ПЕРЕЛІК ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

<110> WILLIAMS, SYBIL M. G.
 LAFACE, DRAKE
 FAYADAT-DILMAN, LAURENCE
 RAGHUNATHAN, GOPALAN
 LIANG, LINDA
 SEGHEZZI, WOLFGANG

<120> АНТИТІЛА ПРОТИ TIGIT

<130> 23808-US-PCT

<140>
 <141>

<150> 62/126,733
 <151> 2015-03-02

<150> 62/038,912
 <151> 2014-08-19

<160> 167

<170> PatentIn версії 3.5

<210> 1
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> штучна послідовність

<220>
 <223> опис штучної послідовності: синтетичний
 пептид CDR

<400> 1
 Ser Asp Tyr Trp Gly
 1 5

<210> 2
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> штучна послідовність

<220>
 <223> опис штучної послідовності: синтетичний
 пептид CDR

<400> 2
 Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
 1 5 10 15

<210> 3
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> штучна послідовність

<220>
 <223> опис штучної послідовності: синтетичний
 пептид CDR

<400> 3
 Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly Tyr
 1 5 10 15

Phe Asp Phe

<210> 4
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> штучна послідовність

<220>
 <223> опис штучної послідовності: синтетичний
 пептид CDR

<400> 4
 Lys Ala Ser Gln Ser Ile His Lys Asn Leu Ala
 1 5 10

<210> 5
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> штучна послідовність

<220>
 <223> опис штучної послідовності: синтетичний
 пептид CDR

<400> 5
 Tyr Ala Asn Ser Leu Gln Thr
 1 5

<210> 6
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
пептид CDR

<400> 6

Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Trp Thr
1 5

<210> 7

<211> 127

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 7

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

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

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Lys Phe Pro Gly Asn Lys Met Glu Trp Met
35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

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

Gln Leu His Ser Val Thr Thr Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Ser Cys Ala
85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Pro Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 8

<211> 106

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 8

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

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

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

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

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

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

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

<210> 9

<211> 127

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид ланцюга гуманізованого антитіла

<400> 9

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

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

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

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

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

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
100 105 110

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

<210> 10

<211> 127

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид ланцюга гуманізованого антитіла

<400> 10

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

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

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

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

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

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
100 105 110

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

<210> 11

<211> 127

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид ланцюга гуманізованого антитіла

<400> 11

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

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

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

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

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

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

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
100 105 110

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

<210> 12
 <211> 127
 <212> PRT
 <213> штучна послідовність

<220>
 <223> опис штучної послідовності: синтетичний
 поліпептид ланцюга гуманізованого антитіла

<400> 12
 Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
 1 5 10 15

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

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

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
 50 55 60

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

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

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
 100 105 110

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

<210> 13
 <211> 127
 <212> PRT
 <213> штучна послідовність

<220>
 <223> опис штучної послідовності: синтетичний
 поліпептид ланцюга гуманізованого антитіла

<400> 13

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

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

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

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

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

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
100 105 110

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

<210> 14
<211> 127
<212> PRT
<213> штучна послідовність

<220>
<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид ланцюга гуманізованого антитіла

<400> 14
Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

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

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

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

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

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

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
100 105 110

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

<210> 15
<211> 127
<212> PRT
<213> штучна послідовність

<220>
<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид ланцюга гуманізованого антитіла

<400> 15
Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

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

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

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

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

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

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
100 105 110

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

<210> 16

<211> 127

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид ланцюга гуманізованого антитіла

<400> 16

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

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

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

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Ile Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

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

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
100 105 110

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

<210> 17
 <211> 127
 <212> PRT
 <213> штучна послідовність

<220>
 <223> опис штучної послідовності: синтетичний
 поліпептид ланцюга гуманізованого антитіла

<400> 17
 Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
 1 5 10 15

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

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

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
 50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
 65 70 75 80

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

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
 100 105 110

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

<210> 18
 <211> 127
 <212> PRT
 <213> штучна послідовність

<220>
 <223> опис штучної послідовності: синтетичний
 поліпептид ланцюга гуманізованого антитіла

<400> 18

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

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

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

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

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

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
100 105 110

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

<210> 19

<211> 127

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид ланцюга гуманізованого антитіла

<400> 19

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

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

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

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

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

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

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
100 105 110

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

<210> 20

<211> 127

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид ланцюга гуманізованого антитіла

<400> 20

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

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

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

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

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

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

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
100 105 110

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

<210> 21

<211> 127

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид ланцюга гуманізованого антитіла

<400> 21

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

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

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

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

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

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
100 105 110

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

<210> 22
 <211> 127
 <212> PRT
 <213> штучна послідовність

<220>
 <223> опис штучної послідовності: синтетичний
 поліпептид ланцюга гуманізованого антитіла

<400> 22
 Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
 1 5 10 15

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

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

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
 50 55 60

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

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

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
 100 105 110

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

<210> 23
 <211> 127
 <212> PRT
 <213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид ланцюга гуманізованого антитіла

<400> 23

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

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

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

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

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

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

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
100 105 110

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

<210> 24

<211> 127

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид ланцюга гуманізованого антитіла

<400> 24

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

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

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

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

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

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

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
100 105 110

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

<210> 25
<211> 106
<212> PRT
<213> штучна послідовність

<220>
<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид ланцюга гуманізованого антитіла

<400> 25
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

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

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

Tyr Tyr Ala Asn Ser Leu Gln Thr 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 Gly Trp Thr
85 90 95

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

<210> 26

<211> 106

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид ланцюга гуманізованого антитіла

<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 Lys Ala Ser Gln Ser Ile His Lys Asn
20 25 30

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

Tyr Tyr Ala Asn Ser Leu Gln Thr 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 Gly Trp Thr
85 90 95

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

<210> 27

<211> 106

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид ланцюга гуманізованого антитіла

<400> 27

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

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

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

Tyr Tyr Ala Asn Ser Leu Gln Thr Gly Ile 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 Gly Trp Thr
85 90 95

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

<210> 28

<211> 106

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид ланцюга гуманізованого антитіла

<400> 28

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

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

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

Tyr Tyr Ala Asn Ser Leu Gln Thr 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 Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Trp Thr
85 90 95

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

<210> 29

<211> 106

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид ланцюга гуманізованого антитіла

<400> 29

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

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

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

Tyr Tyr Ala Asn Ser Leu Gln Thr 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 Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Trp Thr
85 90 95

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

<210> 30

<211> 106

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид ланцюга гуманізованого антитіла

<400> 30

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

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

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

Tyr Tyr Ala Asn Ser Leu Gln Thr Gly Ile 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 Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Trp Thr
85 90 95

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

<210> 31

<211> 244

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 31

Met	Arg	Trp	Cys	Leu	Leu	Leu	Ile	Trp	Ala	Gln	Gly	Leu	Arg	Gln	Ala	1	5	10	15
Pro	Leu	Ala	Ser	Gly	Met	Met	Thr	Gly	Thr	Ile	Glu	Thr	Thr	Gly	Asn	20	25	30	
Ile	Ser	Ala	Glu	Lys	Gly	Gly	Ser	Ile	Ile	Leu	Gln	Cys	His	Leu	Ser	35	40	45	
Ser	Thr	Thr	Ala	Gln	Val	Thr	Gln	Val	Asn	Trp	Glu	Gln	Gln	Asp	Gln	50	55	60	
Leu	Leu	Ala	Ile	Cys	Asn	Ala	Asp	Leu	Gly	Trp	His	Ile	Ser	Pro	Ser	65	70	75	80
Phe	Lys	Asp	Arg	Val	Ala	Pro	Gly	Pro	Gly	Leu	Gly	Leu	Thr	Leu	Gln	85	90	95	
Ser	Leu	Thr	Val	Asn	Asp	Thr	Gly	Glu	Tyr	Phe	Cys	Ile	Tyr	His	Thr	100	105	110	
Tyr	Pro	Asp	Gly	Thr	Tyr	Thr	Gly	Arg	Ile	Phe	Leu	Glu	Val	Leu	Glu	115	120	125	
Ser	Ser	Val	Ala	Glu	His	Gly	Ala	Arg	Phe	Gln	Ile	Pro	Leu	Leu	Gly	130	135	140	
Ala	Met	Ala	Ala	Thr	Leu	Val	Val	Ile	Cys	Thr	Ala	Val	Ile	Val	Val	145	150	155	160
Val	Ala	Leu	Thr	Arg	Lys	Lys	Lys	Ala	Leu	Arg	Ile	His	Ser	Val	Glu	165	170	175	
Gly	Asp	Leu	Arg	Arg	Lys	Ser	Ala	Gly	Gln	Glu	Glu	Trp	Ser	Pro	Ser	180	185	190	
Ala	Pro	Ser	Pro	Pro	Gly	Ser	Cys	Val	Gln	Ala	Glu	Ala	Ala	Pro	Ala	195	200	205	

Gly Leu Cys Gly Glu Gln Arg Gly Glu Asp Cys Ala Glu Leu His Asp
 210 215 220

Tyr Phe Asn Val Leu Ser Tyr Arg Ser Leu Gly Asn Cys Ser Phe Phe
 225 230 235 240

Thr Glu Thr Gly

<210> 32
 <211> 245
 <212> PRT
 <213> *Macaca fascicularis*

<400> 32
 Met Arg Trp Cys Leu Phe Leu Ile Trp Ala Gln Gly Leu Arg Gln Ala
 1 5 10 15

Pro Leu Ala Ser Gly Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn
 20 25 30

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

Ser Thr Met Ala Gln Val Thr Gln Val Asn Trp Glu Gln His Asp His
 50 55 60

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

Ala Phe Lys Asp Arg Val Ala Pro Gly Pro Gly Leu Gly Leu Thr Leu
 85 90 95

Gln Ser Leu Thr Met Asn Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Thr Tyr His
 100 105 110

Thr Tyr Pro Asp Gly Thr Tyr Arg Gly Arg Ile Phe Leu Glu Val Leu
 115 120 125

Glu Ser Ser Val Ala Glu His Ser Ala Arg Phe Gln Ile Pro Leu Leu
 130 135 140

Gly Ala Met Ala Met Met Leu Val Val Ile Cys Ile Ala Val Ile Val
145 150 155 160

Val Val Val Leu Ala Arg Lys Lys Lys Ser Leu Arg Ile His Ser Val
165 170 175

Glu Ser Gly Leu Gln Arg Lys Ser Thr Gly Gln Glu Glu Gln Ile Pro
180 185 190

Ser Ala Pro Ser Pro Pro Gly Ser Cys Val Gln Ala Glu Ala Ala Pro
195 200 205

Ala Gly Leu Cys Gly Glu Gln Gln Gly Asp Asp Cys Ala Glu Leu His
210 215 220

Asp Tyr Phe Asn Val Leu Ser Tyr Arg Ser Leu Gly Ser Cys Ser Phe
225 230 235 240

Phe Thr Glu Thr Gly
245

<210> 33

<211> 447

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид ланцюга антитіла

<400> 33

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

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

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

Gly Gly Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Phe Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Asn Arg Val Thr Leu Thr Thr Asp Ser Ser Thr Thr Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Lys Ser Leu Gln Phe Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Arg Asp Tyr Arg Phe Asp Met Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
 210 215 220
 Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val
 225 230 235 240
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

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

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 34

<211> 218

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид ланцюга антитіла

<400> 34

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

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

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

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

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

Ser	Leu	Glu	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	His	Ser	Arg
				85					90					95	

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 35

<211> 440

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид ланцюга антитіла

<400> 35

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

Ser Leu Arg Leu Asp Cys Lys Ala Ser Gly Ile Thr Phe Ser Asn Ser
20 25 30

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

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Arg Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

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

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

Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
 130 135 140
 Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
 145 150 155 160
 Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
 165 170 175
 Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys
 180 185 190
 Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
 195 200 205
 Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 210 215 220
 Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 225 230 235 240
 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 245 250 255
 Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val
 260 265 270
 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 275 280 285
 Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 290 295 300
 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly
 305 310 315 320
 Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 325 330 335

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

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
355 360 365

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

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

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

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
420 425 430

Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440

<210> 36

<211> 214

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид ланцюга антитіла

<400> 36

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

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

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ser Asn Trp Pro Arg
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> 37

<211> 129

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид ланцюга гуманізованого антитіла

<400> 37

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

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

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

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

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

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
100 105 110

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

Ser

<210> 38

<211> 127

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид ланцюга гуманізованого антитіла

<400> 38

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

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

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

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

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

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
100 105 110

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

<210> 39

<211> 127

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид ланцюга гуманізованого антитіла

<400> 39

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

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

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

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

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

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
100 105 110

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

<210> 40

<211> 127

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид ланцюга гуманізованого антитіла

<400> 40

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

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

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

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

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

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
100 105 110

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

<210> 41
<211> 127
<212> PRT
<213> штучна послідовність

<220>
<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид ланцюга гуманізованого антитіла

<400> 41
Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

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

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

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

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

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
100 105 110

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

<210> 42
<211> 127
<212> PRT
<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид ланцюга гуманізованого антитіла

<400> 42

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

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

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Lys Pro Pro Gly Lys Lys Met Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

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

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
100 105 110

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

<210> 43

<211> 127

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид ланцюга гуманізованого антитіла

<400> 43

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

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

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

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

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

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
100 105 110

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

<210> 44

<211> 127

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид ланцюга гуманізованого антитіла

<400> 44

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

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

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Lys Pro Pro Gly Lys Lys Met Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

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

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
100 105 110

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

<210> 45

<211> 127

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид ланцюга гуманізованого антитіла

<400> 45

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

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

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

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

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

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
100 105 110

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

<210> 46

<211> 127

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид ланцюга гуманізованого антитіла

<400> 46

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

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

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

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

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

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
100 105 110

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

<210> 47

<211> 127

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид ланцюга гуманізованого антитіла

<400> 47

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

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

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

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

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

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
100 105 110

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

<210> 48

<211> 106

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид ланцюга гуманізованого антитіла

<400> 48

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

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

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

Tyr Tyr Ala Asn Ser Leu Gln Thr 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 Gly Trp Thr
85 90 95

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

<210> 49

<211> 106

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид ланцюга гуманізованого антитіла

<400> 49

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

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

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

Tyr Tyr Ala Asn Ser Leu Gln Thr 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 Gly Trp Thr
85 90 95

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

<210> 50

<211> 106

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид ланцюга гуманізованого антитіла

<400> 50

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

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

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

Tyr Tyr Ala Asn Ser Leu Gln Thr 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 Phe Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Trp Thr
85 90 95

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

<210> 51

<211> 106

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид ланцюга гуманізованого антитіла

<400> 51

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

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

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

Tyr Tyr Ala Asn Ser Leu Gln Thr 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 Phe Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Trp Thr
85 90 95

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

<210> 52

<211> 106

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид ланцюга гуманізованого антитіла

<400> 52

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

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

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

Tyr Tyr Ala Asn Ser Leu Gln Thr Gly Ile 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 Gly Trp Thr
85 90 95

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

<210> 53
<211> 19
<212> PRT
<213> штучна послідовність

<220>
<223> опис штучної послідовності: синтетична
лідерна послідовність пептидів важких ланцюгів

<400> 53
Met Glu Trp Ser Trp Val Phe Leu Phe Phe Leu Ser Val Thr Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser

<210> 54
<211> 20
<212> PRT
<213> штучна послідовність

<220>
<223> опис штучної послідовності: синтетична
лідерна послідовність пептидів легких ланцюгів

<400> 54
Met Ser Val Pro Thr Gln Val Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr
1 5 10 15

Asp Ala Arg Cys
20

<210> 55
<211> 325
<212> PRT
<213> штучна послідовність

<220>
<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид константного домену важкого ланцюга - IgG4 S228P

<400> 55
Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr
1 5 10 15

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

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

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

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

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

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe
100 105 110

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

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

Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
145 150 155 160

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
165 170 175

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
180 185 190

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
195 200 205

Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
210 215 220

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
225 230 235 240

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
245 250 255

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
260 265 270

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
275 280 285

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
290 295 300

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Gly Lys
325

<210> 56

<211> 105

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид константного домену легкого ланцюга каппа

<400> 56

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
1 5 10 15

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

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

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
50 55 60

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
65 70 75 80

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

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 57

<211> 11

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
пептид CDR

<400> 57

Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp Tyr Ala Trp Asn
1 5 10

<210> 58

<211> 16

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
пептид CDR

<400> 58

Tyr	Ile	Ser	Asn	Ser	Gly	Ser	Ala	Ser	Tyr	Asn	Pro	Ser	Leu	Lys	Ser
1				5					10					15	

<210> 59

<211> 12

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
пептид CDR

<400> 59

Leu	Ile	Tyr	Tyr	Asp	Tyr	Gly	Gly	Ala	Met	Asn	Phe
1				5					10		

<210> 60

<211> 11

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
пептид CDR

<400> 60

Lys	Ala	Ser	Gln	Gly	Val	Ser	Thr	Thr	Val	Ala
1				5					10	

<210> 61

<211> 7

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
пептид CDR

<400> 61

Ser	Ala	Ser	Tyr	Arg	Tyr	Thr
1				5		

<210> 62
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> штучна послідовність
 <220>
 <223> опис штучної послідовності: синтетичний
 пептид CDR

<400> 62
 Gln His Tyr Tyr Ser Thr Pro Trp Thr
 1 5

<210> 63
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 63
 Asp Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
 1 5 10 15

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

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

Met Gly Tyr Ile Ser Asn Ser Gly Ser Ala Ser Tyr Asn Pro Ser Leu
 50 55 60

Lys Ser Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe
 65 70 75 80

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

Ala Thr Leu Ile Tyr Tyr Asp Tyr Gly Gly Ala Met Asn Phe Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 64
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 64
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Gly Val Ser Thr Thr
 20 25 30
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Val Gln Ser
 65 70 75 80
 Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Tyr Ser Thr Pro Trp
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 65
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> штучна послідовність

<220>
 <223> опис штучної послідовності: синтетичний
 пептид CDR

<400> 65
 Tyr Ala Ser Asn Leu Gln Thr
 1 5

<210> 66
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний пептид CDR

<400> 66

Tyr Ala Ser Ser Leu Gln Thr

1 5

<210> 67

<211> 7

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний пептид CDR

<400> 67

Tyr Ala Ser Thr Leu Gln Thr

1 5

<210> 68

<211> 7

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний пептид CDR

<400> 68

Tyr Ala Thr Thr Leu Gln Thr

1 5

<210> 69

<211> 7

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний пептид CDR

<400> 69

Tyr Ala Ser Tyr Leu Gln Thr

1 5

<210> 70
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> штучна послідовність

 <220>
 <223> опис штучної послідовності: синтетичний
 пептид CDR

 <400> 70
 Tyr Ala Asn Gln Leu Gln Thr
 1 5

 <210> 71
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> штучна послідовність

 <220>
 <223> опис штучної послідовності: синтетичний
 пептид CDR

 <400> 71
 Tyr Ala Gly Ser Leu Gln Thr
 1 5

 <210> 72
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> штучна послідовність

 <220>
 <223> опис штучної послідовності: синтетичний
 пептид CDR

 <400> 72
 Tyr Ala Ser Gln Leu Gln Thr
 1 5

 <210> 73
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> штучна послідовність

 <220>
 <223> опис штучної послідовності: синтетичний
 пептид CDR

 <400> 73

Tyr Ala Asp Ser Leu Gln Thr
1 5

<210> 74
<211> 8
<212> PRT
<213> штучна послідовність

<220>
<223> опис штучної послідовності: синтетичний пептид CDR

<400> 74
Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Phe Thr
1 5

<210> 75
<211> 8
<212> PRT
<213> штучна послідовність

<220>
<223> опис штучної послідовності: синтетичний пептид CDR

<400> 75
Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Tyr Thr
1 5

<210> 76
<211> 8
<212> PRT
<213> штучна послідовність

<220>
<223> опис штучної послідовності: синтетичний пептид CDR

<400> 76
Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Ile Thr
1 5

<210> 77
<211> 8
<212> PRT
<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний пептид CDR

<400> 77
Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Val Thr
1 5

<210> 78
<211> 8
<212> PRT
<213> штучна послідовність

<220>
<223> опис штучної послідовності: синтетичний пептид CDR

<400> 78
Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Leu Thr
1 5

<210> 79
<211> 19
<212> PRT
<213> штучна послідовність

<220>
<223> опис штучної послідовності: синтетичний пептид CDR

<400> 79
Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Phe Glu Gly Tyr
1 5 10 15

Phe Asp Phe

<210> 80
<211> 19
<212> PRT
<213> штучна послідовність

<220>
<223> опис штучної послідовності: синтетичний пептид CDR

<400> 80
Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Tyr Glu Gly Tyr
1 5 10 15

Phe Asp Phe

<210> 81

<211> 19

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
пептид CDR

<400> 81

Met	Pro	Ser	Phe	Ile	Thr	Leu	Ala	Ser	Leu	Ser	Thr	Ile	Glu	Gly	Tyr
1				5					10					15	

Phe Asp Phe

<210> 82

<211> 19

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
пептид CDR

<400> 82

Met	Pro	Ser	Phe	Ile	Thr	Leu	Ala	Ser	Leu	Ser	Thr	Val	Glu	Gly	Tyr
1				5					10					15	

Phe Asp Phe

<210> 83

<211> 19

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
пептид CDR

<400> 83

Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Leu Glu Gly Tyr
1 5 10 15

Phe Asp Phe

<210> 84
<211> 363
<212> ДНК
<213> Mus musculus

<400> 84
gatgtgcagc ttcaggagtc gggacctggc ctggtgaaac cttctcagtc tctgtccctc 60
acctgcactg tcaactggcta ctcaatcacc agtgattatg cctggaactg gatccgacag 120
tttccaggaa acaaaactgga gtggatgggc tacataagca acagtggtag cgctagctac 180
aaccatctc tcaaaagtcg catctctatc actcgagaca catccaagaa ccagttcttc 240
ctgcagtga attctgtgac tactgaggac acagccacat attactgtgc aacctgac 300
tactatgatt acgggggggc tatgaacttc tggggtaag gaacctcagt caccgtctcc 360
tca 363

<210> 85
<211> 321
<212> ДНК
<213> Mus musculus

<400> 85
gacattgtga tgaccagtc tcacaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc 60
atcacctgca aggccagtca ggggtgtgagt actactgtgg cctgggtatca acagaaacca 120
ggacaatctc ctaaaactact gatttactcg gcatcctacc ggtacactgg agtccctgat 180
cgcttcactg gcagtggatc tgggacggat ttcactttca ccatcagcag tgtgcagtct 240
gaagacctgg cagtttatta ctgtcagcat tattatagta ctccgtggac gtgcgtgga 300
ggcaccaagc tggaatcaa a 321

<210> 86
<211> 330
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 86

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 87

<211> 133

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид злитого білка

<400> 87

Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn Ile Ser Ala Glu Lys Gly Gly Ser
1 5 10 15

Ile Ile Leu Gln Cys His Leu Ser Ser Thr Thr Ala Gln Val Thr Gln
20 25 30

Val Asn Trp Glu Gln Gln Asp Gln Leu Leu Ala Ile Cys Asn Ala Asp
35 40 45

Leu Gly Trp His Ile Ser Pro Ser Phe Lys Asp Arg Val Ala Pro Gly
50 55 60

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

Glu Tyr Phe Cys Ile Tyr His Thr Tyr Pro Asp Gly Thr Tyr Thr Gly
85 90 95

Arg Ile Phe Leu Glu Val Leu Glu Ser Ser Val Ala Glu His Gly Ala
100 105 110

Arg Phe Gln Ile Pro Leu Leu Gly Ala His His His His His His His
115 120 125

His His Gly Gly Gln
130

<210> 88
<211> 5
<212> PRT
<213> штучна послідовність

<220>
<223> опис штучної послідовності: синтетичний
пептид CDR

<400> 88
Ser Tyr Val Met His
1 5

<210> 89
<211> 17
<212> PRT
<213> штучна послідовність

<220>
<223> опис штучної послідовності: синтетичний
пептид CDR

<400> 89

Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Asp Gly Ala Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 90

<211> 10

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
 пептид CDR

<400> 90

Gly Gly Pro Tyr Gly Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 91

<211> 11

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
 пептид CDR

<400> 91

Arg Ala Ser Glu His Ile Tyr Ser Tyr Leu Ser
 1 5 10

<210> 92

<211> 7

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
 пептид CDR

<400> 92

Asn Ala Lys Thr Leu Ala Glu
 1 5

<210> 93

<211> 9

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний пептид CDR

<400> 93

Gln His His Phe Gly Ser Pro Leu Thr
1 5

<210> 94

<211> 119

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 94

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

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

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

Gly Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Asp Gly Ala Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Gly Pro Tyr Gly Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala Gly
100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 95

<211> 107

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 95

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

Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu His Ile Tyr Ser Tyr
20 25 30

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

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

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

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

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Thr Leu Glu Leu Lys
100 105

<210> 96

<211> 16

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
пептид CDR

<400> 96

Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Arg Gly Ala Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Gly
1 5 10 15

<210> 97

<211> 16

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
пептид CDR

<400> 97

Tyr	Ile	Asp	Pro	Tyr	Asn	Leu	Gly	Ala	Lys	Tyr	Asn	Glu	Lys	Gly	Phe
1				5					10					15	

<210> 98

<211> 16

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
пептид CDR

<400> 98

Tyr	Ile	Asp	Pro	Tyr	Asn	Lys	Gly	Ala	Lys	Tyr	Asn	Glu	Lys	Phe	Gly
1				5					10					15	

<210> 99

<211> 16

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
пептид CDR

<400> 99

Tyr	Ile	Asp	Pro	Tyr	Asn	Phe	Gly	Ala	Lys	Tyr	Asn	Glu	Lys	Phe	Gly
1				5					10					15	

<210> 100

<211> 16

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
пептид CDR

<400> 100

Tyr	Ile	Asp	Pro	Tyr	Asn	Ser	Gly	Ala	Lys	Tyr	Asn	Glu	Lys	Phe	Gly
1				5					10					15	

<210> 101

<211> 16

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний пептид CDR

<400> 101

Tyr	Ile	Asp	Pro	Tyr	Asn	Tyr	Gly	Ala	Lys	Tyr	Asn	Glu	Lys	Phe	Gly
1				5					10					15	

<210> 102

<211> 16

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний пептид CDR

<400> 102

Tyr	Ile	Asp	Pro	Tyr	Asn	Val	Gly	Ala	Lys	Tyr	Asn	Glu	Lys	Phe	Gly
1				5					10					15	

<210> 103

<211> 17

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний пептид CDR

<400> 103

Tyr	Ile	Asp	Pro	Tyr	Asn	Asp	Arg	Ala	Lys	Tyr	Asn	Glu	Lys	Phe	Lys
1				5					10					15	

Gly

<210> 104

<211> 17

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний пептид CDR

<400> 104

Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Asp Asn Ala Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 105

<211> 17

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
пептид CDR

<400> 105

Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Asp Gln Ala Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 106

<211> 17

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
пептид CDR

<400> 106

Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Asp Glu Ala Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 107

<211> 17

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний пептид CDR

<400> 107

Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Asp Leu Ala Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 108

<211> 17

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний пептид CDR

<400> 108

Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Asp Lys Ala Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 109

<211> 17

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний пептид CDR

<400> 109

Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Asp Ser Ala Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 110

<211> 17

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
пептид CDR

<400> 110

Tyr	Ile	Asp	Pro	Tyr	Asn	Asp	Tyr	Ala	Lys	Tyr	Asn	Glu	Lys	Phe	Lys
1				5				10					15		

Gly

<210> 111

<211> 17

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
пептид CDR

<400> 111

Tyr	Ile	Asp	Pro	Tyr	Asn	Asp	Val	Ala	Lys	Tyr	Asn	Glu	Lys	Phe	Lys
1				5				10					15		

Gly

<210> 112

<211> 7

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
пептид CDR

<400> 112

Ala	Ala	Lys	Thr	Leu	Ala	Glu
1			5			

<210> 113

<211> 7

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний пептид CDR

<400> 113
Tyr Ala Lys Thr Leu Ala Glu
1 5

<210> 114
<211> 7
<212> PRT
<213> штучна послідовність

<220>
<223> опис штучної послідовності: синтетичний пептид CDR

<400> 114
Trp Ala Lys Thr Leu Ala Glu
1 5

<210> 115
<211> 7
<212> PRT
<213> штучна послідовність

<220>
<223> опис штучної послідовності: синтетичний пептид CDR

<400> 115
Ser Ala Lys Thr Leu Ala Glu
1 5

<210> 116
<211> 7
<212> PRT
<213> штучна послідовність

<220>
<223> опис штучної послідовності: синтетичний пептид CDR

<400> 116
Thr Ala Lys Thr Leu Ala Glu
1 5

<210> 117
<211> 7

```

<212> PRT
<213> штучна послідовність

<220>
<223> опис штучної послідовності: синтетичний
        пептид CDR

<400> 117
Ile Ala Lys Thr Leu Ala Glu
1           5


<210> 118
<211> 7
<212> PRT
<213> штучна послідовність

<220>
<223> опис штучної послідовності: синтетичний
        пептид CDR

<400> 118
Val Ala Lys Thr Leu Ala Glu
1           5


<210> 119
<211> 7
<212> PRT
<213> штучна послідовність

<220>
<223> опис штучної послідовності: синтетичний
        пептид CDR

<400> 119
Asn Asn Lys Thr Leu Ala Glu
1           5


<210> 120
<211> 7
<212> PRT
<213> штучна послідовність

<220>
<223> опис штучної послідовності: синтетичний
        пептид CDR

<400> 120
Asn Ile Lys Thr Leu Ala Glu
1           5

```

```

<210> 121
<211> 7
<212> PRT
<213> штучна послідовність

<220>
<223> опис штучної послідовності: синтетичний
        пептид CDR

<400> 121
Asn Leu Leu Thr Leu Ala Glu
1             5

<210> 122
<211> 7
<212> PRT
<213> штучна послідовність

<220>
<223> опис штучної послідовності: синтетичний
        пептид CDR

<400> 122
Asn Thr Lys Thr Leu Ala Glu
1             5

<210> 123
<211> 7
<212> PRT
<213> штучна послідовність

<220>
<223> опис штучної послідовності: синтетичний
        пептид CDR

<400> 123
Asn Val Lys Thr Leu Ala Glu
1             5

<210> 124
<211> 119
<212> PRT
<213> штучна послідовність

<220>
<223> опис штучної послідовності: синтетичний
        поліпептид ланцюга гуманізованого антитіла

```

<400> 124

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

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

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

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

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

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

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

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 125

<211> 119

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид ланцюга гуманізованого антитіла

<400> 125

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

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

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

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

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

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

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

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 126

<211> 119

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид ланцюга гуманізованого антитіла

<400> 126

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

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

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

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

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

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

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

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 127

<211> 119

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид ланцюга гуманізованого антитіла

<400> 127

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

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

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

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

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

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

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

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 128

<211> 119

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид ланцюга гуманізованого антитіла

<400> 128

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

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

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

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

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

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

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

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 129

<211> 119

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид ланцюга гуманізованого антитіла

<400> 129

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

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

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

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

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

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

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

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 130

<211> 107

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид ланцюга гуманізованого антитіла

<400> 130

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 Glu His Ile Tyr Ser Tyr
20 25 30

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

Tyr Asn Ala Lys Thr Leu Ala Glu 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 His His Phe Gly Ser Pro Leu
85 90 95

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

<210> 131

<211> 107

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид ланцюга гуманізованого антитіла

<400> 131

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 Glu His Ile Tyr Ser Tyr
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 132

<211> 107

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид ланцюга гуманізованого антитіла

<400> 132

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 Glu His Ile Tyr Ser Tyr
20 25 30

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

Tyr Asn Ala Lys Thr Leu Ala Glu 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 Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His His Phe Gly Ser Pro Leu
85 90 95

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

<210> 133

<211> 107

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид ланцюга гуманізованого антитіла

<400> 133

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 Glu His Ile Tyr Ser Tyr
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 134

<211> 17

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
пептид CDR

<400> 134

Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Asp Gly Ala Lys Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 135

<211> 17

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
пептид CDR

<400> 135

Tyr	Ile	Asp	Pro	Tyr	Asn	Asp	Gly	Ala	Lys	Tyr	Ser	Gln	Lys	Phe	Gln
1				5					10					15	

Gly

<210> 136

<211> 116

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид послідовності VH

<400> 136

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

Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Thr	Val	Ser	Gly	Phe	Pro	Leu	Thr	Ser	Tyr
			20					25					30		

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

Gly	Ala	Ile	Trp	Ser	Ser	Gly	Ser	Thr	Asp	Tyr	Asn	Ser	Ala	Leu	Lys
	50					55					60				

Ser	Arg	Leu	Asn	Ile	Asn	Arg	Asp	Ser	Ser	Lys	Ser	Gln	Val	Phe	Leu
65					70					75					80

Lys	Met	Asn	Ser	Leu	Gln	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Ile	Tyr	Phe	Cys	Thr
				85					90					95	

Lys	Ser	Gly	Trp	Ala	Phe	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Val	Met	Val
			100					105					110		

Thr Val Ser Ser
115

<210> 137
<211> 106
<212> PRT
<213> штучна послідовність

<220>
<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид послідовності VL

<400> 137
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Leu Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

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

Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105

<210> 138
<211> 119
<212> PRT
<213> штучна послідовність

<220>
<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид послідовності VH

<400> 138

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

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

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

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

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

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

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

Thr Leu Val Ile Val Ser Ser
115

<210> 139

<211> 106

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид послідовності VL

<400> 139

Asn Ile Val Met Ala Gln Ser Pro Lys Ser Met Ser Ile Ser Ala Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Met Asn Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Asn Asn
20 25 30

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

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

Gly Gly Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Lys Ser Val Gln Ala
65 70 75 80

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

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

<210> 140

<211> 19

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний пептид CDR

<220>

<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК

<222> (13)..(13)

<223> Trp, Phe, Tyr, Ile, Val або Leu

<400> 140

Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Xaa Glu Gly Tyr
1 5 10 15

Phe Asp Phe

<210> 141

<211> 7

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний пептид CDR

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (3)..(3)
 <223> Asn, Ser, Thr, Gly або Asp

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (4)..(4)
 <223> Ser, Asn, Ser, Thr, Tyr або Gln

<400> 141
 Tyr Ala Xaa Xaa Leu Gln Thr
 1 5

<210> 142
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> штучна послідовність

<220>
 <223> опис штучної послідовності: синтетичний
 пептид CDR

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (7)..(7)
 <223> Trp, Phe, Tyr, Ile, Val або Leu

<400> 142
 Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Xaa Thr
 1 5

<210> 143
 <211> 127
 <212> PRT
 <213> штучна послідовність

<220>
 <223> опис штучної послідовності: синтетичний
 консенсусний поліпептид

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (6)..(6)
 <223> Glu або Gln

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (9)..(9)
 <223> Pro або Ala

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (12)..(12)
 <223> Val або Leu

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (15)..(15)
 <223> Ser або Pro

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (16)..(16)
 <223> Gln, Glu або Gly

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (17)..(17)
 <223> Ser або Thr

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (23)..(23)
 <223> Ser, Thr або Ala

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (25)..(25)
 <223> Thr або Ser

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (27)..(27)
 <223> Ile або Val

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (30)..(30)
 <223> Lys або Gln

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (37)..(37)
 <223> Pro або Phe

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК

<222> (39)..(39)
 <223> Asn або Lys

 <220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (40)..(40)
 <223> Lys або Gly

 <220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (43)..(43)
 <223> Met або Leu

 <220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (44)..(44)
 <223> Met або Ile

 <220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (45)..(45)
 <223> Ile або Val

 <220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (48)..(48)
 <223> Ser або Thr

 <220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (67)..(67)
 <223> Thr або Ser

 <220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (68)..(68)
 <223> Arg або Val

 <220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (70)..(70)
 <223> Phe або Ser

 <220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (71)..(71)
 <223> Gln або Lys

 <220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (79)..(79)
 <223> His або Ser

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (81)..(81)
 <223> Thr або Ala

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (83)..(83)
 <223> Asp або Ala

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (87)..(87)
 <223> Thr або Val

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (88)..(88)
 <223> Ser або Tyr

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (92)..(92)
 <223> Trp, Phe, Tyr, Ile або Val

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (94)..(94)
 <223> Met, Val, Leu, Ala, Arg, Asn, Pro, Gln, Glu, Gly, Ile
 His, Lys, Phe, Ser, Thr, Trp або Tyr

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (110)..(110)
 <223> Val, Thr або Leu

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (119)..(119)
 <223> Ser, Gly або Tyr

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (122)..(122)
 <223> Ala або Ser

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (123)..(123)
 <223> Pro або Gln

<400> 143

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

Xaa Leu Ser Leu Thr Cys Xaa Val Xaa Gly Xaa Ser Ile Xaa Ser Asp
20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Xaa Arg Xaa Xaa Pro Gly Xaa Xaa Xaa Glu Trp Xaa
35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Xaa Xaa Ile Xaa Xaa Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Xaa Leu
65 70 75 80

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

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Xaa Glu Gly
100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Xaa Gly Thr Xaa Xaa Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 144

<211> 127

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
консенсусний поліпептид

<220>

<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК

<222> (6)..(6)

<223> Glu або Gln

<220>

<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК

<222> (9)..(9)

<223> Pro або Ala

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (12)..(12)
 <223> Val або Leu

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (15)..(15)
 <223> Ser або Pro

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (16)..(16)
 <223> Glu або Gly

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (23)..(23)
 <223> Thr, Ala або Ser

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (25)..(25)
 <223> Ser або Thr

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (27)..(27)
 <223> Gly, Ser або Tyr

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (30)..(30)
 <223> Ser або Ala

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (37)..(37)
 <223> Ile або Val

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (39)..(39)
 <223> Gln або Lys

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (40)..(40)
 <223> Pro або Phe

<220>

<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (44)..(44)
 <223> Gly або Lys

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (45)..(45)
 <223> Leu або Met

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (48)..(48)
 <223> Ile або Met

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (67)..(67)
 <223> Val або Ile

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (71)..(71)
 <223> Val або Arg

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (83)..(83)
 <223> Ser або His

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (88)..(88)
 <223> Ala або Asp

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (110)..(110)
 <223> Trp, Phe, Tyr, Ile, Val або Leu

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (122)..(122)
 <223> Met, Val, Leu, Ala, Arg, Asn, Pro, Gln, Glu, Gly, Ile, His,
 Lys, Phe, Ser, Thr, Trp або Tyr

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (123)..(123)
 <223> Val, Thr або Leu

<400> 144
 Glu Val Gln Leu Gln Xaa Ser Gly Xaa Gly Leu Xaa Lys Pro Xaa Xaa

```

1              5              10              15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Xaa Val Xaa Gly Xaa Ser Ile Xaa Ser Asp
      20              25              30

Tyr Trp Gly Trp Xaa Arg Xaa Xaa Pro Gly Lys Xaa Xaa Glu Trp Xaa
      35              40              45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
      50              55              60

Ser Arg Xaa Thr Ile Ser Xaa Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
      65              70              75              80

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

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Xaa Glu Gly
      100              105              110

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

```

<210> 145

<211> 106

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
консенсусний поліпептид

<220>

<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК

<222> (10)..(10)

<223> Leu або Ser

<220>

<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК

<222> (21)..(21)

<223> Leu або Ile

<220>

<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (22)..(22)
 <223> Asn або Thr

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (40)..(40)
 <223> Leu або Pro

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (42)..(42)
 <223> Glu або Lys

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (43)..(43)
 <223> Phe або Leu

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (46)..(46)
 <223> Asn, Ser, Thr, Gly або Asp

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (52)..(52)
 <223> Ser, Asn, Thr, Tyr або Gln

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (53)..(53)
 <223> Ile або Val

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (58)..(58)
 <223> Gly або Ser

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (77)..(77)
 <223> Val або Phe

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (83)..(83)
 <223> Phe або Tyr

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (87)..(87)

<223> Trp, Phe, Tyr, Ile, Val або Leu

<220>

<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК

<222> (95)..(95)

<223> Leu або Ile

<220>

<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК

<222> (105)..(105)

<223> Ala або Val

<400> 145

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

Asp	Arg	Val	Thr	Xaa	Xaa	Cys	Lys	Ala	Ser	Gln	Ser	Ile	His	Lys	Asn
			20					25					30		

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

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

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

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

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

<210> 146

<211> 106

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
консенсусний поліпептид

<220>

<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК

<222> (43)..(43)

<223> Leu або Phe

<220>

<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК

<222> (46)..(46)

<223> Asn, Ser, Thr, Gly або Asp

<220>

<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК

<222> (52)..(52)

<223> Ser, Asn, Thr, Tyr або Gln

<220>

<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК

<222> (53)..(53)

<223> Val або Ile

<220>

<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК

<222> (58)..(58)

<223> Trp, Phe, Tyr, Ile, Val або Leu

<220>

<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК

<222> (83)..(83)

<223> Ala або Val

<220>

<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК

<222> (95)..(95)

<223> Phe або Val

<400> 146

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

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

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

Tyr	Tyr	Ala	Xaa	Xaa	Leu	Gln	Thr	Gly	Xaa	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	Xaa	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Tyr	Tyr	Ser	Gly	Xaa	Thr
				85					90					95	

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

<210> 147

<211> 17

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
консенсусний пептид

<220>

<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК

<222> (7)..(7)

<223> Asp, Arg, Leu, Lys, Phe, Ser, Tyr або Val

<220>

<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК

<222> (8)..(8)

<223> Gly, Arg, Asn, Gln, Glu, Leu, Lys, Ser, Tyr або Val

<220>

<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК

<222> (12)..(12)

<223> Asn, Ala або Ser

<220>

<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК

<222> (13)..(13)

<223> Glu або Gln

<220>

<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК

<222> (16)..(16)

<223> Lys або Gln

<400> 147

Tyr	Ile	Asp	Pro	Tyr	Asn	Xaa	Xaa	Ala	Lys	Tyr	Xaa	Xaa	Lys	Phe	Xaa
1					5				10					15	

Gly

<210> 148
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> штучна послідовність

 <220>
 <223> опис штучної послідовності: синтетичний
 консенсусний пептид

 <220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (1)..(1)
 <223> Asn, Ala, Val, Trp, Ser, Thr, Arg, His, Gly,
 Ile або Val

 <220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (2)..(2)
 <223> Ala, Asn, Ile, Leu, Thr або Val

 <400> 148
 Xaa Xaa Lys Thr Leu Ala Glu
 1 5

 <210> 149
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> штучна послідовність

 <220>
 <223> опис штучної послідовності: синтетичний
 консенсусний поліпептид

 <220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (5)..(5)
 <223> Gln або Val

 <220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (9)..(9)
 <223> Pro або Ala

 <220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (11)..(11)

<223> Val або Leu

<220>

<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК

<222> (12)..(12)

<223> Val або Lys

<220>

<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК

<222> (16)..(16)

<223> Ser або Ala

<220>

<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК

<222> (20)..(20)

<223> Met або Val

<220>

<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК

<222> (38)..(38)

<223> Lys або Arg

<220>

<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК

<222> (40)..(40)

<223> Lys або Ala

<220>

<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК

<222> (44)..(44)

<223> Gly або Arg

<220>

<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК

<222> (56)..(56)

<223> Asp, Arg, Leu, Lys, Phe, Ser, Tyr або Val

<220>

<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК

<222> (57)..(57)

<223> Gly, Arg, Asn, Gln, Glu, Leu, Lys, Ser, Tyr або Val

<220>

<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК

<222> (61)..(61)

<223> Asn, Ala або Ser

<220>

<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК

<222> (62)..(62)

<223> Glu або Gln

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (65)..(65)
 <223> Lys або Gln

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (67)..(67)
 <223> Arg або Lys

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (68)..(68)
 <223> Ala або Val

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (72)..(72)
 <223> Ser або Arg

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (74)..(74)
 <223> Lys або Thr

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (76)..(76)
 <223> Ser, Ile, Ala або Thr

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (79)..(79)
 <223> Ala або Val

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (85)..(85)
 <223> Arg або Ser

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (87)..(87)
 <223> Thr або Arg

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (89)..(89)
 <223> Asp або Glu

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК

```

<222> (91)..(91)
<223> Ser або Thr

<220>
<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
<222> (92)..(92)
<223> Ala або Val

<220>
<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
<222> (104)..(104)
<223> Trp, Ala, Asp, Gly, Phe, Gly, Ile, Lys, Asn, Gln, Arg, Ser,
      Val або Tyr

<220>
<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
<222> (111)..(111)
<223> Ala або Gln

<400> 149
Glu Val Gln Leu Xaa Gln Ser Gly Xaa Glu Xaa Xaa Lys Pro Gly Xaa
1           5           10          15

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

Val Met His Trp Val Xaa Gln Xaa Pro Gly Gln Xaa Leu Glu Trp Ile
      35           40           45

Gly Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Xaa Xaa Ala Lys Tyr Xaa Xaa Lys Phe
      50           55           60

Xaa Gly Xaa Xaa Thr Leu Thr Xaa Asp Xaa Ser Xaa Ser Thr Xaa Tyr
65           70           75           80

Met Glu Leu Ser Xaa Leu Xaa Ser Xaa Asp Xaa Xaa Val Tyr Tyr Cys
      85           90           95

Ala Arg Gly Gly Pro Tyr Gly Xaa Tyr Phe Asp Val Trp Gly Xaa Gly
      100          105          110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
      115

```

<210> 150
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> штучна послідовність

 <220>
 <223> опис штучної послідовності: синтетичний
 консенсусний поліпептид

 <220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (16)..(16)
 <223> Ala або Ser

 <220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (44)..(44)
 <223> Arg або Gly

 <220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (56)..(56)
 <223> Asp, Arg, Leu, Lys, Phe, Ser, Tyr або Val

 <220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (57)..(57)
 <223> Gly, Arg, Asn, Gln, Glu, Leu, Lys, Ser, Tyr або Val

 <220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (61)..(61)
 <223> Asn, Ala або Ser

 <220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (62)..(62)
 <223> Glu або Gln

 <220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (65)..(65)
 <223> Lys або Gln

 <220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (72)..(72)
 <223> Arg або Ser

 <220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК

```

<222> (74)..(74)
<223> Thr або Lys

<220>
<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
<222> (76)..(76)
<223> Ala, Thr або Ile

<220>
<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
<222> (79)..(79)
<223> Arg або Val

<220>
<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
<222> (85)..(85)
<223> Ser або Arg

<220>
<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
<222> (89)..(89)
<223> Glu або Asp

<220>
<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
<222> (92)..(92)
<223> Ala або Val

<220>
<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
<222> (104)..(104)
<223> Trp, Ala, Asp, Gly, Phe, Gly, Ile, Lys, Asn, Ser,
      Thr, Val або Tyr

<400> 150
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Xaa
1              5              10              15

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

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

Gly Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Xaa Xaa Ala Lys Tyr Xaa Xaa Lys Phe
50              55              60

Xaa Gly Arg Val Thr Leu Thr Xaa Asp Xaa Ser Xaa Ser Thr Xaa Tyr

```

65		70		75		80
Met	Glu	Leu	Ser	Xaa	Leu	Arg
			85			Ser
				Xaa	Asp	Thr
					90	Xaa
						Val
						Tyr
						Tyr
						Cys
						95
Ala	Arg	Gly	Gly	Pro	Tyr	Gly
			100			Xaa
					105	Tyr
						Phe
						Asp
						Val
						Trp
						Gly
						Gln
						Gly
						110
Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser
						115

<210> 151
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> штучна послідовність

<220>
 <223> опис штучної послідовності: синтетичний
 консенсусний поліпептид

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (9)..(9)
 <223> Ala або Ser

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (17)..(17)
 <223> Glu або Asp

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (18)..(18)
 <223> Thr або Arg

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (40)..(40)
 <223> Gln або Pro

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (43)..(43)
 <223> Ser, Ala або Val

<220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК

```

<222> (45)..(45)
<223> Gln або Lys

<220>
<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
<222> (48)..(48)
<223> Val або Ile

<220>
<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
<222> (50)..(50)
<223> Asn, Ala, Tyr, Trp, Ser, Thr, Ile або Val

<220>
<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
<222> (51)..(51)
<223> Ala, Asn, Ile, Leu, Thr або Val

<220>
<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
<222> (70)..(70)
<223> Gln або Asp

<220>
<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
<222> (72)..(72)
<223> Ser або Thr

<220>
<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
<222> (74)..(74)
<223> Lys або Thr

<220>
<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
<222> (76)..(76)
<223> Asn або Ser

<220>
<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
<222> (83)..(83)
<223> Phe або Val

<220>
<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
<222> (84)..(84)
<223> Gly або Ala

<220>
<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
<222> (100)..(100)
<223> Ala або Gln

```

```

<220>
<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
<222> (103)..(103)
<223> Thr або Arg

<220>
<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
<222> (106)..(106)
<223> Leu або Ile

<400> 151
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Xaa Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1           5           10           15

Xaa Xaa Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu His Ile Tyr Ser Tyr
20           25           30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Xaa Gly Lys Xaa Pro Xaa Leu Leu Xaa
35           40           45

Tyr Xaa Xaa Lys Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50           55           60

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

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

Thr Phe Gly Xaa Gly Thr Xaa Leu Glu Xaa Lys
100          105

<210> 152
<211> 107
<212> PRT
<213> штучна послідовність

<220>
<223> опис штучної послідовності: синтетичний
консенсусний поліпептид

<220>
<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК

```

```

<222> (43)..(43)
<223> Ala або Val

<220>
<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
<222> (50)..(50)
<223> Asn, Ala, Tyr, Trp, Ser, Thr, Ile або Val

<220>
<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
<222> (51)..(51)
<223> Ala, Asn, Ile, Leu, Thr або Val

<220>
<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
<222> (70)..(70)
<223> Asp або Gln

<220>
<221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
<222> (83)..(83)
<223> Phe або Val

<400> 152
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 Glu His Ile Tyr Ser Tyr
20           25           30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Xaa Pro Lys Leu Leu Ile
35           40           45

Tyr Xaa Xaa Lys Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50           55           60

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

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

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

```


<210> 153
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> штучна послідовність

 <220>
 <223> опис штучної послідовності: синтетичний пептид CDR

 <220>
 <221> МОДИФІКОВАНИЙ ЗАЛИШОК
 <222> (6)..(6)
 <223> Trp, Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, Ile, Lys, Asn, Gln, Arg, Ser, Thr, Val або Tyr

 <400> 153
 Gly Gly Pro Tyr Gly Xaa Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

 <210> 154
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> штучна послідовність

 <220>
 <223> опис штучної послідовності: синтетичний пептид CDR

 <400> 154
 Gly Gly Pro Tyr Gly Ala Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

 <210> 155
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> штучна послідовність

 <220>
 <223> опис штучної послідовності: синтетичний пептид CDR

 <400> 155
 Gly Gly Pro Tyr Gly Asp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

 <210> 156
 <211> 10
 <212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний пептид CDR

<400> 156

Gly Gly Pro Tyr Gly Glu Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 157

<211> 10

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний пептид CDR

<400> 157

Gly Gly Pro Tyr Gly Phe Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 158

<211> 10

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний пептид CDR

<400> 158

Gly Gly Pro Tyr Gly Gly Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 159

<211> 10

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний пептид CDR

<400> 159

Gly Gly Pro Tyr Gly Ile Tyr Phe Asp Val
1 5 10

```

<210> 160
<211> 10
<212> PRT
<213> штучна послідовність

<220>
<223> опис штучної послідовності: синтетичний
        пептид CDR

<400> 160
Gly Gly Pro Tyr Gly Lys Tyr Phe Asp Val
1             5             10

<210> 161
<211> 10
<212> PRT
<213> штучна послідовність

<220>
<223> опис штучної послідовності: синтетичний
        пептид CDR

<400> 161
Gly Gly Pro Tyr Gly Asn Tyr Phe Asp Val
1             5             10

<210> 162
<211> 10
<212> PRT
<213> штучна послідовність

<220>
<223> опис штучної послідовності: синтетичний
        пептид CDR

<400> 162
Gly Gly Pro Tyr Gly Gln Tyr Phe Asp Val
1             5             10

<210> 163
<211> 10
<212> PRT
<213> штучна послідовність

<220>
<223> опис штучної послідовності: синтетичний
        пептид CDR

```

<400> 163

Gly Gly Pro Tyr Gly Arg Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 164

<211> 10

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
пептид CDR

<400> 164

Gly Gly Pro Tyr Gly Ser Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 165

<211> 10

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
пептид CDR

<400> 165

Gly Gly Pro Tyr Gly Thr Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 166

<211> 10

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний
пептид CDR

<400> 166

Gly Gly Pro Tyr Gly Val Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 167

<211> 10

<212> PRT

<213> штучна послідовність

<220>

<223> опис штучної послідовності: синтетичний пептид CDR

<400> 167

Gly	Gly	Pro	Tyr	Gly	Tyr	Tyr	Phe	Asp	Val
1				5					10

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

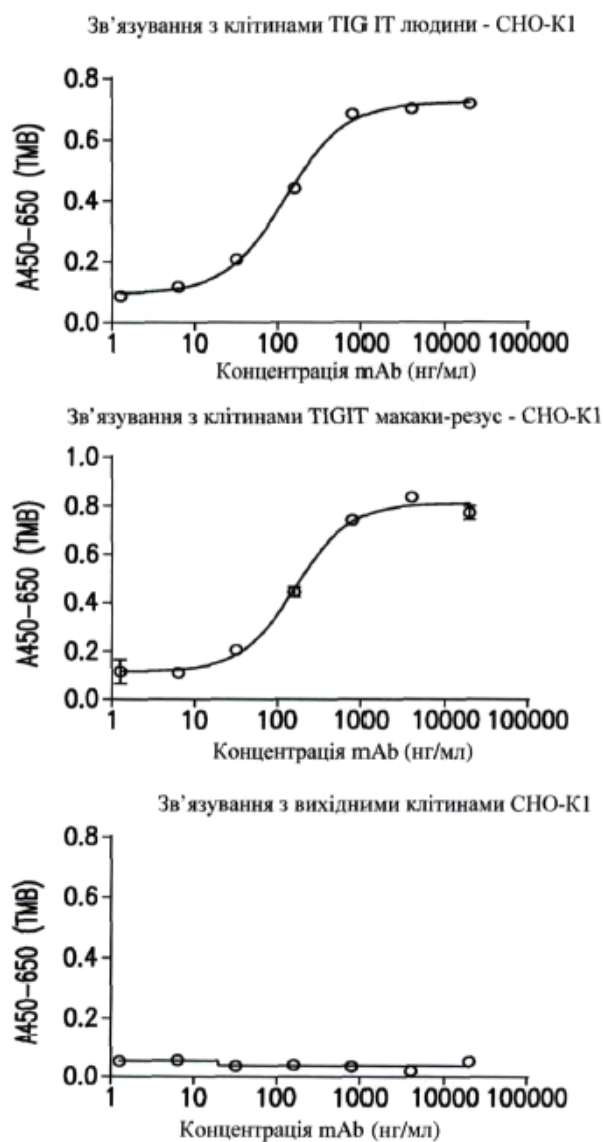
- 5 1. Моноклональне антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент, що зв'язується з TIGIT дорослої людини, при цьому антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент містить варіабельну область важкого ланцюга і варіабельну область легкого ланцюга, де варіабельна область важкого ланцюга містить CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 88, CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що
- 10 містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 89, CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 90, і варіабельна область легкого ланцюга містить CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 91, CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 92, і CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що
- 15 містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 93.
2. Моноклональне антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент, що зв'язується з TIGIT дорослої людини, при цьому антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент містить варіабельну область важкого ланцюга і варіабельну область легкого ланцюга, де варіабельна область важкого ланцюга містить CDR1 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 88, CDR2 варіабельної області важкого ланцюга, що
- 20 містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 134, і CDR3 варіабельної області важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 90, і де варіабельна область легкого ланцюга містить CDR1 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 91, CDR2 варіабельної області легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 92, і CDR3 варіабельної області легкого ланцюга, що
- 25 містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 93.
3. Антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент за п. 1, де антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент містить
- а) варіабельну область важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 94, і варіабельну область легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 95;
- б) варіабельну область важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 128, і варіабельну область легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 132;
- 35 в) варіабельну область важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 127, і варіабельну область легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 130;
- г) варіабельну область важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 128, і варіабельну область легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 133;
- 40 е) варіабельну область важкого ланцюга, що має щонайменше 97 % ідентичність із SEQ ID NO: 128, і варіабельну область легкого ланцюга, що має щонайменше 97 % ідентичність із SEQ ID NO: 132, де будь-які варіанти послідовності зустрічаються в каркасних областях антитіла;
- ф) варіабельну область важкого ланцюга, що має щонайменше 97 % ідентичність із SEQ ID NO: 127, і варіабельну область легкого ланцюга, що має щонайменше 97 % ідентичність із SEQ ID NO: 130, де будь-які варіанти послідовності зустрічаються в каркасних областях антитіла; або
- 45 г) варіабельну область важкого ланцюга, що має щонайменше 97 % ідентичність із SEQ ID NO: 128, і варіабельну область легкого ланцюга, що має щонайменше 97 % ідентичність із SEQ ID NO: 133, де будь-які варіанти послідовності зустрічаються в каркасних областях антитіла.
- 50 4. Антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент за п. 3, що являє собою антитіло, де варіабельна область важкого ланцюга антитіла містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 128 і варіабельна область легкого ланцюга антитіла містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 132.

5. Антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент за п. 3, що являє собою антитіло, де варіабельна область важкого ланцюга антитіла містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 128 і варіабельна область легкого ланцюга антитіла містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 133.
- 5 6. Антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент за п. 3, що являє собою антитіло, де варіабельна область важкого ланцюга антитіла містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 127 і варіабельна область легкого ланцюга антитіла містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 130.
- 10 7. Моноклональне антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент за п. 3, що являє собою моноклональне антитіло, що містить варіабельну область важкого ланцюга, що має щонайменше 97 % ідентичність з SEQ ID NO: 128, і варіабельну область легкого ланцюга, що має щонайменше 97 % ідентичність з SEQ ID NO: 132, де будь-які варіанти послідовності зустрічаються в каркасних областях антитіла.
- 15 8. Моноклональне антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент за п. 3, що являє собою моноклональне антитіло, що містить варіабельну область важкого ланцюга, що має щонайменше 97 % ідентичність з SEQ ID NO: 128, і варіабельну область легкого ланцюга, що має щонайменше 97 % ідентичність з SEQ ID NO: 133, де будь-які варіанти послідовності зустрічаються в каркасних областях антитіла.
- 20 9. Моноклональне антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент за п. 3, що являє собою моноклональне антитіло, що містить варіабельну область важкого ланцюга, яка має щонайменше 97 % ідентичність з SEQ ID NO: 127, і варіабельну область легкого ланцюга, яка має щонайменше 97 % ідентичність з SEQ ID NO: 130, де будь-які варіанти послідовності зустрічаються в каркасних областях антитіла.
- 25 10. Антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент за будь-яким з пп. 1-7, де антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент зв'язується з TIGIT людини зі значенням K_D від приблизно 1×10^{-9} М до приблизно 1×10^{-12} М, як визначено за допомогою поверхневого плазмонного резонансу.
11. Антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент за будь-яким з пп. 1-3 або 10, що являє собою антитіло.
- 30 12. Антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент за будь-яким з пп. 1-11, що являє собою антитіло, що містить два важких ланцюги і два легких ланцюги.
13. Антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент за будь-яким з пп. 1-12, що являє собою антитіло, де антитіло містить константний домен IgG1 людини і константний домен каппа людини.
- 35 14. Антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент за будь-яким з пп. 1-12, що являє собою антитіло, де антитіло містить константний домен IgG4 людини і константний домен каппа людини.
15. Антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент за п. 14, де константний домен IgG1 людини містить SEQ ID NO: 86 і константний домен каппа людини містить SEQ ID NO: 56.
- 40 16. Антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент за п. 14, де константний домен IgG4 людини містить SEQ ID NO: 55 і константний домен каппа людини містить SEQ ID NO: 56.
17. Моноклональне антитіло, яке зв'язується з TIGIT дорослої людини, що містить варіабельну область важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 128, і варіабельну область легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 132.
- 45 18. Моноклональне антитіло, що містить два важких ланцюги і два легких ланцюги, де важкі ланцюги містять (i) варіабельну область важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 128, та (ii) константний домен IgG1 людини, що містить SEQ ID NO: 86, і де легкі ланцюги містять (i) варіабельну область легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 132, та (ii) константний домен каппа людини, що містить SEQ ID NO: 56.
- 50 19. Моноклональне антитіло, що містить два важких ланцюги і два легких ланцюги, де важкі ланцюги містять (i) варіабельну область важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 128, та (ii) константний домен IgG4 людини, що містить SEQ ID NO: 55, і де легкі ланцюги містять (i) варіабельну область легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 132, та (ii) константний домен каппа людини, що містить SEQ ID NO: 56.
- 55 20. Виділене антитіло, що містить два важких ланцюги імуноглобулінів і два легких ланцюги імуноглобулінів, де важкий ланцюг імуноглобуліну містить (i) варіабельну область важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 128, та (ii) константний домен
- 60

IgG1 людини, що містить SEQ ID NO: 86, і де легкий ланцюг імуноглобуліну містить (i) варіабельну область легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 132, та (ii) константний домен каппа людини, що містить SEQ ID NO: 56.

21. Виділене антитіло, що містить два важких ланцюги імуноглобулінів і два легких ланцюги імуноглобулінів, де важкий ланцюг імуноглобуліну містить (i) варіабельну область важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 128, та (ii) константний домен IgG1 людини, що містить SEQ ID NO: 86, і де легкий ланцюг імуноглобуліну містить (i) варіабельну область легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 133, та (ii) константний домен каппа людини, що містить SEQ ID NO: 56.
22. Виділене антитіло, що містить два важких ланцюги імуноглобулінів і два легких ланцюги імуноглобулінів, де важкий ланцюг імуноглобуліну містить (i) варіабельну область важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 127, та (ii) константний домен IgG1 людини, що містить SEQ ID NO: 86, і де легкий ланцюг імуноглобуліну містить (i) варіабельну область легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 130, та (ii) константний домен каппа людини, що містить SEQ ID NO: 56.
23. Антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент за пп. 1-16, що являє собою антитіло, де антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент продуковані в клітині яєчника китайського хом'яка (CHO).
24. Моноклональне антитіло за будь-яким з пп. 17-19, де моноклональне антитіло продуковане в клітині яєчника китайського хом'яка (CHO).
25. Виділене антитіло за будь-яким з пп. 20-22, де виділене антитіло продуковане в клітині яєчника китайського хом'яка (CHO).
26. Виділена нуклеїнова кислота, яка кодує варіабельну область важкого ланцюга або варіабельну область легкого ланцюга будь-якого з антитіл або їхніх антигензв'язувальних фрагментів за пп. 1-16, моноклональних антитіл за пп. 17-19 або виділених антитіл за пп. 20-22.
27. Експресуючий вектор, що містить виділену нуклеїнову кислоту, яка кодує варіабельну область важкого ланцюга або варіабельну область легкого ланцюга будь-якого з антитіл або їхніх антигензв'язувальних фрагментів за пп. 1-16, моноклональних антитіл за пп. 17-19 або виділених антитіл за пп. 20-22.
28. Клітина-хазяїн, що не належить людині і містить експресуючий вектор за п. 27.
29. Клітина-хазяїн за п. 28, яка являє собою клітину *Pichia* або клітину яєчника китайського хом'яка (CHO).
30. Композиція, яка містить антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент за будь-яким з пп. 1-16, моноклональне антитіло за пп. 17-19 або виділене антитіло за пп. 20-22 і фармацевтично прийнятний носій або розріджувач.
31. Композиція за п. 30, яка додатково містить антитіло проти PD1.
32. Композиція за п. 31, де антитіло проти PD1 являє собою пембrolізумаб або його антигензв'язувальний фрагмент або ніволумаб або його антигензв'язувальний фрагмент.
33. Композиція за п. 32, де антитіло проти PD1 являє собою пембrolізумаб.
34. Композиція за п. 30, яка додатково містить антитіло проти PDL1.
35. Композиція, яка містить (а) моноклональне антитіло, що містить два важких ланцюги і два легких ланцюги, де важкі ланцюги містять (i) варіабельну область важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 128, та (ii) константний домен IgG1 людини, що містить SEQ ID NO: 86, і де легкі ланцюги містять (i) варіабельну область легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 132, та (ii) константний домен каппа людини, що містить SEQ ID NO: 56, і (b) пембrolізумаб.
36. Композиція, яка містить (а) моноклональне антитіло, що містить два важких ланцюги і два легких ланцюги, де важкі ланцюги містять (i) варіабельну область важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 128, та (ii) константний домен IgG4 людини, що містить SEQ ID NO: 55, і де легкі ланцюги містять (i) варіабельну область легкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність з SEQ ID NO: 132, та (ii) константний домен каппа людини, що містить SEQ ID NO: 56, і (b) пембrolізумаб.
37. Спосіб одержання антитіла або антигензв'язувального фрагмента, який включає:
 - а) культивування клітини-хазяїна, що містить полінуклеотид, який кодує варіабельну область важкого ланцюга та варіабельну область легкого ланцюга будь-якого з антитіл або антигензв'язувальних фрагментів за пп. 1-16, в умовах, сприятливих для експресії полінуклеотиду; і
 - б) необов'язково, виділення антитіла або антигензв'язувального фрагмента з клітини-хазяїна та/або середовища для культивування.

38. Застосування антитіла або його антигензв'язувального фрагмента за пп. 1-16, моноклонального антитіла за пп. 17-19, виділеного антитіла за пп. 20-22, 25 або композицій за пп. 30-36 для виготовлення лікарського засобу для лікування раку.



Фіг. 1

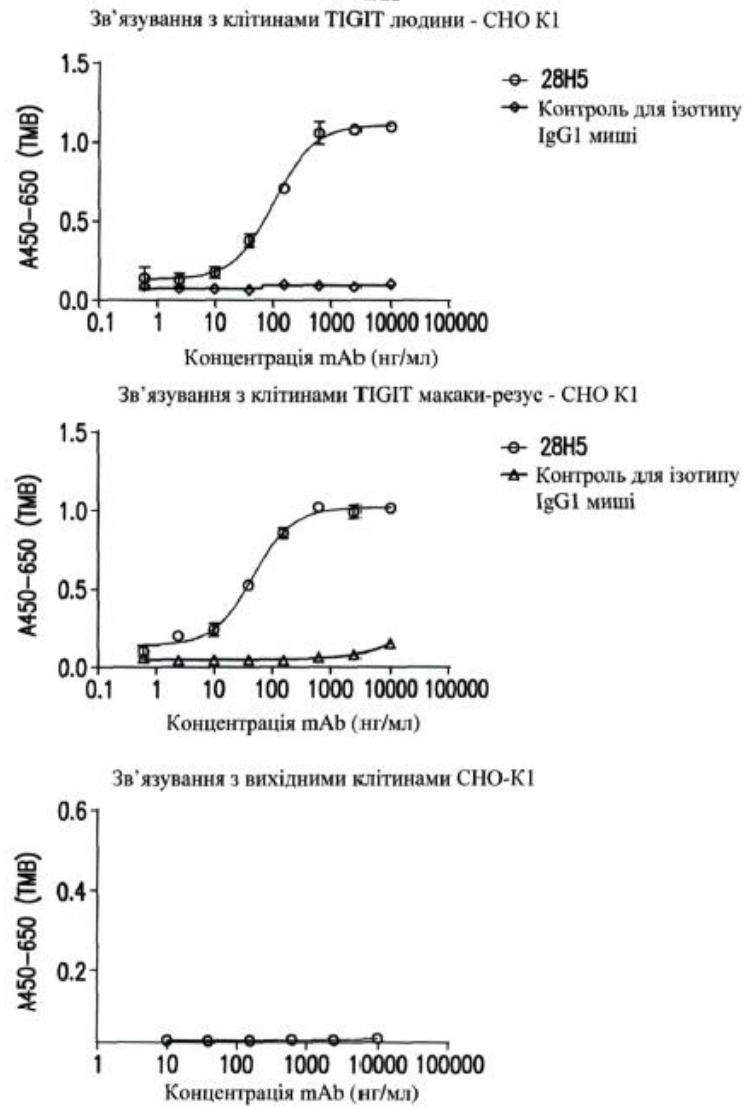
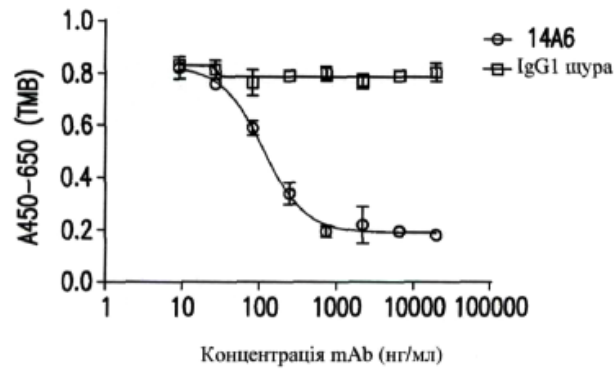
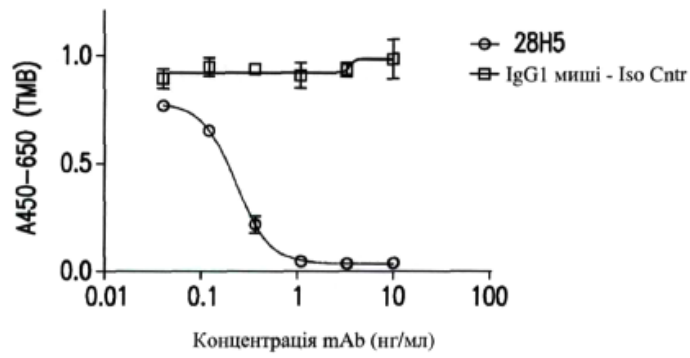


Fig. 2

Блокування зв'язування hCD155-hFc з TIGIT людини - CHO-K1

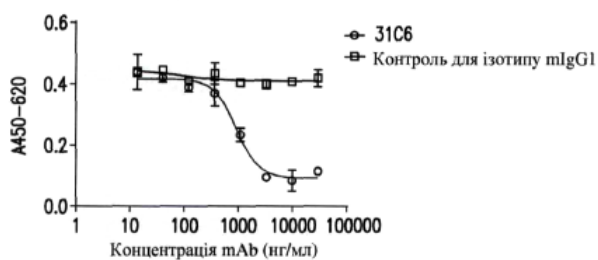


Блокування зв'язування hCD155-hFc з клітинами TIGIT людини - CHO

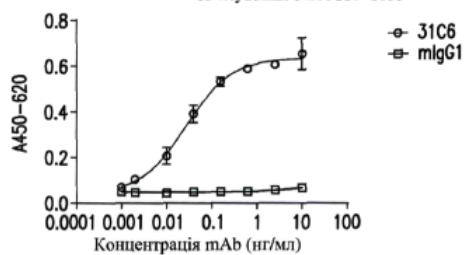


Фіг. 3

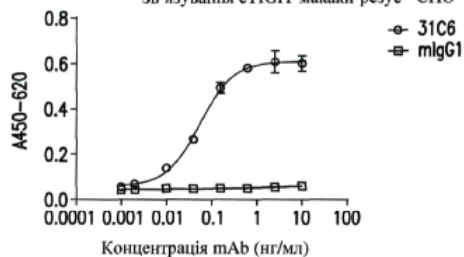
Блокування зв'язування hCD155-hFc з TIGIT людини - CHO-K1



Зв'язування з hTIGIT-CHO

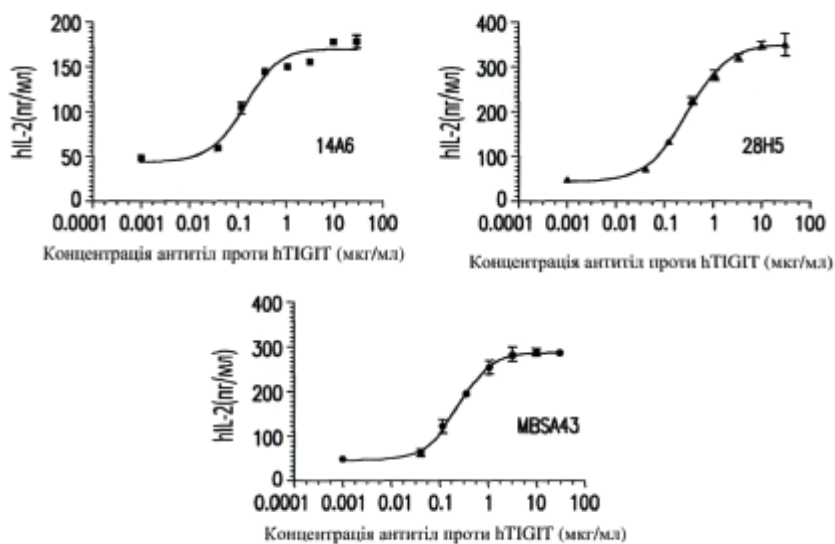


Зв'язування сTIGIT макаки-резус - CHO



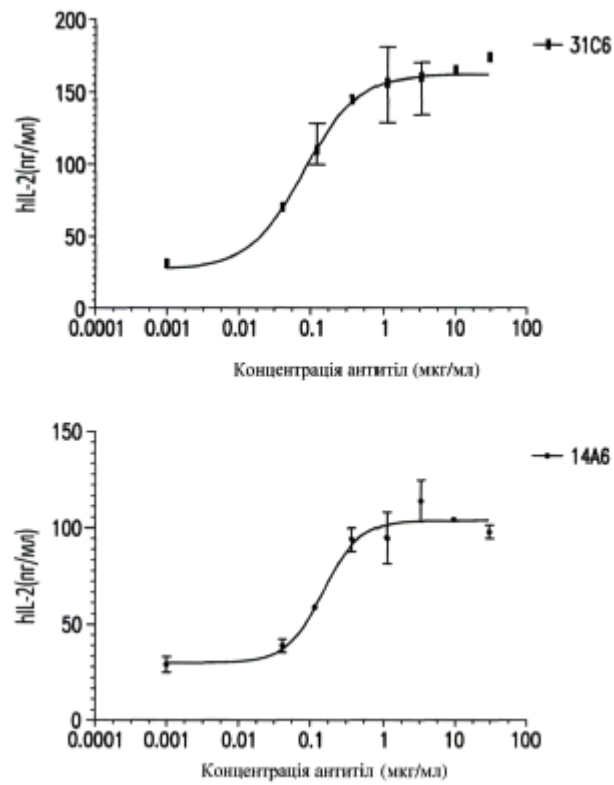
Фіг. 4

Титрування антитіл проти TIGIT людини в функціональному аналізі на основі клітин

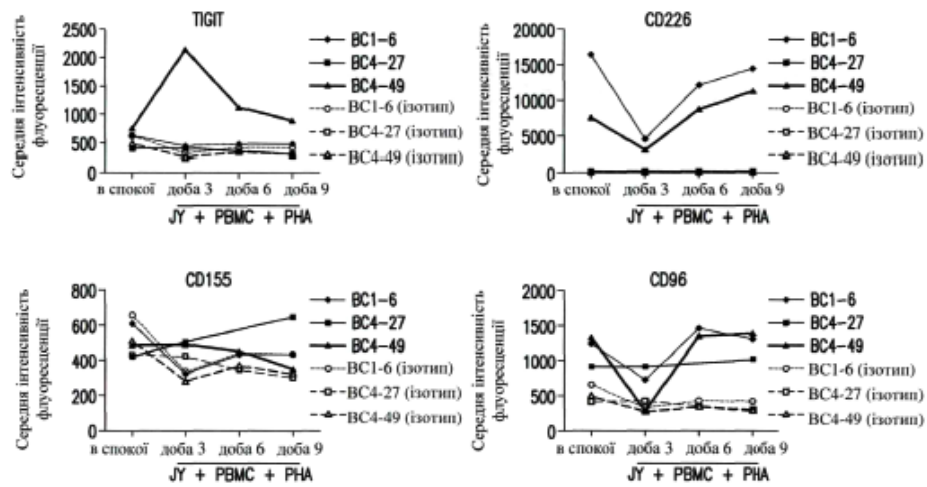


Фіг. 5

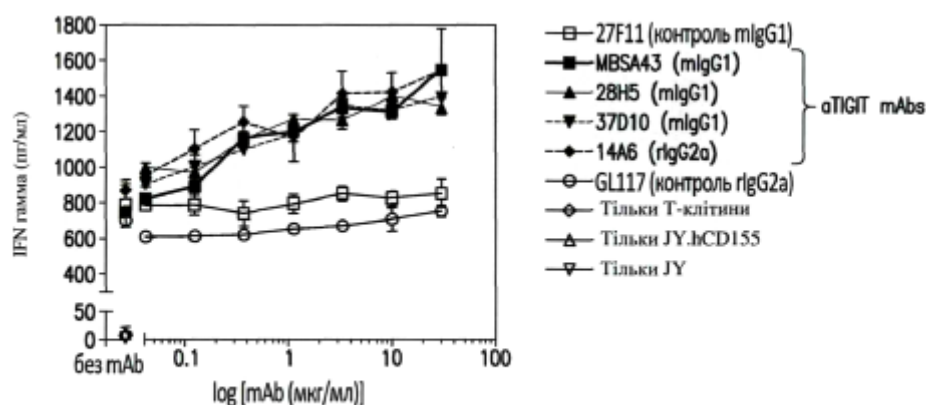
Титування антигін проти TIGIT людини в функціональному аналізі на основі клітин



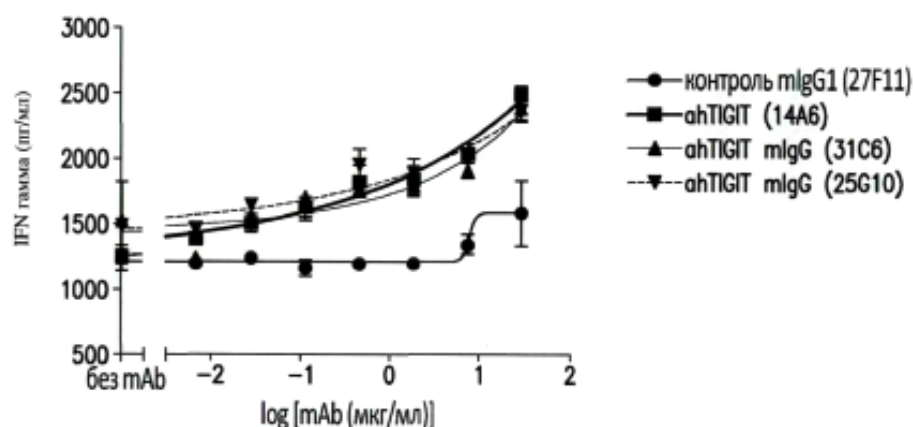
Фіг. 6



Фіг. 7

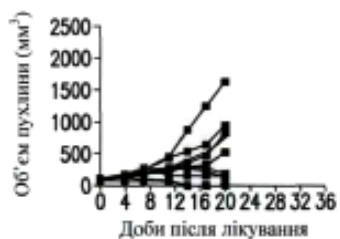


Фиг. 8A



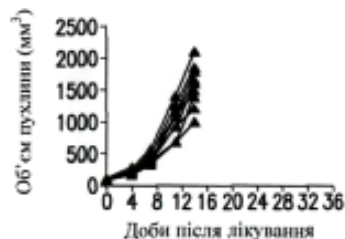
Фиг. 8B

Антитіло проти TIGIT (GIGD7)+антитіло проти PD-1



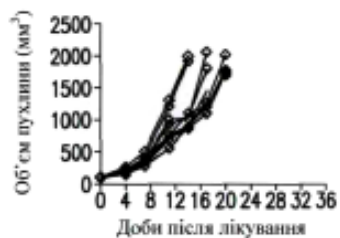
Фиг. 9A

Контроль ізо типу



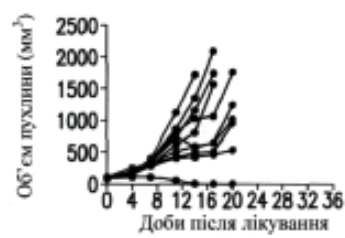
Фиг. 9B

Антитіло проти TIGIT (GIGD7)

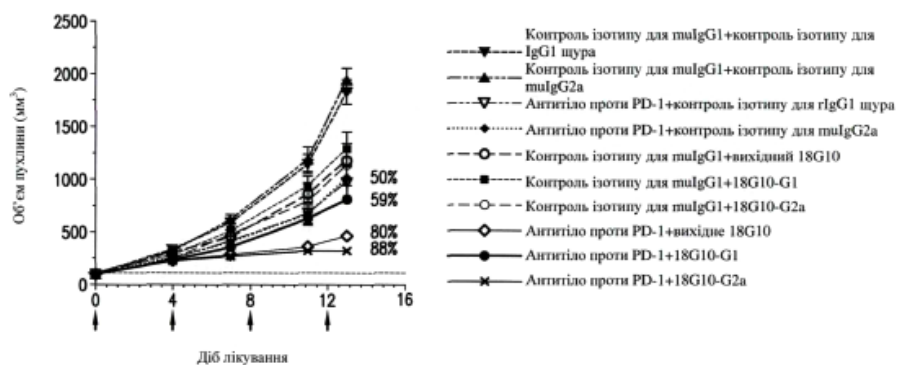


Фиг. 9C

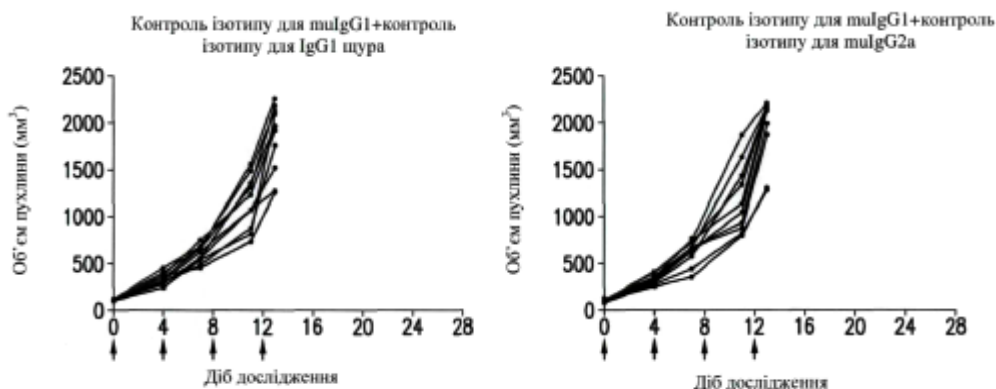
Антитіло проти PD-1



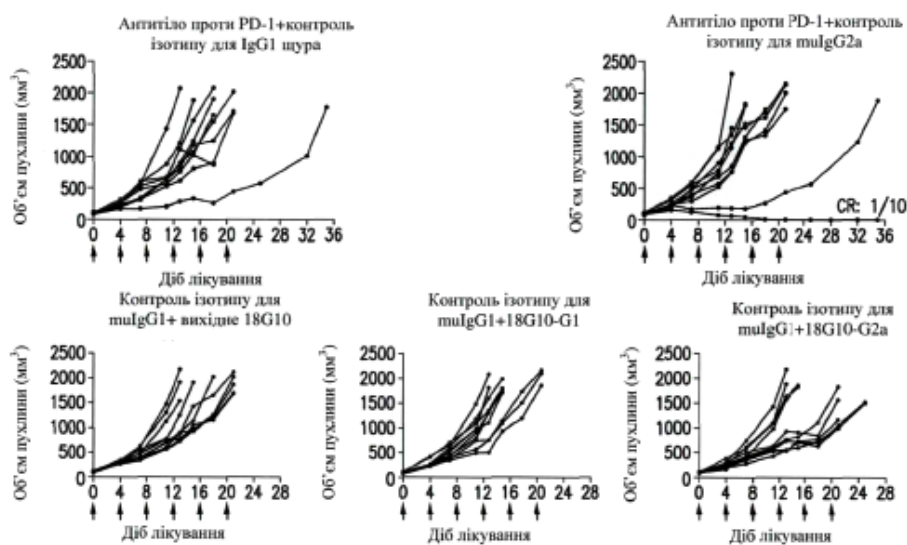
Фиг. 9D



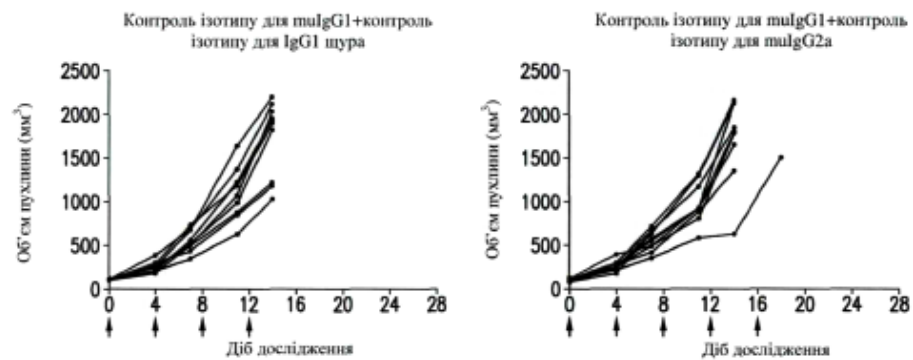
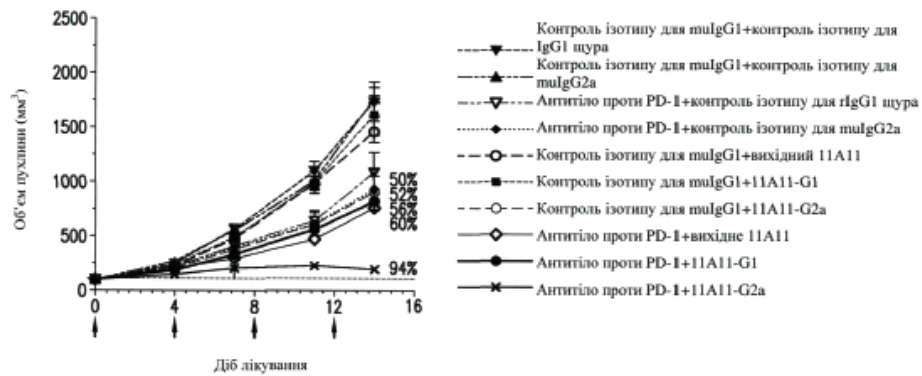
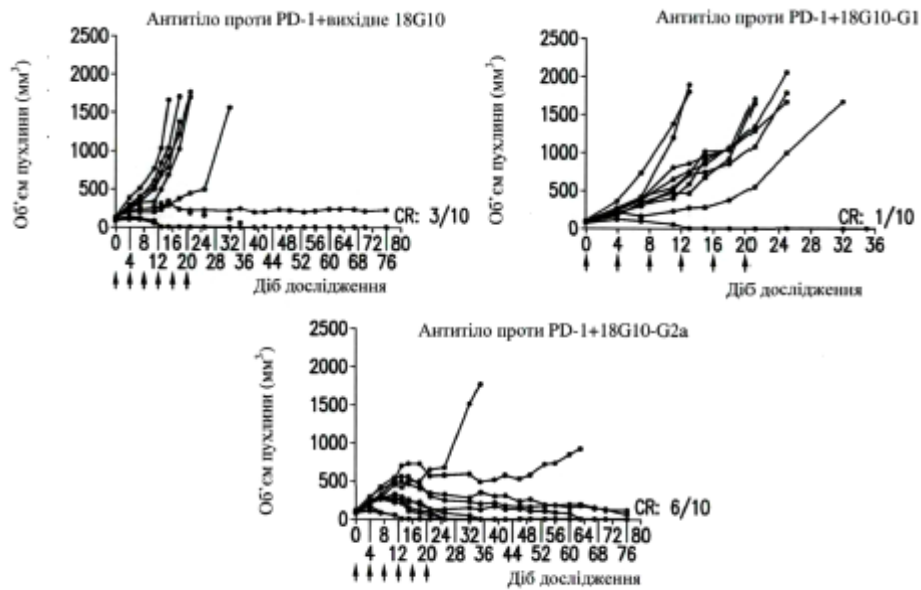
Фіг. 10



Фіг. 11A



Фіг. 11B



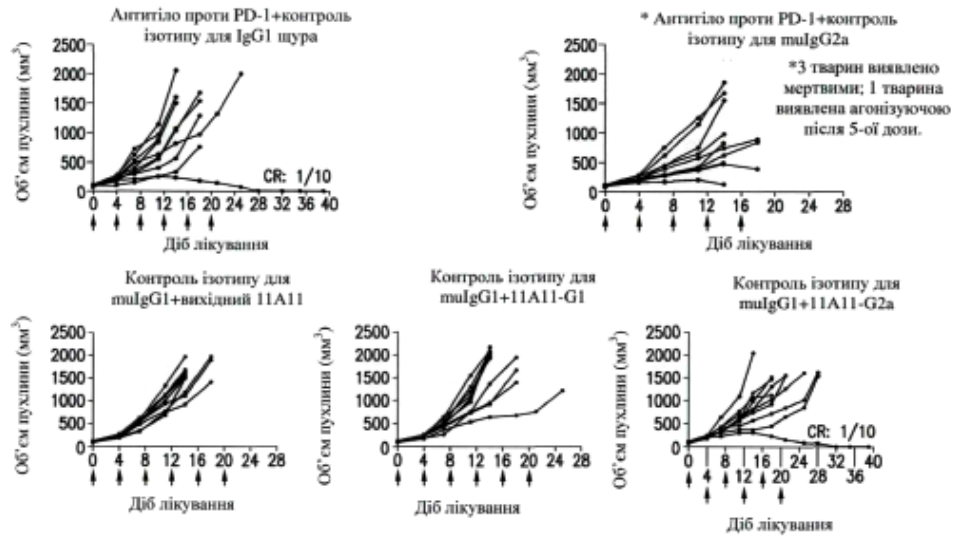


Fig. 13B

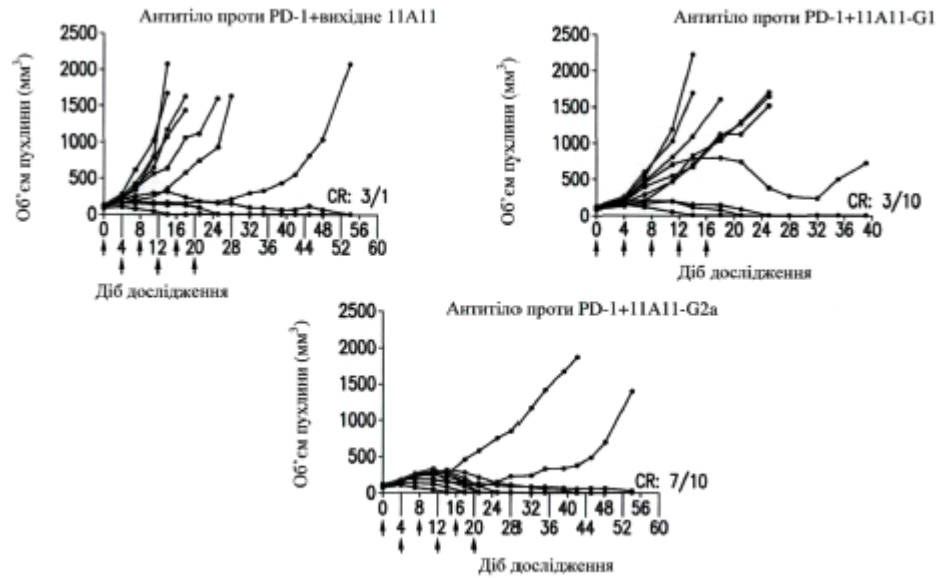


Fig. 13C

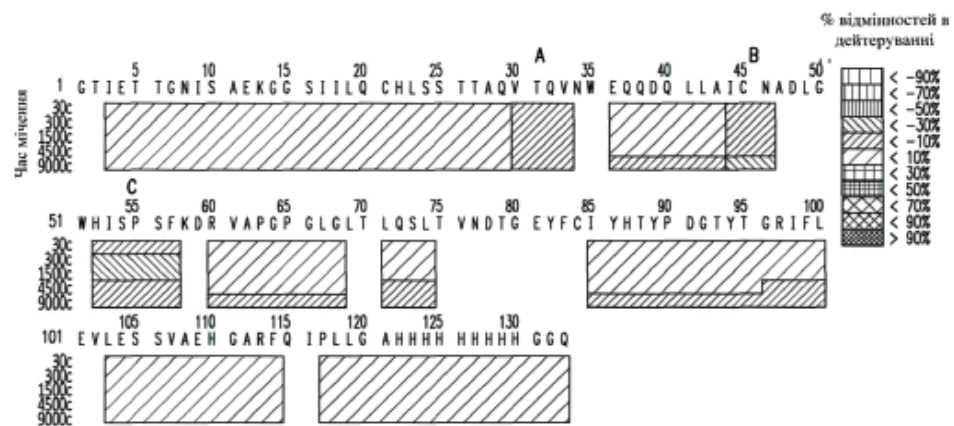


Fig. 14

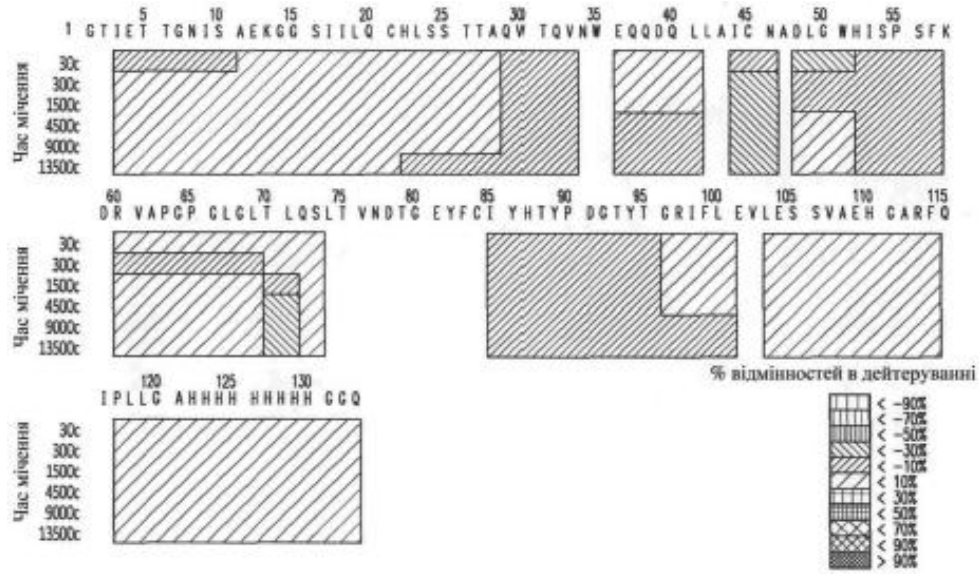


Fig. 15

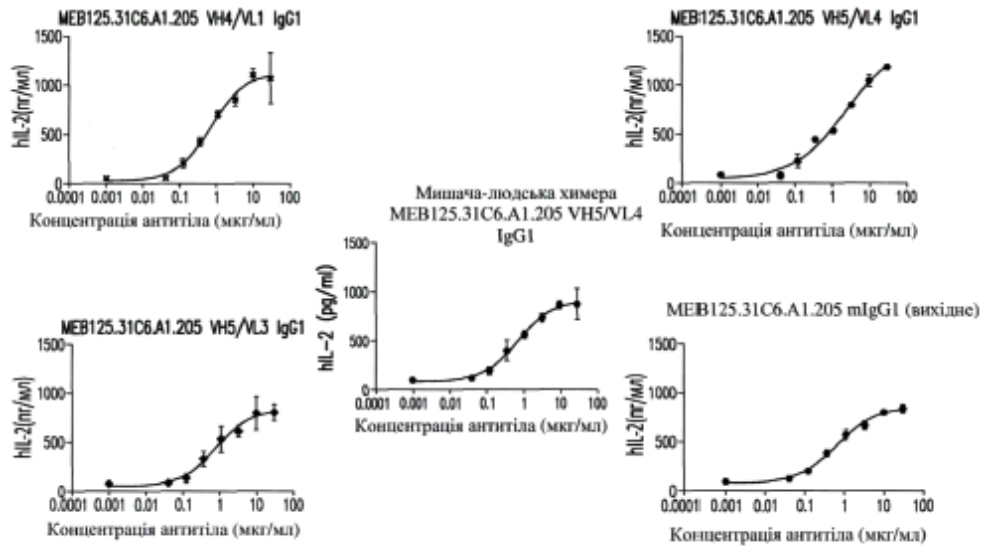
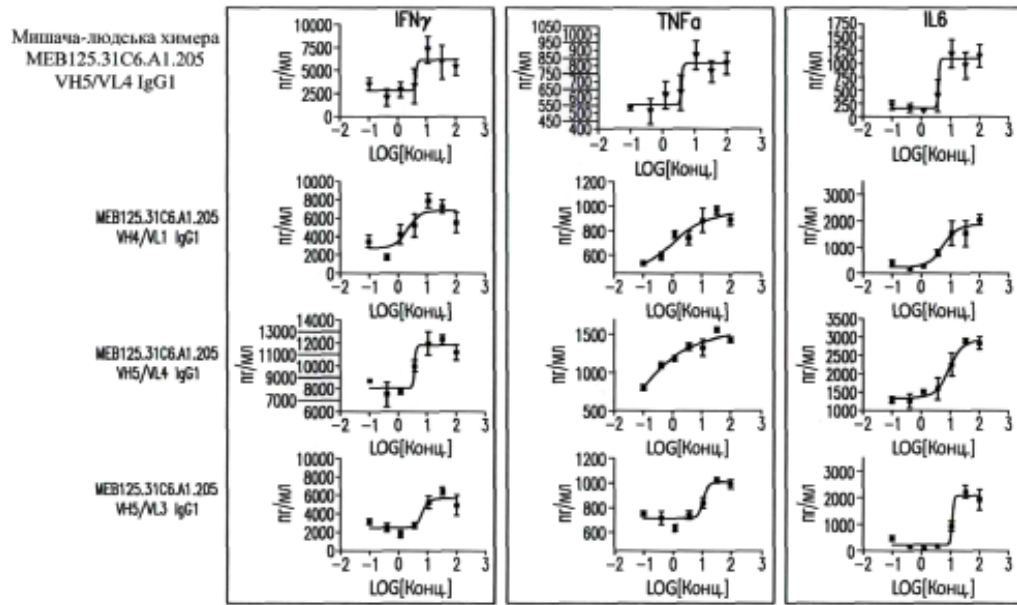


Fig. 16



Фиг. 17