

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

(98) вул. Л.Первомайського, 11, кв. 45, м. Київ, 01023

(85) 2007-11-26

(74) Мошинська Ніна Миколаївна, (UA)

(45) [2011-09-12]

(43) [2008-02-11]

(24) 2011-09-12

(22) 2006-04-13

(12) Патент України (на 20 р.)

(21) а200711806

(46) 2021-07-07

(86) 2006-04-13 PCT/IB2006/001053

(30) 60/675,311 2005-04-26 US

(54) АНТИТІЛО, ЯКЕ СПЕЦИФІЧНО ЗВ'ЯЗУЄТЬСЯ З Р-КАДГЕРИНОМ АНТИТЕЛО, КОТОРОЕ СПЕЦИФИЧЕСКИ СВЯЗЫВАЕТСЯ С Р-КАДГЕРИНОМ ANTIBODY THAT SPECIFICALLY BINDS TO P-CADHERIN

(56) WO 02097395 A, 05.12.2002. 2 LIU GANG ET AL: "Neph1 and nephrin interaction in the slit diaphragm is an important determinant of glomerular permeability." THE JOURNAL OF CLINICAL INVESTIGATION. JUL 2003, vol. 112, no. 2, July 2003 (2003-07), pages 209-211, XP002400164 ISSN: 0021-9738. 3 WO 0125492 A, 12.04.2001. 2

(71) US ПФАЙЗЕР ИНК. US ПФАЙЗЕР ИНК. US PFIZER INC.

(72) US Боер Крістофер Тодд US Боер Крістофер Тодд US Bauer Christopher Todd US Бернер Морін Джері US Бернер Морин Джері US Bourner Maureen Jeri GB Бойл Мелані GB Бойл Мелани GB Boyle Melanie US Касперсон Джеральд Фрайес US Касперсон Джеральд Фрайес US Casperson Gerald Fries US Гріггс Девід Уїлльям US Гріггс Девід Уїлльям US Griggs David William US Хед Річард Девід US Хед Річард Девід US Head Richard David US Джой Уїлльям Дін US Джой Уїлльям Дин US Joy William Dean US Маццарелла Річард Аллен US Маццарелла Річард Аллен US Mazzarella Richard Allen GB Мінтер Ральф Реймонд GB Мінтер Ральф Реймонд GB Minter Ralph Raymond US Моффат Марк Аллен US Моффат Марк Аллен US Moffat Mark Allen US Тіле Баррет Річард US Тіле Баррет Річард US Thiele Barrett Richard US Ванарсдейл Тодд Лі US Ванарсдейл Тодд Ли US Vanarsdale Todd Lee

(73) US ПФАЙЗЕР ИНК. US ПФАЙЗЕР ИНК. US PFIZER INC.

Изобретение относится к выделенному антителу или его антигенсвязывающей части, которые связываются с Р-кадгерином, выделенной молекулы нуклеиновой кислоты, которая кодирует данное антитело, а также к фармацевтической композиции, которая его содержит.

Винахід належить до виділеного антитіла або його антигензв'язувальної частини, які зв'язуються з Р-кадгерином, виділеної молекули нуклеїнової кислоти, що кодує дане антитіло, а також до фармацевтичної композиції, що його містить.

The present invention relates to an isolated antibody or antigen-binding portions thereof that bind to P-cadherin, to an isolated nucleic acid molecule encoding such antibody and to a pharmaceutical composition comprising the antibody.

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

- a) CDR1 V_H , як вказано у SEQ ID NO:24;
- b) CDR2 V_H , як вказано у SEQ ID NO:25; і
- c) CDR3 V_H , як вказано у будь-якій з SEQ ID NO:26-37 і 91-256;

і де домен V_L містить:

- d) CDR1 V_L , як вказано у SEQ ID NO:38;
- e) CDR2 V_L , як вказано у SEQ ID NO:39; і
- f) CDR3 V_L , як вказано у будь-якій з SEQ ID NO:40-47 і 257-319.

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

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

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

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

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

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

вказано у SEQ ID NO:320, і домен V_L , як вказано у SEQ ID NO:326;

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

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

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

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

9. Антитіло за п. 8, де IgG являє собою IgG₁, де константна ділянка важкого ланцюга містить SEQ ID NO:344, і де константна ділянка легкого ланцюга містить SEQ ID NO:345, за умови, що С-кінцевий залишок лізину з SEQ ID NO:344 необов'язково відщеплений.

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

11. Антитіло за п. 1, що містить амінокислотну послідовність варіабельної ділянки важкого ланцюга, для якої використовується ген сімейства V_H-3 людини.

12. Виділена молекула нуклеїнової кислоти, яка містить:

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

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

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

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

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

Кадгерини являють собою суперсімейство трансмембранних глікопротеїнів, що регулюють міжклітинну адгезію у ході розвитку і підтримки гомеостазу тканин (Gumbiner J. Cell. Biol., 148:399-404 (2000); Yagi, et al., Genes Dev., 14:1169-1180 (2000)). Внутрішньоклітинні домени кадгерину взаємодіють з цитоплазматичними білками, такими як катеніни і p120, які формують основу прикріплення кадгерину до актинового цитоскелету. Кадгерини мають п'ять позаклітинних доменів, що зв'язують Ca^{2+} , і невеликий цитоплазматичний домен, який є високо консервативним серед класичних кадгеринів. Члени сімейства класичних кадгеринів включають Р-кадгерин, Е-кадгерин і N-кадгерин. Вважають, що молекули клітинної адгезії, такі як кадгерини, грають важливу роль у клітинних контактах ракових і метастатичних клітин (Furukawa, et al., Microscopy Res. Technique 38 (4):343-352 (1997)). Експресія Р-кадгерину у звичайних дорослих тканинах є низькою і, в основному, обмежується міоепітеліальними клітинами і базальними шарами багатошарового епітелію (Shimoyama, et al., Cancer Res. 49:2128-33 (1989)). Експресія Р-кадгерину підвищується при запальних захворюваннях кишечнику, таких як хвороба Крона і коліт (Hardy, et al., Gut 50:513-519 (2002)). У наш час значна сукупність даних також свідчить, що порушена експресія Р-кадгерину пов'язана з клітинною проліферацією і з пухлинами товстої кишки, молочної залози, легенів, щитовидної залози і шийки матки (Gamallo, Modern Pathology, 14:650-654, (2001); i Stefansson, et al., J. Clin. Oncol. 22(7):1242-1252 (2004)). Було описано, що Р-кадгерин людини являє собою антиген, розпізнаваний моноклональним антитілом NCC-CAD-299, яке утворюється проти плоскоклетинного раку жіночих зовнішніх статевих органів (Shimoyama, et al., Cancer Res., 49:2128-2133 (1989)). Припускають, що регуляція опосередковуваної Р-кадгерином адгезії і внутрішньоклітинної передачі сигналів призводить до зниженої проліферації і виживання пухлинних клітин *in vivo*. Відповідно, у зв'язку з центральною роллю, яку Р-кадгерин, очевидно, грає у клітинній проліферації і розвитку солідної пухлини, бажано одержати антитіла проти Р-кадгерину, які здатні забезпечити сприятливий терапевтичний вплив на пацієнтів з різними видами раку.

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

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

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

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

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

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

Ф) В іншому варіанті здійснення антитіло проти Р-кадгерину або його частина підвищують розпад шароподібного утворення у 2 рази або більше в аналізі розпаду шароподібного утворення, що залежить від Р-кадгерину, при порівнянні з контрольним зразком без наявності IgG. В іншому варіанті здійснення антитіло проти Р-кадгерину або його частина підвищують розпад шароподібного утворення в аналізі розпаду шароподібного утворення, що залежить від Р-кадгерину, принаймні у 3, принаймні у 4, принаймні у 6, принаймні у 10 або принаймні у 15 разів у порівнянні з контрольним зразком без наявності IgG.

Г) В іншому варіанті здійснення антитіло проти Р-кадгерину або його частина конкурують за зв'язування Р-кадгерину з антитілом, вибраним з групи, яка складається з 194-е06; 194-а02; 194-б09; 195-е11; 194-г09; 196-г02; 194-е01; 196-д10; 196-г03; 196-е06; 195-а09; 198-а09; 200-г06; g-194-б09; g-194-г09; g-196-г03; g-196-г02; g-194-е01; g-194-е06; 129-1с4; i g-129-1с4.

Н) В іншому варіанті здійснення антитіло проти Р-кадгерину або його частина перехресно конкурують за зв'язування Р-кадгерину з антитілом, вибраним з групи, яка складається з 194-е06; 194-а02; 194-б09; 195-е11; 194-г09; 196-г02; 194-е01; 196-д10; 196-г03; 196-е06; 195-а09; 198-а09; 200-г06; g-194-б09; g-194-г09; g-196-г03; g-196-г02; g-194-е01; g-194-е06; 129-1с4; i g-129-1с4.

І) В іншому варіанті здійснення антитіло проти Р-кадгерину або його частина зв'язуються з тим же епітопом Р-кадгерину, що і антитіло, вибране з групи, яка складається з 194-е06; 194-а02; 194-б09; 195-е11; 194-г09; 196-г02; 194-е01; 196-д10; 196-г03; 196-е06; 195-а09; 198-а09; 200-г06; g-194-б09; g-194-г09; g-196-г03; g-196-г02; g-194-е01; g-194-е06; 129-1с4; i g-129-1с4.

Ј) В іншому варіанті здійснення антитіло проти Р-кадгерину або його частина зв'язуються з Р-кадгериним практично з тією ж величиною $K_{\text{зв'яз.}}$, що і антитіло, вибране з групи, яка складається з 194-е06; 194-а02; 194-б09; 195-е11; 194-г09; 196-г02; 194-е01; 196-д10; 196-г03; 196-е06; 195-а09; 198-а09; 200-г06; g-194-б09; g-194-г09; g-196-г03; g-196-г02; g-194-е01; g-194-е06; 129-1с4; i g-129-1с4.

К) В іншому варіанті здійснення антитіло проти Р-кадгерину або його частина зв'язуються з Р-кадгериним практично з тією ж величиною $K_{\text{зв'яз.}}$, що і антитіло, вибране з групи, яка складається з 194-е06; 194-а02; 194-б09; 195-е11; 194-г09; 196-г02; 194-е01; 196-д10; 196-г03; 196-е06; 195-а09; 198-а09; 200-г06; g-194-б09; g-194-г09; g-196-г03; g-196-г02; g-194-е01; g-194-е06; 129-1с4; i g-129-1с4.

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

В іншому варіанті здійснення антитіло або його частина володіють принаймні однією з описаних раніше в А)-К) функціональних властивостей, містять домен V_H , який являє собою будь-яку з SEQ ID №№:1-13 і 320-325 або відрізняється від будь-якої з SEQ ID №№:1-13 і 320-325 наявністю принаймні однієї консервативної амінокислотної заміни. Наприклад, домен V_H може відрізнятися від будь-якої з SEQ ID №№: 1-13 і 320-325 на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 або 10 консервативних амінокислотних заміни. В іншому варіанті здійснення будь-яка з цих консервативних амінокислотних заміни може відбуватися в областях CDR1, CDR2 і/або CDR3.

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

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

В іншому аспекті даний винахід стосується антитіла або його антигензв'язувальної частини, що володіє принаймні однією з описаних раніше в А)-К) функціональних властивостей, де амінокислотна послідовність доменів V_L і V_H принаймні на 90 % співпадає з доменами V_L і V_H , відповідно, будь-якого з антитіл 194-е06; 194-а02; 194-б09; 195-е11; 194-г09; 196-г02; 194-01 196-д10; 196-г03; 196-е06; 195-а09; 198-а09; 200-г06; g-194-б09; g-194-г09; g-196-г03; g-196-г02; g-194-е01; g-194-е06; 129-1с4; i g-129-1с4. Наприклад, амінокислотна послідовність кожного з доменів V_L і V_H принаймні на 91 %, 93 %, 95 %, 97 %, 99 % або 100 % співпадає з доменами V_L і V_H , відповідно, будь-якого з антитіл 194-е06; 194-а02; 194-б09; 195-е11; 194-г09; 196-г02; 194-е01; 196-д10; 196-г03; 196-е06; 195-а09; 198-а09; 200-г06; g-194-б09; g-194-г09; g-196-г03; g-196-г02; g-194-е01; g-194-е06; 129-1с4; i g-129-1с4.

В іншому аспекті даний винахід стосується антитіла або його антигензв'язувальної частини, які вибирають з групи, що складається з а) антитіла або його ділянки, що містить домен V_H , як вказано у SEQ ID №: 1, і домен V_L , як вказано у SEQ ID №:14; б) антитіла або його ділянки, що містить домен V_H , як вказано у SEQ ID №:2, і домен V_L , як вказано у SEQ ID №:14; в) антитіла або його ділянки, що містить домен V_H , як вказано у SEQ ID №:2, і домен V_L , як вказано у SEQ ID №:15; г) антитіла або його ділянки, що містить домен V_H , як вказано у SEQ ID №:3, і домен V_L , як вказано у SEQ ID №:16; е) антитіла або його ділянки, що містить домен V_H , як вказано у SEQ ID №:4, і домен V_L , як вказано у SEQ ID №:17; ф) антитіла або його ділянки, що містить домен V_H , як вказано у SEQ ID №:4, і домен V_L , як вказано у SEQ ID №:23; г) антитіла або його ділянки, що містить домен V_H , як вказано у SEQ ID №:5, і домен V_L , як вказано у SEQ ID №:18; h) антитіла або його ділянки, що містить домен V_H , як вказано у SEQ ID №:6, і домен V_L , як вказано у SEQ ID №:23; i) антитіла або його ділянки, що містить домен V_H , як вказано у SEQ ID №:7, і домен V_L , як вказано у SEQ ID №:23; j) антитіла або його ділянки, що містить домен V_H , як вказано у

SEQ ID №:8, і домен V_L, як вказано у SEQ ID №:23; к) антитіла або його ділянки, що містить домен V_H, як вказано у SEQ ID №:9, і домен V_L, як вказано у SEQ ID №:23; л) антитіла або його ділянки, що містить домен V_H, як вказано у SEQ ID №:10, і домен V_L, як вказано у SEQ ID №:19; м) антитіла або його ділянки, що містить домен V_H, як вказано у SEQ ID №:11, і домен V_L, як вказано у SEQ ID №:20; н) антитіла або його ділянки, що містить домен V_H, як вказано у SEQ ID №:12, і домен V_L, як вказано у SEQ ID №:21; о) антитіла або його ділянки, що містить домен V_H, як вказано у SEQ ID №:13, і домен V_L, як вказано у SEQ ID №:22; р) антитіла або його ділянки, що містить домен V_H, як вказано у SEQ ID №:320, і домен V_L, як вказано у SEQ ID №:326; q) антитіла або його ділянки, що містить домен V_H, як вказано у SEQ ID №:321, і домен V_L, як вказано у SEQ ID №:327; r) антитіла або його ділянки, що містить домен V_H, як вказано у SEQ ID №:322, і домен V_L, як вказано у SEQ ID №:328; s) антитіла або його ділянки, що містить домен V_H, як вказано у SEQ ID №:323, і домен V_L, як вказано у SEQ ID №:329; t) антитіла або його ділянки, що містить домен V_H, як вказано у SEQ ID №:324, і домен V_L, як вказано у SEQ ID №:330; і u) антитіла або його ділянки, що містить домен V_H, як вказано у SEQ ID №:325, і домен V_L, як вказано у SEQ ID №:331.

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

В іншому варіанті здійснення даний винахід стосується антитіла або його антигензв'язувальної частини, що володіють принаймні однією з описаних раніше в А)-К) функціональних властивостей, містять домен V_H, який незалежно вибирають з будь-якої з SEQ ID №№:1-13 і 320-325 або послідовності, відмінної від будь-якої з SEQ ID №№:1-13 і 320-325 принаймні на одну консервативну амінокислотну заміну, і додатково містять домен V_L, який незалежно вибирають з будь-якої з SEQ ID №№: 14-23 і 326-331, або послідовності, відмінної від будь-якої з SEQ ID №№: 14-23 і 326-331 принаймні на одну консервативну амінокислотну заміну. Наприклад, кожний з доменів V_H і V_L може незалежно відрізнятися від будь-якої з SEQ ID №№:1-13, 320-325, 14-23 і 326-331 на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 або 10 консервативних амінокислотних заміни.

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

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

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

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

Крім того, даний винахід стосується антитіла або його антигензв'язувальної частини, де вказане антитіло або антигензв'язувальна частина містять: CDR1 V_H, як вказано у SEQ ID №:24; CDR2 V_H, як вказано у SEQ ID №:25; CDR3 V_H, вибраний з будь-якої з SEQ ID №№:26-37 і 91-256; CDR1 V_L, як вказано у SEQ ID №:38; CDR2 V_L, як вказано у SEQ ID №:39; і CDR3 V_L, вибраний з будь-якої з SEQ ID №№:40-47 і 257-319. В іншому варіанті здійснення кожна з вказаних послідовностей CDR1, CDR2 і CDR3 V_H і V_L може незалежно відрізнятися від конкретних вказаних вище SEQ ID №№ принаймні на одну консервативну амінокислотну заміну. Наприклад, кожна з послідовностей CDR1, CDR2 і CDR3 може незалежно відрізнятися від відповідних конкретних SEQ ID №№, вказаних вище, на 1, 2, 3, 4 або 5 консервативних амінокислотних заміни.

Крім того, даний винахід стосується антитіла або його антигензв'язувальної частини, де вказане антитіло або антигензв'язувальна частина містять CDR1 V_H і V_L, CDR2 V_H і V_L і CDR3 V_H і V_L, як зустрічається у будь-якому з антитіл 194-e06; 194-a02; 194-b09; 195-e11; 194-g09; 196-h02; 194-e01; 196-d10; 196-g03; 196-e06; 195-a09; 198-a09; 200-h06; g-194-b09; g-194-g09; g-196-g03; g-196-h02; g-194-e01; g-194-e06; 129-1c4; і g-129-1c4.

Крім того, даний винахід стосується антитіла або його антигензв'язувальної частини, що містять домен V_H,

який вибирають з будь-якої з SEQ ID №№:1-13 і 320-325 або який відрізняється від будь-якої з SEQ ID №№:1-13 і 320-325 на 1-10 консервативних амінокислотних заміні.

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

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

Крім того, даний винахід стосується антитіла або його антигензв'язувальної частини, де вказане антитіло або антигензв'язувальна частина містять: CDR1V_H, як вказано у SEQ ID №:24, або послідовність, відмінну від SEQ ID №:24 на 1-4 консервативних амінокислотних заміні; CDR2 V_H, як вказано у SEQ ID №:25, або послідовність, відмінну від SEQ ID №:25 на 1-4 консервативних амінокислотних заміні; і CDR3 V_H, що вибирають з будь-якої з SEQ ID №№:26-37 і 91-256, або з послідовності, відмінної від будь-якої з SEQ ID №№:26-37 і 91-256 на 1-4 консервативних амінокислотних заміні.

Крім того, даний винахід стосується антитіла або його антигензв'язувальної частини, де вказане антитіло або антигензв'язувальна частина містять: CDR1V_L, як вказано у SEQ ID №:38, або послідовність, відмінну від SEQ ID №:38 на 1-4 консервативних амінокислотних заміні; CDR2V_L, як вказано у SEQ ID №:39, або послідовність, відмінну від SEQ ID №:39 на 1-4 консервативних амінокислотних заміні; і CDR3 V_L, що вибирають з будь-якої з SEQ ID №№:40-47 і 257-319, або з послідовності, відмінної від будь-якої з SEQ ID №№:40-47 і 257-319 на 1-4 консервативних амінокислотних заміні.

Крім того, даний винахід стосується антитіла або його антигензв'язувальної частини, що володіють принаймні однією з описаних раніше в А)-К) функціональних властивостей, де вказане антитіло або антигензв'язувальна частина містять: FR1 V_H, як вказано у SEQ ID №:48; FR2 V_H, як вказано у SEQ ID №:49; FR3 V_H, вибраний з будь-якої з SEQ ID №№:50-55; FR4 V_H, вибраний з будь-якої з SEQ ID №№:56 і 57; FR1 V_L, вибраний з будь-якої з SEQ ID №№:58 і 59; FR2V_L, вибраний з будь-якої з SEQ ID №№:60-62; FR3 V_L, вибраний з будь-якої з SEQ ID №№:63-66; і FR4 V_L, як вказано у SEQ ID №:67. В іншому варіанті здійснення кожна з вказаних послідовностей FR1,FR2,FR3 і FR4 V_H і V_L може також незалежно відрізнятися від конкретних вказаних вище SEQ ID №№ принаймні на одну консервативну амінокислотну заміну. Наприклад, кожна з послідовностей FR1,FR2,FR3 і FR4 може незалежно відрізнятися від відповідних конкретних SEQ ID №№, вказаних вище, на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 або 10 консервативних амінокислотних заміні. У ще одному варіанті здійснення будь-яку з послідовностей FR1,FR2,FR3 і FR4 можна піддавати мутації для співпадання з відповідною послідовністю каркасної області зародкової лінії.

В іншому варіанті здійснення даний винахід стосується будь-якого з описаних у даній заявці антитіл, де антитіло являє собою молекулу IgG, IgM, IgE, IgA або IgD або одержане з них. Наприклад, антитіло може являти собою IgG₁ або IgG₂. Наприклад, в одному з варіантів здійснення IgG являє собою IgG₁, де константна область важкого ланцюга містить SEQ ID №:344 і де константна область легкого ланцюга містить SEQ ID №:345, за умови, що С-кінцевий залишок лізину з SEQ ID №:344, необов'язково, розщеплений.

Інший варіант здійснення стосується будь-яких описаних вище антитіл або антигензв'язувальних частин, що являють собою фрагмент Fab, фрагмент F(ab')₂, фрагмент Fv, одноланцюжковий фрагмент Fv, одноланцюжковий фрагмент V_H, одноланцюжковий фрагмент V_L, гуманізоване антитіло, химерне антитіло або біспецифічне антитіло.

Інший варіант здійснення стосується дериватизованого антитіла або антигензв'язувальної частини, що містять будь-яке з антитіл або їх частин, як описано у даній заявці, і принаймні одну додаткову молекулу. Наприклад, принаймні одна додаткова молекула може являти собою інше антитіло (наприклад, біспецифічне антитіло або димер), засіб для реєстрації, мітку, цитотоксичний засіб, фармацевтичний засіб і/або білок, або пептид, які здатні опосередковувати зв'язок антитіла або ділянки антитіла з іншою молекулою (такою як внутрішня область стрептавідину або полігістидинова мітка). Наприклад, ефективні засоби для реєстрації, за допомогою яких можна дериватизувати антитіло або антигензв'язувальну частину за винаходом, включають флуоресцентні сполуки, у тому числі флуоресцеїн, флуоресцеїнізотіоціанат, родамін, хлорид 5-диметиламін-1-нафталінсульфонілу, фікоеритрин, лантанідні люмінофори і т.п. Також антитіло можна мітити ефективними для реєстрації ферментами, такими як пероксидаза хрому, β-галактозидаза, люцифераза, лужна фосфатаза, глюкооксидаза і т.п. В іншому варіанті здійснення антитіла або їх ділянки за даним винаходом можна також мітити біотином або заздалегідь заданим поліпептидним епітопом, розпізнаваним вторинним репортером (наприклад, парні послідовності лейцинових застібок, ділянки зв'язування для вторинних антитіл, домени зв'язування металів, епітопні мітки). У ще одному варіанті здійснення даного винаходу будь-які з антитіл або їх частин також можна дериватизувати хімічною групою, такою як поліетиленгліколь (PEG), метильною або етильною групою, або вуглецевою групою.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ВИЗНАЧЕННЯ І ЗАГАЛЬНІ СПОСОБИ

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

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

Відомо, що основна структурна одиниця антитіла містить тетрамер. Кожний тетрамер складається з двох

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

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

Варіабельні області важкого і легкого ланцюгів володіють однаковою загальною структурою з відносно консервативних каркасних областей (FR), з'єднаних трьома гіперваріабельними ділянками, які також називають ділянками, що визначають комплементарність, або CDR. Термін "варіабельний" стосується того факту, що серед антитіл послідовність визначених ділянок варіабельних доменів значною мірою відрізняється, і вони використовуються для зв'язування і специфічності кожного конкретного антитіла відносно його конкретного антигену. Однак, варіабельність розподілена серед варіабельних доменів антитіла нерівномірно, а сконцентрована у CDR, які розділені більш високо консервативними FR. CDR з двох ланцюгів кожної пари вирівняні за допомогою FR, що дозволяє зв'язуватися з конкретним епітопом. З N-кінця у напрямі до C-кінця і легкий, і важкий ланцюги містять домени FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 і FR4. Співвіднесення амінокислот з кожним доменом відбувається відповідно до визначень Kabat Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987 and 1991)) або Chothia & Lesk J., *Mol. Biol.*, 196:901-917 (1987); Chothia, et al., *Nature* 342:878-883 (1989), описи яких наведені тут повністю шляхом посилання.

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

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

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

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

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

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

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

У межах даної заявки термін "поліпептидний фрагмент" стосується поліпептиду, що має амінокінцеву або карбоксикінцеву делецію, але де інша амінокислотна послідовність ідентична відповідним положенням у природній послідовності. У деяких варіантах здійснення довжина фрагментів складає принаймні 5, 6, 8 або 10 амінокислот. В інших варіантах здійснення довжина фрагментів складає принаймні 14, принаймні 20, принаймні 50 або принаймні 70, 80, 90, 100, 150 або 200 амінокислот.

У межах даної заявки термін "аналог" або "поліпептидний аналог" стосується поліпептиду, що містить ділянку,

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

У визначених варіантах здійснення амінокислотні заміни в антитілі проти Р-кадгерину або в його антигензв'язувальній частині є такими, які: (1) знижують чутливість до протеолізу, (2) знижують чутливість до окиснення, (3) змінюють афінність зв'язування для формування білкових комплексів, а також (4) додають або модифікують інші фізико-хімічні або функціональні властивості таких аналогів, але при збереженні специфічного зв'язування з Р-кадгерином. Аналоги можуть містити різні заміни відносно природної пептидної послідовності. Наприклад, у природній послідовності, наприклад, у ділянці поліпептиду, розташованій поза межами домену(ів), що формує міжмолекулярні контакти, можна здійснювати одиничні або множинні амінокислотні заміни, переважно, консервативні амінокислотні заміни. Також у формуючому міжмолекулярні контакти домені(ах) можна здійснювати амінокислотні заміни, здатні поліпшити активність поліпептиду. Консервативна амінокислотна заміна не повинна істотно змінювати структурні характеристики вихідної послідовності; наприклад, заміна амінокислоти не повинна змінювати антипаралельну β -складчасту структуру, що утворює домен зв'язування імуноглобуліну, який знаходиться у вихідній послідовності, або не повинна порушувати інші типи вторинної структури, що характеризує вихідну послідовність. Загалом, в антипаралельній β -складчастій структурі не використовують гліцин і пролін. Приклади визначених у даній галузі вторинних і третинних структур поліпептидів описані у *Proteins. Structures and Molecular Principles* (Creighton, Ed., W.H. Freeman and Company, New York (1984)); *Introduction to Protein Structure* (C.Branden and J.Toose, eds., Garland Publishing, New York, N.Y. (1991)); і Thornton, et al., *Nature*, 354:105 (1991), наведених тут повністю шляхом посилання.

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

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

Крім того, антитіло або його антигензв'язувальна частина можуть бути частиною більш великих молекул імуноадгезії, сформованих ковалентною або нековалентною взаємодією антитіла або ділянки антитіла з одним або декількома іншими білками або пептидами. Приклади таких молекул імуноадгезії включають використання внутрішньої області стрептавідину для одержання тетрамерної молекули scFv (Kipriyanov, et al., *Human Antibodies and Hybridomas*, 6:93-101 (1995)) і використання цистеїнового залишку, маркерного пептиду і С-кінцевої поліістидинової мітки для одержання бівалентних і біотинільованих молекул scFv (Kipriyanov, et al., *Mol. Immunol.*, 31:1047-1058 (1994)). Інші приклади включають випадки, коли одна або декілька CDR антитіла ковалентно або нековалентно включені у молекулу, роблячи її імуноадгезивною, такою, що специфічно зв'язується з цікавлячим антигеном, таким як Р-кадгерин. У таких варіантах здійснення CDR можна включати як частину більш великого поліпептидного ланцюга, можна ковалентно зв'язувати з іншим поліпептидним ланцюгом або можна включати нековалентним способом. Ділянки антитіла, такі як фрагменти Fab і $F(ab')_2$, можна одержувати з цілих антитіл з використанням загальноприйнятих способів, таких як розщеплення цілих антитіл папаїном або пепсином, відповідно. Крім того, антитіла, частини антитіл і молекули імуноадгезії можна одержувати з використанням загальноприйнятих способів рекомбінантної ДНК, як описано у даній заявці.

Якщо "антитіло" згадують у даній заявці відносно даного винаходу, то потрібно розуміти, що також можна використовувати його антигензв'язувальну частину. Антигензв'язувальна частина конкурує з цілим антитілом за специфічне зв'язування. Див., загалом, *Fundamental Immunology*.Ch.7 (Paul, W., ed., 2nd ed. Raven Press, N.Y. (1989)) (наведене тут повністю шляхом посилання для всіх цілей). Антигензв'язувальні частини можна

одержувати способами рекомбінантної ДНК або ферментативним або хімічним розщепленням цілих антитіл. У деяких варіантах здійснення антигензв'язувальні частини включають фрагменти Fab, Fab', F(ab')₂, Fd, Fv, dAb і гіперваріабельні ділянки (CDR), одноланцюжкові антитіла (scFv), химерні антитіла, димери і поліпептиди, які містять принаймні ділянку антитіла, достатню для надання поліпептиду специфічного зв'язування антигену. У варіантах здійснення з однією або декількома ділянками зв'язування ділянки зв'язування можуть співпадати одна з одною або можуть відрізнятися.

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

У межах даної заявки термін "химерне антитіло" означає антитіло, що містить ділянки з двох або більше різних антитіл, у тому числі антитіл з різних видів. Наприклад, одну або декілька CDR химерного антитіла можна одержувати з антитіла людини проти Р-кадгерину. В одному з прикладів CDR з антитіла людини можна об'єднувати з CDR з антитіла, що не є людським, наприклад, мишачого або щурячого. В іншому прикладі всі CDR можна одержувати з антитілу людини проти Р-кадгерину. У ще одному прикладі CDR з більш ніж одного антитіла людини проти Р-кадгерину можна об'єднувати у химерне антитіло. Наприклад, химерне антитіло може містити CDR1 з легкого ланцюга першого антитіла людини проти Р-кадгерину, CDR2 з легкого ланцюга другого антитіла людини проти Р-кадгерину і CDR3 з легкого ланцюга третього антитіла людини проти Р-кадгерину, а CDR з важкого ланцюга можуть бути одержані з одного або декількох інших антитіл проти Р-кадгерину. Крім того, каркасні області можна одержувати з одного з антитіл проти Р-кадгерину, з якого одержують одну або декілька CDR, або з одного або декількох різних антитіл людини. Крім того, мають на увазі, що термін "химерне антитіло" включає будь-яке з вказаних вище поєднань, де поєднання містять антитіла людини і антитіла, що не є людськими.

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

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

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

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

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

У межах даної заявки термін "аналіз залежної від Р-кадгерину адгезії клітин" стосується аналізу, що використовується для вимірювання здатності антитіла проти Р-кадгерину блокувати адгезію клітин до рецептора Р-кадгерину, зафіксованого на твердому носії. Наприклад, цей тип аналізу можна здійснювати фіксуванням Р-кадгерину на твердому носії, такому як пластмаса. Потім клітинам з надекспресією Р-кадгерину дозволяють прикріплюватися до твердого носія за допомогою взаємодій Р-кадгерин-Р-кадгерин. Потім можна кількісно визначити величину адгезії за наявності і за відсутності антитіла проти Р-кадгерину. Адгезію як функцію концентрації антитіла можна потім використовувати для визначення величини IC₅₀. У прикладі 3 представлено додаткові подробиці аналізу залежної від Р-кадгерину адгезії клітин, який використовували для вимірювання величин IC₅₀ для антитіл проти Р-кадгерину.

У межах даної заявки термін "аналіз залежної від Р-кадгерину агрегації клітин" стосується аналізу для вимірювання здатності антитіла проти Р-кадгерину блокувати агрегацію клітин, які експресують на своїй поверхні Р-кадгерин. Наприклад, у цьому типі аналізу можна використовувати лінію клітин, які надекспресують Р-кадгерин, де клітини вміщують у суспензію і дозволяють формувати скупчення, що залежать від Р-кадгерину. Потім аналіз агрегації використовують для кількісного визначення здатності антитіла проти Р-кадгерину запобігати цій

агрегації, що проводиться за допомогою вимірювання розміру клітинних скупчень, які утворюються у присутності і за відсутності антитіла. Розмір скупчення клітин як функцію концентрації антитіла проти Р-кадгерину потім можна використовувати для визначення величини IC_{50} . У прикладі 4 представлені додаткові подробиці аналізу залежної від Р-кадгерину агрегації клітин, який використовували для вимірювання величин IC_{50} для декількох антитіл проти Р-кадгерину.

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

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

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

У межах даної заявки термін "конкурує" відносно антитіла означає, що перше антитіло або його антигензв'язувальна частина конкурує за зв'язування з другим антитілом або його антигензв'язувальною частиною, де зв'язування першого антитіла з його спорідненим епітопом у присутності другого антитіла помітно знижується у порівнянні зі зв'язуванням першого антитіла за відсутності другого антитіла. Альтернативно, може існувати, але необов'язково, випадок, коли зв'язування другого антитіла з його епітопом у присутності першого антитіла також помітно знижується. Тобто перше антитіло може інгібувати зв'язування другого антитіла з його епітопом за відсутності інгібування другим антитілом зв'язування першого антитіла з його відповідним епітопом. Однак, якщо кожне антитіло значно інгібує зв'язування іншого антитіла з його спорідненим епітопом або лігандом, в однаковій, більшій або меншій мірі, то вказують, що антитіла "перехресно конкурують" одне з одним за зв'язування з їх відповідним епітопом(ами). У даній винахід входить і конкурування, і перехресне конкурування антитіл. Незалежно від механізму, яким відбувається таке конкурування або перехресне конкурування (наприклад, стерична перешкода, конформаційна зміна або зв'язування зі спільним епітопом або його ділянкою і т.п.), фахівець у даній галузі на основі представлених у даній заявці вказівок розуміє, що таке конкурування і/або перехресне конкурування антитіл входить і може бути ефективним для описаних у даній заявці способів.

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

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

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

У межах даної заявки термін "ізолюваний полінуклеотид" означає полінуклеотид геномного, кДНК або синтетичного походження або їх визначеного поєднання, де внаслідок свого походження "ізолюваний полінуклеотид" (1) не зв'язаний з усіма або з частиною полінуклеотидів, з якими "ізолюваний полінуклеотид"

спостерігають у природі, (2) функціонально зв'язаний з полінуклеотидом, з яким він не зв'язаний у природі, або (3) не зустрічається у природі у вигляді частини більш великої послідовності.

У межах даної заявки термін "природні нуклеотиди" включає дезоксирибонуклеотиди і рибонуклеотиди. У межах даної заявки термін "модифіковані нуклеотиди" включає нуклеотиди з модифікованими або заміщеними групами цукрів і т.п. У межах даної заявки термін "олігонуклеотидні зв'язки" включає такі олігонуклеотидні зв'язки, як фосфортіоатний, фосфодитіоатний, фосфорселеноатний, фосфордиселеноатний, фосфоранілотіоатний, фосфоранілататний, фосфорамідатний і т.п. див., наприклад, LaPlanche, et al., Nucl. Acids Res., 14:9081 (1986); Stec, et al., J. Am. Chem. Soc., 106:6077 (1984); Stein, et al., Nucl. Acids Res., 16:3209 (1988); Zon, et al., Anti-Cancer Drug Design, 6:539 (1991); Zon, et al., Oligonucleotides and Analogues: A Practical Approach, pp.87-108 (F.Eckstein, Ed., Oxford University Press, Oxford England (1991)); патент США №5151510; Uhlmann and Peyman, Chemical Reviews, 90:543 (1990), описи яких наведені тут повністю шляхом посилання. За бажанням, олігонуклеотид може містити мітку для реєстрації.

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

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

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

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

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

Термін "процент співпадіння послідовності" у контексті послідовностей нуклеїнових кислот означає залишки у двох послідовностях, які є однаковими при вирівнюванні на предмет максимальної відповідності. Довжина порівнюваної на предмет співпадіння послідовності може перевищувати ділянку довжиною принаймні приблизно дев'ять нуклеотидів, звичайно - принаймні приблизно 18 нуклеотидів, більш звичайно - принаймні приблизно 24 нуклеотиди, як правило - принаймні приблизно 28 нуклеотидів, більш звичайно - принаймні приблизно 32 нуклеотиди, а переважно - принаймні приблизно 36,48 або більше нуклеотидів. Існує множина відомих у даній галузі різних алгоритмів, які можна використовувати для визначення співпадіння нуклеотидних послідовностей. Наприклад, полінуклеотидні послідовності можна порівнювати з використанням FASTA, Gap або Bestfit, що являють собою програми у Wisconsin Package Version 10.0, Genetics Computer Group (GCG), Madison, Wisconsin. FASTA, що містить, наприклад, програми FASTA2 і FASTA3, забезпечує вирівнювання і процент співпадіння послідовностей в областях найкращого перекривання заданої і шуканої послідовностей (Pearson, Methods Enzymol., 183:63-98 (1990); Pearson, Methods Mol. Biol., 132:185-219 (2000); Pearson, Methods Enzymol., 266:227-258 (1996); Pearson, J. Mol. Biol. 216:11-M (1998); наведені тут повністю шляхом посилання). Доки не вказано інакше, для конкретної програми або алгоритму використовують параметри за умовчанням. Наприклад, процент співпадіння послідовностей між послідовностями нуклеїнових кислот можна визначати з використанням FASTA з її встановленими за умовчанням параметрами (довжина слова складає 6 і фактор NOPAM для матриці для кількісного підрахунку) або з використанням Gap з її встановленими за умовчанням параметрами, як надано в GCG Version 6.1, наведеній тут повністю шляхом посилання.

Доки не вказано інакше, зразок для порівняння нуклеотидної послідовності включає комплементарну їй

послідовність. Таким чином, зразок для порівняння нуклеїнової кислоти, що володіє визначеною послідовністю, потрібно розуміти як такий, що включає її комплементарний ланцюг з її комплементарною послідовністю.

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

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

Застосовно до поліпептидів термін "значне співпадіння" або "значна подібність" означає, що дві послідовності амінокислот при оптимальному вирівнюванні, такому як за допомогою програм GAP або BESTFIT з використанням встановлених за умовчанням величин розриву, як надано у програмах, володіють подібністю послідовностей принаймні на 70 %, 75 % або 80 %, переважно подібністю послідовностей принаймні на 90 % або 95 %, а більш переважно - подібністю послідовностей принаймні на 97 %, 98 % або 99 %. У деяких варіантах здійснення положення залишків, які не є однаковими, відрізняються консервативними амінокислотними замінами.

У межах даної заявки термін "консервативна амінокислотна заміна" стосується випадку, коли амінокислотний залишок замінений іншим амінокислотним залишком, що володіє групою R бічного ланцюга з подібними хімічними властивостями (наприклад, заряд або гідрофобність). Загалом, консервативна амінокислотна заміна практично не змінює функціональні властивості білка. У випадках, коли дві або більше амінокислотних послідовностей відрізняються одна від одної консервативними замінами, процент співпадіння послідовностей можна підвищувати, вносячи поправку на консервативний характер заміни. Способи здійснення цієї поправки добре відомі фахівцям у даній галузі. Див., наприклад, Pearson, *Methods Mol. Biol.*, 243:307-31 (1994). Приклади груп амінокислот, що мають бічні ланцюги з подібними хімічними властивостями, включають: 1) аліфатичні бічні ланцюги: гліцин, аланін, валін, лейцин та ізолейцин; 2) аліфатично-гідроксильні бічні ланцюги: серин і треонін; 3) амідомісні бічні ланцюги: аспарагін і глутамін; 4) ароматичні бічні ланцюги: фенілаланін, тирозин і триптофан; 5) основні бічні ланцюги: лізин, аргінін і гістидин; 6) кислі бічні ланцюги: аспарагінова кислота і глутамінова кислота; і 7) сірковмісні бічні ланцюги: цистеїн і метіонін. Наприклад, консервативні амінокислотні заміни груп можуть являти собою: валін-лейцин-ізолейцин, фенілаланін-тирозин, лізин-аргінін, аланін-валін, глутамат-аспартат і аспарагін-глутамін.

Альтернативно, консервативна заміна являє собою будь-яку зміну, що володіє додатною величиною у матриці логарифмічної правдоподібності PAM250, описаній у Gonnet et al., *Science* 256:1443-45 (1992), наведеному тут повністю шляхом посилання. "Помірно консервативна" заміна являє собою будь-яку зміну, що володіє від'ємною величиною у матриці логарифмічної правдоподібності PAM250.

Як правило, співпадіння послідовностей для поліпептидів визначають з використанням програмного забезпечення для аналізу послідовностей. Програмне забезпечення для аналізу білків порівнює послідовності з використанням вимірювань подібності, що співвідносяться з різними замінами, делеціями та іншими модифікаціями, у тому числі консервативними амінокислотними замінами. Наприклад, GCG містить програми, такі як "Gap" і "Bestfit", які можна використовувати з встановленими за умовчанням параметрами, як вказано у програмах, для визначення гомології послідовностей або співпадіння послідовностей між близькоспорідненими поліпептидами, такими як гомологічні поліпептиди з різних видів організмів, або між білком дикого типу і його аналогом. Див., наприклад, GCG Version 6.1 (University of Wisconsin, WI). Також поліпептидні послідовності можна порівнювати з використанням FASTA, застосовуючи встановлені за умовчанням або рекомендовані параметри, див. GCG Version 6.1.FASTA (наприклад, FASTA2 і FASTA3) забезпечує вирівнювання і процент співпадіння послідовностей в областях найкращого перекривання заданої і шуканої послідовностей (Pearson, *Methods Enzymol.*, 183:63-98 (1990); Pearson, *Methods Mol. Biol.*, 132:185-219 (2000)). Іншим переважним алгоритмом при порівнянні послідовності за винаходом з базою даних, що містить велику кількість послідовностей з різних організмів, є комп'ютерна програма BLAST, особливо blastp або tblastn, з використанням встановлених за умовчанням параметрів, як надано разом з програмами. Див., наприклад, Altschul, et al., *J. Mol. Biol.*, 215:403-410 (1990); Altschul, et al., *Nucleic Acids Res.*, 25:3389-402 (1997).

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

У межах даної заявки терміни "мітка" або "мічений" стосуються включення іншої молекули в антитіло. В одному з варіантів здійснення мітка являє собою маркер, що піддається виявленню, наприклад, включення міченої радіоактивною міткою амінокислоти або приєднання до поліпептиду біотинільованих молекул, які можна виявляти міченим авідином (наприклад, стрептавідином, що володіє флуоресцентним маркером або ферментативною активністю, які можна реєструвати оптичними або колориметричними способами). В іншому

варіанті здійснення мітки або маркер можуть являти собою терапевтичний засіб, наприклад, кон'югат лікарського засобу або токсин. У даній галузі відомі і можуть бути використані різні способи мічення поліпептидів і глікопротеїнів. Приклади міток для поліпептидів включають в себе, але ними не обмежуються, наступне: радіоактивні ізотопи або радіонукліди (наприклад, ^3H , ^{14}C , ^{15}N , ^{35}S , ^{90}Y , ^{99}Tc , ^{111}In , ^{125}I , ^{131}I), флуоресцентні мітки (наприклад, FITC, родамін, лантанідні люмінофори), ферментні мітки (наприклад, пероксидаза хрому, β -галактозидаза, люцифераза, лужна фосфатаза), хемілюмінесцентні маркери, біотинільовані групи, заздалегідь визначені поліпептидні епітопи, розпізнавані вторинним репортером (наприклад, парні послідовності лейцинових застібок, ділянки зв'язування для вторинних антитіл, домени зв'язування металів, епітопні мітки), магнітні речовини, такі як хелати гадолінію, токсини, такі як коклюшний токсин, таксол, цитохалазин В, граміцидин D, бромід етидію, еметин, мітоміцин, етопозид, тепопозид, вінкристин, вінбластин, колхіцин, доксорубіцин, даунорубіцин, дигідроксіантрацидін, мітоксантрон, мітраміцин, актиноміцин D, 1-дегідротестостерон, глюкокортикоїди, прокаїн, тетракаїн, лідокаїн, пропранолол і пуроміцин, а також їх аналоги або гомологи. У деяких варіантах здійснення мітки приєднують до спейсерних груп різної довжини для зменшення можливої стеричної перешкоди.

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

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

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

Доки не вказано інакше, у межах даної заявки "патологічний ріст клітин" стосується клітинного росту, що не залежить від звичайних регуляторних механізмів (наприклад, втрата контактного інгібування), у тому числі патологічного росту звичайних клітин і росту патологічних клітин. Це включає в себе, але ним не обмежується, патологічний ріст: пухлинних клітин (пухлин), що проліферують внаслідок експресії мутантної тирозинкінази або надекспресії рецептора тирозинкінази; доброякісних і злоякісних клітин при інших проліферативних захворюваннях, при яких відбувається патологічна активація тирозинкінази; будь-яких пухлин, що проліферують за допомогою рецептора тирозинкіназ; будь-яких пухлин, що проліферують внаслідок патологічної активації серин/треонінкінази; доброякісних і злоякісних клітин при інших проліферативних захворюваннях, при яких відбувається патологічна активація серин/треонінкінази; пухлин, доброякісних і злоякісних, що експресують активований онкоген Ras; пухлинних клітин, доброякісних і злоякісних, в яких білок Ras активований внаслідок онкогенної мутації в іншому гені; доброякісних і злоякісних клітин при інших проліферативних захворюваннях, при яких відбувається патологічна активація Ras. Приклади таких доброякісних проліферативних захворювань являють собою псоріаз, доброякісну гіпертрофію передміхурової залози, вірус папіломи людини (HPV) і рестеноз. Також "патологічний ріст клітин" стосується і включає в себе патологічний ріст доброякісних і злоякісних клітин, обумовлений активністю ферменту фарнезилпротеїнтрансферази.

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

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

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

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

Антитіла проти Р-кадгерину людини

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

Відомі амінокислотні і нуклеотидні послідовності Р-кадгерину з декількох видів, включаючи людину (див., наприклад, унікальний ідентифікатор №NM_001793.3). Р-кадгерин людини або його антигенні частини можна

одержувати відповідно до способів, добре відомих фахівцям у даній галузі, або їх можна купувати у комерційних виробників (наприклад, R&D Systems861-PC-100).

У визначених варіантах здійснення антитіла за даним винаходом являють собою IgG, позначені як: 194-e06; 194-a02; 194-b09; 195-e11; 194-g09; 196-h02; 194-e01; 196-d10; 196-g03; 196-e06; 195-a09; 198-a09; 200-h06; g-194-b09; g-194-g09; g-196-g03; g-196-h02; g-194-e01; g-194-e06; 129-1c4; і g-129-1c4. Як більш детально описано у прикладі 1, використовували високопродуктивний скринінг бібліотеки фагового дисплею scFv для виявлення 129-1c4 scFv, який потім перетворювали в IgG.129-1c4 являє собою ведуче антитіло, що виявляється у ході початкового скринінгу фагового дисплею, і є батьківським антитілом для лінії, з якої одержували деякі інші антитіла за даним винаходом. Деякі з таких одержаних антитіл позначені як 194-e06; 194-a02; 194-b09; 195-e11; 194-g09; 196-h02; 194-e01; 196-d10; 196-g03; 196-e06; 195-a09; 198-a09; а також 200-h06 і являють собою оптимізовані антитіла батьківської лінії 129-1c4. Антитіло g-129-1c4 являє собою варіант зародкової лінії батьківського антитіла 129-1c4, де визначені амінокислоти у каркасних областях доменів V_H і V_L змінені мутацією для співпадиння з такими у каркасних областях зародкової лінії. Будь-яке з вказаних вище антитіл також можна зробити таким, що належить до зародкової лінії, таким чином, щоб послідовності каркасних областей співпадали з каркасними послідовностями зародкової лінії, як в g-129-1c4. Наприклад, в одному з варіантів здійснення даного винаходу антитіла g-194-b09, g-194-g09, g-196-g03, g-196-h02, g-194-e01, g-195-e11, g-200-h06 і g-194-e06 являють собою варіанти зародкової лінії 194-b09, 194-g09, 196-g03, 196-h02, 194-e01, 195-e11, 200-h06 і 194-e06, відповідно. Конкретні амінокислоти, які змінювали мутацією для одержання варіантів зародкової лінії, очевидні фахівцям у даній галузі внаслідок порівняння послідовностей антитіла зародкової лінії і антитіла, що не належить до зародкової лінії. Як зазначено нижче, конкретні амінокислотні послідовності антитіл за даним винаходом описані у таблицях 1-3 і на фіг. 1.

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

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

Кожне з вказаних вище конкретних антитіл може бути описане за допомогою послідовностей їх варіабельних доменів важкого (V_H) і легкого (V_L) ланцюгів, як вказано у таблицях 1 і 2. Конкретні послідовності, позначені цими SEQ ID №№, подані на фіг. 1. Як вказано у таблицях 1 і 2, відповідні послідовності амінокислот і ДНК V_H і V_L для описаних вище антитіл вказані за допомогою SEQ ID №№:1-23,68-90 і 320-343.

Таблиця 1

Антитіла проти Р-кадгерину людини

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

Таблиця 2

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

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

Додаткові антитіла і антигензв'язувальні частини за даним винаходом також можуть бути описані як такі, що містять різні послідовності CDR і FR, які приводять до варіабельних областей важкого і легкого ланцюгів антитіл, вказаних у таблицях 1 і 2. Відповідно, SEQ ID №№, що відповідають різним послідовностям CDR і FR антитіл за даним винаходом, вказані у таблиці 3. Крім того, в областях CDR3 важкого і легкого ланцюгів батьківського антитіла 129-1c4 також здійснювали множину вибраних випадковим чином мутацій, що приводять до поліпшеної афінності до Р-кадгерину, яка знаходиться у діапазоні від 10- до 417-кратного поліпшення, як виміряно аналізом конкурування за епітоп (див. приклад 8). SEQ ID №№ цих мутантних послідовностей CDR3 V_H і V_L (SEQ ID №№:91-256 і 257-319) також включені у наведену нижче таблицю 3.

Таблиця 3

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

Способи одержання антитіл

Бібліотеки фагового дисплею

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

Наприклад, рекомбінантні антитіла проти Р-кадгерину людини за даним винаходом можна виділяти скринінгом рекомбінантної комбінаторної бібліотеки антитіл. Переважно, бібліотека являє собою бібліотеку фагового дисплею scFv, що одержують з використанням кДНК V_L і V_H людини, які одержують з мРНК, що виділяються з В-клітин людини. Способи одержання і скринінгу таких бібліотек відомі у даній галузі. Набори для одержання бібліотек фагового дисплею є комерційно доступними (наприклад, Pharmacia Recombinant Phage Antibody System, номер у каталозі №27-9400-01; і набір фагового дисплею Stratagene SurfZAP™, номер у каталозі №240612). Також існують інші способи і реактиви, які можна використовувати для одержання і скринінгу бібліотек дисплею антитіл (див., наприклад, патент США №5223409; публікації РСТ №№WO92/18619,WO91/17271,WO92/20791,WO92/15679,WO93/01288,WO92/01047 і WO92/09690; Fuchs et al., Bio/Technology 9:1370-1372 (1991); Hay, et al., Hum. Antibod. Hybridomas, 3:81-85 (1992); Huse, et al., Science, 246:1275-1281 (1989); McCafferty et al., Nature, 348:552-554 (1990); Griffiths, et al., EMBO J., 12:725-734 (1993); Hawkins, et al., J. Mol. Biol. 226:889-896 (1992); Clackson, et al., Nature.352:624-628 (1991); Gram, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:3576-3580 (1992); Garrad, et al., Bio/Technology, 9:1373-1377 (1991); Hoogenboom, et al., Nuc.Acid Res, 19:4133-4137 (1991); Barbas, et al., Proc.Natl.Acad.Sci USA, 88:7978-7982 (1991); і Griffiths, et al., EMBO J., 13:3245-3260 (1994); які наведені тут повністю шляхом посилання). Інший спосіб одержання бібліотеки антитіл для використання у способах фагового дисплею включає стадії імунізації тварини, яка не є людиною, яка містить ділянки імуноглобулінів людини, за допомогою Р-кадгерину або його антигенної частини для виклику імунної реакції, виділення у імунізованих тварин клітин, які продукують антитіла; виділення з одержаних клітин РНК, що кодує важкі і легкі ланцюги антитіл за винаходом, зворотної транскрипції РНК для одержання кДНК, ампліфікації кДНК з використанням праймерів і вставляння кДНК у вектор фагового дисплею таким чином, щоб антитіла експресувалися у фагу. Для одержання таких сукупностей необхідно імуорталізувати В-клітини від імунізованої тварини. Переважно, первинні В-клітини можна безпосередньо використовувати як джерело ДНК.

Суміш кДНК, які одержують з В-клітин, наприклад, одержаних з селезінок, використовують для одержання бібліотеки експресії, наприклад, бібліотеки фагового дисплею, що трансфікується в *E. coli*. У кінцевому результаті, у бібліотеці виявляють клони, що володіють бажаною величиною афінності зв'язування антигену, а ДНК, яка кодує відповідальний за таке зв'язування продукт, виділяють і обробляють для звичайної рекомбінантної експресії. Також бібліотеки фагового дисплею можна конструювати з використанням заздалегідь оброблених послідовностей нуклеотидів і подібним чином піддавати скринінгу. Як правило, кДНК, що кодують важкі і легкі ланцюги, надають окремо або у зв'язаному вигляді для формування аналогів Fv для продукції у фаговій бібліотеці. Потім фагову бібліотеку скринують на предмет антитіл з найвищою афінністю до Р-кадгерину, і з відповідного клону виділяють генетичний матеріал. Додаткові стадії скринінгу можуть підвищувати афінність вихідного антитіла, що виділяється.

В одному з варіантів здійснення для виділення і одержання антитіл проти Р-кадгерину людини, що володіють бажаними характеристиками, антитіло проти Р-кадгерину людини, як описано у даній заявці, спочатку використовують для відбору послідовностей важких і легких ланцюгів людини з подібною активністю зв'язування відносно Р-кадгерину, застосовуючи способи одержання відбитків епітопу, описані у публікації PCT №WO 93/06213, яка наведена тут повністю шляхом посилання. Переважно, бібліотеки антитіл, що використовуються у даному способі, являють собою бібліотеки scFv, що одержують і скринують, як описано у публікації PCT №WO 92/01047, McCafferty, et al., Nature, 348:552-554 (1990); і Griffiths, et al., EMBO J. 12:725-734 (1993), всі з яких наведені тут повністю шляхом посилання. Бібліотеки антитіл scFv можна скринувати з використанням Р-кадгерину людини як антигену. Фагову бібліотеку скринують на предмет антитіл з найвищою афінністю до Р-кадгерину, і виділяють генетичний матеріал з відповідного клону. Додаткові стадії скринінгу можуть підвищувати афінність вихідного антитіла, що виділяється.

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

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

Імунізація

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

Миші XENOMOUSE™ являють собою сконструйовані лінії мишей, що містять великі фрагменти ділянок важкого ланцюга і легкого ланцюга імуноглобуліну людини і є дефектними щодо продукції мишачих антитіл. Див., наприклад, Green, et al., Nature Genetics, 7:13-21 (1994) і патенти США №№5916771, 5939598, 5985615, 5998209, 6075181, 6091001, 6114598, 6130364, 6162963 і 6150584. Див. також WO 91/10741, WO 94/02602, WO 96/34096, WO 96/33735, WO 98/16654, WO 98/24893, WO 98/50433, WO 99/45031, WO 99/53049, WO 00/09560 і WO 00/037504.

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

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

додатково містять приблизно всі ділянки легкого ланцюга лямбда людини. Див. Mendez, et al., Nature Genetics, 15:146-156 (1997), Green and Jakobovits, J. Exp.Med., 188:483-495 (1998) і WO 98/24893, описи яких наведені тут повністю шляхом посилання.

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

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

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

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

Рекомбінантні способи одержання антитіл

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

Мутації і модифікації

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

Також антитіла можна змінювати мутацією у варіабельних доменах важкого і/або легкого ланцюгів, наприклад, для зміни зв'язувальної властивості антитіла. Наприклад, мутацію можна здійснювати в одній або декількох ділянках CDR для збільшення або зменшення величини K_D антитіла відносно Р-кадгерину, збільшення або зменшення величини кзвор або зміни специфічності зв'язування антитіла. Способи сайт-направленого мутагенезу добре відомі у даній галузі. Див., наприклад, Sambrook, et al., and Ausubel, et al., вище, наведений тут повністю шляхом посилання. Наприклад, як більш детально описано у прикладі 8, множина варіантів послідовностей CDR3 V_H і V_L з батьківської 129-1с4 була одержана відповідно до описаних вище способів і вказана як SEQ ID №№:91-256 (варіанти CDR3 V_H) і SEQ ID №№:257-319 (варіанти CDR3 V_L) на фіг.1.

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

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

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

Після одержання фрагментів ДНК, що кодують ділянки V_H і V_L за даним винаходом, ці фрагменти ДНК можна додатково обробляти загальноприйнятими способами рекомбінантної ДНК, наприклад, перетворювати гени варіабельних областей у гени повнорозмірних ланцюгів антитіла, у гени фрагментів Fab або у ген scFv. При цих обробках фрагмент ДНК, що кодує V_H або V_L , функціонально зв'язують з іншим фрагментом ДНК, що кодує інший білок, такий як константна область антитіла або гнучкий лінкер. Як використовують у даному контексті, термін "функціонально зв'язаний" призначений для позначення того, що два фрагменти ДНК з'єднані таким чином, що амінокислотні послідовності, які кодуються двома фрагментами ДНК, залишаються в одній рамці читування.

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

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

Для одержання гена scFv фрагменти ДНК, що кодують V_H і V_L , функціонально зв'язують з іншим фрагментом, що кодує гнучкий лінкер, наприклад, кодує амінокислотну послідовність (Gly₄-Ser)₃ таким чином, що послідовності V_H і V_L можуть експресуватися у вигляді безперервного одноланцюжкового білка, де ділянки V_L і V_H з'єднані гнучким лінкером (див., наприклад, Bird et al., Science 242:423-426 (1988); Huston et al., Proc. Natl. Acad. Sci.

USA85:5879-5883 (1988); McCafferty, et al., Nature, 348:552-554 (1990)). Одноланцюжкове антитіло може бути моновалентним, якщо використовують тільки один V_H і V_L , бівалентним, якщо використовують два V_H і V_L , або полівалентним, якщо використовують більше двох V_H і V_L . Можна одержувати біспецифічні або полівалентні антитіла, що зв'язуються специфічно з Р-кадгерином та іншою молекулою.

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

В інших варіантах здійснення можна одержувати інші модифіковані антитіла з використанням молекул нуклеїнових кислот, що кодують антитіло проти Р-кадгерину. Наприклад, "каппа-тіла" (Ill, et al., Protein Eng. 10:949-57 (1997)), "міні-тіла" (Martin, et al., EMBO J., 13:5303-9 (1994)), "димери" (Holliger, et al., Proc. Natl. Acad. Sci USA, 90:6444-6448 (1993)) або "Janusins" (Traunecker, et al., EMBO J., 10:3655-3659 (1991) і Traunecker, et al., Int. J. Cancer, (Suppl.) 7:51-52 (1992)) можна одержувати з використанням загальноприйнятих способів молекулярної біології відповідно до вказівок в описі.

Біспецифічні антитіла або антигензв'язувальні фрагменти можна одержувати множиною способів, у тому числі злиттям гібридом або зв'язуванням фрагментів Fab¹. Див., наприклад, Songsivilai & Lachmann, Clin. Exp. Immunol., 79:315-321 (1990), Kostelny, et al., J. Immunol., 148:1547-1553 (1992). Крім того, біспецифічні антитіла можна формувати у вигляді "димерів" або "Janusins". У деяких варіантах здійснення біспецифічне антитіло зв'язується з двома різними епітопами Р-кадгерину. У деяких варіантах здійснення описані вище модифіковані антитіла одержують з використанням одного або декількох варіабельних доменів або ділянок CDR з наданого у даній заявці антитіла проти Р-кадгерину людини.

Вектори і клітини-хазяїни

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

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

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

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

відомі способи експресії поліпептидів у бактеріальних клітинах або клітинах грибів, наприклад, дріжджових клітинах.

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

Молекули нуклеїнових кислот, що кодують антитіла проти Р-кадгерину, і вектори, що містять ці молекули нуклеїнових кислот, можна використовувати для трансфекції прийнятної клітини-хазяїна ссавців, рослин, бактерій або дріжджів. Трансформацію можна здійснювати будь-яким відомим способом для введення полінуклеотидів у клітину-хазяїна. Способи введення гетерологічних полінуклеотидів у клітини ссавців добре відомі у даній галузі і включають трансфекцію, опосередковану декстраном, осадження фосфатом кальцію, трансфекцію, опосередковану полібреном, злиття протопластів, електропорацію, введення полінуклеотиду(ів) у ліпосоми і пряму мікроін'єкцію ДНК в ядра. Крім того, молекули нуклеїнових кислот можна вводити у клітини ссавців за допомогою вірусних векторів. Способи трансформації клітин добре відомі у даній галузі. Див., наприклад, патенти США №4399216, 4912040, 4740461 і 4959455, наведені тут повністю шляхом посилання. Способи трансформації рослинних клітин добре відомі у даній галузі, включаючи, наприклад, трансформацію, опосередковану *Agrobacterium*, білістичну трансформацію, пряму ін'єкцію, електропорацію і вірусну трансформацію. Також у даній галузі добре відомі способи трансформації бактеріальних і дріжджових клітин.

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

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

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

Трансгенні тварини і рослини

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

У деяких варіантах здійснення трансгенні тварини, що не є людиною, або рослини одержують введенням загальноприйнятими трансгенними способами у тварину або рослину однієї або декількох молекул нуклеїнових кислот, що кодують антитіло проти Р-кадгерину або його антигензв'язувальну частину за винаходом. Див. Hogan і патент США №6417429, вище. Трансгенні клітини, що використовуються для одержання трансгенної тварини, можуть являти собою ембріональні стовбурові клітини або соматичні клітини, або запліднену яйцеклітину. Трансгенні організми, що не є людиною, можуть бути химерними, нехимерними гетерозиготами і нехимерними гомозиготами. Див., наприклад, Hogan et al., *Manipulating the Mouse Embryo: A Laboratory Manual*, 2nd ed., Cold Spring Harbor Press (1999); Jackson, et al., *Mouse Genetics and Transgenics: A Practical Approach*, Oxford University Press (2000); і Pinkert, *Transgenic Animal Technology: A Laboratory Handbook*, Academic Press (1999), всі з яких наведені тут повністю шляхом посилання. У деяких варіантах здійснення трансгенні тварини, що не є людиною,

містять заданий розрив і заміну за допомогою націленого конструктора, що кодує цікавлячий важкий ланцюг і/або легкий ланцюг. Антитіла проти Р-кадгерину можна одержувати у будь-якій трансгенній тварині. У переважному варіанті здійснення тварини, що не є людиною, являють собою мишей, щурів, овець, свиней, кіз, велику рогату худобу або коней. Трансгенні тварини, що не є людиною, експресують вказані поліпептиди, що кодуються, у крові, молоці, сечі, слині, слізній рідині, слизу та інших рідинах організму.

Переключення класу

Клас (наприклад, IgG, IgM, IgE, IgA або IgD) і підклас (наприклад, IgG1, IgG2, IgG3 або IgG4) антитіл проти Р-кадгерину можна визначати будь-яким відомим у даній галузі способом. Як правило, клас і підклас антитіла можна визначати з використанням антитіл, специфічних до конкретного класу і підкласу антитіла. Такі антитіла є комерційно доступними. Клас і підклас можна визначати за допомогою ELISA або Вестерн-блотингом, а також іншими способами. Альтернативно, клас і підклас можна визначати секвенуванням всіх або частини константних доменів важкого і/або легкого ланцюгів антитіл, порівнянням їх амінокислотних послідовностей з відомими амінокислотними послідовностями різного класу і підкласу імуноглобулінів і визначенням класу і підкласу антитіл. Антитіла проти Р-кадгерину за даним винаходом можуть являти собою молекулу IgG, IgM, IgE, IgA або IgD. Наприклад, антитіла проти Р-кадгерину можуть являти собою IgG, що належить до підкласу IgG1, IgG2, IgG3 або IgG4. В одному з варіантів здійснення антитіла проти Р-кадгерину можуть мати константну область важкого ланцюга, вказану за допомогою SEQ ID №:344, і константну область легкого ланцюга, вказану за допомогою SEQ ID №:345.

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

Деімунізовані антитіла

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

Дериватизовані і мічені антитіла

Антитіло проти Р-кадгерину або антигензв'язувальні частини за винаходом можна дериватизувати або зв'язувати з іншою молекулою (наприклад, іншим пептидом або білком). Як правило, антитіла або їх частини дериватизують таким чином, що дериватизація або мічення не впливають несприятливим чином на зв'язування Р-кадгерину. Відповідно, мають на увазі, що антитіла і ділянки антитіл за винаходом включають початкові і модифіковані форми антитіл проти Р-кадгерину людини, описані у даній заявці. Наприклад, антитіло або частину антитіла за винаходом можна функціонально зв'язувати (хімічним зв'язуванням, генетичним злиттям, нековалентним зв'язком або іншим способом) з однією або декількома іншими молекулами, такими як інше антитіло (наприклад, біспецифічне антитіло або димер), засіб для реєстрації, мітка, цитотоксичний засіб, фармацевтичний засіб і/або білок або пептид, які здатні опосередковувати зв'язок антитіла або частини антитіла з іншою молекулою (наприклад, внутрішня область стрептавідину або полігістидинова мітка).

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

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

для збільшення часу напівжиття у сироватці.

Афінність зв'язування антитіл проти Р-кадгерину з Р-кадгерином Афінність зв'язування (K_D) і швидкість дисоціації ($K_{\text{звор.}}$) антитіла проти Р-кадгерину або його антигензв'язувальної частини відносно Р-кадгерину можна визначати відомими у даній галузі способами. Афінність зв'язування можна вимірювати за допомогою ELISA, RIA, проточної цитометрії або поверхневого плазмонного резонансу, наприклад BIACORE™. Швидкість дисоціації можна вимірювати поверхневим плазмонним резонансом. Переважно, афінність зв'язування і швидкість дисоціації вимірюють поверхневим плазмонним резонансом. Більш переважно, афінність зв'язування і швидкість дисоціації вимірюють з використанням BIACORE™. Чи володіє антитіло практично такою ж величиною K_D , що і антитіло проти Р-кадгерину, можна визначати з використанням відомих у даній галузі способів. Такі способи визначення K_D і $K_{\text{звор.}}$ можна використовувати у ході стадії початкового скринінгу, а також у ході подальших стадій оптимізації.

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

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

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

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

Молекулярна вибірність

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

Фармацевтичні композиції і введення

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

Антитіла і антигензв'язувальні частини за даним винаходом можна включати у фармацевтичні композиції, прийнятні для введення індивідууму. Як правило, фармацевтична композиція містить антитіло або антигензв'язувальну частину за винаходом і фармацевтично прийнятний носій. У межах даної заявки "фармацевтично прийнятний носій" означає всі без виключення розчинники, диспергуючі середовища, покриття,

протибактеріальні і протигрибкові засоби, ізотонічні засоби та засоби, що затримують всмоктування, і т.п., які є фізіологічно сумісними. Деякі приклади фармацевтично прийнятних носіїв являють собою воду, фізіологічний розчин, забуферений фосфатом фізіологічний розчин, декстрозу, гліцерин, етанол і т.п., а також їх поєднання. У багатьох випадках переважно включати у композицію ізотонічні засоби, наприклад, цукри, багатоатомні спирти, такі як маніт, сорбіт, або хлорид натрію. Додаткові приклади фармацевтично прийнятних речовин являють собою зволожувачі або невеликі кількості допоміжних речовин, таких як зволожувачі або емульгатори, консерванти або буферні речовини, які підвищують термін зберігання або ефективність антитіла.

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

Як правило, терапевтичні композиції повинні бути стерильними і стабільними в умовах виробництва і зберігання. Композицію можна складати у вигляді розчину, мікроемульсії, дисперсії, ліпосоми або іншої заданої структури, прийнятною для високої концентрації лікарського засобу. Стерильні розчини, що вводяться ін'єкцією, можна одержувати включенням антитіла проти Р-кадгерину у необхідній кількості у відповідний розчинник разом з одним або поєднанням описаних вище інгредієнтів, за необхідності, з подальшою стерилізацією фільтруванням. Як правило, дисперсії одержують включенням активної сполуки у стерильний носій, що містить основне дисперсне середовище та інші необхідні інгредієнти з числа тих, що вказані вище. У випадку стерильних порошків для одержання стерильних розчинів, що вводяться ін'єкцією, переважними способами одержання є сушіння у вакуумі і ліофілізація, що приводять до одержання порошку активного інгредієнта разом з будь-яким додатковим бажаним інгредієнтом з його заздалегідь стерилізованого фільтруванням розчину. Належну текучість розчину можна підтримувати, наприклад, з використанням такого покриття, як лецитин, за допомогою забезпечення необхідного розміру частинок у випадку дисперсії і за допомогою використання поверхнево-активних речовин. Тривале всмоктування композицій, що вводяться ін'єкцією, можна забезпечувати включенням у композицію засобу, що уповільнює всмоктування, наприклад, солей моностеарату і желатину.

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

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

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

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

Схеми введення доз можна пристосовувати для забезпечення оптимальної бажаної реакції (наприклад,

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

Приклад необмежувального діапазону для терапевтично або профілактично ефективної кількості антитіла або частини антитіла за винаходом складає від 0,025 до 50 мг/кг, більш переважно - від 0,1 до 50 мг/кг, більш переважно - 0,1-25, від 0,1 до 10 або від 0,1 до 3 мг/кг. У деяких варіантах здійснення препарат містить 5 мг/мл антитіла у буфері з 20 мМ цитрату натрію, рН 5,5, 140 мМ NaCl і 0,2 мг/мл полісорбату 80. Потрібно зазначити, що величини доз можуть відрізнятися в залежності від виду і тяжкості стану, що підлягає полегшенню. Крім того, потрібно розуміти, що для кожного конкретного індивідума конкретні схеми введення доз з плином часу потрібно регулювати відповідно до потреб індивідума і професійного рішення індивідума, який вводить або контролює введення композицій, і що вказані у даній заявці діапазони доз призначені тільки для прикладу і не призначені для обмеження об'єму або застосування на практиці заявленої композиції.

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

Використовувані способи діагностики

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

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

Прийнятні мітки для антитіла або другого антитіла були описані раніше і включають різні ферменти, простетичні групи, флуоресцентні речовини, люмінесцентні речовини і радіоактивні речовини. Приклади прийнятних ферментів включають пероксидазу хрому, лужну фосфатазу, β -галактозидазу або ацетилхолінестеразу; приклади прийнятних комплексів простетичних груп включають стрептавідин/біотин і авідин/біотин; приклади прийнятних флуоресцентних речовин включають умбеліферон, флуоресцеїн, флуоресцеїнізотіоціанат, родамін, дихлортриазиніламінофлуоресцеїн, хлорид дансилу або фікоеритрин; приклад люмінесцентної речовини включає люмінол; а приклади прийнятної радіоактивної речовини включають ^{125}I , ^{131}I , ^{35}S або ^3H .

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

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

Переважний імуноаналіз для вимірювання загальних рівнів Р-кадгерину являє собою проточну цитометрію або імуногістохімію. Такі способи, як ELISA, RIA, проточна цитометрія, Вестерн-блотинг, імуногістохімія, мічення

інтегральних мембранних білків на клітинній поверхні та імунопреципітація добре відомі у даній галузі. Див., наприклад, Harlow and Lane, вище. Крім того, масштаб імуноаналізів можна пристосовувати до вископродуктивного скринінгу для тестування великої кількості сполук на предмет активації або інгібування експресії Р-кадгерину.

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

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

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

Використовувані терапевтичні способи

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

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

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

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

множинну мієлому, холангіокарциному, фібросаркому, нейробластому, ретинобластому або поєднання одного або декількох описаних вище варіантів раку.

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

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

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

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

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

Також винахід стосується способу лікування гіперпроліферативного захворювання у ссавця, де спосіб включає введення вказаному ссавцеві терапевтично ефективної кількості антитіла проти Р-кадгерину або його антигензв'язувальної частини, як описано у даній заявці, у поєднанні з протипухлинним засобом, вибраним з групи, яка складається з антипроліферативних засобів, інгібіторів кіназ, інгібіторів ангіогенезу, інгібіторів факторів росту, інгібіторів сох-I, інгібіторів сох-II, інгібіторів мітозу, алкілувальних засобів, антиметаболітів, інтеркалюючих антибіотиків, інгібіторів факторів росту, радіоактивного випромінювання, інгібіторів клітинного циклу, ферментів, інгібіторів топоізомерази, регуляторів біологічних реакцій, антитіл, цитотоксичних засобів, антигормонів, статинів і антиандрогенів.

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

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

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

Додаткові інгібітори VEGF описані, наприклад, у WO 99/24440

72

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

Інші антипроліферативні засоби, які можна використовувати разом з антитілами або їх антигензв'язувальними ділянками за даним винаходом, включають інгібітори ферменту фарнезилпротейнтрансферази та інгібітори рецептора тирозинкінази PDGFr, у тому числі сполуки, описані і заявлені у наступних патентних заявках США:

09/221946 (zareєстрований 28 грудня 1998 року); 09/454058 (zareєстрований 2 грудня 1999 року); 09/501163 (zareєстрований 9 лютого 2000 року); 09/539930 (zareєстрований 31 березня 2000 року); 09/202796 (zareєстрований 22 травня 1997 року); 09/384339 (zareєстрований 26 серпня 1999 року); і 09/383755 (zareєстрований 26 серпня 1999 року); а також сполуки, описані і заявлені у наступних умовних патентних заявках США: 60/168207 (zareєстрований 30 листопада 1999 року); 60/170119 (zareєстрований 10 грудня 1999 року); 60/177718 (zareєстрований 21 січня 2000 року); 60/168217 (zareєстрований 30 листопада 1999 року) і 60/200834 (zareєстрований 1 травня 2000 року). Кожна з вказаних вище патентних заявок і умовних патентних заявок наведена тут повністю шляхом посилання.

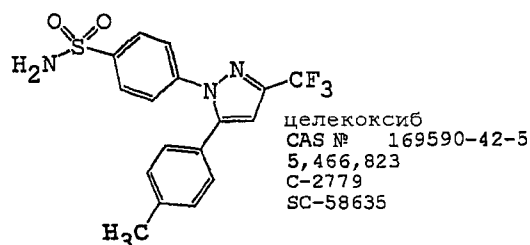
Інгібітори PDGFR включають в себе, але ними не обмежуються, речовини, описані у WO 01/40217, опублікованому 7 липня 2001 року і WO 2004/020431, опублікованому 11 березня 2004 року, змісти яких наведені тут повністю для всіх цілей. Переважні інгібітори PDGFR включають Pfizer CP-673451 і CP-868596, а також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

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

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

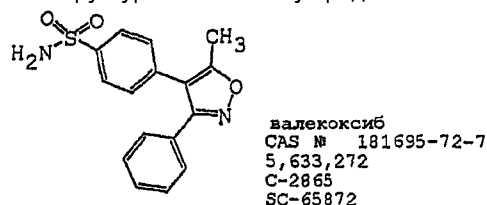
В одному з переважних варіантів здійснення протипухлинний засіб являє собою целекоксиб, як описано у патенті США №5466823, зміст якого повністю наведений тут для всіх цілей шляхом посилання.

Структура целекоксибу представлена нижче:



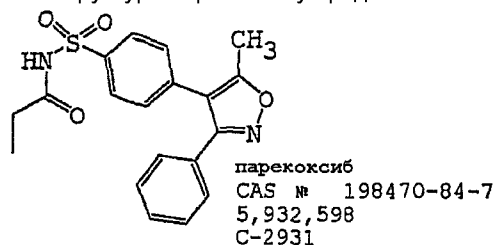
В одному з переважних варіантів здійснення протипухлинний засіб являє собою валекоксиб, як описано у патенті США №5633272, зміст якого повністю наведений тут для всіх цілей шляхом посилання.

Структура валекоксибу представлена нижче:



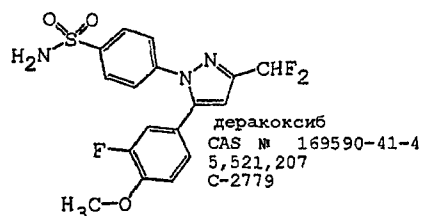
В одному з переважних варіантів здійснення протипухлинний засіб являє собою парекоксиб, як описано у патенті США №5932598, зміст якого повністю наведений тут для всіх цілей шляхом посилання.

Структура парекоксибу представлена нижче:



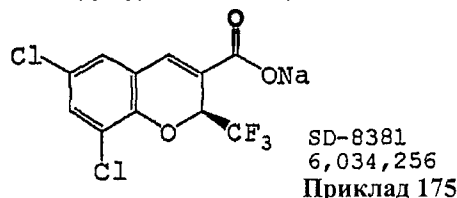
В одному з переважних варіантів здійснення протипухлинний засіб являє собою деракоксиб, як описано у патенті США №5521207, зміст якого повністю наведений тут для всіх цілей шляхом посилання.

Структура деракоксибу представлена нижче:



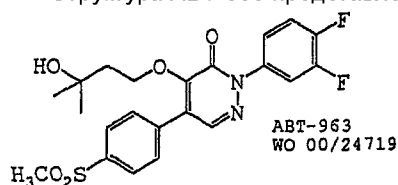
В одному з переважних варіантів здійснення протипухлинний засіб являє собою SD-8381, як описано у патенті США №6034256, зміст якого повністю наведений тут для всіх цілей шляхом посилання.

Структура SD-8381 представлена нижче:

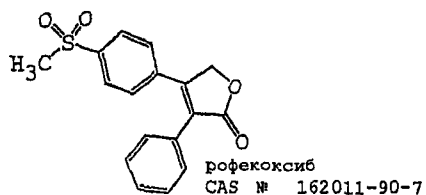


В одному з переважних варіантів здійснення протипухлинний засіб являє собою ABT-963, як описано у міжнародній публікації №WO2002/24719, зміст якої повністю наведений тут для всіх цілей шляхом посилання.

Структура ABT-963 представлена нижче:

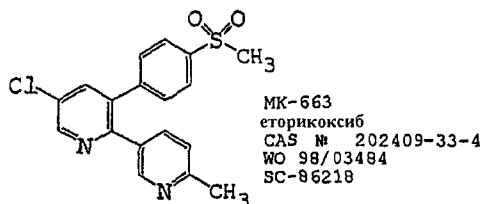


В одному з переважних варіантів здійснення протипухлинний засіб являє собою рофекоксиб, як представлено нижче:



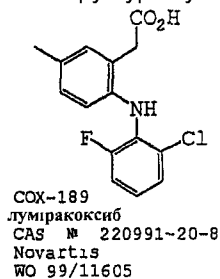
В одному з переважних варіантів здійснення протипухлинний засіб являє собою МК-663 (еторикоксиб), як описано у міжнародній публікації №WO 1998/03484, зміст якої повністю наведений тут для всіх цілей шляхом посилання.

Структура еторикоксибу представлена нижче:



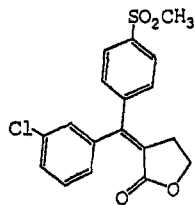
В одному з переважних варіантів здійснення протипухлинний засіб являє собою COX-189 (луміракоксиб), як описано у міжнародній публікації №WO 1999/11605, зміст якої повністю наведений тут для всіх цілей шляхом посилання.

Структура луміракоксибу представлена нижче:



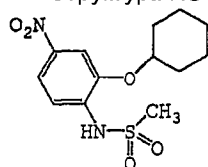
В одному з переважних варіантів здійснення протипухлинний засіб являє собою BMS-347070, як описано у патенті США № 6180651, зміст якого повністю наведений тут для всіх цілей шляхом посилання.

Структура BMS-347070 представлена нижче:



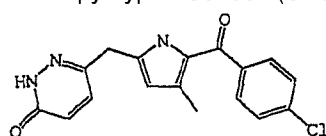
BMS 347070
CAS № 197438-46-5
6,180,651

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



NS-398
CAS № 123653-11-2

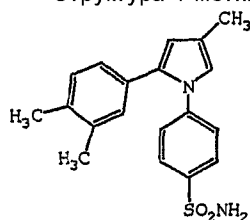
В одному з переважних варіантів здійснення протипухлинний засіб являє собою RS57067 (CAS17932-91-3). Структура RS57067 (CAS17932-91-3) представлена нижче:



RS 57067
CAS № 17932-91-3

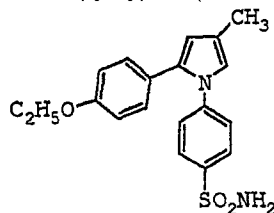
В одному з переважних варіантів здійснення протипухлинний засіб являє собою 4-метил-2-(3,4-диметилфеніл)-1-(4-сульфамойлфеніл)-1Н-пірол.

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

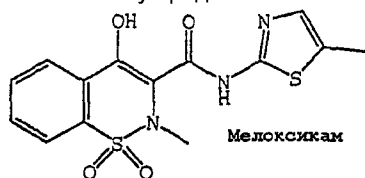


В одному з переважних варіантів здійснення протипухлинний засіб являє собою 2-(4-етоксифеніл)-4-метил-1-(4-сульфамойлфеніл)-1Н-пірол.

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



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



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

(індоцин), набуметон (релафен) і їх поєднання.

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

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

Також даний винахід стосується протипухлинних засобів, вибраних з інгібіторів пан-рецептора erb або інгібіторів рецептора ErbB2, наприклад, CP-724714 (Pfizer, Inc.), CI-1033 (канертиніб, Pfizer, Inc.), герцептин (трастузумаб, Genentech Inc.), омітарг (2C4, пертузумаб, Genentech Inc.), TAK-165 (Takeda), GW-572016 (лонафарніб, GlaxoSmithKline), GW-282974 (GlaxoSmithKline), EKB-569 (Wyeth), PKI-166 (Novartis), dHER2 (вакцина HER2, Corixa і GlaxoSmithKline), APC8024 (вакцина HER2, Dendreon), біспецифічне антитіло проти HER2/neu (Decof Cancer Center), B7.her2.IgG3 (Agensys), AS HER2 (Research Institute for Rad Biology & Medicine), трифункціональні біспецифічні антитіла (University of Munich) і моноклональне антитіло AR-209 (Aronex Pharmaceuticals Inc), а також моноклональне антитіло 2B-1 (Chiron) і їх поєднання. Переважні протипухлинні засоби, вибірні відносно erb, включають герцептин, TAK-165, CP-724,714, ABX-EGF, HER3 і їх поєднання. Переважні інгібітори пан-рецептора erbb включають GW572016, CI-1033, EKB-569 і омітарг, а також їх поєднання.

Додаткові інгібітори erbB2 включають інгібітори, описані у WO98/02434 (опублікованому 22 січня 1998 року), WO 99/35146 (опублікованому 15 липня 1999 року), WO 99/35132 (опублікованому 15 липня 1999 року), WO 98/02437 (опублікованому 22 січня 1998 року), WO 97/13760 (опублікованому 17 квітня 1997 року), WO 95/19970 (опублікованому 27 липня 1995 року), патенті США №5587458 (виданому 24 грудня 1996 року) і патенті США №5877305 (виданому 2 березня 1999 року), кожний з яких наведений тут повністю шляхом посилання. Ефективні за даним винаходом інгібітори рецептора ErbB2 також описані у патентах США №6465449 і 6284764, а також міжнародній заявці №WO 2001/98277, де кожний наведений тут повністю шляхом посилання.

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

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

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

Додаткові протипухлинні засоби можна вибирати з наступних речовин: цеавак (CEA), неутрексин (глюкуронат триметрезату) і їх поєднання. Додаткові протипухлинні засоби можна вибирати з наступних речовин: оварекс (ореговомаб), осидем (IDM-1) і їх поєднання. Додаткові протипухлинні засоби можна вибирати з наступних речовин: адвексин (ING201), тиразон (тирапазамін) і їх поєднання. Додаткові протипухлинні засоби можна вибирати з наступних речовин: RSR13 (ефапроксирал), котара (131I cHTNT 1/b), NBI-3001 (IL-4) і їх поєднання. Додаткові протипухлинні засоби можна вибирати з наступних речовин: канваксин, вакцина GМK, інтерон А PEG, таксопрексин (DHA/паклітаксел) і їх поєднання. Інші переважні протипухлинні засоби включають інгібітор PD325901 MEK1/2 Pfizer, інгібітор MEK ARRY-142886 Array Biopharm, інгібітор CDK2 BMS-387032 Bristol Myers, інгібітор CDK PD0332991 Pfizer і AXD-5438 AstraZeneca, а також їх поєднання. Крім того, також можна використовувати інгібітори mTOR, такі як CCI-779 (Wyeth) і похідні рапаміцину RAD001 (Novartis) і AP-23573 (Ariad), інгібітори HDAC SAHA (Merck Inc./Aton Pharmaceuticals) і їх поєднання. Додаткові протипухлинні засоби включають інгібітор aurora2VX-680 (Vertex), інгібітор Chkl/2 XL844 (Exilixis).

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

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

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

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

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

Як протипухлинні засоби можна використовувати наступні інгібітори топоізомерази I: камптотecin, іринотекан HCl (камптосар), едотекарин, оратецин (суперген), екзатекан (Daiichi), BN-80915 (Roche) і їх поєднання. Особливо переважні інгібітори топоізомерази II включають епірубіцин (еленс).

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

Алкілувальні засоби включають в себе, але ними не обмежуються, N-оксид азотистого іприту, циклофосфамід, іфосфамід, мелфалан, бусульфан, мітобронітол, карбоксон, тіотепу, ранімустин, німустин, темозоломід, AMD-473, алтретамін, AP-5280, апазиксон, бросталіцин, бендамустин, кармустин, естрамустин, фотемустин, глүфосфамід, іфосфамід, KW-2170, мафосфамід і мітолактол; алкілувальні сполуки з координаційних сполук платини включають в себе, але ними не обмежуються, цисплатин, пароплатин (карбоплатин), епплатин, лобоплатин, недаплатин, елоксатин (оксалиплатин, Sanofi) або сатрплатин і їх поєднання. Особливо переважні алкілувальні засоби включають елоксатин (оксалиплатин).

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

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

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

Цитотоксичні інгібітори топоізомерази включають один або декілька засобів, вибраних з групи, яка складається з акларубіцину, амонафід, белотекану, камптотечину, 10-гідроксикамптотечину, 9-амінокамптотечину, дифломотекану, іринотекану HCl (камптосар), едотекарину, епірубіцину (еленс), етопозиду, екзатекану, гіматекану, луртотекану, мітоксантрон, пірарубіцину, піксантрон, рубітеккану, собузоксану, SN-38, тафлупозиду, топотекану і їх поєднань.

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

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

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

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

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

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

Похідні камптотечину включають в себе, але ними не обмежуються, камптотecin, 10-гідроксикамптотecin, 9-амінокамптотecin, іринотекан, SN-38, едотекарин, топотекан і їх поєднання.

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

Також можна використовувати протипухлинні засоби, здатні посилювати протипухлинні імунні реакції, наприклад, антитіла проти CTLA4 (антиген цитотоксичних лімфоцитів 4) та інші засоби, здатні блокувати CTLA4, такі як MDX-010 (Medarex) і сполуки CTLA4, описані у патенті США №6682736; а також антипроліферативні засоби, такі як інші інгібітори фарнезилпротеїнтрансферази, наприклад, інгібітори фарнезилпротеїнтрансферази. Крім того, специфічні антитіла проти CTLA4, які можна використовувати за даним винаходом, включають

антитіла, описані в умовній заявці США №60/113,647 (zareєстрованій 23 грудня 1998 року), патенті США №6682736, обидва з яких наведені тут повністю шляхом посилання.

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

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

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

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

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

Інші засоби, ефективні як протипухлинні засоби, включають кадует.

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

Генна терапія

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

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

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

ПРИКЛАДИ

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

Приклад 1: скринінг бібліотеки фагового дисплею scFv

Для скринінгу бібліотеки фагового дисплею scFv використовували як антиген рекомбінантний Р-кадгерин людини (R&D Systems 861-PC-100). Для відбору використовували великі бібліотеки антитіл людини scFv, клоновані у фармідний вектор (Vaughan, T.J. et al., Nat. Biotech. 14:309-314 (1996)). Розпізнавані Р-кадгерином scFv виділяли з бібліотек фагового дисплею серіями повторних циклів селекції на рекомбінантному Р-кадгерині людини і моношарах клітин НСТ116, що злилися, які експресують Р-кадгерин. Коротко, після інкубації разом з бібліотекою фаг, що зв'язався, відділяли від Р-кадгерину, а фаг, що не зв'язався, вимивали. Потім фаг, що зв'язався, виділяли, як описано у Vaughan, T.J. et al., Nat. Biotech. 14:309-314 (1996) і повторювали процес селекції. Клони з характерним співвідношенням з продуктів виходу циклів селекції піддавали твердофазовому

імуноферментному фаговому аналізу (ELISA) для тестування зв'язування з Р-кадгерином, переважно, як описано у Vaughan, T.J. et al., Nat. Biotech. 14:309-314 (1996). В ELISA використовували два різних антигени: рекомбінантний Р-кадгерин людини (R&D Systems) і моношари клітин A431, що злилися, які експресують Р-кадгерин. ELISA-позитивні клони піддавали секвенуванню ДНК, як описано у Vaughan, T.J. et al., Nat. Biotech. 14:309-314 (1996) і в Osbourn, J.K. et al., Immune-technology 3:293-302 (1998). Унікальні ELISA-позитивні клони перетворювали у цілі молекули IgG і тестували їх здатність нейтралізувати Р-кадгерин в аналізі залежної від Р-кадгерину адгезії, який описаний у прикладі 4. На основі результатів цього скринінгу як основна батьківська лінія для подальшої оптимізації було вибрано антитіло 129-1c4 (IC₅₀ 1-3 мкМ в аналізі адгезії A431).

Приклад 2: оптимізації основної лінії

Одержані з 129-1c4 бібліотеки фагового дисплею конструювали олігонуклеотид-направленим мутагенезом варіабельних ділянок CDR3 важкого (V_H) і варіабельних ділянок CDR3 легкого (V_L) ланцюга антитіла. Бібліотеки конструювали з використанням загальноприйнятих способів молекулярної біології, як описано у Clackson and Lowman, Phage Display-A Practical Approach (Oxford University Press 2004). Селекцію на основі афінності проводили наступним чином: після інкубації разом з бібліотекою рекомбінантний Р-кадгерин людини (R&D Systems) поглинали за допомогою парамагнітних гранул, покритих білком G (Dyna100.03), а фаг, що зв'язався, виділяли магнітним розділенням, тоді як комплекси, що не зв'язалися, вимивали. Процес селекції повторювали з концентраціями, що знижуються, рекомбінантного Р-кадгерину людини (від 25 нМ до 10 нМ протягом 4 циклів), присутнього у ході селекції. Крім того, продукти виходу селекції з бібліотек CDR3 V_H і CDR3 V_L рекомбінували у додаткові бібліотеки фагового дисплею і відбирали протягом ще двох циклів селекції на основі афінності. Клон з характерним співвідношенням з продуктів виходу циклів селекції піддавали скринінгу як scFv у конкурентному аналізі для епітопу 129-1c4, як описано у прикладі 8.

Приклад 3: аналіз залежної від Р-кадгерину адгезії

Для визначення величини IC₅₀ в аналізі залежної від Р-кадгерину адгезії застосовували наступну схему, використовуючи декілька оптимізованих scFv, які були перетворені в IgG у ході стадії оптимізації при винаході антитіла, як описано вище у прикладі 2. Середні виміряні величини IC₅₀ для цих антитіл наведені нижче у таблиці 4.

Рекомбінантний Fc Р-кадгерину людини (R&D, номер у каталозі №861-PC) за 24 години до використання розбавляли до концентрації 1 мг/мл за допомогою 2 мМ CaCl₂ у воді MilliQ і зберігали при 4 °С. Клітини A431 культивували і одержували наступним чином. Клітини A431 (ECACC №85090402) культивували загальноприйнятим способом у потрібних флаконах Nunc (площа 3 × 175 см²) у мінімальному підтримуючому середовищі (MEM) (Invitrogen, номер у каталозі №31095), що містить 10 % ембріональної телячої сироватки (Invitrogen, номер у каталозі №10100-147) і 1 % замісних амінокислот (Invitrogen, номер у каталозі №1140-035). До моменту збору для використання в аналізі клітини, що культивуються, досягали змикання моношару з величиною приблизно 80 %. Для запобігання можливим ефектам, пов'язаним з пересіванням, клітини звичайно використовували між 4 і 8 пасажами і знімали після 48 або 72 годин культивування. Клітини A431 знімали за допомогою 0,25 % трипсину/1 мМ EDTA (Gibco, номер у каталозі №25200-056) протягом часу, достатнього для дисоціації клітин (7-10 хвилин), а потім відразу розводили у середовищі для культивування тканини до щільності приблизно 2 × 10⁶ клітин/мл. Потім клітини A431 центрифугували (1200 об./хвилину), ресуспендували у буфері для аналізу (збалансований сольовий розчин Хенкса (без Mg²⁺ і Ca²⁺, без фенолового червоного) (Invitrogen, номер у каталозі №14175-053), доповнений до кінцевої концентрації CaCl₂ величиною 1 мМ), повторно центрифугували і знову ресуспендували у буфері для аналізу при кінцевій щільності 2 × 10⁶ клітин/мл.

Одержання серійних розведень IgG і попередню інкубацію з клітинами A431 здійснювали наступним чином. 180 мкл кожного IgG, що тестується, або його ділянки доповнювали 20 мкл буферу для аналізу, що містить 10 % BSA (Sigma, номер у каталозі №A-9576), для стандартизації концентрації BSA до величини 1 %. Контрольне поліклональне антитіло проти Р-кадгерину миші/людини (R&D, номер у каталозі №AF-761) спочатку ресуспендували у воді MilliQ для одержання вихідного розчину 1 мг/мл. Потім 40 мкл цього вихідного розчину додатково розводили у 140 мкл буферу для аналізу. Потім додавали 20 мкл буферу для аналізу, що містить 10 % BSA, одержуючи 200 мкл з концентрацією антитіла 0,2 мг/мл і 0,1 % BSA. Два зразки серійних розведень одержували за допомогою початкового додавання 2 × 90 мкл поліклонального антитіла AF-761 або IgG, що тестується, у ряд 196-ямкового поліпропіленового планшету для розведення Greiner (Greiner, номер у каталозі №780271). Потім у ряди 2-11 додавали 60 мкл буферу для аналізу. Після цього виконували розведення 30 мкл у 60 мкл (1:3) уперек планшету, зліва направо для рядів 1-11. Потім для визначення максимальної адгезії до ямок 12A-D додавали тільки 60 мкл буферу для аналізу. Мінімальні величини адгезії визначали додаванням 60 мкл 25 мМ EDTA (у буфері для аналізу) до ямок 12 E-H. Потім у всі ямки додавали 60 мкл суспензії клітин A431 (2 × 10⁶ клітин/мл у буфері для аналізу - які одержують як вказано вище) і після перемішування планшети заздалегідь інкубували протягом 1 години при 37 °С.

Нарівні з одержанням серійних розведень IgG, що тестується, і попередньою інкубацією з клітинами A431 одержували покриті Р-кадгерином аналітичні планшети наступним чином. Рекомбінантний Fc Р-кадгерину людини розводили у буфері для нанесення покриття (PBS без Mg²⁺ і Ca²⁺ - Invitrogen, номер у каталозі №14190-094) до концентрації 10 мкг/мл і розподіляли по 96-ямкових аналітичних планшетах Fluoroplate (Nunc, номер у каталозі №437958) (100 мкл/ямку). Потім планшети інкубували протягом 1 години 30 хвилин при кімнатній температурі. Після цього планшети промивали 3 рази за допомогою PBS з використанням промиваючого пристрою для 96-ямкових планшетів Тесап. Потім для блокування додавали 200 мкл/ямку буферу для аналізу, і планшети інкубували протягом додаткової 1 години при кімнатній температурі. Після цього планшети промивали 3 рази за допомогою PBS, як описано раніше.

Потім 100 мкл/ямку заздалегідь інкубованої речовини IgG/A431 переносили з 96-ямкових планшетів для розведення Greiner у покриті Р-кадгерином аналітичні планшети. Під час перенесення речовини IgG/A431 перемішували піпетуванням для забезпечення гомогенності клітин. Потім дозволяли відбуватися процесу адгезії

за допомогою інкубації аналітичних планшетів при 37 °С протягом 30-45 хвилин. Після закінчення інкубації клітини, що не прикріпилися, видаляли обережним відсмоктуванням середовища з планшетів і повторним наповненням ямок буфером для промивання клітин (збалансований сольовий розчин Хенкса (без Mg^{2+} і Ca^{2+} , без фенолового червоного) (Invitrogen, номер у каталозі №14175-053), доповнений до кінцевої концентрації $CaCl_2$ величиною 1 мМ). Потім планшети протягом 15 хвилин перевертали у резервуарі з буфером для промивання клітин для видалення клітин, що не прикріпилися, які залишилися. Після закінчення цієї інкубації обережно відсмоктували вміст ямок.

Підрахунок клітин, що прикріпилися, проводили наступним чином. Клітини, що прикріпилися, виявляли додаванням 100 мкл/ямку сумісного реагенту для реєстрації лізису/лужної фосфатази (5X-концентрований діетаноламіновий буфер для субстрату (Pierce, номер у каталозі №34064) розводили водою до співвідношення 1:5, після чого розчиняли одну таблетку PNPP15 мг (Sigma, номер у каталозі №N-2640) у 25 мл 1X розчину) з подальшою інкубацією протягом 30-60 хвилин при 37 °С. Потім припиняли реакцію додаванням 1 М NaOH (50 мкл/ямку) для досягнення максимальної величини OD, що складає приблизно 0,8 за відсутності інгібування. Після цього вимірювали поглинання при 405 нм з використанням загальноприйнятого планшет-рідера.

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

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

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

Таблиця 4

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

Для дослідження декількох приведених до стану зародкової лінії, оптимізованих IgG з лінії 129-1с4 у порівнянні з їх еквівалентами, не приведеними до стану зародкової лінії, проводили два окремих аналізи адгезії A431. Для цих експериментів було необхідно перейти на нову порцію Р-кадгерину (CFR-134041), що, очевидно, пов'язано з дещо підвищеними величинами IC_{50} у порівнянні з іншими даними. Середні значення даних для декількох приведених до зародкового стану IgG з двох експериментів представлені у таблиці 5. Як вказано раніше, g-194-b09 відповідає варіанту приведенного до зародкового стану 194-b09 і т.д.

Таблиця 5

IgG	Середнє значення IC_{50} (нМ) при аналізі адгезії A431 (n=2)
g-194-b09	0,77
194-b09	2,10
g-194-g09	1,00
194-g09	0,73
g-196-g03	1,05
196-g03	0,39
g-194-e06	0,77
194-e06	0,46
g-195-e11	0,87
195-e11	0,97
g-200-h06	1,31
200-h06	0,63

Приклад 4: аналіз залежності від Р-кадгерину агрегації клітин

Для визначення величин IC_{50} в аналізі залежності від Р-кадгерину агрегації застосовували наступну схему,

використовуючи декілька оптимізованих scFv, які були перетворені в IgG у ході стадії оптимізації при винаході антитіла, як описано вище у прикладі 2. Оскільки клітинні лінії, що надекспресують Р-кадгерин, при вміщенні у суспензію для росту формують щільні багатоклітинні скупчення, то можна вимірювати агрегацію клітин у присутності антитіл проти Р-кадгерину, які перешкоджають клітинній агрегації. Середні виміряні величини IC₅₀ для деяких антитіл наведені нижче у таблиці 6.

Одержання планшету здійснювали наступним чином. Кожний 96-ямковий аналітичний планшет покривали 50 мкл полі-HEMA (12 мг/мл у 90 % етанолу, 10 % метанолу), а потім випарювали протягом періоду від 6 годин до періоду всієї ночі з подальшим промиванням 3 × 100 мкл стерильної H₂O перед використанням. Після цього клітини культивували наступним чином. Клітини з клітинної лінії SW480 людини (які стабільно експресують Р-кадгерин G418^r) пересівали у повне середовище для росту (qs DMEM (In Vitrogen 11995-065), 10 % FBS (Omega Scientific FB-02), 1:100 NEAA (In Vitrogen 11140-050), 1:100 пірват натрію (In Vitrogen 11360-070), 1:100 глутамін (In Vitrogen 25030-051), 1:100 пеніцилін/стрептолізин (In Vitrogen 15070-063), 1:100 генетицин 50 мг/мл (In Vitrogen 10131-035)) + G418 (500 мкг/мл), а потім розділяли на частини 1:3-4 двічі на тиждень. Після цього культури заморожували у середовищі для росту + 10 % DMSO.

У добу 1 клітини SW480:pCAD і контрольний зразок SW480:pCLNX (стійкий контрольний вектор) висівали на планшет 5 × 10⁶ клітин/100 мм при розведенні, що не перевищує 1:3. Потім клітини вирощували у культурі протягом 48 годин. Кожний планшет 100 мм забезпечував приблизно 10 × 10⁶ клітин, або достатню кількість для 2 × 96-ямкових планшетів.

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

Потім одержували планшет з реагентом за допомогою блокування 96-ямкового планшету dPBS і 5 % FBS протягом 30 хвилин. Після цього промивали планшет з використанням 1 × 100 мкл dPBS з подальшим відсмоктанням і струшуванням для сушіння. Серії розведення IgG, що тестується, одержували за допомогою dPBS з використанням 4x[IgG] концентрації, достатньої для 3 ямок планшету для обробки в одній ямці 96-ямкового планшету. 40000 клітин у 30 мкл/ямку розділяли на порції у 96-ямковий, промитий, покритий полі-HEMA планшет Costar3590, не призначений для культивування тканини (Corning3590). Потім у кожну ямку 96-ямкового планшета переносили 10 мкл реагенту. Для кожного варіанту обробки одержували три серії зразків з використанням 8-канальної піпетки. Потім протягом ночі (16-18 годин) проводили інкубацію при 250 об./хвилину, при струшуванні, в інкубаторі, що зволожується, 5 % CO₂, 37 °C.

У добу 440 мкл клітин, що струшуються, переносили у покритий полілізином 96-ямковий планшет (покритий полілізином 96-ямковий планшет BioCoat: BD 356516). Потім ямки промивали за допомогою 60 мкл повного середовища для росту, планшет струшували легким постукуванням і переносили у планшет, покритий полілізином. За необхідності проводили додаткове промивання за допомогою 50 мкл. Потім протягом 60 хвилин проводили інкубацію в інкубаторі, що зволожується, 5 % CO₂, 2,37 °C. На цій стадії проявляли обережність для кількісного перенесення всіх клітин, наскільки можливо обережно, без надмірного піпетування. Потім клітини фіксували додаванням 100 мкл фіксуючого розчину (7,4 % формальдегід (37 % мас/об. - Sigma F15587)) у витяжній шафі з подальшою інкубацією протягом >30 хвилин при кімнатній температурі.

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

Потім вимірювали (Cellomics) кількість агрегованих об'єктів, а середнє число об'єктів (з IgG, що тестується) порівнювали з таким для IgG (наприклад, Gt-антитіло проти Р-кадгерину R&D Systems AF761) або контролю у вигляді тільки середовища. Потім будували графік залежності числа об'єктів від концентрації інгібітору IgG і визначали величини IC₅₀. Величини IC₅₀ для декількох антитіл за даним винаходом представлені у таблиці 6.

Таблиця 6

IgG	Середнє значення IC ₅₀ (нМ) при аналізі адгезії (SW480)
194-e06	0,7
194-a02	1,1
g-194-b09	0,9
g-195-e11	2,2
g-194-g09	2,6
196-h02	3,2
194-e01	1,3
196-d10	1,5
g-196-g03	0,9
196-e06	1,9

195-a09	1,7
198-a09	2,9
g-200-h06	4,7
129-1c4	35

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

Одержання планшету здійснювали наступним чином. Кожний 96-ямковий аналітичний планшет покривали за допомогою 50 мкл полі-HEMA (12 мг/мл у 90 % етанолу, 10 % метанолу), а потім випарювали протягом періоду від 6 годин до періоду всієї ночі з подальшим промиванням 3 × 100 мкл стерильної H₂O перед використанням. Після цього клітини культивували наступним чином. Клітини з клітинної лінії SW480 людини (що стабільно експресують Р-кадгерин G418^r) пересівали у повне середовище для росту (qs DMEM (In Vitrogen 11995-065), 10 % FBS (Omega Scientific FB-02), 1:100 NEAA (In Vitrogen 11140-050), 1:100 піруват натрію (In Vitrogen 11360-070), 1:100 глутамін (In Vitrogen 25030-051), 1:100 пеніцилін/стрептолізин (In Vitrogen 15070-063), 1:100 генетицин 50 мг/мл (In Vitrogen 10131-035)) + G418 (500 мкг/мл), а потім розділяли на частини 1:3-4 двічі на тиждень. Після цього культури заморожували у середовищі для росту + 10 % DMSO.

У добу 1 клітини SW480:pCAD і контрольний зразок SW480:pCLNX (стійкий контрольний вектор) висівали на планшет 5 × 10⁶ клітин/100 мм при розведенні, що не перевищує 1:3. Потім клітини вирощували у культурі протягом 48 годин. Кожний планшет 100 мм забезпечував приблизно 10 × 10⁶ клітин, або достатню кількість для 2 × 96-ямкових планшетів.

У добу 3 видаляли середовище з подальшим промиванням за допомогою dPBS (PBS Дульбеко (In Vitrogen 14040-133)), після чого клітини обробляли трипсином у планшеті 3 мл/100 мм. Потім, після виділення за допомогою двох об'ємів (6 мл) повного середовища для росту проводили нейтралізацію. Потім планшет тричі промивали з використанням піпетки з 10 мл для руйнування скупчень. Після цього клітини підраховували і одержували осад, використовуючи центрифугу Beckman при 1000 об./хвилину протягом 5 хвилин. Потім середовище відсмоктували, осад спочатку ресуспендували в <1 мл повного середовища для росту за допомогою струшування пальцями, а потім піпеткою р1000, а після цього концентрацію клітин нормалізували до 1,0 × 10⁶/мл. Наявність дисперсії окремих клітин підтверджували мікроскопією.

40000 клітин у 40 мкл/ямку розділяли на порції у 96-ямковий, промитий, покритий полі-HEMA планшет Costar 3590, не призначений для культивування тканини (Corning 3590). Потім протягом ночі (16-18 годин) проводили інкубацію при 250 об./хвилину, при струшуванні, в інкубаторі, що зволожується, 5 % CO₂, 37 °C.

Потім, у добу 4 одержували планшет з реагентом за допомогою блокування 96-ямкового планшету dPBS і 5 % FBS протягом 30 хвилин. Після цього промивали планшет з використанням 1 × 100 мкл dPBS з подальшим відсмоктуванням і струшуванням для сушіння. Серії розведень IgG, що тестується, одержували за допомогою dPBS з використанням 5x[IgG] концентрації, достатньої для 3 ямок планшету для обробки в одній ямці 96-ямкового планшету. Потім у кожен ямок 96-ямкового планшету переносили 10 мкл реагенту. Для кожного варіанту обробки одержували три серії зразків з використанням 8-канальної піпетки. Потім проводили інкубацію (20-24 години) при 250 об./хвилину, при струшуванні, в інкубаторі, що зволожується, 5 % CO₂, 37 °C.

У добу 550 мкл клітин, що струшуються, переносили у покритий полілізином 96-ямковий планшет (покритий полілізином 96-ямковий планшет BioCoat: BD 356516). Потім ямки промивали за допомогою 50 мкл повного середовища для росту, планшет струшували легким постукуванням і переносили у планшет, покритий полілізином. За необхідності проводили додаткове промивання за допомогою 50 мкл. Потім протягом 60 хвилин проводили інкубацію в інкубаторі, що зволожується, 5 % CO₂, 37 °C. На цій стадії проявляли обережність для кількісного перенесення всіх клітин, наскільки можливо обережно, без надмірного піпетування. Потім клітини фіксували додаванням 100 мкл фіксуючого розчину (7,4 % формальдегід (37 % мас/об. - Sigma F15587)) у витяжний шаф з подальшою інкубацією протягом >30 хвилин при кімнатній температурі.

Потім для промивання клітин рідину зливали у склянку для збору або лоток і злегка струшували для видалення рідини, що залишилася, і обережно постукували по паперовій серветці. Потім використовували 100 мкл dPBS на ямку для промивання з подальшою інкубацією протягом 15 хвилин. Потім клітини забарвлювали за допомогою зливання рідини, як вказано вище, і використання 100 мкл барвника Hoescht (1 мкг/мл барвника Hoescht у dPBS-10 мг/мл молекулярних зондів Hoescht 33342) з подальшою інкубацією протягом 30 хвилин. Після цього клітини двічі промивали, залишаючи залишок у вигляді 100 мкл dPBS в ямці для мікроскопії. Потім вимірювали (Cellomics) кількість агрегованих об'єктів, а середнє число об'єктів (з IgG, що тестується) порівнювали з таким для IgG (наприклад, Gt-антитіло проти Р-кадгерину R&D Systems AF761) або контролю у вигляді тільки середовища. Потім для визначення величин IC₅₀ можна будувати графік залежності числа об'єктів від концентрації інгібітору IgG. Альтернативно, число об'єктів виражали у вигляді числа разів, в яке посилювався розпад у порівнянні з контролем при одній конкретній концентрації, як представлено у таблиці 7.

Таблиця 7

IgG	Аналіз розпаду шароподібного скупчення SW480 Число разів, в яке підвищується розпад у порівнянні з контролем при 5 нМ
194-e06	10
194-a02	10

g-194-b09	10
g-195-e11	7
g-194-g09	14
196-h02	10
194-e01	16
196-d10	10
g-196-g03	13
196-e06	10
195-a09	10
198-a09	13
g-200-h06	7
129-1c4	4

Приклад 6: вимірювання K_D і $K_{звор.}$ для антитіл проти Р-кадгерину Вимірювання афінності (K_D і $K_{звор.}$) одноланцюжкових антитіл scFv проти Р-кадгерину за допомогою поверхневого плазмонного резонансу з використанням пристрою BIACORE™ 3000 проводили наступним чином, застосовуючи протоколи виробника.

Для виконання кінетичних аналізів злитий білок рекомбінантний Р-кадгерин людини/Fc (hCad/Fc) і злитий білок Р-кадгерин миші/Fc (mCad/Fc) фіксували в окремих плаваючих комірках сенсорної матриці CM5 BIACORE™ з використанням загальноприйнятого зв'язування за допомогою амінів. Поверхні обробляли з використанням 10 мМ ацетатного буферу, pH 4,5 разом з 2,0 мМ CaCl₂ як фіксуючого буферу і досягали щільності білка величиною 5800 і 1600 одиниць відповіді для злитих білків hCad/Fc і mCad/Fc, відповідно. Деактивацію складних ефірів N-гідроксисукциніміду, що не прореагували, проводили з використанням 1 М гідрохлориду етаноламіну, pH 8,5. Активовану/деактивовану пусту поверхню використовували як контрольну поверхню. Зразки антитіл scFv у проточному буфері одержували у концентраціях, що знаходяться у діапазоні від 200 до 0,78 нМ (0 нМ розчин, що містить тільки проточний буфер, включали як нульову точку відліку). Зразки вибирали випадковим чином і протягом 1 хвилини вводили ін'єкцією у вигляді трьох серій кожного у плаваючі комірки з використанням HBS-P (10 мМ HEPES pH 7,4, 150 мМ NaCl, 0,005 % поверхнево-активної речовини P20) разом з 2,0 мМ CaCl₂ як проточного буферу. Для визначення констант афінності використовували об'ємну швидкість потоку 25 мкл/хвилину. Дисоціацію антитіла спостерігали протягом 5 хвилин, а поверхню відновлювали за допомогою ін'єкції 10 мМ гліцин-HCl pH 1,5 (25 мкл/хвилину) протягом 12 секунд. Вихідні дані обробляли з використанням пакету програмного забезпечення Scrubber (©BioLogic Software) і аналізували з використанням пакету програмного забезпечення CLAMP (©BioLogic Software). Дані загалом приводили у відповідність з простою моделлю зв'язування Ленгмюра 1:1.

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

Таблиця 8

scFv	hCad/Fc K_D (нМ)	hCad/Fc $K_{звор.}$ (1/секунда)	mCad/Fc K_D (нМ)	mCad/Fc $K_{звор.}$ (1/секунда)
194-b09	4,0	$1,9 \times 10^{-03}$	11	$3,6 \times 10^{-3}$
194-g09	2,6	$1,6 \times 10^{-03}$	1,8	$8,1 \times 10^{-4}$
196-g03	1,1	$7,0 \times 10^{-04}$	0,76	$4,7 \times 10^{-4}$

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

Рекомбінантний Р-кадгерин людини (R&D Systems 861-PC-100) і рекомбінантний Е-кадгерин людини (R&D Systems 648-EC-100) наносили на ямки планшетів для фіксування білків Exiqon (VWR International) при 1 мкг/мл у PBS + 0,5 мМ CaCl₂. Зразки IgG блокували в 3 % Marvel/PBS + 0,5 мМ CaCl₂ протягом 1 години до титрування від 50 нМ (7,5 мкг/мл) до 0,64 нМ (0,096 мкг/мл) і додавали у вигляді двох серій в ямки, покриті двома різними антигенами. Після зрівноважування протягом ночі при 4 °C планшети три рази промивали за допомогою їх PBS/0,1 % Tween+0,5 мМ CaCl₂, а потім три рази за допомогою 1 × PBS + 0,5 мМ CaCl₂. Потім 50 мкл кон'югату антитіла проти Fab людини і пероксидази, розведеної 1:5000 в 3 % Marvel/PBS + 0,5 мМ CaCl₂, додавали у кожну ямку і залишали зрівноважуватися протягом 1 години при кімнатній температурі. Планшети промивали три рази за допомогою 1 × PBS/0,1 % Tween + 0,5 мМ CaCl₂ і три рази за допомогою 1 × PBS+0,5 мМ CaCl₂. У кожну ямку додавали 50 мкл 3,3',5,5'-тетраметилбензидину (TMB; Sigma) і дозволяли розвиватися реакції протягом 20 хвилин до припинення за допомогою додавання 25 мкл/ямку 0,5 М H₂SO₄. Після зчитування величин поглинання при 450 нм аналізували дані з використанням програмного забезпечення Graphpad Prism для обчислення відносних величин K_D для кожного антитіла для зв'язування з Р-кадгериним і Е-кадгериним. Одержані дані узагальнені у таблиці 9.

Таблиця 9

IgG	Р-кадгерин K_D (нМ)	Е-кадгерин K_D (нМ)	$K_D(E)/K_D(P)$
194-a02	116	682	6
g-194-b09	788	+2156	3
g-194-g09	2602	Не зв'язується	>100
194-e01	112	20511	183

g-194-e06	191	794	4
195-a09	120	11516	96
194-e06	56	264	5
196-d10	45	63	1,4
196-e06	62	187	3
g-196-g03	449	7513	17
196-h02	102	33212	326
198-a09	78	19396	249

Приклад 8: аналіз конкурування за епітоп

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

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

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

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

Підготовка планшету для розведень Greiner-HTS

Умови високопродуктивного скринінгу (HTS) змінювали різним чином в залежності від стадії оптимізації. У випадку HTS продуктів з оптимізації окремих ланцюгів V_H і V_L кінцевий [периплазматичний препарат] фіксували на рівні 12,5 % таким чином, що батьківський scFv приводив до часткового інгібування. У випадку більш пізнього HTS продуктів з рекомбінантних бібліотек $V_H:V_L$ кінцева концентрація периплазматичного препарату була знижена до 1,7 %, і у цих умовах контрольний scFv з оптимізованого V_H (TOP-108-C01) приводив до часткового інгібування. Оптимізація концентрації периплазматичного препарату таким чином, що відповідний контрольний scFv приводив до часткового інгібування, залишала інтервал для виявлення у ньому поліпшених клонів.

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

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

кінцева концентрація периплазматичного препарату]	переносимий об'єм
[12,5%]	= 7,5 мкл
[1,7%]	= 10,0 мкл (розведеного периплазматичного препарату 1:10)

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

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

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

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

v) Біотинілювали IgG129-1c4 з використанням водонерозчинного реагенту EZ-link-NHS-LC-Biotin (Perbio/Pierce, номер продукту №21336). Розчин IgG доповнювали додаванням 1/10-ої об'єму 1 M $NaHCO_3$ і 1/10-ої об'єму диметилформаміду. Реагент EZ-link-NHS-LC-Biotin розчиняли у DMF, а потім додавали у п'ятикратному молярному надлишку у порівнянні з IgG і дозволяли проходити реакції протягом 20 хвилин при кімнатній температурі. Після цього біотинільований IgG стабілізували додаванням BSA (0,1 %). Потім у всі ямки додавали 30 мкл біотинільованого батьківського IgG 129-1c4 в аналітичному буфері для одержання кінцевої концентрації 1,5 нМ у кінцевому об'ємі 60 мкл (тобто мічений європієм IgG додавали у $2 \times$ кінцевій концентрації).

vi) Після змішування вмісту планшету Greiner за допомогою струшування переносили 50 мкл безпосередньо в

аналітичний планшет і дозволяли проходити реакції зв'язування протягом 2 годин 30 хвилин при кімнатній температурі (як описано раніше).

Підготовка планшету для розведень Greiner- одержання профілю IC₅₀

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

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

iii) У ряд 1 додавали 2 × 45 мкл кожного нерозведеного scFv His-prep таким чином, щоб одержати 4 серії з 11 точок титрування IC₅₀ на 96-ямковий аналітичний планшет. Потім проводили дві серії серійних розведень 1:3 за допомогою відбору 15 мкл з ряду 1 і змішування у ряді 2 з подальшим відбором 15 мкл з ряду 2 і змішуванням у ряді 3 і т.д. Після змішування у ряді 11 видаляли 15 мкл (тобто залишаючи кінцевий об'єм 30 мкл).

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

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

У випадку HTS scFv експресували у 96-ямковій структурі у вигляді неочищеного екстракту з бактеріальної периплазми (периплазматичний препарат scFv) в основному буфері, що містить MOPS/EDTA/сорбіт pH 7,4 (MES pH 7,4). Для одержання профілю IC₅₀ scFv експресували у більш низькопродуктивній очищеній формі з використанням гістидинової мітки scFv для афінного очищення (гістидиновий препарат scFv) в основному буфері з PBS.

Для обох аналізів HTS і IC₅₀ вихідні дані спочатку перетворювали у дані % зв'язування відповідно до наведеного нижче рівняння:

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

Потім дані HTS додатково аналізували з використанням загальноприйнятих матриць Excel для виявлення сигналів, що приводять до більш високого інгібування (більш низького % зв'язування), ніж відповідний контрольний scFv. Для аналізу IC₅₀ дані щодо % зв'язування аналізували з використанням програмного забезпечення для обробки кривих Prism версія 4.0.scFv являють собою варіанти батьківського IgG 129-1c4, де ділянки CDR3 V_H і V_L були випадковим чином змінені мутацією, як описано у прикладі 2. Послідовності варіантів CDR3 V_H подані на фіг. 1 у вигляді SEQ ID №№:91-256. Послідовності варіантів CDR3 V_L подані на фіг.1 у вигляді SEQ ID №№:257-319. Величини IC₅₀ для декількох scFv, в яких спостерігали поліпшене зв'язування у порівнянні з батьківським IgG 129-1c4, представлені у таблиці 10. Кожний з варіантів scFv батьківського 129-1c4 позначений за допомогою двох SEQ ID №№:CDR3 V_H і CDR3 V_L. Для порівняння, IC₅₀ для батьківського IgG 129-1c4 становив 108,3 нМ.

Таблиця 10

SEQ ID №: CDR3 V _H	SEQ ID №: CDR3 V _L	IC ₅₀ (нМ)
37	40	2,49
37	261	1,78
37	43	5,67
37	274	8,73
37	277	2,20
37	287	10,50
37	288	6,67
37	295	0,80
37	297	2,49
37	299	1,97
37	303	1,47
37	304	1,10
37	305	2,19
95	47	2,36
97	47	1,33
113	47	2,06
125	47	0,26
131	47	0,35
31	47	2,05
147	47	1,16
165	47	5,11
167	47	0,60
180	47	0,43
181	47	2,46
27	47	0,54
195	47	1,29

187	43	1,58
27	296	1,16
163	43	2,45
26	40	0,76
26	43	0,93
27	309	1,36
199	310	2,54
201	310	2,26
207	291	2,73
240	313	2,98

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

СПИСОК ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

<110> Agouron/Pfizer Inc

<120> Антитіла проти Р-кадгерину

<130> PC32773

<160> 347

<170> PatentIn версія 3.3

<210> 1

<211> 117

<212> БІЛЛОК

<213> людина

<400> 1

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser
115

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

<400> 2

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser
115

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

<400> 3

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

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

20

25

30

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

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

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

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

Ala Ser Trp Gly Leu Gly Ser Asn Glu Asn Trp Gly Gln Gly Thr Met
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 4

<211> 117

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 4

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

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

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

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

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

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

85

90

95

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

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 5

<211> 117

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 5

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 6

<211> 117

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 6

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 7

<211> 117

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 7

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 8

<211> 117

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 8

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 9

<211> 117

<212> БІЛОК

<213> людина .

<400> 9

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 10

<211> 117

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 10

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 11

<211> 117

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 11

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 12

<211> 117

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 12

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 13

<211> 117

<212> БІЛОК
<213> людина

<400> 13

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 14
<211> 111
<212> БІЛОК
<213> людина

<400> 14

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

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

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

35

40

45

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

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

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

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

<210> 15

<211> 111

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 15

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

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

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

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

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

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

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

<210> 16

<211> 111
<212> БІЛОК
<213> людина

<400> 16

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

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

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

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

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

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

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

<210> 17
<211> 111
<212> БІЛОК
<213> людина

<400> 17

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

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

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

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

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

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

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

<210> 18

<211> 111

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 18

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

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

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

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

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

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

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

<210> 19

<211> 111

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 19

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

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

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

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

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

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

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

<210> 20

<211> 111

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 20

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

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

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

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

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

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

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

<210> 21

<211> 111

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 21

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

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

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

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

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

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

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

<210> 22

<211> 111

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 22

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

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

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

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

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

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

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

<210> 23

<211> 111

<212> БИЛОК

<213> людина

<400> 23

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

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

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

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

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

65		70		75		80									
Gln	Ala	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Thr	Ser	Tyr	Thr	Met	Gly
			85						90					95	
Ser	Thr	Phe	Met	Leu	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	
			100					105					110		

<210> 24
 <211> 5
 <212> БІЛОК
 <213> людина

<400> 24

Ser	Tyr	Ala	Met	Ser
1			5	

<210> 25
 <211> 17
 <212> БІЛОК
 <213> людина

<400> 25

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

Gly

<210> 26
 <211> 8
 <212> БІЛОК
 <213> людина

<400> 26

Trp	Gly	Thr	Gly	Thr	Leu	Trp	Pro
1			5				

<210> 27
 <211> 8

<212> БІЛОК
<213> людина

<400> 27

Trp Gly Asp Gly Thr Leu Asn Pro
1 5

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

<400> 28

Trp Gly Leu Gly Ser Asn Glu Asn
1 5

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

<400> 29

Thr Asn Ser Ala Lys Phe Asp Pro
1 5

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

<400> 30

Thr Gly Tyr Pro Ser Phe Asp Pro
1 5

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

<400> 31

Thr Ala Lys Pro Ser Phe Asp Pro

1 5

<210> 32

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 32

Asn Glu Arg Pro Ser Phe Asp Pro

1 5

<210> 33

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 33

Ser Arg Thr Val Gln Phe Asp Pro

1 5

<210> 34

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 34

Asn Ser Pro Gly Thr Phe Asp Pro

1 5

<210> 35

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 35

Ile Ala Pro Gly Arg Phe Asp Pro

1 5

<210> 36

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 36

Leu Asp Arg Val Trp Phe Asp Pro

1 5

<210> 37

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 37

Trp Gly Gly Gly Trp Phe Asp Pro

1 5

<210> 38

<211> 14

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 38

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

1 5 10

<210> 39

<211> 7

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 39

Glu Val Asn Lys Arg Pro Ser

1 5

<210> 40

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 40

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Leu Pro Trp Val Leu

1 5 10

<210> 41

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 41

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Leu Pro Trp Val Val

1 5 10

<210> 42

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 42

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Ile Val Phe Asn Leu

1 5 10

<210> 43

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 43

Thr Ser Tyr Thr Met Gly Ser Thr Phe Met Leu

1 5 10

<210> 44

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 44

Ser Ser Tyr Thr Met Gly Ser Thr Phe Met Leu

1 5 10

<210> 45

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 45

Thr Ser Tyr Arg Met Asp Ser Thr Phe Met Leu

1 5 10

<210> 46

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 46

Thr Ser Tyr Arg Ala Gly Ser Thr Phe Met Leu

1 5 10

<210> 47

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 47

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Ser Thr Phe Met Leu

1 5 10

<210> 48

<211> 30

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 48

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser
20 25 30

<210> 49
<211> 14
<212> БІЛОК
<213> людина

<400> 49

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

<210> 50
<211> 32
<212> БІЛОК
<213> людина

<400> 50

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

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

<210> 51
<211> 32
<212> БІЛОК
<213> людина

<400> 51

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

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

<210> 52
<211> 32

<212> БІЛОК
<213> людина

<400> 52

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

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

<210> 53
<211> 32
<212> БІЛОК
<213> людина

<400> 53

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

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

<210> 54
<211> 32
<212> БІЛОК
<213> людина

<400> 54

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

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

<210> 55
<211> 32
<212> БІЛОК
<213> людина

<400> 55

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

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

<210> 56

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 56

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

<210> 57

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 57

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

<210> 58

<211> 22

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 58

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

Ser Ile Thr Ile Ser Cys
20

<210> 59

<211> 22

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 59

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

Ser Ile Thr Ile Ser Cys
20

<210> 60

<211> 15

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 60

Trp Tyr Gln Arg His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Ile Leu Ser
1 5 10 15

<210> 61

<211> 15

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 61

Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Met Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 62

<211> 15

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 62

Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Ile Leu Ser
1 5 10 15

<210> 63

<211> 32

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 63

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

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

<210> 64

<211> 32

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 64

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

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

<210> 65

<211> 32

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 65

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

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

<210> 66

<211> 32

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 66

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

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

<210> 67

<211> 10

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 67

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

<210> 68

<211> 351

<212> ДНК

<213> людина

<400> 68

gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgccg tgagctgggt ccgccaggct 120

ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gagttgggga 300

acggggacct tgtggccctg gggccaaggg aaaatggtea ccgtctcgag t 351

<210> 69

<211> 351

<212> ДНК

<213> людина

<220>

<221> різні ознаки

<222> (330)..(330)

<223> n являє собою a, c, g або t

<220>

<221> різні ознаки

<222> (348)..(348)

<223> н являє собою а, с, г або т

<400> 69

gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgcc a tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gagttgggga 300

gacgggacct tgaaccctg tggccaaggn aaaatggtea ccgtctcnag t 351

<210> 70

<211> 351

<212> ДНК

<213> людина

<400> 70

gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgcc a tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gagttgggga 300

ctggggagca acgaaaaactg tggccaaggg acaatggtea ccgtctcgag t 351

<210> 71

<211> 351

<212> ДНК

<213> людина

<400> 71

gaggtgcagc tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc	60
tctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgcc tgagctgggt ccgccaggct	120
ccaggaagg ggctggagt ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac	180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgtgtat	240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc ggacacgaac	300
tccgccagt tgcacctg gggccaagg acaatggta ccgtctgag t	351

<210> 72

<211> 351

<212> ДНК

<213> людина

<400> 72

gaggtgcagc tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc	60
tctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgcc tgagctgggt ccgccaggct	120
ccaggaagg ggctggagt ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac	180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgtgtat	240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gggcacggg	300
tacctctct tgcacctg gggccaagg acaatggta ccgtctgag t	351

<210> 73

<211> 351

<212> ДНК

<213> людина

<400> 73

gaggtgcagc tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc	60
tctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgcc tgagctgggt ccgccaggct	120
ccaggaagg ggctggagt ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac	180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgtgtat	240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gggcacggcc 300

aagccgagct tcgacccctg gggccaaggg acaatggtea ccgtctcgag t 351

<210> 74

<211> 351

<212> ДНК

<213> людина

<400> 74

gaggtgcagc tgttgaggtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgcc a tgagctgggt ccgccaggcc 120

ccagggaagg ggcctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc ggggaacgag 300

aggccgtcgt tcgacccctg gggccaaggg acaatggtea ccgtctcgag t 351

<210> 75

<211> 351

<212> ДНК

<213> людина

<400> 75

gaggtgcagc tgttgaggtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgcc a tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggcctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcgccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gggcagccgc 300

acggtgcagt tcgacccctg gggccaaggg acaatggtea ccgtctcgag t 351

<210> 76

<211> 351

<212> ДНК

<213> людина

<400> 76

gagggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgccca tgagctgggt ccgccagget 120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gacgaactcg 300
ccggggacgt tcgaccctg gggccaagg acaatggta ccgtctcgag t 351

<210> 77

<211> 351

<212> ДНК

<213> людина

<400> 77

gagggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgccca tgagctgggt ccgccagget 120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gaccatcgcg 300
cccgcccggt tcgaccctg gggccaagg acaatggta ccgtctcgag t 351

<210> 78

<211> 351

<212> ДНК

<213> людина

<400> 78

gagggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgccca tgagctgggt ccgccagget 120

ccaggaagg ggctggagt ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc ggggctcgac 300
cgggtgtggt tgcaccctg gggccaagg acaatggta ccgtctcgag t 351

<210> 79
<211> 351
<212> ДНК
<213> людина

<400> 79
gaggtgcagc tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgcc a tgagctgggt ccgccaggct 120
ccaggaagg ggctggagt ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gagttgggga 300
ggaggtggt tgcaccctg gggccaagg acaatggta ccgtctctc a 351

<210> 80
<211> 351
<212> ДНК
<213> людина

<400> 80
gaggtgcagc tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgcc a tgagctgggt ccgccaggct 120
ccaggaagg ggctggagt ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gaaatgggga 300

ggaggctggt tcgacccctg gggccaagg acaatggtca ccgtctctc a 351

<210> 81

<211> 333

<212> ДНК

<213> людина

<400> 81

cagtctgccc tgactcagcc tgccctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60

tcttgcaactg gaaccagtaa tgacgttggt gcttataatt atgtctctctg gtaccaacaa 120

caccacaggca aagcccccaa actcattctt tctgaggtea ataaacggcc ctcaggggtt 180

tctaactgct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ctctgagcat ctctgggctc 240

caggctgagg acgaggctga ttattactgc agctcattta caagcggcct cccctgggtc 300

ctcttcggcg gagggacca gctgaccgtc cta 333

<210> 82

<211> 333

<212> ДНК

<213> людина

<400> 82

cagtctgccc tgactcagcc tgccctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60

tcttgcaactg gaaccagtaa tgacgttggt gcttataatt atgtctctctg gtaccaacaa 120

caccacaggca aagcccccaa actcattctt tctgaggtea ataaacggcc ctcaggggtt 180

tctaactgct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ctctgagcat ctctgggctc 240

caggctgagg acgaggctga ttattactgc agctcattta caagcgggct cccctgggtc 300

gtcttcggcg gagggacca gctgaccgtc cta 333

<210> 83

<211> 333

<212> ДНК

<213> людина

<400> 83

cagttctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60
tcttgcaactg gaaccagtaa tgacgttggt gcttataatt atgtctcctg gtaccaacaa 120
caccagggca aagcccccaa actcattctt tctgaggta ataaacggcc ctcaggggtt 180
tctaactcgt tctctggctc caagtctggc aacacggcct ctctgagcat ctctgggctc 240
caggctgagg acgaggctga ttattactgc agctcattta caagcggcat cgtgttcaac 300
ctgttcggcg gagggacca gctgaccgtc cta 333

<210> 84

<211> 333

<212> ДНК

<213> людина

<400> 84

cagttctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60
tcttgcaactg gaaccagtaa tgacgttggt gcttataatt atgtctcctg gtaccaacga 120
caccagggca aagcccccaa actcattctt tctgaggta ataaacggcc ctcaggggtt 180
tctaactcgt tctctggctc caagtctggc aacacggcct ctctgagcat ctctgggctc 240
caggctgagg acgaggctga gtattactgc agcagctaca cgatggggag cacttttatg 300
ctattcggcg gagggacca gctgaccgtc cta 333

<210> 85

<211> 333

<212> ДНК

<213> людина

<400> 85

cagttctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60
tcttgcaactg gaaccagtaa tgacgttggt gcttataatt atgtctcctg gtaccaacaa 120
caccagggca aagcccccaa actcattctt tctgaggta ataaacggcc ctcaggggtt 180

tctaatacgct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ctctgagcat ctctgggctc	240
caggctgagg acgaggctgg ttattactgc acgagctacc gggccgggag cacttttatg	300
ctattcggcg gagggaccaaa gctgaccgtc cta	333

<210> 86
 <211> 333
 <212> ДНК
 <213> людина

<400> 86	
cagtctgccc tgactcagcc tgccctccgtg tctgggcctc ctggacagtc gatcaccatc	60
tcttgcaactg gaaccagtaa tgacgttggg gcttataatt atgtctcctg gtaccaaaaa	120
caccacaggca aagcccccaa actcattctt tctgaggtca ataaacggcc ctcagggggtt	180
tctaatacgct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ctctgagcat ctctgggctc	240
caggctgagg acgaggctga ttattactgc acctcgtaca ccatgggcag cacttttatg	300
ctattcggcg gagggaccaaa gctgaccgtc cta	333

<210> 87
 <211> 333
 <212> ДНК
 <213> людина

<400> 87	
cagtctgccc tgactcagcc tgccctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc	60
tcttgcaactg gaaccagtaa tgacgttggg gcttataatt atgtctcctg gtaccaaaaa	120
caccacaggca aagcccccaa actcattctt tctgaggtca ataaacggcc ctcagggggtt	180
tctaatacgct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ctctgagcat ctctgggctc	240
caggctgagg acgaggctga ttattactgc acctcgtacc gcatggacag cacttttatg	300
ctattcggcg gagggaccaaa gctgaccgtc cta	333

<210> 88

<211> 333

<212> ДНК

<213> людина

<400> 88

cagtcctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60

tctgcactg gaaccagtaa tgacgttggt gcttataatt atgtctcctg gtaccaacaa 120

caccagggca aagcccccaa actcattctt tctgaggtea ataaacggcc ctgaggggtt 180

tctaatcgct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ctctgagcat ctctgggctc 240

caggctgagg acgaggctga ttattactgc agctcattta caagcggcag cacttttatg 300

ctattcggcg gagggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 89

<211> 333

<212> ДНК

<213> людина

<400> 89

cagtcctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60

tctgcactg gaaccagtaa tgacgttggt gcttataatt atgtctcctg gtaccaacaa 120

caccagggca aagcccccaa actcatgatt tatgaggtea ataaacggcc ctgaggggtt 180

tctaatcgct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ctctgaccat ctctgggctc 240

caggctgagg acgaggctga ttattactgc agctcattta caagcggcag cacttttatg 300

ctattcggcg gagggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 90

<211> 333

<212> ДНК

<213> людина

<400> 90

cagtcctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60

tcctgcaactg gaaccagtaa tgacgttggt gcttataatt atgtctcctg gtaccaacaa 120
 caccagggca aagcccccaa actcattctt tctgaggta ataaacggcc ctcaggggtt 180
 tctaatacgt tctctggctc caagtctggc aacacggcct cctgagcat cctctgggctc 240
 caggctgagg acgaggctga ttattactgc acctcgtaca ccatgggcag cacttttatg 300
 ctattcggcg gagggacca gctgaccgtc cta 333

<210> 91
 <211> 8
 <212> БІЛОК
 <213> людина

<400> 91

Asn Pro Lys Gly Gln Phe Asp Pro
 1 5

<210> 92
 <211> 8
 <212> БІЛОК
 <213> людина

<400> 92

Asn Ser Ala Gly Ser Phe Asp Pro
 1 5

<210> 93
 <211> 8
 <212> БІЛОК
 <213> людина

<400> 93

Ser Asn Gly Gly Leu Phe Asp Pro
 1 5

<210> 94
 <211> 8
 <212> БІЛОК

<213> людина

<400> 94

Ser Asn Gly Gly Phe Phe Asp Pro
1 5

<210> 95

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 95

Ser Asp Leu Gly Glu Phe Asp Pro
1 5

<210> 96

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 96

Thr Asn Thr Gly Gln Phe Asp Pro
1 5

<210> 97

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 97

Thr Pro Arg Gly Leu Phe Asp Pro
1 5

<210> 98

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 98

Ser Asn Thr Gly Asn Phe Asp Pro

1 5

<210> 99

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 99

Ser Arg Thr Val Gln Phe Asp Pro

1 5

<210> 100

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 100

Leu Gly Val Pro Gln Phe Asp Pro

1 5

<210> 101

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 101

Ser Asp Asn Gly Thr Phe Asp Pro

1 5

<210> 102

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 102

Ile Ala Pro Gly Arg Phe Asp Pro

1 5

<210> 103

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 103

Asn Thr Thr Gly Thr Phe Asp Pro

1 5

<210> 104

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 104

Ser Asp Ala Gly Arg Phe Asp Pro

1 5

<210> 105

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 105

Ile Asn Glu Gly Arg Phe Asp Pro

1 5

<210> 106

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 106

Asn Ser Asn Gly Val Phe Asp Pro

1 5

<210> 107

<211> 8

<212> БІЛОК
<213> людина

<400> 107

Ser His Ser Gly Lys Phe Asp Pro
1 5

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

<400> 108

Asn Lys Lys Pro Pro Phe Asp Pro
1 5

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

<400> 109

Ser Asp Asn Gly Leu Phe Asp Pro
1 5

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

<400> 110

Trp Gly Ala Gly Glu Leu Asp His
1 5

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

<400> 111

Trp Gly Thr Gly Ala His Glu Asn

1 5

<210> 112

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 112

Asn Asn Val Gly Arg Phe Asp Pro

1 5

<210> 113

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 113

Thr Asp Arg Pro Val Phe Asp Pro

1 5

<210> 114

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 114

Ile Arg Ser Gly Met Phe Asp Pro

1 5

<210> 115

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 115

Thr Glu Gly Ala Leu Phe Asp Pro

1 5

<210> 116

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 116

Ser Asp Phe Gly Lys Phe Asp Pro

1 5

<210> 117

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 117

Asn Glu Leu Gly Ser Phe Asp Pro

1 5

<210> 118

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 118

Gln Glu Leu Pro Val Phe Asp Pro

1 5

<210> 119

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 119

Phe Arg Asp Thr Ala Phe Asp Pro

1 5

<210> 120

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 120

Ala Asp Met Gly Arg Phe Asp Pro

1 5

<210> 121

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 121

Leu Gly Val Pro Val Phe Asp Pro

1 5

<210> 122

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 122

Thr His Ala Gly Met Phe Asp Pro

1 5

<210> 123

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 123

Val Tyr Ala Gly Arg Phe Asp Pro

1 5

<210> 124

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 124

Asn Thr Gln Gly Arg Phe Asp Pro

1 5

<210> 125

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 125

Thr Asn Gly Gly Leu Phe Asp Pro

1 5

<210> 126

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 126

Ile Thr Thr Val Lys Phe Asp Pro

1 5

<210> 127

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 127

Arg Leu Val His Gly Phe Asp Pro

1 5

<210> 128

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 128

Ile Arg Leu Gly Thr Phe Asp Pro

1 5

<210> 129

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 129

Ser Glu Arg Pro Gln Phe Asp Pro

1 5

<210> 130

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 130

Thr Ser Arg Pro Leu Phe Asp Pro

1 5

<210> 131

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 131

Val Glu Ser Gly Arg Phe Asp Pro

1 5

<210> 132

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 132

Ser Glu Met Pro Met Phe Asp Pro

1 5

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

<400> 133

Val Asn Pro Gly Tyr Phe Asp Pro
1 5

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

<400> 134

Asn Asp Ile Ala Arg Phe Asp Pro
1 5

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

<400> 135

Val Gly Val Gly Gln Phe Asp Pro
1 5

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

<400> 136

Thr Arg Tyr Pro Thr Phe Asp Pro
1 5

<210> 137
<211> 8
<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 137

Asn Ser Ala Gly Thr Phe Asp Pro
1 5

<210> 138

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 138

Val Asn Glu Gly Arg Phe Asp Pro
1 5

<210> 139

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 139

Asn Arg Thr Gly Arg Phe Asp Pro
1 5

<210> 140

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 140

Asn Ala Ser Ala Arg Phe Asp Pro
1 5

<210> 141

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 141

Ile Asn Thr Gly Met Phe Asp Pro

1 5

<210> 142

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 142

Asn Asp Asn Gly Arg Phe Asp Pro

1 5

<210> 143

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 143

Val Asp Gln Pro Ser Phe Asp Pro

1 5

<210> 144

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 144

Val Asp Arg Gly Gln Phe Asp Pro

1 5

<210> 145

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 145

Asn His Thr Gly Lys Phe Asp Pro

1 5

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

<400> 146

Thr Asn Thr Gly Arg Phe Asp Pro
1 5

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

<400> 147

Ser Asp Ser Gly Leu Phe Asp Pro
1 5

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

<400> 148

Asn Val Leu Ala Leu Phe Asp Pro
1 5

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

<400> 149

Asn Tyr Glu Ala Arg Phe Asp Pro
1 5

<210> 150
<211> 8

<212> БІЛОК
<213> людина

<400> 150

Pro Asp Asn Gly Thr Phe Asp Pro
1 5

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

<400> 151

Asn Arg Asn Gly Asn Phe Asp Pro
1 5

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

<400> 152

Thr Thr Gly Gly Arg Phe Asp Pro
1 5

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

<400> 153

Thr Gly Tyr Pro Ser Phe Asp Pro
1 5

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

<400> 154

Asn Asn Glu Gly Gln Phe Asp Pro

1 5

<210> 155

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 155

Asn Ser Lys Gly Arg Phe Asp Pro

1 5

<210> 156

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 156

Thr Glu Asn Pro Thr Phe Asp Pro

1 5

<210> 157

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 157

Thr Asn Gly Gly Arg Phe Asp Pro

1 5

<210> 158

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 158

Asn Ser Tyr Gly Ser Phe Asp Pro

1 5

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

<400> 159

Leu Glu Asn Val Val Phe Asp Pro
1 5

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

<400> 160

Ala Asn His Gly Arg Phe Asp Pro
1 5

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

<400> 161

Ala Asn Gly Gly Gln Phe Asp Pro
1 5

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

<400> 162

Trp Gly Asn Asp Ala Ser Leu Gly
1 5

<210> 163

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 163

Trp Gly Pro Thr Ala Ser Leu Asp

1 5 .

<210> 164

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 164

Trp Gly Arg Gly Thr Asn Glu Tyr

1 5

<210> 165

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 165

Trp Gly Gly Gly Gly His Tyr Asp

1 5

<210> 166

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 166

Trp Gly Ala Asp Ala Thr Leu Asp

1 5

<210> 167

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 167

Thr Glu Phe Gly Thr Phe Asp Pro

1 5

<210> 168

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 168

Asn Ala Thr Gly Thr Phe Asp Pro

1 5

<210> 169

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 169

Thr Asn Ser Ala Lys Phe Asp Pro

1 5

<210> 170

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 170

Val Asn Ser Gly Lys Phe Asp Pro

1 5

<210> 171

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 171

Ser Leu Arg Val Glu Phe Asp Pro

1 5

<210> 172

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 172

Asn Asp Arg Gly Met Phe Asp Pro

1 5

<210> 173

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 173

Asn Ser Pro Gly Thr Phe Asp Pro

1 5

<210> 174

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 174

Asn Thr Ala Gly Arg Phe Asp Pro

1 5

<210> 175

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 175

Val Asn Arg Gly Arg Phe Asp Pro

1 5

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

<400> 176

Thr Glu Lys Pro Met Phe Asp Pro
1 5

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

<400> 177

Trp Ser Val Ser Leu Phe Asp Pro
1 5

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

<400> 178

Met Glu Val Val Glu Phe Asp Pro
1 5

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

<400> 179

Val Asn His Gly Arg Phe Asp Pro
1 5

<210> 180
<211> 8
<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 180

Thr Glu Val Gly Thr Phe Asp Pro
1 5

<210> 181

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 181

Thr Asp Lys Pro Val Phe Asp Pro
1 5

<210> 182

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 182

Leu Glu Leu Pro Arg Phe Asp Pro
1 5

<210> 183

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 183

Thr Asn His Ala Met Phe Asp Pro
1 5

<210> 184

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 184

Thr His Ser Gly Arg Phe Asp Pro

1 5

<210> 185

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 185

Asn Asp Arg Gly Gly Phe Asp Pro

1 5

<210> 186

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 186

Pro His Arg Gly Thr Phe Asp Pro

1 5

<210> 187

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 187

Thr Glu Leu Gly Gln Phe Asp Pro

1 5

<210> 188

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 188

Trp Gly Leu Gly Ser Asn Glu Asn

1 5

<210> 189

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 189

Trp Gly Asn Asp Ala Thr Trp Asn

1 5

<210> 190

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 190

Trp Gly Ser Thr Ala Ser Leu Asp

1 5

<210> 191

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 191

Trp Gly Gly Gly Gly His Gln Asp

1 5

<210> 192

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 192

Trp Gly Arg Gly Asp Trp Arg Ser

1 5

<210> 193

<211> 8

<212> БІЛОК
<213> людина

<400> 193

Trp Gly Ser Thr Ala Ser Leu Ser
1 5

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

<400> 194

Trp Gly His Gly Gly His Asp Thr
1 5

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

<400> 195

Trp Gly Pro Arg Ala Thr Leu Asp
1 5

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

<400> 196

Trp Gly Asn Gly Ala Phe Val Pro
1 5

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

<400> 197

Trp Gly Asn Asp Ala Thr Leu Ala
1 5

<210> 198

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 198

Trp Gly Ser Gly Asn Leu Asp Pro
1 5

<210> 199

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 199

Asn Glu Leu Pro Lys Phe Asp Pro
1 5

<210> 200

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 200

Ser Asp Gly Gly Thr Phe Asp Pro
1 5

<210> 201

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 201

Leu Asp Met Val Met Phe Asp Pro

1 5

<210> 202

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 202

Trp Gly Ser Gly Thr Met Asp Pro

1 5

<210> 203

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 203

Pro Asp Arg Gly Lys Phe Asp Pro

1 5

<210> 204

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 204

Thr His Asn Pro Val Phe Asp Pro

1 5

<210> 205

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 205

Asn Ser Ala Gly Arg Phe Asp Pro

1 5

<210> 206

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 206

Leu Asp Ser Val Val Phe Asp Pro

1 5

<210> 207

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 207

Trp Gly Thr Gly Gln His Glu Asn

1 5

<210> 208

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 208

Trp Gly Thr Gly His His Asp Pro

1 5

<210> 209

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 209

Asn Phe Lys Pro Ser Phe Asp Pro

1 5

<210> 210

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 210

Ala Asn Gly Gly Arg Phe Asp Pro

1 5

<210> 211

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 211

Trp Gly Thr Gly His Leu Glu Pro

1 5

<210> 212

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 212

Thr Gly Leu Pro Arg Phe Asp Pro

1 5

<210> 213

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 213

Ser Asn Val Gly Lys Phe Asp Pro

1 5

<210> 214

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 214

Asn Ala Val Ala Arg Phe Asp Pro

1 5

<210> 215

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 215

Thr Asp Arg Pro Gln Phe Asp Pro

1 5

<210> 216

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 216

Ser Leu Thr Val Asp Phe Asp Pro

1 5

<210> 217

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 217

Thr Glu Met Ala Gln Phe Asp Pro

1 5

<210> 218

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 218

Trp Gly Glu Gly His Leu Glu Tyr

1 5

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

<400> 219

Gln Lys Lys Val Glu Phe Asp Pro
1 5

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

<400> 220

Thr Gly Tyr Pro Val Phe Asn Pro
1 5

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

<400> 221

Ala Asn Ser Ala Lys Phe Asp Pro
1 5

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

<400> 222

Val Gly Arg Pro Gln Phe Asp Pro
1 5

<210> 223
<211> 8
<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 223

Thr Tyr Asn Pro Met Phe Asp Pro

1 5

<210> 224

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 224

Thr Glu Arg Pro Val Phe Asp Pro

1 5

<210> 225

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 225

Leu Asp Leu Pro Arg Phe Asp Pro

1 5

<210> 226

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 226

Trp Gly Ser Gly Ser Ile Asp His

1 5

<210> 227

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 227

Leu Asp Arg Val Cys Ser Arg Trp

1 5

<210> 228

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 228

Asn Thr Leu Pro Val Phe Asp Pro

1 5

<210> 229

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 229

Ile Lys Pro Gly Arg Phe Asp Pro

1 5

<210> 230

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 230

Thr Gly Tyr Pro Val Phe Asp Pro

1 5

<210> 231

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 231

Ile Lys Pro Gly Met Phe Asp Pro

1 5

<210> 232
<211> 8
<212> БІЛОК
<213> людина

<400> 232

Asn Met Thr Pro Arg Phe Asp Pro
1 5

<210> 233
<211> 8
<212> БІЛОК
<213> людина

<400> 233

Thr Glu Arg Pro Ser Phe Asp Pro
1 5

<210> 234
<211> 8
<212> БІЛОК
<213> людина

<400> 234

Thr Asn Tyr Gly Thr Phe Asp Pro
1 5

<210> 235
<211> 8
<212> БІЛОК
<213> людина

<400> 235

Thr Ser Arg Pro Ser Phe Asp Pro
1 5

<210> 236
<211> 8

<212> БІЛОК
<213> людина

<400> 236

Thr Tyr Trp Pro Ala Phe Asp Pro
1 5

<210> 237
<211> 8
<212> БІЛОК
<213> людина

<400> 237

Ile Asp Met Pro Trp Phe Asp Pro
1 5

<210> 238
<211> 8
<212> БІЛОК
<213> людина

<400> 238

Trp Gly Thr Gly His His Asp Pro
1 5

<210> 239
<211> 8
<212> БІЛОК
<213> людина

<400> 239

Asn Ala Arg Pro Ser Phe Asp Pro
1 5

<210> 240
<211> 8
<212> БІЛОК
<213> людина

<400> 240

Asn Gln Ile Val His Phe Asp Pro

1 5

<210> 241

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 241

Asn Val Met Gly Arg Phe Asp Pro

1 5

<210> 242

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 242

Thr Asp Thr Pro Val Phe Asp Pro

1 5

<210> 243

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 243

Asn Arg Thr Val Trp Phe Asp Pro

1 5

<210> 244

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 244

Asn Arg Met Gly Ser Phe Asp Pro

1 5

<210> 245

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 245

Val Lys Pro Gly Phe Phe Asp Pro

1 5

<210> 246

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 246

Ile Asp Gln Gly Arg Phe Asp Pro

1 5

<210> 247

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 247

Gln Ser Leu Pro Gln Phe Asp Pro

1 5

<210> 248

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 248

Asn Glu Leu Gly Thr Phe Asp Pro

1 5

<210> 249

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 249

Gln Lys Lys Val Glu Phe Asp Pro

1 5

<210> 250

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 250

Ile Asp Thr Pro Thr Phe Asp Pro

1 5

<210> 251

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 251

Trp Gly Tyr Asp Ala Thr Leu Glu

1 5

<210> 252

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 252

Ser Asp Gly Gly Lys Phe Asp Pro

1 5

<210> 253

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 253

Leu Asp Leu Val Arg Phe Asp Pro

1 5

<210> 254

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 254

Ala Asn Ala Gly Leu Phe Asp Pro

1 5

<210> 255

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 255

Trp Gly Thr Gly Ser Asn Arg Asp

1 5

<210> 256

<211> 8

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 256

Ser Glu Thr Ile Asn Phe Asp Pro

1 5

<210> 257

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 257

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

<210> 258

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 258

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

<210> 259

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 259

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

<210> 260

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 260

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

<210> 261

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 261

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

<210> 262
<211> 11
<212> БІЛОК
<213> людина

<400> 262

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

<210> 263
<211> 11
<212> БІЛОК
<213> людина

<400> 263

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

<210> 264
<211> 11
<212> БІЛОК
<213> людина

<400> 264

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

<210> 265
<211> 11
<212> БІЛОК
<213> людина

<400> 265

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

<210> 266
<211> 11
<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 266

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

<210> 267

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 267

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

<210> 268

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 268

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

<210> 269

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 269

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

<210> 270

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 270

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

<210> 271

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 271

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

<210> 272

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 272

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

<210> 273

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 273

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

<210> 274

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 274

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

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

<400> 275

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

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

<400> 276

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

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

<400> 277

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

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

<400> 278

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

<210> 279
<211> 11

<212> БІЛОК
<213> людина

<400> 279

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

<210> 280

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 280

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

<210> 281

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 281

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

<210> 282

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 282

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

<210> 283

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 283

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

<210> 284

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 284

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

<210> 285

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 285

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

<210> 286

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 286

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

<210> 287

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 287

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Ile Lys Phe Thr Leu

1 5 10

<210> 288

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 288

Ser Ser Phe Thr Ser Ala Ile Pro Trp Ser Leu

1 5 10

<210> 289

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 289

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Glu Gln Phe Leu Leu

1 5 10

<210> 290

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 290

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Pro Arg Trp Asn Leu

1 5 10

<210> 291

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 291

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Ser Thr Phe Asn Leu

1 5 10

<210> 292

<211> 11
<212> БІЛОК
<213> людина

<400> 292

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

<210> 293
<211> 11
<212> БІЛОК
<213> людина

<400> 293

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

<210> 294
<211> 11
<212> БІЛОК
<213> людина

<400> 294

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

<210> 295
<211> 11
<212> БІЛОК
<213> людина

<400> 295

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

<210> 296
<211> 11
<212> БІЛОК
<213> людина

<400> 296

Ser Ser Phe Thr Ser Asn Ile Pro Trp Ala Ile

1 5 10

<210> 297

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 297

Ser Ser Phe Thr Ser Ser Ala His Phe Val Leu

1 5 10

<210> 298

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 298

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Pro Val Phe Asn Ile

1 5 10

<210> 299

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 299

Ser Ser Phe Thr Ser Asp Arg Ala Phe Asn Leu

1 5 10

<210> 300

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 300

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

<210> 301

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 301

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

<210> 302

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 302

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

<210> 303

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 303

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

<210> 304

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 304

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

<210> 305

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 305

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Gln Gln Trp Val Leu

1 5 10

<210> 306

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 306

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Ile Arg Phe Asn Val

1 5 10

<210> 307

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 307

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Val Thr Trp Leu Leu

1 5 10

<210> 308

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 308

Ser Ser Phe Thr Ser Gly Arg Ile Phe Asn Leu

1 5 10

<210> 309

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 309

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

<210> 310

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 310

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

<210> 311

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 311

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

<210> 312

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 312

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

<210> 313

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 313

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

<210> 314

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 314

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

<210> 315

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 315

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

<210> 316

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 316

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

<210> 317

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 317

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

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

<400> 318

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

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

<400> 319

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

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

<400> 320

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 321

<211> 117

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 321

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 322

<211> 117

<212> БІЛОК
<213> людина

<400> 322

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 323
<211> 117
<212> БІЛОК
<213> людина

<400> 323

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

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

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

35

40

45

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 324

<211> 117

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 324

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

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

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

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

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

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

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

100

105

110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 325

<211> 117

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 325

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

1

5

10

15

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

20

25

30

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

35

40

45

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

50

55

60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65

70

75

80

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

85

90

95

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

100

105

110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 326

<211> 111

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 326

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

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

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

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

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

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

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

<210> 327

<211> 111

<212> БИЛОК

<213> людина

<400> 327

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

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

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

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

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

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

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

<210> 328

<211> 111

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 328

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

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

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

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

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

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

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

<210> 329

<211> 111

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 329

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

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

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

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

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

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

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

<210> 330

<211> 111

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 330

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

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

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

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

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

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

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

<210> 331

<211> 111

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 331

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

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

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

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

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

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

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

<210> 332

<211> 351

<212> ДНК

<213> людина

<400> 332

gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc

tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgccca tgagctgggt ccgccaggct

ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gaaatgggga 300

gacgggacct tgaacccgtg gggccaaggg acaatggtea ccgtctcttc a 351

<210> 333

<211> 351

<212> ДНК

<213> людина

<400> 333

gagggtgcagc tgttgaggtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgcc tgagctgggt ccgccaggct 120

ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gaaaacgaac 300

tccgccaagt tcgaccctg gggccaaggg acaatggtea ccgtctcttc a 351

<210> 334

<211> 351

<212> ДНК

<213> людина

<400> 334

gagggtgcagc tgttgaggtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgcc tgagctgggt ccgccaggct 120

ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gaaaaacgag 300

aggccgtcgt tcgaccctg gggccaaggg acaatggtea ccgtctcttc a 351

<210> 335

<211> 351

<212> ДНК

<213> людина

<400> 335

gagggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgcc a tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gaaatgggga 300

gacgggacct tgaaccctg gggccaagg acaatggtca ccgtctcctc a 351

<210> 336

<211> 351

<212> ДНК

<213> людина

<400> 336

gagggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgcc a tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gaaaacgggg 300

taccctctct tcgaccctg gggccaagg acaatggtca ccgtctcctc a 351

<210> 337

<211> 351

<212> ДНК

<213> людина

<400> 337

gagggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60

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

<210> 338
 <211> 333
 <212> ДНК
 <213> людина

<400> 338	
cagtctgcc tgactcagcc tgccctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc	60
tctgcactg gaaccagtaa tgacgttggt gcttataatt atgtctctg gtaccaaaaa	120
caccagga aagccccaa actcatgatt tctgaggtca ataaacggcc ctcaggggtt	180
tctaategct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ctctgaccat ctctgggctc	240
caggetgagg acgaggctga ttattactgc agctattta caagcgggct ccctgggctc	300
gtcttcggcg gagggacca gctgaccgtc cta	333

<210> 339
 <211> 333
 <212> ДНК
 <213> людина

<400> 339	
cagtctgcc tgactcagcc tgccctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc	60
tctgcactg gaaccagtaa tgacgttggt gcttataatt atgtctctg gtaccaaaaa	120
caccagga aagccccaa actcatgatt tctgaggtca ataaacggcc ctcaggggtt	180
tctaategct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ctctgaccat ctctgggctc	240

caggctgagg acgaggctga ttattactgc agcagctaca cgatggggag cacttttatg 300

ctattcggcg gagggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 340

<211> 333

<212> ДНК

<213> людина

<400> 340

cagtctgcc tgactcagcc tgectcctg tetgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60

tcttgcactg gaaccagtaa tgacgttggt gcttataatt atgtctctctg gtaccaacaa 120

caccacagga aagcccccaa actcatgatt tetgaggtca ataaacggcc ctcaggggtt 180

tctaategct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ctctgaccat ctctgggctc 240

caggctgagg acgaggctga ttattactgc acctcgtaca ccatgggcag cacttttatg 300

ctattcggcg gagggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 341

<211> 333

<212> ДНК

<213> людина

<400> 341

cagtctgcc tgactcagcc tgectcctg tetgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60

tcttgcactg gaaccagtaa tgacgttggt gcttataatt atgtctctctg gtaccaacaa 120

caccacagga aagcccccaa actcatgatt tetgaggtca ataaacggcc ctcaggggtt 180

tctaategct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ctctgaccat ctctgggctc 240

caggctgagg acgaggctga ttattactgc acctcgtaca ccatgggcag cacttttatg 300

ctattcggcg gagggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 342

<211> 333

<212> ДНК

<213> людина

<400> 342

```
cagtcctgcc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60
tcttgcactg gaaccagtaa tgacgttggt gcttataatt atgtctcctg gtaccaacaa 120
caccagggca aagcccccaa actcatgatt tctgaggtca ataaacggcc ctgaggggtt 180
tctaategct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ctctgaccat ctctgggctc 240
caggctgagg acgaggtga ttattactgc acctcgtaca ccatgggcag cacttttatg 300
ctattcggcg gagggacca gctgaccgtc cta 333
```

<210> 343

<211> 333

<212> ДНК

<213> людина

<400> 343

```
cagtcctgcc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60
tcttgcactg gaaccagtaa tgacgttggt gcttataatt atgtctcctg gtaccaacaa 120
caccagggca aagcccccaa actcatgatt tctgaggtca ataaacggcc ctgaggggtt 180
tctaategct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ctctgaccat ctctgggctc 240
caggctgagg acgaggtga ttattactgc agctcattta caagcgggtt gccgtgggtg 300
ctcttcggcg gagggacca gctgaccgtc cta 333
```

<210> 344

<211> 330

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 344

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 Glu Glu			
225	230	235	240
Met 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> 345

<211> 106

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 345

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

1

5

10

15

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

20

25

30

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

35

40

45

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

50

55

60

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

65

70

75

80

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

85

90

95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser

<210> 346

<211> 19

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 346

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

1

5

10

15

Val His Ser

<210> 347

<211> 20

<212> БІЛОК

<213> людина

<400> 347

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

1

5

10

15

Asp Ala Arg Cys

20

SEG ID №	Послідовність	Опис	Антитіло
1	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSHVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCASWG TGTINFWGQG KMTVSS	Повнорозмірна V _H	194_e06, 196_a07, 198_f06
2	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSHVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCASWG DGTINFWGQG KMTVSS	Повнорозмірна V _H	194_a02, 194_b09
3	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSHVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCASWG LGSNENWGQG KMTVSS	Повнорозмірна V _H	195_e11
4	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSHVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCADTN SAKFDPWGQG KMTVSS	Повнорозмірна V _H	194_g09, 196_h02
5	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSHVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAGTS YPSFDPWGQG KMTVSS	Повнорозмірна V _H	194_e01
6	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSHVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAGTA KPSFDPWGQG KMTVSS	Повнорозмірна V _H	196_d10
7	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSHVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAGNE RPSFDPWGQG KMTVSS	Повнорозмірна V _H	196_g03
8	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSHVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAGSR TVQFDPWGQG KMTVSS	Повнорозмірна V _H	196_e06
9	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSHVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCATNS PGTDPWGQG KMTVSS	Повнорозмірна V _H	195_a09

Фіг. 1

10	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSHVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCATIA PGRFDPWGQG KMTVSS	Повнорозмірна V _H	198_a09
11	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSHVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAGLD RVWEDPWGQG KMTVSS	Повнорозмірна V _H	200_h06
12	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSHVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCASWG GGWEDPWGQG KMTVSS	Повнорозмірна V _H	129_1c4
13	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSHVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAKWS GGWEDPWGQG KMTVSS	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна V _H	g_129_1c4
14	QSALTQPAFV SGSPGGSLTI SCTGTSDVVG AYNVSWYQQ HPGKAPKLLI SEVNKRPSGV SNRFGSKSG NTASLSISGL QAEDADYYC SSETSGLPWV LFGGGTKLTV L	Повнорозмірна V _L	194_a02, 194_e06, 196_a07, 198_f06
15	QSALTQPAFV SGSPGGSLTI SCTGTSDVVG AYNVSWYQQ HPGKAPKLLI SEVNKRPSGV SNRFGSKSG NTASLSISGL QAEDADYYC SSETSGLPWV VFGGGTKLTV L	Повнорозмірна V _L	194_b09
16	QSALTQPAFV SGSPGGSLTI SCTGTSDVVG AYNVSWYQQ HPGKAPKLLI SEVNKRPSGV SNRFGSKSG NTASLSISGL QAEDADYYC SSETSGIVEN LFGGGTKLTV L	Повнорозмірна V _L	195_e11
17	QSALTQPAFV SGSPGGSLTI SCTGTSDVVG AYNVSWYQQ HPGKAPKLLI SEVNKRPSGV SNRFGSKSG NTASLSISGL QAEDADYYC SSETSGSTEM LFGGGTKLTV L	Повнорозмірна V _L	194_g09
18	QSALTQPAFV SGSPGGSLTI SCTGTSDVVG AYNVSWYQQ HPGKAPKLLI SEVNKRPSGV SNRFGSKSG NTASLSISGL QAEDADYYC TSYRAGSTEM LFGGGTKLTV L	Повнорозмірна V _L	194_e01
19	QSALTQPAFV SGSPGGSLTI SCTGTSDVVG AYNVSWYQQ HPGKAPKLLI SEVNKRPSGV SNRFGSKSG NTASLSISGL QAEDADYYC TSYTHGSTEM LFGGGTKLTV L	Повнорозмірна V _L	198_a09

Фіг. 1B

20	QSALTQPAV SSSPGQSITI SCTGTNDVG AYNVSWYQQ HPGKAPKLL SEVVKRPSGV SNRFGGSKG NTASLSISGL QAEDEADYYC TSYRMDSTEM LEGGGTCLTV L	Повнорозмірна V _L	200_h06
21	QSALTQPAV SSSPGQSITI SCTGTNDVG AYNVSWYQQ HPGKAPKLL SEVVKRPSGV SNRFGGSKG NTASLSISGL QAEDEADYYC SSFTSGSTEM LEGGGTCLTV L	Повнорозмірна V _L	129_1c4
22	QSALTQPAV SSSPGQSITI SCTGTNDVG AYNVSWYQQ HPGKAPKLL YEVVKRPSGV SNRFGGSKG NTASLSISGL QAEDEADYYC SSFTSGSTEM LEGGGTCLTV L	Повнорозмірна V _L	g_129_1c4
23	QSALTQPAV SSSPGQSITI SCTGTNDVG AYNVSWYQQ HPGKAPKLL SEVVKRPSGV SNRFGGSKG NTASLSISGL QAEDEADYYC TSYTMSSTEM LEGGGTCLTV L	Повнорозмірна V _L	196_h02, 196_d10, 196_g03, 196_e06, 195_a09
24	SYAMS	V _H CDR1	Bce
25	AISGGGGSTYYADSVKG	V _H CDR2	Bce
26	WGDTLNP	V _H CDR3	194_e06, 196_a07, 198_f06
27	WGDTLNP	V _H CDR3	194_a02, 194_b09
28	WGLGSNEN	V _H CDR3	195_e11
29	TNSAKFDP	V _H CDR3	194_g09, 196_h02
30	TGYPSFDP	V _H CDR3	194_e01
31	TAKPSFDP	V _H CDR3	196_d10
32	NERPSFDP	V _H CDR3	196_g03
33	SRTVQFDP	V _H CDR3	196_e06
34	NSPGTFDP	V _H CDR3	195_a09

Fig. 1C

35	IAPGRFDP	V _H CDR3	198_a09
36	LDRVNFDP	V _H CDR3	200_h06
37	WGGGWEDP	V _H CDR3	129_1c4, g_129_1c4
38	TGTENDVGAYNYVS	V _L CDR1	Bci
39	EYVKRPS	V _L CDR2	Bci
40	SSFTSGLPWVL	V _L CDR3	194_a02, 194_e06, 196_a07, 198_f06
41	SSFTSGLPWVV	V _L CDR3	194_b09
42	SSFTSGLIVENL	V _L CDR3	195_e11
43	TSYTMGSTFML	V _L CDR3	195_a09, 196_d10, 196_e06, 196_g03, 196_h02, 198_a09
44	SSYTMGSTFML	V _L CDR3	194_g09
45	TSYRMDSTEM	V _L CDR3	200_h06
46	TSYRAGSTEM	V _L CDR3	194_e01
47	SSFTSGSTEM	V _L CDR3	129_1c4, g_129_1c4
48	EVQLLESQGGIVQPGGSLRLSCAASGFTFS	V _H FR1	Bci
49	WVRQAPGRGLEWVS	V _H FR2	Bci
50	RETISRDNKNTLYLQMNSLRADTAVYYCAS	V _H FR3	194_e06, 196_a07, 198_f06, 194_a02, 194_b09, 195_e11, 129_1c4

Fig. 1D

51	REFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAD	V _H FR3	194_g09, 196_h02
52	REFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAG	V _H FR3	194_e01, 196_d10, 196_g03, 200_h06
53	REFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAG	V _H FR3	196_e06
54	REFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAT	V _H FR3	195_a09, 198_a09
55	REFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK	V _H FR3	g_129_1c4

56	WGQSKMVTVSS	V _H FR4	194_e06, 196_a07, 198_f06, 194_a02, 194_b09
57	WGQGTMTVSS	V _H FR4	195_e11, 194_g09, 196_h02, 194_e01, 196_d10, 196_g03, 196_e06, 195_a09, 198_a09, 200_h06, 129_1c4, g_129_1c4
58	QSALTQPASVSGPPGQSITISC	V _L FR1	198_a09
59	QSALTQPASVSGSPGQSITISC	V _L FR1	Бсі за винятком 198_a09
60	WYQRHPGKAPKLILS	V _L FR2	194_g09
61	WYQQHPGKAPKLMIY	V _L FR2	g_129_1c4

Фиг. 1Е

62	WYQQHPGKAPKLILS	V _L FR2	194_a02, 194_e06, 196_a07, 198_f06, 194_b09, 195_e11, 195_a09, 196_d10, 196_e06, 196_g03, 196_h02, 198_a09, 200_h06, 194_e01, 129_1c4
63	GVSNRFSGSKSNTASLSISGLQAEDEAGYYC	V _L FR3	194_g09

64	GVSNRFSGSKSNTASLSISGLQAEDEAGYYC	V _L FR3	194_e01
65	GVSNRFSGSKSNTASLSISGLQAEDEADYYC	V _L FR3	g_129_1c4
66	GVSNRFSGSKSNTASLSISGLQAEDEADYYC	V _L FR3	194_a02, 194_e06, 196_a07, 198_f06, 194_b09, 195_e11, 195_a09, 196_d10, 196_e06, 196_g03, 196_h02, 198_a09, 200_h06, 129_1c4
67	FGGGTKLTVL	V _L FR4	Бсі

68	GAGGTGCAGCTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGSTACAGCTGGGGGGTC OCTGAGACTCTCCTGTGCAGCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAGGGGCTGGAGTGGTCTCAGCT ATTAGTGGTAGTGTGTTAGCRATACIACCGAGACTCCGTGAAGGGCCS GTTCACCATCTCCAGAGACAAATCCAGAGACAGCTGTATCTGCAAAATGA ACAGGCTGAGAGAGCCGAGGACAGGCGGTGTATTACTGTGCGAGTGGGGA ACGGGGACCTGTGCGCCCTGGGGGCAAGGGAAAATGGTCACCGTCTCAG T	Повнорозмірна ДНК V _H	194_e06, 196_a07, 198_f06
----	--	-------------------------------------	---------------------------

Фиг. 1F

69	GAGGTGCAGCTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGGTCCGCTCAGGCTCCAGGGAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCT ATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATCTACGCACTCCGTGAAGGGCCG GTTCAACATCTCCAGAGACAAATTCAGAGAACGCTGTATCTGCAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATTACTGTGCGAGTTGGGA GACGGGACCTTGAAACCGTGGGGCCAGGNAATGGTCAACGCTCTGAG T	Повнорозмірна ДНК V_H	194_a02, 194_b09
70	GAGGTGCAGCTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGGTCCGCTCAGGCTCCAGGGAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCT ATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATCTACGCACTCCGTGAAGGGCCG GTTCAACATCTCCAGAGACAAATTCAGAGAACGCTGTATCTGCAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATTACTGTGCGAGTTGGGA CTGGGGAGCAACGAAACTGGGGCCAGGGACAAATGGTCAACGCTCTGAG T	Повнорозмірна ДНК V_H	195_e11
71	GAGGTGCAGCTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGGTCCGCTCAGGCTCCAGGGAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCT ATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATCTACGCACTCCGTGAAGGGCCG GTTCAACATCTCCAGAGACAAATTCAGAGAACGCTGTATCTGCAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATTACTGTGCGAGTTCGAG TCCGCCAAGTTCCAGCCCTGGGGCCAGGGACAAATGGTCAACGCTCTGAG T	Повнорозмірна ДНК V_H	194_g09, 196_h02

Фиг. 1G

72	GAGGTGCAGCTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGGTCCGCTCAGGCTCCAGGGAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCT ATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATCTACGCACTCCGTGAAGGGCCG GTTCAACATCTCCAGAGACAAATTCAGAGAACGCTGTATCTGCAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATTACTGTGCGGGCACGGGG TACCCCTCCTTCGAGCCCTGGGGCCAGGGACAAATGGTCAACGCTCTGAG T	Повнорозмірна ДНК V_H	194_e01
73	GAGGTGCAGCTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGGTCCGCTCAGGCTCCAGGGAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCT ATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATCTACGCACTCCGTGAAGGGCCG GTTCAACATCTCCAGAGACAAATTCAGAGAACGCTGTATCTGCAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATTACTGTGCGGGCACGGCC AAGCCGAGCTTCGAGCCCTGGGGCCAGGGACAAATGGTCAACGCTCTGAG T	Повнорозмірна ДНК V_H	196_d10
74	GAGGTGCAGCTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGGTCCGCTCAGGCTCCAGGGAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCT ATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATCTACGCACTCCGTGAAGGGCCG GTTCAACATCTCCAGAGACAAATTCAGAGAACGCTGTATCTGCAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATTACTGTGCGGGCACGGAG AAGCCGCTCCTTCGAGCCCTGGGGCCAGGGACAAATGGTCAACGCTCTGAG T	Повнорозмірна ДНК V_H	196_g03
75	GAGGTGCAGCTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGGTCCGCTCAGGCTCCAGGGAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCT ATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATCTACGCACTCCGTGAAGGGCCG GTTGCGCATCTCCAGAGACAAATTCAGAGAACGCTGTATCTGCAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATTACTGTGCGGGCACGGCC ACGGTGCAGTTCCAGCCCTGGGGCCAGGGACAAATGGTCAACGCTCTGAG T	Повнорозмірна ДНК V_H	196_e06

Фиг. 1H

76	GAGGTGCAGCTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGACGCTCTGGATTCACTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCT ATTAGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGT GTTCAACATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACAGCTGTATCTGCAAAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAACATCG CCGGGGACGTTGACCCCTGGGGCCAGGGACAATGGTACCGTCTCGAG T	Повнорозмірна ДНК V_H	195_a09
77	GAGGTGCAGCTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGACGCTCTGGATTCACTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCT ATTAGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGT GTTCAACATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACAGCTGTATCTGCAAAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAACATCG CCGGGGACGTTGACCCCTGGGGCCAGGGACAATGGTACCGTCTCGAG T	Повнорозмірна ДНК V_H	198_a09
78	GAGGTGCAGCTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGACGCTCTGGATTCACTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCT ATTAGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGT GTTCAACATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACAGCTGTATCTGCAAAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAACATCG CCGGGGACGTTGACCCCTGGGGCCAGGGACAATGGTACCGTCTCGAG T	Повнорозмірна ДНК V_H	200_h06
79	GAGGTGCAGCTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGACGCTCTGGATTCACTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCT ATTAGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGT GTTCAACATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACAGCTGTATCTGCAAAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAACATCG GGAGGCTGGTTCGACCCCTGGGGCCAGGGACAATGGTACCGTCTCCTC A	Повнорозмірна ДНК V_H	129_1c4

Фіг. 11

80	GAGGTGCAGCTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGACGCTCTGGATTCACTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCT ATTAGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGT GTTCAACATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACAGCTGTATCTGCAAAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAACATCG GGAGGCTGGTTCGACCCCTGGGGCCAGGGACAATGGTACCGTCTCCTC A	Повнорозмірна ДНК V_H	g_129_1c4
81	CAGTCTGCCCTGACTCAGCTGCTCGGTGTCTGGGTCTCCTGGACAGTC GATCACCATCTCCTGCACTGGAAACAGTAATGACGTTGGTCTTATAATT ATGTCTCCTGGTACCAACACACCCAGGCAAGGCCOCCAAACTCATTCCT TCTGAGGTCAATAACGGCCCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTC CAGTCTGGCAACACGGCCCTCTCTGAGCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGG ACGAGGCTGATTATTACTGCACTCATTTACAAAGCGGCTCCCTGGGTCT CTCTCGCGGAGGACCAAGCTGACCTCCTA	Повнорозмірна ДНК V_L	194_a02, 194_e06, 198_a07, 198_f06
82	CAGTCTGCCCTGACTCAGCTGCTCGGTGTCTGGGTCTCCTGGACAGTC GATCACCATCTCCTGCACTGGAAACAGTAATGACGTTGGTCTTATAATT ATGTCTCCTGGTACCAACACACCCAGGCAAGGCCOCCAAACTCATTCCT TCTGAGGTCAATAACGGCCCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTC CAGTCTGGCAACACGGCCCTCTCTGAGCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGG ACGAGGCTGATTATTACTGCACTCATTTACAAAGCGGCTCCCTGGGTCT GTCTCGCGGAGGACCAAGCTGACCTCCTA	Повнорозмірна ДНК V_L	194_b09
83	CAGTCTGCCCTGACTCAGCTGCTCGGTGTCTGGGTCTCCTGGACAGTC GATCACCATCTCCTGCACTGGAAACAGTAATGACGTTGGTCTTATAATT ATGTCTCCTGGTACCAACACACCCAGGCAAGGCCOCCAAACTCATTCCT TCTGAGGTCAATAACGGCCCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTC CAGTCTGGCAACACGGCCCTCTCTGAGCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGG ACGAGGCTGATTATTACTGCACTCATTTACAAAGCGGCTCCCTGGGTCT GTCTCGCGGAGGACCAAGCTGACCTCCTA	Повнорозмірна ДНК V_L	195_e11
84	CAGTCTGCCCTGACTCAGCTGCTCGGTGTCTGGGTCTCCTGGACAGTC GATCACCATCTCCTGCACTGGAAACAGTAATGACGTTGGTCTTATAATT ATGTCTCCTGGTACCAACACACCCAGGCAAGGCCOCCAAACTCATTCCT TCTGAGGTCAATAACGGCCCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTC CAGTCTGGCAACACGGCCCTCTCTGAGCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGG ACGAGGCTGATTATTACTGCACTCATTTACAAAGCGGCTCCCTGGGTCT GTATTCTGGCGGAGGACCAAGCTGACCTCCTA	Повнорозмірна ДНК V_L	194_g09

Фіг. 11

85	CAGTCTGCCCTGACTCAGCGTGCCTCCGTGTCTGGGTCCTCTGGACAGTC GATCACCATCTCCTGCACCTGGAAACCAATGACGTTGGTGCTTATAATT ATGTCTCCTGGTACCAACACACCCAGGCAAGGCCCCAAACTCATCTT TCTGAGGTCAATAAACGGCCCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTC CAGGTCTGGCAACACGGCCCTCTCTGAGCATCTCTGGGTCACAGGCTGAGG ACGAGGCTGATTATTACTGCACTCGTACACCATGGGACGACATTTATG CTATTGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCTTA	Повнорозмірна ДНК V _L	194_а01
86	CAGTCTGCCCTGACTCAGCGTGCCTCCGTGTCTGGGTCCTCTGGACAGTC GATCACCATCTCCTGCACCTGGAAACCAATGACGTTGGTGCTTATAATT ATGTCTCCTGGTACCAACACACCCAGGCAAGGCCCCAAACTCATCTT TCTGAGGTCAATAAACGGCCCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTC CAGGTCTGGCAACACGGCCCTCTCTGAGCATCTCTGGGTCACAGGCTGAGG ACGAGGCTGATTATTACTGCACTCGTACACCATGGGACGACATTTATG CTATTGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCTTA	Повнорозмірна ДНК V _L	198_а09
87	CAGTCTGCCCTGACTCAGCGTGCCTCCGTGTCTGGGTCCTCTGGACAGTC GATCACCATCTCCTGCACCTGGAAACCAATGACGTTGGTGCTTATAATT ATGTCTCCTGGTACCAACACACCCAGGCAAGGCCCCAAACTCATCTT TCTGAGGTCAATAAACGGCCCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTC CAGGTCTGGCAACACGGCCCTCTCTGAGCATCTCTGGGTCACAGGCTGAGG ACGAGGCTGATTATTACTGCACTCGTACACCATGGGACGACATTTATG CTATTGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCTTA	Повнорозмірна ДНК V _L	200_h06
88	CAGTCTGCCCTGACTCAGCGTGCCTCCGTGTCTGGGTCCTCTGGACAGTC GATCACCATCTCCTGCACCTGGAAACCAATGACGTTGGTGCTTATAATT ATGTCTCCTGGTACCAACACACCCAGGCAAGGCCCCAAACTCATCTT TCTGAGGTCAATAAACGGCCCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTC CAGGTCTGGCAACACGGCCCTCTCTGAGCATCTCTGGGTCACAGGCTGAGG ACGAGGCTGATTATTACTGCACTCGTACACCATGGGACGACATTTATG CTATTGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCTTA	Повнорозмірна ДНК V _L	129_1c4
89	CAGTCTGCCCTGACTCAGCGTGCCTCCGTGTCTGGGTCCTCTGGACAGTC GATCACCATCTCCTGCACCTGGAAACCAATGACGTTGGTGCTTATAATT ATGTCTCCTGGTACCAACACACCCAGGCAAGGCCCCAAACTCATGATT TATGAGGTCAATAAACGGCCCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTC CAGGTCTGGCAACACGGCCCTCTCTGAGCATCTCTGGGTCACAGGCTGAGG ACGAGGCTGATTATTACTGCACTCGTACACCATGGGACGACATTTATG CTATTGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCTTA	Повнорозмірна ДНК V _L	g_129_1c4

Fig. 1K

90	CAGTCTGCCCTGACTCAGCGTGCCTCCGTGTCTGGGTCCTCTGGACAGTC GATCACCATCTCCTGCACCTGGAAACCAATGACGTTGGTGCTTATAATT ATGTCTCCTGGTACCAACACACCCAGGCAAGGCCCCAAACTCATCTT TCTGAGGTCAATAAACGGCCCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTC CAGGTCTGGCAACACGGCCCTCTCTGAGCATCTCTGGGTCACAGGCTGAGG ACGAGGCTGATTATTACTGCACTCGTACACCATGGGACGACATTTATG CTATTGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCTTA	Повнорозмірна ДНК V _L	196_h02, 196_d10, 196_g03, 196_а06, 195_а09
91	NPKEQFDP		
92	NSAGSFDP	Варіант CDR3 V _H	Варіант 129-1c4
93	SNGGLEFDP	Варіант CDR3 V _H	Варіант 129-1C4
94	SNGGFFDP	Варіант CDR3 V _H	Варіант 129-1C4
95	SDLGEFDP	Варіант CDR3 V _H	Варіант 129-1C4
96	TNTGQFDP	Варіант CDR3 V _H	Варіант 129-1C4
97	TFRGLEFDP	Варіант CDR3 V _H	Варіант 129-1C4
98	SNTGNFDP	Варіант CDR3 V _H	Варіант 129-1C4
99	SRTVQFDP	Варіант CDR3 V _H	Варіант 129-1C4
100	LGVPQFDP	Варіант CDR3 V _H	Варіант 129-1C4
101	SDNGTFDP	Варіант CDR3 V _H	Варіант 129-1C4
102	IAPGRFDP	Варіант CDR3 V _H	Варіант 129-1C4
103	NTTGT FDP	Варіант CDR3 V _H	Варіант 129-1C4
104	SDAGR FDP	Варіант CDR3 V _H	Варіант 129-1C4
105	INEGR FDP	Варіант CDR3 V _H	Варіант 129-1C4
106	NSNGV FDP	Варіант CDR3 V _H	Варіант 129-1C4
107	SHSGK FDP	Варіант CDR3 V _H	Варіант 129-1C4

Fig. 1L

108	NKKPFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1c4
109	SDNGLFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
110	WGAGELDI	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
111	WGTGAHEN	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
112	NNVGRFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
113	TDREVFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
114	IRSGMFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
115	TEGALFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
116	SDEGKFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
117	NELGSFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
118	QELPVFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
119	ERDTAFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
120	ADMGRFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
121	LEVPFVDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
122	THAGMFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
123	VYAGRFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
124	NTQGRFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
125	TNGGLFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
126	ITTVKFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
127	RLVHGFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
128	IRLGTDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
129	SERPGFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4

Фиг. 1M

130	TSRPLFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1c4
131	VESGRFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
132	SEMPMFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
133	VNPGYFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
134	NDIARFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
135	VGVGQFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
136	TRYPTFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
137	NSAGTFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
138	VNEGRFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
139	NRTGRFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
140	NASARFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
141	INTGMFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
142	NDNGRFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
143	VDQPSFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
144	VDRGQFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
145	NHTGKFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
146	TNTGRFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
147	SDSGLFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
148	NVLALFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
149	NYEARFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
150	PDNGTFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
151	NRNGNFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4

Фиг. 1N

152	TTGGRFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1c4
153	TGYPSFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
154	NNEGQFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
155	NSKGRFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
156	TENPTFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
157	TNGGRFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
158	NSYGSFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
159	LENVVEFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
160	ANHGRFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
161	ANGGQFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
162	WGNQASLG	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
163	WGPTASLD	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
164	WGRGTNEY	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
165	WGGGGHYD	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
166	WGADATLD	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
167	TEFGTFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
168	NATGTFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
169	TNSAKFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
170	VNSGKFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
171	SLRVEFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
172	NDRGKFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
173	NSPGTFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4

Fig. 10

174	NTAGRFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1c4
175	VNRGRFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
176	TEKEMFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
177	WGVSLFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
178	MEVVEFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
179	VNHGRFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
180	TEVGTDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
181	TDKPVFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
182	LELPRFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
183	TNHAMFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
184	THSGRFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
185	NDRGGFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
186	PHRGTFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
187	TELGQFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
188	WGLGSNEN	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
189	WGNDAWNN	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
190	WGSTASLD	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
191	WGGGGHQD	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
192	WGRGDWRS	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
193	WGSTASLS	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
194	WGHGGHDT	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
195	WGPRATLD	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4

Fig. 1P

196	WENGAEVP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1c4
197	WGNQNTLA	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
198	WSSGNLDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
199	NELPKFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
200	SDGGTFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
201	LDHVMEDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
202	WSSGTMDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
203	EDRGKFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
204	THNPFVDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
205	NSAGRFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
206	LDGVVEDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
207	WGTGQHEN	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
208	WGTGHHDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
209	NFKPSFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
210	ANGGRFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
211	WGTGHLDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
212	TGLERFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
213	SNVGKFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
214	NAVAREDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
215	TDRPQFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
216	SLTVDFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4
217	TEMAQFDP	Вариант CDR3 VH	Вариант 129-1C4

Фиг. 1Q

218	WEGHLEY	Вариант CDR3 VH	129-1c4 variant
219	QKKVEFDP	Вариант CDR3 VH	129-1C4 variant
220	TGYPVFNP	Вариант CDR3 VH	129-1C4 variant
221	ANSAKFDP	Вариант CDR3 VH	129-1C4 variant
222	VGRPQFDP	Вариант CDR3 VH	129-1C4 variant
223	TYNMFDP	Вариант CDR3 VH	129-1C4 variant
224	TERPVFDP	Вариант CDR3 VH	129-1C4 variant
225	LDLPRFDP	Вариант CDR3 VH	129-1C4 variant
226	WSSSLDH	Вариант CDR3 VH	129-1C4 variant
227	LDRVCSRW	Вариант CDR3 VH	129-1C4 variant
228	NTEPVFDP	Вариант CDR3 VH	129-1C4 variant
229	IKPGRFDP	Вариант CDR3 VH	129-1C4 variant
230	TGYPVEDE	Вариант CDR3 VH	129-1C4 variant
231	IKPGMEDP	Вариант CDR3 VH	129-1C4 variant
232	NMTPRFDP	Вариант CDR3 VH	129-1C4 variant
233	TERPSFDP	Вариант CDR3 VH	129-1C4 variant
234	TNYGTEDP	Вариант CDR3 VH	129-1C4 variant
235	TSRPSFDP	Вариант CDR3 VH	129-1C4 variant
236	TYWPAEDP	Вариант CDR3 VH	129-1C4 variant
237	IDMPWFDP	Вариант CDR3 VH	129-1C4 variant
238	WGTGHHDP	Вариант CDR3 VH	129-1C4 variant
239	NARPSFDP	Вариант CDR3 VH	129-1C4 variant

Фиг. 1R

240	NQIVHFDP	Вариант CDR3 V _H	Вариант 129-1c4
241	NVMGRFDP	Вариант CDR3 V _H	Вариант 129-1C4
242	TDTVEFDP	Вариант CDR3 V _H	Вариант 129-1C4
243	NRTVWFDP	Вариант CDR3 V _H	Вариант 129-1C4
244	NRMGSEDP	Вариант CDR3 V _H	Вариант 129-1C4
245	VKPGFFDP	Вариант CDR3 V _H	Вариант 129-1C4
246	IDQGRFDP	Вариант CDR3 V _H	Вариант 129-1C4
247	QSLPQFDP	Вариант CDR3 V _H	Вариант 129-1C4
248	NELGTFDP	Вариант CDR3 V _H	Вариант 129-1C4
249	QKKEFDP	Вариант CDR3 V _H	Вариант 129-1C4
250	IDTPTFDP	Вариант CDR3 V _H	Вариант 129-1C4
251	WGYDATE	Вариант CDR3 V _H	Вариант 129-1C4
252	SDGGKFDP	Вариант CDR3 V _H	Вариант 129-1C4
253	LDLVRFDP	Вариант CDR3 V _H	Вариант 129-1C4
254	ANAGLFDP	Вариант CDR3 V _H	Вариант 129-1C4
255	WGTGSNRD	Вариант CDR3 V _H	Вариант 129-1C4
256	SETINFDP	Вариант CDR3 V _H	Вариант 129-1C4
257	GSYTHGSTFML	Вариант CDR3 V _L	Вариант 129-1C4
258	SSFTSGIPWAV	Вариант CDR3 V _L	Вариант 129-1C4
259	SSFTSGVPWAM	Вариант CDR3 V _L	Вариант 129-1C4
260	SSFTSGIQHVV	Вариант CDR3 V _L	Вариант 129-1C4
261	SSFTSQIPWAL	Вариант CDR3 V _L	Вариант 129-1C4

Фиг. 1S

262	SSFTSAEQWVM	Вариант CDR3 V _L	Вариант 129-1c4
263	SSFTSQIQENL	Вариант CDR3 V _L	Вариант 129-1C4
264	SSFTSGSTWVL	Вариант CDR3 V _L	Вариант 129-1C4
265	SSFTSAVPWAI	Вариант CDR3 V _L	Вариант 129-1C4
266	SSFTSGAVFVL	Вариант CDR3 V _L	Вариант 129-1C4
267	SSFTSGIVENL	Вариант CDR3 V _L	Вариант 129-1C4
268	ASYRDGSTFML	Вариант CDR3 V _L	Вариант 129-1C4
269	ASFQSGSTFML	Вариант CDR3 V _L	Вариант 129-1C4
270	ASYQASSTFML	Вариант CDR3 V _L	Вариант 129-1C4
271	TSYTASSTFML	Вариант CDR3 V _L	Вариант 129-1C4
272	SAEQQSTFML	Вариант CDR3 V _L	Вариант 129-1C4
273	GSYSQQSTFML	Вариант CDR3 V _L	Вариант 129-1C4
274	GRYSAGSTFML	Вариант CDR3 V _L	Вариант 129-1C4
275	TSYTQGSTFML	Вариант CDR3 V _L	Вариант 129-1C4
276	SSFTSGRAFTC	Вариант CDR3 V _L	Вариант 129-1C4
277	SSFTSGDHIVL	Вариант CDR3 V _L	Вариант 129-1C4
278	SSFTSRIPWAV	Вариант CDR3 V _L	Вариант 129-1C4
279	SSFTSGKAWVI	Вариант CDR3 V _L	Вариант 129-1C4
280	SSFTSAEAWAP	Вариант CDR3 V _L	Вариант 129-1C4
281	SSFTSGDRENL	Вариант CDR3 V _L	Вариант 129-1C4
282	SSFTSYKPHMV	Вариант CDR3 V _L	Вариант 129-1C4
283	SSFTSGIQENL	Вариант CDR3 V _L	Вариант 129-1C4

Фиг. 1T

284	SSFTSAARFAL	Варіант CDR3 V _L	Варіант 129-1c4
285	SSFTSGSRFVL	Варіант CDR3 V _L	Варіант 129-1C4
286	SSFTSGLFWAL	Варіант CDR3 V _L	Варіант 129-1C4
287	SSFTSGIKFTL	Варіант CDR3 V _L	Варіант 129-1C4
288	SSFTSAIPWSL	Варіант CDR3 V _L	Варіант 129-1C4
289	SSFTSGEQFLL	Варіант CDR3 V _L	Варіант 129-1C4
290	SSFTSGPRWNL	Варіант CDR3 V _L	Варіант 129-1C4
291	SSFTSGSTFNL	Варіант CDR3 V _L	Варіант 129-1C4
292	SSFTSGRRFVL	Варіант CDR3 V _L	Варіант 129-1C4
293	SSFTSGNVFVL	Варіант CDR3 V _L	Варіант 129-1C4
294	SSFTSAPEFVV	Варіант CDR3 V _L	Варіант 129-1C4
295	SSFTSGKTFVL	Варіант CDR3 V _L	Варіант 129-1C4
296	SSFTSNIPWAI	Варіант CDR3 V _L	Варіант 129-1C4
297	SSFTS9AHFVL	Варіант CDR3 V _L	Варіант 129-1C4
298	SSFTSGPFVNI	Варіант CDR3 V _L	Варіант 129-1C4
299	SSFTSDRAFNL	Варіант CDR3 V _L	Варіант 129-1C4
300	SSFTSEWLWVL	Варіант CDR3 V _L	Варіант 129-1C4
301	SSFTSQFRWAP	Варіант CDR3 V _L	Варіант 129-1C4
302	SSFTSGIRFNL	Варіант CDR3 V _L	Варіант 129-1C4
303	SSFTSGRAFNL	Варіант CDR3 V _L	Варіант 129-1C4
304	SSFTSGPFVNL	Варіант CDR3 V _L	Варіант 129-1C4
305	SSFTSGQQWVL	Варіант CDR3 V _L	Варіант 129-1C4

Фіг. 1U

306	SSFTSGIRFNV	Варіант CDR3 V _L	Варіант 129-1c4
307	SSFTSGVTWLL	Варіант CDR3 V _L	Варіант 129-1C4
308	SSFTSGRIFNL	Варіант CDR3 V _L	Варіант 129-1C4
309	SSFTSGIPWIV	Варіант CDR3 V _L	Варіант 129-1C4
310	TSYTLGSTEML	Варіант CDR3 V _L	Варіант 129-1C4
311	TSYTHGSTEML	Варіант CDR3 V _L	Варіант 129-1C4
312	SSFTSGYAWLL	Варіант CDR3 V _L	Варіант 129-1C4
313	TSYVMGSTEML	Варіант CDR3 V _L	Варіант 129-1C4
314	SSFTSGSTFTL	Варіант CDR3 V _L	Варіант 129-1C4
315	TSFTSGSTEML	Варіант CDR3 V _L	Варіант 129-1C4
316	TSSTLGSTEML	Варіант CDR3 V _L	Варіант 129-1C4
317	TRYVMGSTEML	Варіант CDR3 V _L	Варіант 129-1C4
318	TSYREGSTEML	Варіант CDR3 V _L	Варіант 129-1C4
319	ASYQASSTEML	Варіант CDR3 V _L	Варіант 129-1C4
320	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTES SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAKNG DGTLPWGGG TMVTVSS	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна V _H	g-194-b09
321	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTES SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAKTN SAKFDPMGGG TMVTVSS	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна V _H	g-194-g09
322	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTES SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAKNE RPSFDPMGGG TMVTVSS	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна V _H	g-196-g03
323	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTES SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAKTN SAKFDPMGGG TMVTVSS	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна V _H	g-196-h02

Фіг. 1V

324	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGTFES SYAMSWSRQA PEGGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDMSKNTLY LQMNLSRAED TAVVYCAKIG YPSDFWQGG TMVTVSS	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна V_H	g-194-e01
325	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGTFES SYAMSWSRQA PEGGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDMSKNTLY LQMNLSRAED TAVVYCAKIG TGTLWFWQGG TMVTVSS	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна V_H	g-194-e06
326	QSALTQPAV SVSGPGQSITI SCTGTSDVGV AYNVSVWYQQ HPGKAPKIMI SEVVKRPSGV SNRFSGSKSG NTASLTISGL QAEDADYYC SSFTSGLPWV VFGGGTKLTV L	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна V_L	g-194-b09
327	QSALTQPAV SVSGPGQSITI SCTGTSDVGV AYNVSVWYQQ HPGKAPKIMI SEVVKRPSGV SNRFSGSKSG NTASLTISGL QAEDADYYC SSFTSGLPWV LFGGGTKLTV L	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна V_L	g-194-g09
328	QSALTQPAV SVSGPGQSITI SCTGTSDVGV AYNVSVWYQQ HPGKAPKIMI SEVVKRPSGV SNRFSGSKSG NTASLTISGL QAEDADYYC TSFTMGSTFM LFGGGTKLTV L	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна V_L	g-196-g03
329	QSALTQPAV SVSGPGQSITI SCTGTSDVGV AYNVSVWYQQ HPGKAPKIMI SEVVKRPSGV SNRFSGSKSG NTASLTISGL QAEDADYYC TSFTMGSTFM LFGGGTKLTV L	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна V_L	g-196-h02
330	QSALTQPAV SVSGPGQSITI SCTGTSDVGV AYNVSVWYQQ HPGKAPKIMI SEVVKRPSGV SNRFSGSKSG NTASLTISGL QAEDADYYC TSFTMGSTFM LFGGGTKLTV L	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна V_L	g-194-e01
331	QSALTQPAV SVSGPGQSITI SCTGTSDVGV AYNVSVWYQQ HPGKAPKIMI SEVVKRPSGV SNRFSGSKSG NTASLTISGL QAEDADYYC SSFTSGLPWV LFGGGTKLTV L	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна V_L	g-194-e06
332	GAGGTGCAGCTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCTGGGGGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCTCTGGATTCACTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGGTCCGCGAGGCTCCAGGGAAGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCT ATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATACTACGACAGCTCCGTGAAGGGCCG GTTCACTATCTCCAGAGACAATTCCAGAACACGCTGTATCTGCAAAATGA ACAGCTGAGAGCCGAGGACACGCGGTGTATTACTGTGCGAAATGGGA GACGGGACCTTGAAACCCGTGGGGCCAAAGGACAATGGTCAACGCTCTCCTC A	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна V_H	g-194-b09

Фіг. 1W

333	GAGGTGCAGCTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCTGGGGGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCTCTGGATTCACTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGGTCCGCGAGGCTCCAGGGAAGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCT ATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATACTACGACAGCTCCGTGAAGGGCCG GTTCACTATCTCCAGAGACAATTCCAGAACACGCTGTATCTGCAAAATGA ACAGCTGAGAGCCGAGGACACGCGGTGTATTACTGTGCGAAATGGGA TCCGCCAAGTTGAAACCCGTGGGGCCAAAGGACAATGGTCAACGCTCTCCTC A	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна V_H	g-194-g09
334	GAGGTGCAGCTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCTGGGGGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCTCTGGATTCACTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGGTCCGCGAGGCTCCAGGGAAGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCT ATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATACTACGACAGCTCCGTGAAGGGCCG GTTCACTATCTCCAGAGACAATTCCAGAACACGCTGTATCTGCAAAATGA ACAGCTGAGAGCCGAGGACACGCGGTGTATTACTGTGCGAAATGGGA AGGCGGTGTGACACCCCTGGGGCCAAAGGACAATGGTCAACGCTCTCCTC A	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна V_H	g-196-g03
335	GAGGTGCAGCTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCTGGGGGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCTCTGGATTCACTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGGTCCGCGAGGCTCCAGGGAAGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCT ATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATACTACGACAGCTCCGTGAAGGGCCG GTTCACTATCTCCAGAGACAATTCCAGAACACGCTGTATCTGCAAAATGA ACAGCTGAGAGCCGAGGACACGCGGTGTATTACTGTGCGAAATGGGA GACGGGACCTTGAAACCCGTGGGGCCAAAGGACAATGGTCAACGCTCTCCTC A	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна V_H	g-196-h02
336	GAGGTGCAGCTGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCTGGGGGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCTCTGGATTCACTTTAGCAGCTATGCCA TGAGCTGGGTCCGCGAGGCTCCAGGGAAGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCT ATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATACTACGACAGCTCCGTGAAGGGCCG GTTCACTATCTCCAGAGACAATTCCAGAACACGCTGTATCTGCAAAATGA ACAGCTGAGAGCCGAGGACACGCGGTGTATTACTGTGCGAAATGGGA TACCCCTCTCTGACCCCTGGGGCCAAAGGACAATGGTCAACGCTCTCCTC A	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна V_H	g-194-e01

Фіг. 1X

337	GAGGTGCAGCTGTGTGAGTCTGGGGAGGCTTGGTACAGCTGGGGGCTC CCTGAGACTCTCTGTGCAAGCTCTGGATTCACTTTAGCAGCTATGCGCA TGAGCTGGGTGCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTGAGCT ATTATGGTATGTGTGTGATACACATCTACGACAGCTCGGTGAGGGCCG GTTCACCATCTCCAGAGACAAATCCAGAACACGCTGTATCTGCAATGA ACAGCTGAGAGCCGAGGACAGCGCCGTGTATTACTGTGCAATGGGGA ACGGGAGCTTGTGGCCCTGGGGCAAGGACAAATGGTCAACGCTCTCTC A	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна V_H	g-194-e06
338	CAGTCTGCCCTGACTCAGCTGCTCGGTGTCTGGGTCTCTGGACAGTC GATCACCATCTCTGCACTGGAAACAGTAATGACGTTGGTGCTTATAATT ATGTCTCTGTATACCAACACACACCCAGGCAAGGCCCAAACTCATGATT TCTGAGGTCAATAAACGGCCCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTC CAAGTCTGGCAACAGGCTCTCTGACCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGG ACGAGGCTGATTATTACTGCACTCATTTACAAGCGGGCTCCCTGGGTCT GTCTTCGGCGGAGGACCAAGCTGACCGTCTTA	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна V_L	g-194-b09
339	CAGTCTGCCCTGACTCAGCTGCTCGGTGTCTGGGTCTCTGGACAGTC GATCACCATCTCTGCACTGGAAACAGTAATGACGTTGGTGCTTATAATT ATGTCTCTGTATACCAACACACACCCAGGCAAGGCCCAAACTCATGATT TCTGAGGTCAATAAACGGCCCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTC CAAGTCTGGCAACAGGCTCTCTGACCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGG ACGAGGCTGATTATTACTGCACTCATTTACAAGCGGGCTCCCTGGGTCT CTATTGGCGGAGGACCAAGCTGACCGTCTTA	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна V_L	g-194-g08
340	CAGTCTGCCCTGACTCAGCTGCTCGGTGTCTGGGTCTCTGGACAGTC GATCACCATCTCTGCACTGGAAACAGTAATGACGTTGGTGCTTATAATT ATGTCTCTGTATACCAACACACACCCAGGCAAGGCCCAAACTCATGATT TCTGAGGTCAATAAACGGCCCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTC CAAGTCTGGCAACAGGCTCTCTGACCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGG ACGAGGCTGATTATTACTGCACTCATTTACAAGCGGGCTCCCTGGGTCT CTATTGGCGGAGGACCAAGCTGACCGTCTTA	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна V_L	g-196-g03
341	CAGTCTGCCCTGACTCAGCTGCTCGGTGTCTGGGTCTCTGGACAGTC GATCACCATCTCTGCACTGGAAACAGTAATGACGTTGGTGCTTATAATT ATGTCTCTGTATACCAACACACACCCAGGCAAGGCCCAAACTCATGATT TCTGAGGTCAATAAACGGCCCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTC CAAGTCTGGCAACAGGCTCTCTGACCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGG ACGAGGCTGATTATTACTGCACTCATTTACAAGCGGGCTCCCTGGGTCT CTATTGGCGGAGGACCAAGCTGACCGTCTTA	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна V_L	g-196-h02

Fig. 1Y

342	CAGTCTGCCCTGACTCAGCTGCTCGGTGTCTGGGTCTCTGGACAGTC GATCACCATCTCTGCACTGGAAACAGTAATGACGTTGGTGCTTATAATT ATGTCTCTGTATACCAACACACACCCAGGCAAGGCCCAAACTCATGATT TCTGAGGTCAATAAACGGCCCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTC CAAGTCTGGCAACAGGCTCTCTGACCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGG ACGAGGCTGATTATTACTGCACTCATTTACAAGCGGGCTCCCTGGGTCT CTATTGGCGGAGGACCAAGCTGACCGTCTTA	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна V_L	g-194-e01
343	CAGTCTGCCCTGACTCAGCTGCTCGGTGTCTGGGTCTCTGGACAGTC GATCACCATCTCTGCACTGGAAACAGTAATGACGTTGGTGCTTATAATT ATGTCTCTGTATACCAACACACACCCAGGCAAGGCCCAAACTCATGATT TCTGAGGTCAATAAACGGCCCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTC CAAGTCTGGCAACAGGCTCTCTGACCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGG ACGAGGCTGATTATTACTGCACTCATTTACAAGCGGGCTCCCTGGGTCT CTATTGGCGGAGGACCAAGCTGACCGTCTTA	Приведення до стану зародкової лінії повнорозмірна V_L	g-194-e06
344	ASTKQSPVFP LAPSSKSTSG GTAPLAGLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSKV HTFPVAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKVEP KSCDKHTHCP PCPAPELLGG PSVFLEPPKE KDTLMISRTF EVTCVVVDVS HEDPEVKENW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDMLNGK EYKCKVSNKA LPAPLEKTIIS KAKGPREFPO VYTLPPSREE MTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVENESNGQP ENNYKTTTPV LDSGSEFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFCQSV MHEALNNHYT QKSLSLSPGK	Константна область легкого ланцюга IgG ₁	
345	GQPKAPPSVT LFFPSSEELQ ANKATLVCLI SDFYEGAVTV AWKADSSPVK AGVETTTTPSK QSNKYYAASS YLSLTPPEQMK SHRSYSCQVT HEGSTVEKTV APTECS		Bci
346	MEWSNVFLEF LSVTTGVHS	Сигнальна послідовність важкого ланцюга	Bci
347	MSVPTQVLGL LLLMLTDARC	Сигнальна послідовність легкого ланцюга	Bci

Fig. 1Z