



(51) МПК

A61K 39/395 (2006.01)

C07K 16/18 (2006.01)

C07K 16/28 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

A61K 39/395 (2006.01); A61K 2039/505 (2006.01); C07K 16/18 (2006.01); C07K 16/28 (2006.01); C07K 2317/73 (2006.01)

(21)(22) Заявка: 2015108797, 13.08.2013

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
13.08.2013

Дата регистрации:
13.09.2018

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
13.08.2012 US 61/682,640;
14.03.2013 US 61/784,332

(43) Дата публикации заявки: 10.10.2016 Бюл. № 28

(45) Опубликовано: 13.09.2018 Бюл. № 26

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 13.03.2015

(86) Заявка РСТ:
US 2013/054664 (13.08.2013)

(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2014/028446 (20.02.2014)

Адрес для переписки:
129090, Москва, ул. Б. Спасская, 25, стр. 3, ООО
"Юридическая фирма Городисский и
Партнеры"

(72) Автор(ы):

СИБЕЛ Кристиан В. (US),
ВУ Янь (US)

(73) Патентообладатель(и):

ДЖЕНЕНТЕК, ИНК. (US)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: WO 2011063237 A2, 26.05.2011. WO
2008091641 A2, 31.07.2008. US 2006093599 A1,
04.05.2006. US 2007141065 A1, 21.06.2007.
ВАРТАНЯН А. А. и др., Блокирование
Notch сигнального пути стабилизирует
васкулогенную мимикрию при меланоме,
Российский биотерапевтический журнал,
2012, Т. 11.

(54) АНТИТЕЛА К JAGGED И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

(57) Реферат:

Изобретение относится к области биохимии, в частности к выделенному антителу или его антиген-связывающему фрагменту, которые специфически связываются с Jagged1, и способу его получения. Также раскрыто применение вышеуказанного антитела в составе иммуноконъюгата и фармацевтического состава для лечения рака, в уменьшении роста раковых клеток, а также в получении лекарственного

средства для лечения заболевания или расстройства, связанных с нарушением передачи сигналов посредством рецептора Notch. Изобретение также относится к нуклеиновой кислоте, кодирующей вышеуказанное антитело или его фрагмент, а также к клетке-хозяину, содержащей вышеуказанную нуклеиновую кислоту. Изобретение позволяет эффективно осуществлять лечение рака. 12 н. и 18 з.п. ф-лы,

R U 2 6 6 6 9 9 0 C 2

R U 2 6 6 6 9 9 0 C 2



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
A61K 39/395 (2006.01)
C07K 16/18 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

A61K 39/395 (2006.01); *A61K 2039/505* (2006.01); *C07K 16/18* (2006.01); *C07K 16/28* (2006.01); *C07K 2317/73* (2006.01)

(21)(22) Application: **2015108797, 13.08.2013**

(24) Effective date for property rights:
13.08.2013

Registration date:
13.09.2018

Priority:

(30) Convention priority:
13.08.2012 US 61/682,640;
14.03.2013 US 61/784,332

(43) Application published: **10.10.2016 Bull. № 28**(45) Date of publication: **13.09.2018 Bull. № 26**(85) Commencement of national phase: **13.03.2015**

(86) PCT application:
US 2013/054664 (13.08.2013)

(87) PCT publication:
WO 2014/028446 (20.02.2014)

Mail address:
129090, Moskva, ul. B. Spasskaya, 25, str. 3, OOO
"Yuridicheskaya firma Gorodisskij i Partnery"

(72) Inventor(s):

SIBEL Kristian V. (US),
VU Yan (US)

(73) Proprietor(s):

DZHENENTEK, INK. (US)

(54) **ANTIBODIES TO JAGGED AND METHODS OF THEIR USE**

(57) Abstract:

FIELD: biochemistry.

SUBSTANCE: invention relates to the field of biochemistry, in particular to an isolated antibody or antigen-binding fragment thereof that specifically binds to Jagged1, and a method for its preparation. Also, disclosed is the use of the above antibody in an immunoconjugate and pharmaceutical composition for the treatment of cancer, for reducing the growth of cancer cells, as well as for the preparation of a

medicament for the treatment of a disease or disorder associated with a violation of signaling by the Notch receptor. Further, the invention relates to a nucleic acid encoding the above antibody or a fragment thereof, as well as to a host cell containing the above-mentioned nucleic acid.

EFFECT: invention makes it possible to effectively treat cancer.

30 cl, 17 dwg, 1 tbl, 9 ex

Настоящая заявка является непредварительной заявкой, поданной в соответствии с §1.53 (b) (1) раздела 37 Свода федеральных нормативных документов, и испрашивает приоритет в соответствии с Кодексом законов США, раздел 35, §119 (e) на основании предварительной заявки на патент США №61/682640, поданной 13 августа 2012 года, и предварительной заявки на патент США №61/784332, поданной 14 марта 2013 года, содержание которых полностью включено в настоящую заявку посредством ссылок.

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

Настоящая заявка содержит перечень последовательностей, который был подан в формате ASCII с помощью системы EFS-Web и тем самым полностью включен в настоящую заявку посредством ссылки. Копия указанного перечня в формате ASCII, созданная 9 августа 2013 года, имеет название P4959R1_WO_SeqList.txt, и размер данного файла составляет 121708 байт.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

Настоящее изобретение относится к антителам к Jagged и способам их применения.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Путь передачи сигналов, в котором задействованы рецепторы Notch, обеспечивает регуляцию широкого спектра клеточных функций (Kopan et al., Cell 137, 216-233 (2009)). У млекопитающих были идентифицированы четыре типа рецепторов Notch, а именно Notch 1-4, которые содержат одинаковые основные структурные элементы, включающие внеклеточный домен, трансмембранный домен и внутриклеточный домен. Аналогичным образом, канонические лиганды рецептора Notch имеют определенное структурное сходство, однако был идентифицирован и ряд неканонических лигандов Notch (Kopan et al., Cell 137, 216-233 (2009)). Пять канонических лигандов у млекопитающих включают Delta-подобный лиганд 1, Delta-подобный лиганд 3, Delta-подобный лиганд 4, Jagged1 и Jagged2. Связывание лиганда Notch с внеклеточным доменом рецептора Notch инициирует запуск сигнального каскада, который начинается с протеолитического расщепления во внеклеточном сайте S2 под действием альфа-секретазы семейства ADAM (дизинтегрин и металлопротеаза). После расщепления в сайте S2 происходит протеолитическое расщепление во внутриклеточном сайте S3 под действием гамма-секретазы, в результате чего происходит высвобождение внутриклеточного домена и последующие события каскада, которые, в конечном итоге, активируют Notch-зависимые факторы транскрипции, такие как Hes1 и Hey.

Поскольку нарушение экспрессии и передачи сигнала Notch связывают с рядом заболеваний, включая рак (Koch et al., Cell. Mol. Life Sci. 64, 2746-2762 (2007)), были проведены исследования модуляторов сигнальных путей, в которых задействованы Notch, как потенциальных терапевтических средств для лечения таких заболеваний. Например, ингибиторы гамма-секретазы изучали в клинических исследованиях для установления их эффективности при лечении различных злокачественных новообразований (Shih et al., Cancer Res. 67, 1879-1882 (2007)). Ингибиторы гамма-секретазы предотвращают расщепление в сайте S3 и тем самым предотвращают передачу сигналов посредством рецепторов Notch. Однако ингибиторы гамма-секретазы не обладают специфичностью в отношении различных членов семейства Notch и, следовательно, ингибируют передачу сигналов через несколько рецепторов одновременно, а также через другие сигнальные пути (Beel et al., Cell. Mol. Life Sci. 65, 1311-1334 (2008)). Следовательно, введение ингибиторов гамма-секретазы связано с токсичностью в отношении кишечника, которая проявляется в виде потери массы тела и метаплазии бокаловидных клеток кишечника, что свидетельствует о роли Notch в определении судьбы клеток путем поддержания пролиферации клеток-предшественников

кишечных крипт и подавления дифференциации в секреторные клетки (See van Es et al., Nature 435:959-963 (2005)). Аналогичным образом, ингибирование путей передачи сигналов, опосредованных как Notch 1, так и Notch2, с помощью условного нокаута генов Notch (Riccio et al., EMBO Rep. 9:377-383 (2008)) или путем ингибирования с применением антител-антагонистов (публикация заявки на патент США №2010/0080808) также вызывает метаплазию бокаловидных клеток кишечника.

Ввиду серьезной токсичности, связанной с применением ингибиторов нескольких рецепторов Notch, в данной области техники существует значительная потребность в направленном ингибировании передачи сигналов через конкретные рецепторы.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В настоящем изобретении предложены антитела к Jagged и способы их применения.

Согласно одному из аспектов настоящего изобретения предложено выделенное антитело, которое связывается с Jagged1. Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения указанное антитело является антагонистом Jagged1-

опосредованной передачи сигналов. Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения антитело содержит по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть гипервариабельных областей (HVR), выбранных из: (a) HVR-H1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 81; (b) HVR-H2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 84; (c) HVR-H3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 87; (d) HVR-L1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 110; (e) HVR-L2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 111; и (f) HVR-L3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 114. Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения антитело содержит: (a) HVR-H1,

содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 81; (b) HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 82; (c) HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 85; (d) HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 110; (e) HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 111; и (f) HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 112. Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения антитело содержит: (a) HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 81; (b) HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 82; (c) HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86; (d) HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 110; (e) HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 111; и (f) HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 113. Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения антитело содержит: (a) HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 81; (b) HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 83; (c) HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 85; (d) HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 110; (e) HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 111; и (f) HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 112.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения предложено выделенное антитело, которое связывается с Jagged2. Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения антитело является антагонистом Jagged2-опосредованной передачи сигналов. Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения антитело

содержит по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть HVR, выбранных из: (a) HVR-H1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 88; (b) HVR-H2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 89; (c) HVR-H3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 94; (d) HVR-L1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 115; (e) HVR-L2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 116; и (f) HVR-L3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 122. Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения антитело содержит: (a) HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 88; (b) HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 89; (c) HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 90; (d) HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 115; (e) HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 116; и (f) HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 117. Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения антитело содержит: (a) HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 88; (b) HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 89; (c) HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 91; (d) HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 115; (e) HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 116; и (f) HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 118. Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения антитело содержит: (a) HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 88; (b) HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 89; (c) HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 90; (d) HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 115; (e) HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 116; и (f) HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 119. Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения антитело содержит: (a) HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 88; (b) HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 89; (c) HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 92; (d) HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 115; (e) HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 116; и (f) HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 120. Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения антитело содержит: (a) HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 88; (b) HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 89; (c) HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 93; (d) HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 115; (e) HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 116; и (f) HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 121.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения, предложено выделенное антитело, которое связывается с Jagged1 и Jagged2 (Jagged1/2). Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения антитело является антагонистом Jagged1/2-опосредованной передачи сигналов. Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения антитело содержит по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть HVR, выбранных из: (a) HVR-H1, содержащей аминокислотную

содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 132. Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения антитело содержит: (a) HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 102; (b) HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 106; (c) HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 107; (d) HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 128; (e) HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 129; и (f) HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 133. Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения антитело содержит: (a) HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 103; (b) HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 106; (c) HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 107; (d) HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 128; (e) HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 129; и (f) HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 132. Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения антитело содержит: (a) HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 104; (b) HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 106; (c) HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 107; (d) HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 128; (e) HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 129; и (f) HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 132.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антитело в соответствии с любым из вышеупомянутых вариантов реализации представляет собой моноклональное антитело. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антитело в соответствии с любым из вышеупомянутых вариантов реализации представляет собой человеческое, гуманизированное или химерное антитело. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антитело в соответствии с любым из вышеупомянутых вариантов реализации представляет собой фрагмент антитела.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения, предложено выделенное антитело, описанное выше, дополнительно содержащее каркасный участок (FR) переменного домена легкой цепи FR1, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60; FR2, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61; FR3, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62; и FR4, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 135. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антитело содержит каркасный участок переменного домена тяжелой цепи FR1, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50; FR2, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 136; FR3, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 57; и FR4, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антитело содержит каркасный участок переменного домена тяжелой цепи FR1, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50; FR2, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 48; FR3, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 57; и FR4, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения, предложено выделенное антитело, которое связывается с Jagged1, содержащее (а) последовательность
 5 вариабельной области тяжелой цепи (VH), которая по меньшей мере на 95% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 10; (b) последовательность
 10 вариабельной области легкой цепи (VL), которая по меньшей мере на 95% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 19; или (с) последовательность VH, приведенную в (а), и последовательность VL, приведенную в (b). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антитело содержит последовательность VH, приведенную в SEQ ID NO: 10. Согласно некоторым вариантам реализации
 15 настоящего изобретения антитело содержит последовательность VL, приведенную в SEQ ID NO: 19. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антитело содержит последовательность VH, приведенную в SEQ ID NO: 10, и последовательность VL, приведенную в SEQ ID NO: 19. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антитело содержит (а) последовательность VH,
 20 которая по меньшей мере на 95% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 11; (b) последовательность VL, которая по меньшей мере на 95% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 20; или (с) последовательность VH, приведенную в (а), и последовательность VL, приведенную в (b). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антитело содержит последовательность
 25 VH, приведенную в SEQ ID NO: 11. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антитело содержит последовательность VL, приведенную в SEQ ID NO: 20. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антитело содержит последовательность VH, приведенную в SEQ ID NO: 11, и последовательность VL, приведенную в SEQ ID NO: 20.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения, предложено выделенное антитело, которое связывается с Jagged1, содержащее (а) последовательность VH,
 30 которая по меньшей мере на 95% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 15; (b) последовательность VL, которая по меньшей мере на 95% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 24; или (с) последовательность VH, приведенную в (а), и последовательность VL, приведенную в (b). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антитело содержит последовательность VH, приведенную в SEQ ID NO: 15. Согласно некоторым вариантам реализации
 35 настоящего изобретения антитело содержит последовательность VL, приведенную в SEQ ID NO: 24. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антитело содержит последовательность VH, приведенную в SEQ ID NO: 15, и последовательность VL, приведенную в SEQ ID NO: 24.

Согласно любому из вышеупомянутых вариантов реализации указанное антитело может представлять собой полноразмерное антитело IgG1.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения предложено выделенное антитело,
 40 которое конкурирует с любым из антител, описанных в вышеупомянутых вариантах реализации, за специфичное связывание с Jagged1. Согласно другому аспекту настоящего изобретения, предложено выделенное антитело, которое конкурирует с любым из антител, описанных в вышеупомянутых вариантах реализации, за специфичное связывание с Jagged2. Согласно другому аспекту настоящего изобретения предложена
 45 выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая выделенное антитело согласно вышеупомянутым вариантам реализации. Согласно другому аспекту настоящего изобретения предложена клетка-хозяин, содержащая выделенную нуклеиновую кислоту, кодирующую антитело. Согласно другому аспекту настоящего изобретения предложен

способ получения антитела, включающий культивирование клетки-хозяина с получением тем самым антитела.

В другом аспекте настоящего изобретения предложен иммуноконъюгат, содержащий антитело согласно любому из вышеупомянутых вариантов реализации и цитотоксический агент.

В другом аспекте настоящего изобретения предложен фармацевтический состав, содержащий антитело согласно любому из вышеупомянутых вариантов реализации и фармацевтически приемлемый носитель.

В другом аспекте настоящего изобретения предложено антитело согласно любому из вышеупомянутых вариантов реализации для применения в качестве лекарственного средства. В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения предложено антитело согласно любому из вышеупомянутых вариантов реализации для применения в лечении рака. В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения предложено антитело согласно любому из вышеупомянутых вариантов реализации для применения в уменьшении роста раковых клеток.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения предложен способ ингибирования Jagged1-опосредованной передачи сигналов. Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения, предложен способ ингибирования Jagged1-опосредованной передачи сигналов в условиях *in vitro*. Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения, предложен способ ингибирования Jagged1-опосредованной передачи сигналов в условиях *in vivo*.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения предложен способ лечения субъекта, страдающего раком, включающий введение субъекту эффективного количества антитела согласно любому из вышеупомянутых вариантов реализации. Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения рак выбран из группы, состоящей из: рака молочной железы, рака легких, рака мозга, рака шейки матки, рака толстой кишки, рака печени, рака желчных протоков, рака поджелудочной железы, рака кожи, В-клеточных злокачественных новообразований и Т-клеточных злокачественных новообразований.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

На ФИГ. 1 приведены типичные аминокислотные последовательности человеческого и мышиноного белка Jagged1.

На ФИГ. 2 приведены типичные аминокислотные последовательности человеческого и мышиноного белка Jagged2.

На ФИГ. 3A-D приведены аминокислотные последовательности пептидов, использованных для скрининга и селекции фаговых библиотек антител. Все белки экспрессировали в виде секретируемого белка в клетках BEVS, и их последовательности показаны в направлении от N-конца к С-концу. (A) Аминокислотная последовательность экспрессированного мышиноного белка Jagged 1-DSL-EGF1-4 (Q34-D377). Жирный шрифт на N-конце обозначает короткую линкерную последовательность (ADLGS) (SEQ ID NO: 31). Жирный шрифт на С-конце обозначает короткую линкерную последовательность (EFG), сайт расщепления тромбином (LVPRGS) (SEQ ID NO: 137), G-спейсер и 6-His метку (SEQ ID NO: 138). (B) Аминокислотная последовательность экспрессированного человеческого белка Jag1-DSL-EGF1-4. Показана только последовательность Jag1, несмотря на то, что антиген также содержал сайт расщепления протеазой TEV и 6-His метку (SEQ ID NO: 138) на С-конце. (C) Аминокислотная последовательность экспрессированного мышиноного белка Jag2-DSL-EGF1-4 (M27-E388). Жирный шрифт на N-конце обозначает короткую линкерную последовательность

(ADLGS) (SEQ ID NO: 31). Жирный шрифт на С-конце обозначает короткую линкерную последовательность (EFG), сайт расщепления тромбином (LVPRGS) (SEQ ID NO: 137), G-спейсер и 6-His метку (SEQ ID NO: 138). (D) Аминокислотная последовательность экспрессированного человеческого белка Jag2-DSL-EGF 1-4 (R2-E388). Жирный шрифт на С-конце обозначает короткую линкерную последовательность (EFG), сайт расщепления тромбином (LVPRGS) (SEQ ID NO: 137), G-спейсер и 6-His метку (SEQ ID NO: 138).

На ФИГ. 4А-1-В-2 приведены результаты сопоставления аминокислотных последовательностей переменных доменов тяжелой (ФИГ. 4А-1 и ФИГ. 4А-2) и легкой цепей (ФИГ. 4В-1 и ФИГ. 4В-2) антител к Jagged (пример 1-2). На фигуре указаны положения аминокислотных остатков областей, определяющих комплементарность (CDR).

На ФИГ. 5А-В приведены типичные акцепторные консенсусные последовательности каркаса переменного домена тяжелой цепи (VH) человека для применения при реализации настоящего изобретения. Идентификационные номера последовательностей представлены ниже:

- консенсусная последовательность каркаса VH подгруппы I человека «А» минус CDR в соответствии с системой нумерации Кабат (SEQ ID NO: 32, 33, 34, 35).

- консенсусные последовательности каркасов VH подгруппы I человека «В», «С» и «D» минус расширенные гипервариабельные области (SEQ ID NO: 36, 37, 34, 35; SEQ ID NO: 36, 37, 38, 35 и SEQ ID NO: 36, 37, 39, 35).

- консенсусная последовательность каркаса VH подгруппы II человека «А» минус CDR в соответствии с системой нумерации Кабат (SEQ ID NO: 40, 41, 42, 35).

- консенсусные последовательности каркасов VH подгруппы II человека «В», «С» и «D» минус расширенные гипервариабельные области (SEQ ID NO: 43, 44, 42, 35; SEQ ID NO: 43, 44, 45, 35 и SEQ ID NO: 43, 44, 46, и 35).

- консенсусная последовательность каркаса VH подгруппы III человека «А» минус CDR в соответствии с системой нумерации Кабат (SEQ ID NO: 47, 48, 49, 35).

- консенсусные последовательности каркасов VH подгруппы III человека «В», «С» и «D» минус расширенные гипервариабельные области (SEQ ID NO: 50, 51, 49, 35; SEQ ID NO: 50, 51, 52, 35 и SEQ ID NO: 50, 51, 53, 35).

- акцепторная последовательность каркаса VH человека «А» минус CDR в соответствии с системой нумерации Кабат (SEQ ID NO: 54, 48, 55, 35).

- акцепторные последовательности каркасов VH человека «В» и «С» минус расширенные гипервариабельные области (SEQ ID NO: 50, 51, 55, 35 и SEQ ID NO: 50, 51, 56, 35).

- 2 акцепторная последовательность каркаса VH человека «А» минус CDR в соответствии с системой нумерации Кабат (SEQ ID NO: 54, 48, 57, 35).

- 2 акцепторные последовательности каркасов VH человека «В», «С» и «D» минус расширенные гипервариабельные области (SEQ ID NO: 50, 51, 57, 35; SEQ ID NO: 50, 51, 58, 35 и SEQ ID NO: 50, 51, 59, 35).

На ФИГ. 6 приведены типичные акцепторные консенсусные последовательности каркасов переменного домена легкой цепи (VL) человека, использованные при реализации настоящего изобретения. Идентификационные номера последовательностей приведены ниже:

- консенсусная последовательность каркаса VL каппа-цепи подгруппы I человека (kv1): SEQ ID NO: 60, 61, 62, 63,

- консенсусная последовательность каркаса VL каппа-цепи подгруппы II человека

(kv2): SEQ ID NO: 64, 65, 66, 63,

- консенсусная последовательность каркаса VL каппа-цепи подгруппы III человека

(kv3): SEQ ID NO: 67, 68, 69, 63

- консенсусная последовательность каркаса VL каппа-цепи подгруппы IV человека

5 (kv4): SEQ ID NO: 70, 71, 72, 63.

На ФИГ. 7A-F приведены последовательности гипервариабельных областей тяжелой цепи HVR H1, H2 и H3 антител к Jagged, описанных в примерах. Положения аминокислот пронумерованы в соответствии с системой нумерации Кабат, описанной ниже.

10 На ФИГ. 8A-E приведены последовательности гипервариабельных областей легкой цепи HVR L1, L2 и L3 антител к Jagged, описанных в примерах. Положения аминокислот пронумерованы в соответствии с системой нумерации Кабат, описанной ниже.

На ФИГ. 9 приведены последовательности каркаса легкой и тяжелой цепей антител к Jagged, описанных в примерах. Числа в верхнем индексе указывают на положение аминокислот в соответствии с системой нумерации Кабат.

15 На ФИГ. 10A-B приведены результаты исследования специфичности связывания антител, полученных в ходе первого (ФИГ. 10A) и второго (ФИГ. 10 B) раунда скрининга. (A) Результаты измерения методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) связывания антитела D-1 (левая панель) и C-1 (правая панель) с Jagged1 человека (hJag-1), Jagged2 человека (hJag-2), Jagged2 мыши (mJag-2), Delta-подобным лигандом 1 человека (hDLL-1), Delta-подобным лигандом 1 мыши (mDLL-1), или Delta-подобным лигандом 4 человека (hDLL-4). Концентрации антител указаны на оси X, и величина оптической плотности при длине волны 650 нм (OD650) указана на оси Y. (B) Результаты измерения методом ИФА специфичности связывания антител A и B, оба антитела были идентифицированы в ходе дальнейшего скрининга с использованием

20 Jag1-DSL-EGF1-4 человека (ФИГ. 3B) для антитела A и Jag2-DSL-EGF1-4 мыши и человека (ФИГ. 3C и D) для антитела B. Черные столбики = связывание с человеческим Jagged1; серые столбики = связывание с человеческим Jagged2. C-1 использовали в качестве контроля для связывания как с Jagged1, так и Jagged2.

На ФИГ. 11 приведены величины констант связывания антител A, A-1, A-2, B, B-1, B-2, B-3, C, C-1, D, D-1 и D-2 с очищенным лигандом Jagged1 человека (Jag1 человека), Jagged2 человека (Jag2 человека) и Jagged2 мыши (Jag2 мыши).

На ФИГ. 12 показано дозозависимое ингибирование Jagged1-индуцированной передачи сигналов посредством рецептора Notch 1 под действием антител к Jagged. Результаты были получены в экспериментах с использованием смешанной культуры, в которых проводили измерение Jagged1-индуцированной передачи сигналов

35 посредством рецептора Notch 1, как описано в примере 4. На оси Y показаны уровни экспрессии Notch-зависимого гена-репортера люциферазы светлячка относительно экспрессии контрольного гена (конститутивно активный промотор, инициирующий экспрессию гена люциферазы Renilla). На оси X показаны концентрации антител D и C (0,4-50 мкг/мл). Смешанную культуру без антител (J1-индуцированный положительный контроль) использовали в качестве положительного контроля для оценки Jagged1-индуцированной передачи сигналов. Изотипическое контрольное антитело использовали в качестве контроля при оценке специфичного ингибирования под действием антител. Ингибитор гамма-секретазы (соединение E+) использовали в качестве контроля при

40 оценке ингибирования Notch-зависимой передачи сигналов.

На ФИГ. 13A-B приведены результаты оценки ингибирования Notch-зависимой передачи сигналов под действием антител к Jagged с созревшей аффинностью.

Количественные исследования с использованием смешанной культуры проводили, как

описано на ФИГ. 12 и в примере 4. (А) Фаговые антитела и их концентрации (мкг/мл) указаны на оси X (исходные антитела С и D использовали в качестве контроля).

Ингибиторы гамма-секретазы (GSIs), соединение E (CmpE) и N-[N-(3,5-дифторфенилацетил)-L-аланил]-8-фенилглицина трет-бутиловый эфир (DAPT), в указанных концентрациях использовали в качестве положительного контроля при оценке ингибирования Notch-зависимой передачи сигналов; ДМСО использовали в качестве контроля носителя для GSIs; нецелевое антитело, изотип которого соответствовал таковому для антител, исследуемых в панели, использовали в качестве антитела для контроля изотипа. (В) Фаговые антитела в указанных концентрациях показаны на оси X. DAPT в указанных концентрациях использовали в качестве положительного контроля при оценке ингибирования Notch-зависимой передачи сигналов; ДМСО использовали в качестве контроля носителя. Процесс передачи сигналов индуцировали Jagged1 (темно-серые колонки) или Jagged2 (светло-серые колонки). Необработанные = культуры, которые не стимулировали лигандом и не обрабатывали антителом; Нестимулированные или 3ТЗР = культуры, которые не стимулировали лигандом; agD или gD = антитело для контроля изотипа; Stim/no AB или No Ab = культуры, которые стимулировали лигандом, но не обрабатывали антителом; ингибитором гамма-секретазы DAPT или ДМСО, использованным в качестве контроля носителя для DAPT.

На ФИГ. 14А-В показано, что комбинированное ингибирование Jagged1 и Jagged2 вызывает быструю потерю массы тела. (А) Мышам вводили два раза в неделю антитело к Jagged1/2, С-1 (антитело к J1/2; 5-10 мг/кг), антитело к Jagged1-2, антитело А-2 (антитело к J1; 5-20 мг/кг), антитело к Jagged2, антитело В-3 (антитело к J2; 5-20 мг/кг), комбинацию антител А-2 и В-3 (антитело к J1 и J2; каждое по 5 мг/кг) или изотопическое контрольное антитело (20 мг/кг). Общая концентрация антител при каждом дозировании была доведена до 20 мг/кг с использованием изотопического контрольного антитела, в случае необходимости. Среднее изменение массы тела (ось Y) представлено в графической форме в виде процентного изменения исходной массы тела с течением времени (ось X). (В) Мышам линии Balb/c (по десять животных в группе, индивидуально размещенных) вводили внутривентриально (в/б) два раза в неделю 30 мг/кг изотопического контрольного антитела анти-gD или комбинацию 15 мг/кг антитела А-2 плюс 15 мг/кг антитела В-3 в течение восьми дней. Потребление пищи оценивали с помощью ежедневного взвешивания полученной и оставшейся пищи в каждой клетке. Столбики ошибок обозначают стандартные отклонения (n=10).

На ФИГ. 15А-В приведены результаты стандартных гистологических исследований тканей кишечника после лечения антителами к Jagged. (А) Образцы тканей кишечника мышей, получавших антитела, как описано в примере 6, выделяли и окрашивали гематоксилином и эозином (ФИГ. 15А, Н и Е) или альциановым синим (ФИГ. 15А, альциановый синий). (В) Срезы тканей кишечника окрашивали с использованием первичных антител к лизоциму или Ki-67 (ФИГ. 15В).

На ФИГ. 16А-1-В-2 приведены результаты оценки ингибирования роста клеток рака легких человека под действием антитела-антагониста к Jagged1 в условиях *in vivo*. Мышам с ксенотрансплантатами клеток рака легких человека вводили внутривентриально (в/б) два раза в неделю 20 мг/кг контрольного изотопического антитела, анти-gD (антитело для контроля изотипа), или антитела к Jagged1, антитела А-2 (анти-Jag1), инъекции начинали после того, как средний объем опухолей (измеренный с помощью циркуля) достигал приблизительно 180 мм³. Объемы опухолей (ось Y) затем оценивали в течение 19 дней. ФИГ. 16А-1 и ФИГ. 16А-2: Средние объемы опухолей для каждой

группы (n=10) были графически представлены в виде зависимости от времени (ось X) с использованием линейной модели со смешанными эффектами (ФИГ. 16А-1). Объемы опухолей для каждой мыши в каждой группе показаны на двух панелях на ФИГ. 16А-2. ФИГ. 16В-1 и ФИГ. 16В-2: Общую массу тела каждой мыши измеряли и графически представляли в виде процентного изменения, усредненного для каждой группы (ФИГ. 16В-1) или для каждой мыши в каждой группе (ФИГ. 16В-2).

На ФИГ. 17А-В приведены результаты оценки ингибирования роста клеток рака молочной железы человека под действием антител-антагонистов к Jagged1 и Jagged2 в условиях *in vivo*. Мышам C.B-17 SCID.bg с ксенотрансплантатами клеток рака молочной железы человека вводили изотипическое контрольное антитело анти-gD (анти-gD), изотипическое контрольное антитело, связывающее агглютинин амброзии (антитело к агглютинину амброзии), антитело к Jagged1A-2, содержащее каркас IgG1 человека (анти-Jag1 A-2 (hIgG1)), антитело к Jagged1 A-2, содержащее каркас IgG2a мыши (анти-Jag1 A-2 (mIgG2a)) или антитело к Jagged2 B-3, содержащее каркас IgG1 человека (анти-Jag2 B-3 (hIgG1)) на 0, 4, 7, 12, 15, 18, 22, 25, 29, 32, 36, 43, 50 и 57 дни. Объемы опухолей (ось Y) в группах, получавших лечение (А), или у отдельных животных (В) графически представляли в виде зависимости от времени (ось X) с использованием линейной модели со смешанными эффектами.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Применительно к настоящему изобретению «акцепторный каркас человека» представляет собой каркас, содержащий аминокислотную последовательность каркаса переменного домена легкой цепи (VL) или каркаса переменного домена тяжелой цепи (VH), полученный из каркаса иммуноглобулина человека или консенсусной последовательности каркаса человека, определенных ниже. Акцепторный каркас человека, «полученный из» каркаса иммуноглобулина человека или консенсусной последовательности каркаса человека, может содержать ту же аминокислотную последовательность, или он может содержать аминокислотную последовательность с заменами остатков. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения количество изменений аминокислотных остатков составляет 10 или менее, 9 или менее, 8 или менее, 7 или менее, 6 или менее, 5 или менее, 4 или менее, 3 или менее либо 2 или менее. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения последовательность акцепторного каркаса VL человека идентична последовательности каркаса VL иммуноглобулина человека или консенсусной последовательности каркаса человека.

Термин «аффинность» относится к силе всех нековалентных взаимодействий между отдельным участком связывания молекулы (например, антитела) и ее партнером по связыванию (например, антигеном). Если не указано иное, в настоящей заявке термин «аффинность связывания» относится к природной аффинности связывания, которая отражает взаимодействие в соотношении 1:1 между членами связывающейся пары (например, антителом и антигеном). Аффинность молекулы X в отношении ее партнера Y в общем случае может быть описана с помощью константы диссоциации (K_d).

Величину аффинности можно измерить с помощью обычных методов, известных в данной области техники, включая те, которые описаны в настоящей заявке. Конкретные иллюстративные и типичные варианты, пригодные для измерения величины аффинности связывания, описаны ниже.

Антитело с «созревшей аффинностью» относится к антителу, содержащему одно или более изменений в одной или более гипервариабельных областей (HVR), по

сравнению с исходным антителом, которое не содержит таких изменений, причем такие изменения приводят к улучшению аффинности антитела в отношении антигена.

Термины «антитело к Jagged» и «антитело, которое связывается с Jagged» относятся к антителу, которое способно связывать Jagged1, Jagged2, или Jagged1 и 2 (Jagged1/2) с достаточной аффинностью, в результате чего антитело является пригодным в качестве 5 диагностического и/или терапевтического агента для нацеленного воздействия на Jagged. Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения, степень связывания антитела к Jagged с нецелевым белком, отличным от Jagged, составляет менее приблизительно 10% от величины связывания антитела с белком Jagged, согласно 10 результатам измерения, например, с помощью радиоиммунологического анализа (РИА). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антитело, которое связывается с Jagged, имеет константу диссоциации (K_d), величина которой составляет ≤ 1 мкМ, ≤ 100 нМ, ≤ 10 нМ, ≤ 1 нМ, $\leq 0,1$ нМ, $\leq 0,01$ нМ или $\leq 0,001$ нМ (например, 10^{-8} М или менее, например, от 10^{-8} М до 10^{-13} М, например, от 10^{-9} М до 10^{-13} М). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антитело к Jagged связывается с эпитопом Jagged, который является консервативным между Jagged различных видов. 15

В настоящей заявке термин «антитело» используется в самом широком смысле и включает различные структуры антител, включая, но не ограничиваясь ими, 20 моноклональные антитела, поликлональные антитела, мультиспецифичные антитела (например, биспецифичные антитела) и фрагменты антител, при условии, что они проявляют желаемую антигенсвязывающую активность.

В настоящей заявке «блокирующее» антитело или «антитело-антагонист» представляет собой антитело, которое существенно ингибирует (как частично, так и 25 полностью) биологическую активность антигена, с которым оно связывается.

Термин «фрагмент антитела» относится к молекуле, отличной от интактного антитела, которая содержит часть интактного антитела и которая связывает антиген, с которым связывается интактное антитело. Примеры фрагментов антител включают, но не ограничиваются ими, фрагменты Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂; диантитела; линейные 30 антитела; молекулы одноцепочечных антител (например, scFv); и мультиспецифичные антитела, образованные из фрагментов антител.

Термин «антитело, которое связывается с тем же эпитопом», что и эталонное антитело, относится к антителу, которое блокирует связывание эталонного антитела с его антигеном на 50% или более в исследовании конкурентного связывания, и, 35 наоборот, эталонное антитело блокирует связывание антитела с его антигеном на 50% или более в исследовании конкурентного связывания. Типичный способ исследования конкурентного связывания предложен в настоящей заявке.

Термин «химерное» антитело относится к антителу, в котором часть тяжелой и/или легкой цепи получена из конкретного источника или вида, в то время как оставшаяся 40 часть тяжелой и/или легкой цепи получена из другого источника или вида.

Термин «класс» антитела относится к типу константного домена или константной области, присущему его тяжелой цепи. Существуют пять основных классов антител: IgA, IgD, IgE, IgG и IgM, и некоторые из них могут быть дополнительно подразделены на подклассы (изотипы), например, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ и IgA₂. Константные 45 домены тяжелой цепи, которые соответствуют различным классам иммуноглобулинов, называются α , δ , ϵ , γ и μ , соответственно.

В настоящей заявке термин «цитотоксический агент» относится к веществу, которое ингибирует или предотвращает функцию клеток, и/или вызывает гибель или разрушение

клеток. Цитотоксические агенты включают, но не ограничиваются ими, радиоактивные изотопы (например, At^{211} , I^{131} , I^{125} , Y^{90} , Re^{186} , Re^{188} , Sm^{153} , Bi^{212} , P^{32} , Pb^{212} и радиоактивные изотопы Lu); химиотерапевтические агенты или лекарственные средства (например, метотрексат, адриамицин, алкалоиды барвинка (винкристин, винбластин, этопозид), доксорубин, мелфалан, митомицин С, хлорамбуцил, даунорубин или другие интеркалирующие агенты); ингибирующие рост агенты; ферменты и их фрагменты, такие как нуклеолитические ферменты; антибиотики; токсины, такие как низкомолекулярные токсины или обладающие ферментативной активностью токсины бактериального, грибкового, растительного или животного происхождения, включая их фрагменты и/или варианты; и различные противоопухолевые или противораковые агенты, описанные ниже.

«Эффекторная функция» обозначает виды биологической активности, относящиеся к области Fc антитела, которые варьируются в зависимости от изотипа антител. Примеры эффекторных функций антител включают: связывание компонента системы комплемента C1q и комплемент-зависимую цитотоксичность (CDC); связывание с рецептором Fc; антитело-зависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность (ADCC); фагоцитоз; понижающую регуляцию поверхностных рецепторов (например, рецепторов В-клеток) и активацию В-клеток.

«Эффективное количество» агента, например, фармацевтического состава, относится к количеству, которое эффективно при необходимых в дозах и в течение необходимых периодов времени для достижения желаемого терапевтического или профилактического результата.

В настоящей заявке термин «область Fc» используется для определения С-концевой области тяжелой цепи иммуноглобулина, которая содержит по меньшей мере часть константной области. Данный термин включает области Fc с нативными последовательностями и варианты областей Fc. Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения, область Fc тяжелой цепи IgG человека продолжается от Cys226 или Pco230 до карбоксильного конца тяжелой цепи. Тем не менее, С-концевой лизин (Lys447) области Fc может либо присутствовать, либо отсутствовать. Если в настоящей заявке не указано иное, нумерация аминокислотных остатков в области Fc или константной области осуществляется в соответствии с системой нумерации ЕС, также называемой индекс ЕС, как описано в работе Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5-е изд. Служба общественного здравоохранения, Национальный институт здравоохранения, Бетесда, Мэриленд, США, 1991.

Термин «каркасный участок» или «FR» относится к остаткам варибельного домена, за исключением остатков гиперварибельной области (HVR). Каркасный участок варибельного домена обычно состоит из четырех доменов FR: FR1, FR2, FR3 и FR4. Соответственно, в VH (или VL) последовательности HVR и FR обычно представлены в следующем порядке: FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4.

В настоящей заявке термины «полноразмерное антитело», «интактное антитело» и «целое антитело» используются взаимозаменяемо для обозначения антитела, имеющего структуру по существу аналогичную структуре нативного антитела или антитела, содержащего тяжелые цепи, которые включают область Fc, определенную в настоящей заявке.

Термины «клетка-хозяин», «линия клеток-хозяев» и «культура клеток-хозяев» используются взаимозаменяемо и относятся к клеткам, в которые была введена экзогенная нуклеиновая кислота, включая потомство таких клеток. Клетки-хозяева

включают «трансформантов» и «трансформированные клетки», которые включают первичные трансформированные клетки и полученное от них потомство, независимо от числа пассажей. Потомство может быть не полностью идентичным по содержанию нуклеиновых кислот по отношению к исходной клетке, и может содержать мутации.

- 5 Мутантное потомство, которое имеет аналогичную функцию или биологическую активность, в отношении которой был проведен скрининг или отбор первоначально трансформированной клетки, включено в настоящее описание.

Термин «человеческое антитело» относится к антителу, содержащему аминокислотную последовательность, которая соответствует последовательности антитела, вырабатываемого в организме человека или клеткой человека, или
10 полученного из источника, отличного от человека, который использует репертуар антител человека или другие последовательности, кодирующие антитела человека. Это определение человеческого антитела, в частности, исключает гуманизированное антитело, содержащее антигенсвязывающие остатки антител видов, отличных от
15 человека.

«Консенсусная последовательность каркаса человека» представляет собой каркас, который представлен наиболее часто встречающимися аминокислотными остатками в наборе каркасных последовательностей VL или VH иммуноглобулина человека. Обычно набор последовательностей VL или VH иммуноглобулина человека получают
20 из подгруппы последовательностей вариабельных доменов. Как правило, подгруппа последовательностей представляет собой подгруппу, описанную в работе Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5-е изд., публикация Национального института здоровья, 91-3242, Бетесда, Мэриленд, США (1991), тт. 1-3. Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения, подгруппа для VL представляет
25 собой подгруппу каппа I, как описано в работе Kabat et al., выше. Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения, подгруппа для VH представляет собой подгруппу III, как описано в работе Kabat et al., выше.

«Гуманизированное» антитело относится к химерному антителу, содержащему аминокислотные остатки из областей HVR видов, не относящихся к человеку, и
30 аминокислотные остатки из FR человека. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения гуманизированное антитело будет содержать по существу все из по меньшей мере одного и обычно двух вариабельных доменов, в которых все или по существу все из областей HVR (например, CDR) соответствуют таковым в антителе вида, не относящегося к человеку, и все или по существу все FR соответствуют таковым
35 в человеческом антителе. Гуманизированное антитело может содержать по меньшей мере часть константной области антитела, полученной из человеческого антитела. «Гуманизированная форма» антитела, например, антитела вида, не относящегося к человеку, относится к антителу, которое подверглось гуманизации.

В настоящей заявке термин «гипервариабельная область» или «HVR» относится к
40 каждой из областей вариабельного домена антитела, последовательности которых являются гипервариабельными («области, определяющие комплементарность» или «CDR») и/или образуют структурно обособленные петли («гипервариабельные петли») и/или содержат остатки, вступающие в контакт с антигеном («контактирующие с антигеном»). Как правило, антитела содержат шесть областей HVR: три в VH (H1, H2, H3) и три в VL (L1, L2, L3). В настоящей заявке типичные HVR включают:
45

(а) гипервариабельные петли, которые находятся в областях, содержащих аминокислотные остатки 26-32 (L1), 50-52 (L2), 91-96 (L3), 26-32 (H1), 53-55 (H2) и 96-101 (H3) (Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)).

(b) CDR, которые находятся в областях, содержащих аминокислотные остатки 24-34 (L1), 50-56 (L2), 89-97 (L3), 31-35 (H1), 50-65 (H2) и 95-102 (H3) (Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5-е изд., публикация Национального института здоровья, 91-3242, Бетесда, Мэриленд, США (1991)).

5 (c) остатки, вступающие в контакт с антигеном, которые находятся в аминокислотных положениях 27-36 (L1), 46-55 (L2), 89-96 (L3), 30-35 (H1), 47-58 (H2) и 93-101 (H3) (MacCallum et al. J. Mol. Biol. 262: 732-745 (1996)); и

(d) комбинации (a), (b), и/или (c), включая аминокислотные остатки HVR 46-56 (L2), 47-56 (L2), 48-56 (L2), 49-56 (L2), 26-35 (H1), 26-35 (H1), 49-65 (H2), 93-102 (H3) и 94-102
10 (H3).

Если не указано иное, остатки HVR и другие остатки варибельного домена (например, остатки FR) нумеруются в настоящей заявке в соответствии с системой, описанной в работе Kabat et al., выше.

«Иммуноконъюгат» представляет собой антитело, конъюгированное с одной или
15 более гетерологичных молекул, включая, но не ограничиваясь указанным, цитотоксический агент.

«Индивидуум» или «субъект» представляет собой млекопитающее. Млекопитающие включают, но не ограничиваются ими, домашних животных (например, коров, овец, кошек, собак и лошадей), приматов (например, человека и приматов, исключая человека,
20 таких как обезьяны), кроликов и грызунов (например, мышей и крыс). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения индивидуум или субъект представляет собой человека.

«Выделенное антитело» представляет собой антитело, которое было отделено от компонента естественной среды антитела. Согласно некоторым вариантам реализации
25 настоящего изобретения антитело очищают до степени чистоты более чем 95% или 99%, согласно результатам определения, например, электрофоретическими методами (например, методами электрофореза в ДСН-ПААГ, изоэлектрической фокусировки (ИЭФ), капиллярного электрофореза) или хроматографическим методом (например, методом ионообменной хроматографии или обращенно-фазовой ВЭЖХ). Для обзора
30 методов оценки степени чистоты антител, см., например, работу Flatman et al., J. Chromatogr. B 848:79-87 (2007).

Термин «выделенная нуклеиновая кислота» относится к молекуле нуклеиновой кислоты, которая была отделена от компонента ее естественной среды. Выделенная нуклеиновая кислота включает молекулу нуклеиновой кислоты, содержащуюся в
35 клетках, которые обычно содержат молекулу нуклеиновой кислоты, однако, такая молекула нуклеиновой кислоты присутствует вне хромосомы или в участке хромосомы, который отличается от ее природного хромосомного расположения.

Термин «выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая антитело к Jagged» относится к одной или более молекул нуклеиновой кислоты, кодирующих тяжелые и легкие цепи
40 антитела (или их фрагменты), включая такую молекулу(ы) нуклеиновой кислоты в отдельном векторе или различных векторах, и такую молекулу(ы) нуклеиновой кислоты, которая присутствует в одном или более местах в клетке-хозяине.

В настоящей заявке термин «моноклональное антитело» относится к антителу, полученному из популяции по существу гомогенных антител, т.е. отдельные антитела,
45 составляющие популяцию, являются идентичными и/или связываются с одним и тем же эпитопом, за исключением возможных вариантов антител, например, содержащих природные мутации или возникающих в процессе производства препарата, содержащего моноклональные антитела, такие варианты обычно присутствуют в незначительных

количествах. В отличие от препаратов, содержащих поликлональные антитела, которые обычно включают различные антитела, направленные к различным детерминантам (эпитопам), каждое моноклональное антитело в препарате моноклональных антител направлено к одной детерминанте на антигене. Таким образом, определение «моноклональное» указывает на характер антитела как полученного по существу из гомогенной популяции антител, и не должно быть истолковано, как требующее получения антитела каким-либо конкретным способом. Например, моноклональные антитела для применения в соответствии с настоящим изобретением могут быть получены с помощью различных методик, включая, но не ограничиваясь ими, метод гибридом, методы рекомбинантных ДНК, методы фагового дисплея, а также методы с использованием трансгенных животных, содержащих все или часть локусов иммуноглобулинов человека, такие методы и другие типичные методы получения моноклональных антител описываются в настоящей заявке.

Термин «оголенное антитело» относится к антителу, которое не конъюгировано с гетерологичным фрагментом (например, цитотоксическим фрагментом) или радиоактивной меткой. Оголенные антитела могут присутствовать в фармацевтическом составе.

Термин «нативные антитела» относится к природным молекулам иммуноглобулинов с различными структурами. Например, природные антитела IgG являются гетеротетрамерными гликопротеинами с массой приблизительно 150000 дальтон, которые состоят из двух идентичных легких цепей и двух идентичных тяжелых цепей, соединенных дисульфидной связью. В направлении от N-конца к C-концу каждая тяжелая цепь содержит переменную область (VH), также называемую переменный тяжелый домен или переменный домен тяжелой цепи, за которой расположены три константных домена (CH1, CH2 и CH3). Аналогичным образом, в направлении от N-конца к C-концу каждая легкая цепь содержит переменную область (VL), также называемую переменный легкий домен или переменный домен легкой цепи, за которой расположен константный домен легкой цепи (CL). Легкая цепь антитела может быть отнесена к одному из двух типов, называемых каппа (κ) и лямбда (λ), на основании аминокислотной последовательности ее константного домена.

Термин «листок-вкладыш в упаковке» используется для обозначения инструкций, обычно включаемых в коммерческие упаковки терапевтических средств, которые содержат информацию о показаниях к применению, способах применения, дозировке, способах введения, возможности применения в комбинированной терапии, противопоказаниях и/или предупреждениях, касающихся использования таких терапевтических средств.

«Процент (%) идентичности аминокислотной последовательности» по отношению к эталонной последовательности полипептида определяется как процент аминокислотных остатков в последовательности-кандидате, которые идентичны аминокислотным остаткам в эталонной последовательности полипептида, после выравнивания последовательностей и введения пробелов, если это необходимо, для достижения максимальной величины процента идентичности последовательностей, без учета каких-либо консервативных замен как части определения идентичности последовательностей. Выравнивание для определения процента идентичности аминокислотных последовательностей может быть достигнуто различными способами, которые известны специалисту в данной области техники, например, с использованием общедоступного компьютерного программного обеспечения, такого как BLAST, BLAST-2, ALIGN, или программного обеспечения Megalign (DNASTAR). Специалисты

в данной области техники могут определить соответствующие параметры для выравнивания последовательностей, включая любые алгоритмы, необходимые для достижения максимального выравнивания по всей длине сравниваемых последовательностей. Однако для целей настоящего изобретения процентные значения

5 величины идентичности аминокислотных последовательностей получают с использованием компьютерной программы для сравнения последовательностей ALIGN-2. Программа для сравнения последовательностей ALIGN-2 была создана компанией Genentech, Inc., и исходный код был подан совместно с пользовательской документацией в Бюро регистрации авторских прав США, Вашингтон, округ Колумбия, США, 20559,

10 где он зарегистрирован под регистрационным номером Бюро регистрации авторских прав США № TXU510087. Программа ALIGN-2 является общедоступной от компании Genentech, Inc., Южный Сан-Франциско (Калифорния, США), или может быть компилирована из исходного кода. Программа ALIGN-2 должна быть компилирована для использования на базе операционной системы UNIX, включая Digital UNIX V4.0D.

15 Все параметры сравнения последовательностей устанавливаются программой ALIGN-2 и не меняются.

В тех случаях, когда ALIGN-2 используют для сравнения аминокислотных последовательностей, процент идентичности аминокислотных последовательностей для определенной аминокислотной последовательности A по сравнению, с, или по

20 отношению к определенной аминокислотной последовательности B (что, в другом варианте, может быть сформулировано как определенная аминокислотная последовательность A, которая имеет или содержит последовательность с каким-либо процентом идентичности по сравнению, с, или по отношению к определенной аминокислотной последовательности B) рассчитывают следующим образом:

$$25 \quad \text{Идентичность (\%)} = 100 * X/Y,$$

где X представляет собой количество аминокислотных остатков, оцененных как идентичные совпадения программой выравнивания последовательностей ALIGN-2, при выравнивании с помощью этой программы последовательностей A и B, и где Y представляет собой общее количество аминокислотных остатков в последовательности

30 B. Следует понимать, что в тех случаях, когда длина аминокислотной последовательности A не равна длине аминокислотной последовательности B, процентное значение величины идентичности аминокислотной последовательности A по отношению к последовательности B не будет равно процентному значению величины идентичности аминокислотной последовательности B по отношению к

35 последовательности A. Если специально не указано иное, все процентные значения величин идентичности аминокислотных последовательностей, используемые в настоящей заявке, получены, как описано в предыдущем параграфе, используя компьютерную программу ALIGN-2.

Термин «фармацевтический состав» относится к препарату, который находится в

40 форме, обеспечивающей биологическую активность действующего вещества, содержащегося в нем, для достижения его эффективности, и который не содержит дополнительных компонентов, которые являются неприемлемо токсичными для субъекта, которому будет введен состав.

Термин «фармацевтически приемлемый носитель» относится к ингредиенту в

45 фармацевтическом составе, за исключением действующего вещества, который является нетоксичным для субъекта. Фармацевтически приемлемый носитель включает, но не ограничивается ими, буфер, вспомогательное вещество, стабилизатор или консервант.

В настоящей заявке термин «Jagged» или «Jag» относится к любому нативному Jagged

из любого вида позвоночных, включая млекопитающих, таких как приматы (например, человек) и грызуны (например, мыши и крысы), если не указано иное. Термин включает «полноразмерный», нерасщепленный Jagged, а также любую форму Jagged, полученную в результате расщепления в клетке. Термин также включает природные варианты Jagged, например, варианты сплайсинга или аллельные варианты. Аминокислотная последовательность типичного Jagged1 и Jagged2 человека и мыши приведена на ФИГ. 1 и 2 (SEQ ID NO: 1-4), соответственно.

В настоящей заявке термин «лечение» (и его грамматические варианты, такие как «лечить» или «лечащий») относится к клиническому вмешательству с целью изменения естественного течения заболевания у субъекта, которого лечат, и такое вмешательство может быть выполнено либо для профилактики, либо в ходе клинической лабораторной диагностики. Желательные эффекты лечения включают, но не ограничиваются ими, предотвращение возникновения или рецидивов заболевания, ослабление симптомов, уменьшение любых прямых или косвенных патологических последствий заболевания, предотвращение образования метастазов, уменьшение скорости прогрессирования заболевания, улучшение или временное облегчение болезненного состояния, и ремиссию или улучшение прогноза. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антитела согласно настоящему изобретению применяют, чтобы задержать начало развития заболевания или замедлить прогрессирование заболевания.

Термин «вариабельная область» или «вариабельный домен» относится к домену тяжелой или легкой цепи антитела, который участвует в связывании антитела с антигеном. Вариабельные домены тяжелой цепи и легкой цепи (VH и VL, соответственно) нативного антитела обычно имеют сходные структуры, при этом каждый домен содержит четыре консервативных каркасных участка (FR) и три гипервариабельные области (HVR). (См., например, работу Kindt et al. Kuby Immunology, 6-е изд., W.H. Freeman and Co., стр. 91 (2007).) Одного домена VH или VL может быть достаточно для придания антигенсвязывающей специфичности. Кроме того, антитела, которые связывают конкретный антиген, могут быть выделены с использованием домена VH или VL из антитела, которое связывает антиген, для проведения скрининга библиотеки комплементарных доменов VL или VH, соответственно. См., например, работы Portolano et al., J. Immunol. 150:880-887 (1993); Clarkson et al., Nature 352:624-628 (1991).

В настоящей заявке термин «вектор» относится к молекуле нуклеиновой кислоты, способной обеспечивать размножение другой нуклеиновой кислоты, с которой она связана. Термин включает вектор в виде самореплицирующейся структуры нуклеиновой кислоты, а также вектор, включенный в геном клетки-хозяина, в которую он был введен. Определенные векторы способны регулировать экспрессию нуклеиновых кислот, с которыми они функционально связаны. В настоящей заявке такие векторы называются «векторы экспрессии».

II. КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ

Согласно одному из аспектов, настоящее изобретение частично основано на выявлении антител к Jagged и их фрагментов. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, предложены антитела, которые связываются по меньшей мере с одним из лигандов Jagged. Антитела согласно настоящему изобретению можно применять, например, для диагностики или лечения рака. Соответственно, в настоящем изобретении предложены способы, композиции, наборы и готовые изделия, относящиеся к антителам к Jagged.

A. Типичные антитела к Jagged

Согласно одному из аспектов настоящего изобретения предложены выделенные

антитела, которые связываются с Jagged. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антитело к Jagged представляет собой антитело к Jagged1.

Согласно одному из аспектов настоящего изобретения предложено антитело к Jagged1, содержащее по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть HVR, выбранных из:

- (a) HVR-H1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 81;
- (b) HVR-H2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 84;
- (c) HVR-H3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 87;
- (d) HVR-L1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 110;
- (e) HVR-L2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 111; и
- (f) HVR-L3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 114.

Согласно другому аспекту антитело к Jagged1 содержит HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 81 и по меньшей мере одну, две, три, четыре или пять HVR, выбранных из (b), (c), (d), (e) и (f), приведенных выше. Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения антитело содержит (a), (b), (c), (d), (e) и (f), приведенные выше, в котором по отношению к (b) (c) и (f) предусмотрен любой один или более из следующих вариантов: HVR-H2, содержит аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 82-83; HVR-H3 содержит аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 85-86; и HVR-L3 содержит аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 112-113.

Согласно другому варианту реализации настоящего изобретения, предложено антитело, которое специфически связывается с Jagged1, содержащее:

- (a) HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 81;
- (b) HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 82;
- (c) HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 85;
- (d) HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 110;
- (e) HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 111; и
- (f) HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 112.

Согласно другому варианту реализации настоящего изобретения, предложено антитело, которое специфически связывается с Jagged1, содержащее:

- (a) HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 81;
- (b) HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 82;
- (c) HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86;
- (d) HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 110;
- (e) HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 111; и
- (f) HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 113.

Согласно другому варианту реализации настоящего изобретения, предложено антитело, которое специфически связывается с Jagged1, содержащее:

- (a) HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 81;
- (b) HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 83;
- (c) HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 85;
- (d) HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 110;
- (e) HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 111; и
- (f) HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 112.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, антитело к Jagged представляет собой антитело к Jagged2.

Согласно одному из аспектов настоящего изобретения, предложено антитело к Jagged2, содержащее по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть HVR,

выбранных из:

- (a) HVR-H1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 88;
- (b) HVR-H2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 89;
- (c) HVR-H3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 94;
- 5 (d) HVR-L1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 115;
- (e) HVR-L2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 116; и
- (f) HVR-L3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 122.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения, предложено антитело к Jagged2, содержащее HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 88, и по меньшей мере одну, две, три, четыре или пять HVR, выбранных из (b), (c), (d), (e) и (f), указанных выше. Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения, антитело содержит (a), (b), (c), (d), (e) и (f), приведенные выше, в котором по отношению к (c) и (f) предусмотрен любой один или более из следующих вариантов реализации: HVR-H3 содержит аминокислотную последовательность, выбранную из 15 SEQ ID NO: 90-93; и HVR-L3 содержит аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 117-121.

Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения, предложено антитело, которое специфически связывается с Jagged2, содержащее:

- (a) HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 88;
- 20 (b) HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 89;
- (c) HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 90;
- (d) HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 115;
- (e) HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 116; и
- (f) HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 117.

Согласно другому варианту реализации настоящего изобретения предложено антитело, которое специфически связывается с Jagged2, содержащее:

- (a) HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 88;
- (b) HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 89;
- (c) HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 91;
- 30 (d) HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 115;
- (e) HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 116; и
- (f) HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 118.

Согласно другому варианту реализации настоящего изобретения предложено антитело, которое специфически связывается с Jagged2, содержащее:

- 35 (a) HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 88;
- (b) HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 89;
- (c) HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 90;
- (d) HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 115;
- (e) HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 116; и
- 40 (f) HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 119.

Согласно другому варианту реализации настоящего изобретения предложено антитело, которое специфически связывается с Jagged2, содержащее:

- (a) HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 88;
- (b) HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 89;
- 45 (c) HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 92;
- (d) HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 115;
- (e) HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 116; и
- (f) HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 120.

Согласно другому варианту реализации настоящего изобретения предложено антитело, которое специфически связывается с Jagged2, содержащее:

- (a) HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 88;
- (b) HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 89;
- (c) HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 93;
- (d) HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 115;
- (e) HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 116; и
- (f) HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 121.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антитело к Jagged представляет собой антитело к Jagged1/2.

Согласно одному из аспектов настоящего изобретения предложено антитело к Jagged1/2, содержащее по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть HVR, выбранных из HVR-H1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 95; HVR-H2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 96; HVR-H3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 99; HVR-L1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 123; HVR-L2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 124; и HVR-L3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 127.

Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения предложено антитело, которое специфически связывается с Jagged1/2, содержащее:

- (a) HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 95;
- (b) HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 96;
- (c) HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 97;
- (d) HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 123;
- (e) HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 124; и
- (f) HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 125.

Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения предложено антитело, которое специфически связывается с Jagged1/2, содержащее:

- (a) HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 95;
- (b) HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 96;
- (c) HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 98;
- (d) HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 123;
- (e) HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 124; и
- (f) HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 126.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения предложено антитело к Jagged1/2, содержащее по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть HVR, выбранных из HVR-H1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 105; HVR-H2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 106; HVR-H3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 109; HVR-L1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 128; HVR-L2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 129; и HVR-L3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 134.

Согласно другому варианту реализации настоящего изобретения предложено антитело, которое специфически связывается с Jagged1/2, содержащее:

- (a) HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 100;
- (b) HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 106;
- (c) HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 107;
- (d) HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 128;

- (e) HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 129; и
- (f) HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 130.

Согласно другому варианту реализации настоящего изобретения предложено антитело, которое специфически связывается с Jagged1/2, содержащее:

- 5 (a) HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 100;
- (b) HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 106;
- (c) HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 108;
- (d) HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 128;
- (e) HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 129; и
- 10 (f) HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 131.

Согласно другому варианту реализации настоящего изобретения предложено антитело, которое специфически связывается с Jagged1/2, содержащее:

- (a) HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 101;
- (b) HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 106;
- 15 (c) HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 107;
- (d) HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 128;
- (e) HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 129; и
- (f) HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 132.

Согласно другому варианту реализации настоящего изобретения предложено антитело, которое специфически связывается с Jagged1/2, содержащее:

- (a) HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 102;
- (b) HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 106;
- (c) HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 107;
- (d) HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 128;
- 25 (e) HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 129; и
- (f) HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 133.

Согласно другому варианту реализации настоящего изобретения предложено антитело, которое специфически связывается с Jagged1/2, содержащее:

- (a) HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 103;
- 30 (b) HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 106;
- (c) HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 107;
- (d) HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 128;
- (e) HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 129; и
- (f) HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 132.

Согласно другому варианту реализации настоящего изобретения предложено антитело, которое специфически связывается с Jagged1/2, содержащее:

- (a) HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 104;
- (b) HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 106;
- (c) HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 107;
- 40 (d) HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 128;
- (e) HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 129; и
- (f) HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 132.

Согласно любому из вышеупомянутых вариантов реализации антитело к Jagged представляет собой гуманизированное антитело. Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения антитело к Jagged содержит HVR как в любом из вышеупомянутых вариантов реализации, и дополнительно содержит акцепторную последовательность каркаса человека, например, последовательность каркаса иммуноглобулина человека или консенсусную последовательность каркаса человека.

Согласно другому варианту реализации антитело к Jagged содержит HVR как в любом из вышеупомянутых вариантов реализации, и дополнительно содержит VH, содержащую по меньшей мере один, два, три или четыре FR, выбранных из FR1, содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, 36, 40, 43, 47, 50 или 54; FR2, содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 33, 37, 41, 44, 48, 51 или 136; FR3, содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, 38, 39, 42, 45, 46, 49, 52, 53, 55, 56, 57, 58, 59; и FR4, содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35. Согласно другому варианту реализации антитело к Jagged содержит HVR как в любом из вышеупомянутых вариантов реализации, и дополнительно содержит VL, содержащую по меньшей мере один, два, три или четыре FR, выбранных из FR1, содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60, 64, 67 или 70; FR2, содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, 65, 68 или 71; FR3, содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62, 66, 69 или 72; и FR4, содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 63 или 135.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения антитело к Jagged содержит последовательность вариабельного домена тяжелой цепи (VH), которая по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 9-17, 29-30 или 73-76. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения последовательность VH, имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или удаления по отношению к эталонной последовательности, несмотря на это антитело к Jagged, содержащее такую последовательность, сохраняет способность связываться по меньшей мере с одним лигандом Jagged. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения замены, вставки или удаления происходят в участках за пределами HVR (т.е. в FR). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антитело к Jagged содержит последовательность вариабельного домена тяжелой цепи (VH), которая по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 11. Антитело к Jagged возможно содержит последовательность VH, приведенную в SEQ ID NO: 11, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте реализации настоящего изобретения VH содержит одну, две или три HVR, выбранных из: (а) HVR-H1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 81, (b) HVR-H2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 83, и (c) HVR-H3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 85.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения, предложено антитело к Jagged, содержащее вариабельный домен легкой цепи (VL), который по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичен аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 18-28 или 77-80. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения последовательность VL, имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или удаления по отношению к эталонной последовательности, несмотря на это антитело к Jagged, содержащее такую последовательность, сохраняет способность связываться с Jagged. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были замещены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 20. Согласно

некоторым вариантам реализации настоящего изобретения замены, вставки или удаления происходят в областях за пределами HVR (т.е. в FR). Антитело к Jagged возможно содержит последовательность VL, приведенную в SEQ ID NO: 20, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте реализации настоящего изобретения VL содержит одну, две или три HVR, выбранных из (a) HVR-L1, содержащей аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: ПО; (b) HVR-L2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 111; и (c) HVR-L3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 112.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения предложено антитело к Jagged, содержащее VH, как в любом из вариантов реализации, приведенных выше, и VL, как в любом из вариантов реализации, приведенных выше. Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения антитело содержит последовательности VH и VL, приведенные в SEQ ID NO: 10 и SEQ ID NO: 19, соответственно, включая посттрансляционные модификации этих последовательностей. Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения антитело содержит последовательности VH и VL, приведенные в SEQ ID NO: 11 и SEQ ID NO: 20, соответственно, включая посттрансляционные модификации этих последовательностей. Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения антитело содержит последовательности VH и VL, приведенные в SEQ ID NO: 15 и SEQ ID NO: 24, соответственно, включая посттрансляционные модификации этих последовательностей.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения предложено антитело, которое связывается с тем же эпитопом, что и антитело к Jagged, предложенное в настоящей заявке. Например, согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложено антитело, которое связывается с тем же эпитопом, что и антитело к Jagged1, содержащее последовательность VH, приведенную в SEQ ID NO: 10, и последовательность VL, приведенную в SEQ ID NO: 19. Согласно другим вариантам реализации настоящего изобретения предложено антитело, которое связывается с тем же эпитопом, что и антитело к Jagged1, содержащее последовательность VH, приведенную в SEQ ID NO: 11, и последовательность VL, приведенную в SEQ ID NO: 20. Согласно другим вариантам реализации настоящего изобретения предложено антитело, которое связывается с тем же эпитопом, что и антитело к Jagged2, содержащее последовательность VH, приведенную в SEQ ID NO: 15, и последовательность VL, приведенную в SEQ ID NO: 24.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложено антитело, которое связывается с эпитопом в мышинном пептиде Jag1-DSL-EGF1-4, имеющем последовательность SEQ ID NO: 5. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложено антитело, которое связывается с эпитопом в человеческом пептиде Jag1-DSL-EGF1-4, имеющем последовательность SEQ ID NO: 6. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложено антитело, которое связывается с эпитопом в мышинном пептиде Jag2-DSL-EGF1-4, имеющем последовательность SEQ ID NO: 7. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложено антитело, которое связывается с эпитопом в человеческом пептиде Jag2-DSL-EGF1-4, имеющем последовательность SEQ ID NO: 8.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения предложено антитело, которое конкурирует за связывание с любым из антител, предложенных в настоящей заявке.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения антитело к Jagged в соответствии с любым из вышеупомянутых вариантов реализации представляет собой моноклональное антитело, включая химерное, гуманизированное или человеческое

антитело. Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения, антитело к Jagged представляет собой фрагмент антитела, например, Fv, Fab, Fab', scFv, диантитело или фрагмент F(ab')₂. Согласно другому варианту реализации настоящего изобретения антитело представляет собой полноразмерное антитело, например, интактное антитело IgG1 человека или антитело другого класса или изотипа, определенных в настоящей заявке.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения антитело к Jagged в соответствии с любым из вышеупомянутых вариантов реализации может включать любой из признаков, по отдельности или в комбинации, описанных в разделах 1-7 ниже.

1. Аффинность антител

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антитело, предложенное в настоящей заявке, имеет константу диссоциации (K_D) ≤ 1 мкМ, ≤ 100 нМ, ≤ 10 нМ, ≤ 1 нМ, $\leq 0,1$ нМ, $\leq 0,01$ нМ или $\leq 0,001$ нМ (например, 10^{-8} М или менее, например, от 10^{-8} М до 10^{-13} М, например, от 10^{-9} М до 10^{-13} М).

Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения K_D измеряют с помощью исследования связывания с радиоактивно-меченым антигеном (РИА).

Согласно одному из вариантов реализации РИА выполняют, используя фрагменты Fab антитела, представляющего интерес, и его антиген. Например, величину аффинности связывания фрагментов Fab в отношении антигена измеряют в растворе путем

уравновешивания Fab с минимальной концентрацией (125 I)-меченого антигена в присутствии серии титрующих концентраций немеченого антигена, с последующим захватом связанного антигена на планшете, покрытом антителом к фрагментам Fab (см., например, работу Chen et al., J. Mol. Biol. 293:865-881(1999)). Чтобы создать условия для проведения количественного исследования многолуночные планшеты MICROTITER[®] (Thermo Scientific) покрывают в течение ночи захватывающим антителом к Fab (Cappel Labs) в концентрации 5 мкг/мл, растворенном в 50 мМ карбоната натрия (pH 9,6), и затем блокируют с помощью 2% (масс/об.) бычьего сывороточного альбумина в фосфатно-солевом буфере (ФСБ) в течение от 2 до 5 часов при комнатной температуре (приблизительно 23°C). В лунках неадсорбирующего планшета (Nunc #269620)

смешивают по 100 пМ или 26 пМ [125 I]-меченого антигена и серийные разведения фрагмента Fab, представляющего интерес (например, в соответствии с методикой оценки антитела к VEGF, Fab-12, описанной в работе Presta et al., Cancer Res. 57:4593-4599 (1997)).

Фрагмент Fab, представляющий интерес, затем инкубируют в течение ночи, однако инкубацию можно продолжать в течение более длительного периода времени (например, около 65 часов), чтобы обеспечить достижение равновесного состояния. После этого смеси переносят в планшет с захватывающим антителом для инкубации при комнатной температуре (например, в течение одного часа). Затем раствор удаляют, и планшет

промывают восемь раз 0,1% полисорбатом 20 (Tween-20[®]) в ФСБ. После высыхания планшетов в лунки вносят по 150 мкл сцинтилляционного раствора (Microscint-20 ТМ; Packard), и сигнал в лунках планшетов регистрируют с помощью гамма-счетчика TopCount[™] (Packard) в течение десяти минут. Концентрации каждого фрагмента Fab, которые обеспечивают связывание, величина которого меньше или равна 20% от величины максимального связывания, выбирают для использования в исследованиях конкурентного связывания.

Согласно другому варианту реализации величину K_d измеряют методом

поверхностного плазмонного резонанса, используя систему BIAcore[®]. Например, исследования с использованием BiAcore[®]-2000 или BIAcore[®]-3000 (BIAcore, Inc., Пискатауэй, Нью-Джерси, США) проводят при 25°C с антигеном, иммобилизованным на чипах CM5 в количестве ~10 единиц ответа (RU). Согласно одному из вариантов реализации, биосенсорные чипы из карбоксиметилированного декстрана (CM5, BIAcore, Inc.) активируют с помощью гидрохлорида N-этил-N'-(3-диметиламинопропил) карбодиимида (EDC) и N-гидроксисукцинимид (NHS) в соответствии с инструкциями поставщика. Антиген разбавляют 10 mM ацетатом натрия, pH=4,8, до концентрации 5 мкг/мл (~0,2 мкМ) перед впрыскиванием при скорости потока 5 мкл/мин, чтобы достичь приблизительно 10 единиц ответа (RU) связанного белка. После впрыскивания антигена вносят 1 M этаноламина для блокирования групп, не вступивших в реакцию. Для измерений кинетики двукратные серийные разведения фрагментов Fab (от 0,78 нМ до 500 нМ) в ФСБ с добавлением 0,05% полисорбата 20 (Tween-20TM), поверхностно-активного вещества (ФСБТ), впрыскивают при скорости потока приблизительно 25 мкл/мин и температуре 25°C. Скорость прямой реакции (k_{on}) и скорость обратной реакции (k_{off}) рассчитывают с помощью простой модели Ленгмюра для связывания в соотношении один-к-одному (BIAcore[®] Evaluation Software, версия 3.2) путем одновременной аппроксимации сенсограмм ассоциации и диссоциации. Равновесную константу диссоциации (K_d) рассчитывают как отношение k_{off}/k_{on} . См., например, работу Chen et al., J. Mol. Biol. 293:865-881 (1999). Если скорость прямой реакции превышает $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, согласно результатам исследования методом поверхностного плазмонного резонанса, описанного выше, то скорость прямой реакции может быть определена с помощью методики тушения флуоресценции, которая позволяет измерить увеличение или уменьшение интенсивности испускания флуоресценции (возбуждение = 295 нм; испускание = 340 нм, полоса пропускания 16 нм) 20 нМ раствора антитела к антигену (Fab-форма) в ФСБ, pH=7,2, при 25°C в присутствии возрастающих концентраций антигена, согласно результатам измерения с помощью спектрометра, такого как спектрометр, оборудованный системой для остановки потока (Aviv Instruments), или спектрофотометра SLM-Aminco[™] 8000-й серии (ThermoSpectronic) в кювете с перемешиванием.

2. Фрагменты антител

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антитело, предложенное в настоящей заявке, представляет собой фрагмент антитела. Фрагменты антител включают, но не ограничиваются ими, фрагменты Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, Fv и scFv, а также другие фрагменты, описанные ниже. Для обзора некоторых фрагментов антител см. работу Hudson et al. Nat. Med. 9:129-134 (2003). Для обзора фрагментов scFv, см., например, работу Pluckthiin, in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, под ред. Rosenberg and Moore, (Springer-Verlag, Нью-Йорк), стр. 269-315 (1994); см. также WO 93/16185; и патенты США №№5571894 и 5587458. Для обсуждения фрагментов Fab и F(ab')₂, которые содержат остатки эпитопа связывания рецептора реутилизации и имеют повышенный период полувыведения в условиях in vivo, см. патент США №5869046.

Диантитела представляют собой фрагменты антител с двумя антигенсвязывающими участками, которые могут быть двухвалентными или биспецифичными. См., например, патенты EP 404097; WO 1993/01161; Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003); и Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448 (1993). Триантитела и тетраантитела также

описаны в работе Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003).

Однодоменные антитела представляют собой фрагменты антител, содержащих весь или часть вариабельного домена тяжелой цепи или весь или часть вариабельного домена легкой цепи антитела. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения однодоменное антитело представляет собой человеческое однодоменное антитело (Domantis, Inc., Waltham, MA; см., например, патент США №6248516 В1).

Фрагменты антител могут быть получены с помощью различных методик, включая, но не ограничиваясь ими, протеолитическое расщепление интактных антител, а также выработку рекомбинантными клетками-хозяевами (например, E.coli, или фагами), как описано в настоящей заявке.

3. Химерные и гуманизированные антитела

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антитело, предложенное в настоящей заявке, является химерным антителом. Некоторые химерные антитела, описаны, например, в патенте США №4816567; и Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984)). В одном примере химерное антитело содержит вариабельную область вида, отличного от человека (например, вариабельную область, полученную от мыши, крысы, хомяка, кролика или примата, отличного от человека, такого как обезьяна) и человеческую константную область. В другом примере химерное антитело представляет собой антитело с «переключенным классом», в котором класс или подкласс был изменен относительно такового для исходного антитела. Химерные антитела включают их антигенсвязывающие фрагменты.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения химерное антитело представляет собой гуманизированное антитело. Как правило, антитело вида, отличного от человека, гуманизируют, чтобы уменьшить иммуногенность для человека, сохраняя при этом специфичность и аффинность исходного антитела вида, отличного от человека. Как правило, гуманизированное антитело содержит один или более вариабельных доменов, в которых HVR, например, CDR, (или их части) получены из антитела вида, отличного от человека, и FR (или их части) получены из последовательностей антител человека. Гуманизированное антитело также будет содержать по меньшей мере часть константной области человека. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения некоторые остатки FR в гуманизированном антителе замещены соответствующими остатками из антитела вида, отличного от человека (например, антитела, из которого получены остатки HVR), например, для восстановления или улучшения специфичности или аффинности антитела.

Гуманизированные антитела и способы их получения рассматриваются, например, в работе Almagro and Fransson, Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008), и более подробно описаны, например, в работах Riechmann et al., Nature 332:323-329 (1988); Queen et al., Proc. Natl Acad. Sci. USA 86:10029-10033 (1989); патентах США №№5821337, 7527791, 6982321 и 7087409; Kashmiri et al., Methods 36:25-34 (2005) (описана прививка области, определяющей специфичность (SDR); Padlan, Mol. Immunol. 28:489-498 (1991) (описана «модификация поверхности»); Dall'Acqua et al., Methods 36:43-60 (2005) (описана «перестановка FR»); и Osbourn et al., Methods 36:61-68 (2005) и Klimka et al., Br. J. Cancer, 83:252-260 (2000) (описан подход «направленного отбора» к перестановке FR).

Каркасные участки человека, которые можно применять для гуманизации, включают, но не ограничиваются перечисленными: каркасные участки, выбранные с помощью метода «наилучшего соответствия» (см., например, работу Sims et al. J. Immunol. 151: 2296 (1993)); каркасные участки, полученные из консенсусной последовательности конкретной подгруппы вариабельных областей легкой или тяжелой цепей антител

человека (см., например, работы Carter et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:4285 (1992); и Presta et al. J. Immunol, 151:2623 (1993)); зрелые (соматически мутировавшие) каркасные участки человека или каркасные участки зародышевой линии человека (см., например, работу Almagro and Fransson, Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008)); и каркасные участки, полученные при скрининге библиотек FR (см., например, работы Vasa et al., J. Biol. Chem. 272:10678-10684 (1997) и Rosok et al., J. Biol. Chem. 271:22611-22618 (1996)).

4. Человеческие антитела

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антитело, предложенное в настоящей заявке, является человеческим антителом. Человеческие антитела могут быть получены с использованием различных способов, известных в данной области техники. Человеческие антитела описаны в общих чертах в работах van Dijk and van de Winkel, Curr. Opin. Pharmacol. 5: 368-74 (2001) и Lonberg, Curr. Opin. Immunol. 20:450-459 (2008).

Человеческие антитела могут быть получены путем введения иммуногена трансгенному животному, которое было модифицировано для выработки интактных антител человека или интактных антител, содержащих вариабельные области человека, в ответ на антигенную стимуляцию. Такие животные обычно содержат все или часть локусов иммуноглобулинов человека, которые замещают локусы эндогенных иммуноглобулинов, или которые присутствуют вне хромосом или интегрированы в случайном порядке в хромосомы животного. У таких трансгенных мышей локусы эндогенных иммуноглобулинов обычно инактивированы. Для обзора способов получения антител человека из трансгенных животных, см. работу Lonberg, Nat. Biotech. 23:1117-1125 (2005). См. также, например, патенты США №№6075181 и 6150584, в которых раскрыта технология XENOMOUSE™; патент США №5770429, в котором раскрыта технология HUMAB®; патент США №7041870, в котором раскрыта технология К-М MOUSE®, и публикацию патентной заявки США US 2007/0061900, в которой раскрыта технология VELOCIMOUSE®). Вариабельные области человека из интактных антител, вырабатываемых такими животными, могут быть дополнительно модифицированы, например, путем комбинирования с другой константной областью человека.

Человеческие антитела также можно получить, используя методы гибридом. Были описаны линии клеток миеломы человека и гетеромиеломы мыши-человека для получения моноклональных антител человека. (См., например, работы Kozbor J. Immunol, 133: 3001 (1984); Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., Нью-Йорк, 1987); и Boerner et al., J. Immunol., 147: 86 (1991).) Человеческие антитела, полученные с помощью технологии гибридом В-клеток человека, также описаны в работе Li et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103:3557-3562 (2006).

Дополнительные способы включают те, которые раскрыты, например, в патенте США №7189826 (в котором раскрыто получение моноклональных антител IgM человека из гибридных клеточных линий) и в работе Ni, Xiandai Mianyixue, 26(4):265-268 (2006) (в которой описаны гибридомы человек-человек). Технология получения гибридом клеток человека (технология триомы) также описана в работах Vollmers and Brandlein, Histology and Histopathology, 20(3):927-937 (2005) и Vollmers and Brandlein, Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology, 27(3): 185-91 (2005).

Человеческие антитела также могут быть получены путем выделения последовательностей вариабельных доменов клонов Fv, выбранных из библиотек фагового дисплея, которые получены из последовательностей человека. Такие последовательности вариабельных доменов затем можно комбинировать с желаемым

константным доменом человека. Способы отбора человеческих антител из библиотек антител описаны ниже.

5. Антитела, полученные из библиотек

Антитела согласно настоящему изобретению могут быть выделены путем скрининга комбинаторных библиотек для выявления антител с желаемой активностью или активностями. Например, в данной области техники известны различные способы получения библиотек фагового дисплея и скрининга таких библиотек для отбора антител, обладающих желаемыми характеристиками связывания. Такие способы рассматриваются, например, в работах Hoogenboom et al. in *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Тотова, Нью-Джерси, 2001) и дополнительно описаны, например, в работах McCafferty et al., *Nature* 348:552-554; Clackson et al., *Nature* 352: 624-628 (1991); Marks et al., *J. Mol. Biol.* 222: 581-597 (1992); Marks and Bradbury, in *Methods in Molecular Biology* 248:161-175 (Lo, ed., Human Press, Тотова, Нью-Джерси, 2003); Sidhu et al., *J. Mol. Biol.* 338(2): 299-310 (2004); Lee et al., *J. Mol. Biol.* 340(5): 1073-1093 (2004); Fellouse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101(34): 12467-12472 (2004); и Lee et al., *J. Immunol. Methods* 284(1-2): 119-132(2004).

В соответствии с некоторыми методами фагового дисплея репертуары генов VH и VL клонируют по отдельности с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) и рекомбинируют в случайном порядке в фаговых библиотеках, которые затем могут быть подвергнуты скринингу для отбора антигенсвязывающего фага, как описано в работе Winter et al., *Ann. Rev. Immunol.* 12: 433-455 (1994). Фаг обычно экспрессирует фрагменты антител в виде либо одноцепочечных фрагментов Fv (scFv), либо фрагментов Fab. Библиотеки из иммунизированных источников обеспечивают высокоаффинные антитела к иммуногену без необходимости получения гибридом. В другом варианте, наивный репертуар может быть клонирован (например, от человека), чтобы обеспечить единый источник антител, направленных к широкому спектру чужеродных, а также собственных антигенов без какой-либо иммунизации, как описано в работе Griffiths et al., *EMBO J.* 12: 725-734 (1993). Наконец, наивные библиотеки также могут быть получены синтетическим путем с помощью клонирования неперестроенных сегментов V-гена из стволовых клеток, а также с использованием ПЦР-праймеров, содержащих случайную последовательность для кодирования областей, определяющих комплементарность, CDR3 и для выполнения перестановки в условиях *in vitro*, как описано в работе Hoogenboom and Winter, *J. Mol. Biol.* 227: 381-388 (1992). Патентные публикации, в которых раскрыты фаговые библиотеки человеческих антител, включают, например: патент США №5750373 и публикации патентных заявок США №№2005/0079574, 2005/0119455, 2005/0266000, 2007/0117126, 2007/0160598, 2007/0237764, 2007/0292936 и 2009/0002360.

Антитела или фрагменты антител, выделенные из библиотек человеческих антител, рассматриваются в настоящей заявке как человеческие антитела или фрагменты человеческих антител.

6. Мультиспецифичные антитела

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антитело, предложенное в настоящей заявке, является мультиспецифичным антителом, например, биспецифичным антителом. Мультиспецифичные антитела представляют собой моноклональные антитела, которые обладают специфичностью связывания в отношении по меньшей мере двух различных участков. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения один из видов специфичности связывания относится к Jagged, а второй к любому другому антигену. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения биспецифичные антитела могут связываться с двумя

различными эпитопами Jagged. Биспецифичные антитела также можно применять для перемещения цитотоксических агентов к клеткам, которые экспрессируют Jagged. Биспецифичные антитела могут быть получены в виде полноразмерных антител или фрагментов антител.

- 5 Методики получения мультиспецифичных антител включают, но не ограничиваются ими, рекомбинантную совместную экспрессию двух пар тяжелая цепь/легкая цепь иммуноглобулина, имеющих различные виды специфичности (см. Milstein and Cuello, Nature 305: 537 (1983)), WO 93/08829 и Traunecker et al., EMBO J. 10: 3655 (1991)), и способ генетической модификации «выступ-во-впадину» (см., например, патент США №5731168). Мультиспецифичные антитела также могут быть получены путем
- 10 конструирования белков с использованием эффекта электростатического взаимодействия для получения молекул антител, содержащих гетеродимерные области Fc (WO 2009/089004 A1); путем сшивания двух или более антител или фрагментов (см., например, патент США №4676980 и Brennan et al., Science, 229: 81 (1985)); используя лейциновые
- 15 молнии для получения биспецифичных антител (см., например, работу Kostelny et al., J. Immunol, 148(5):1547-1553 (1992)); используя технологию «диантител» для получения фрагментов биспецифичных антител (см., например, работу Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993)); и используя димеры одноцепочечных Fv (sFv) (см., например, работу Gruber et al., J. Immunol, 152:5368 (1994)); а также путем получения
- 20 триспецифичных антител, как описано, например, в работе Tutt et al. J. Immunol. 147: 60 (1991).

Модифицированные антитела, имеющие три и более функциональных антигенсвязывающих сайтов, в том числе «антитела-осьминоги», также включены в область настоящего изобретения (см., например, US 2006/0025576 A1).

- 25 Антитело или его фрагмент согласно настоящей заявке также содержит «фрагмент Fab двойного действия» или «DAF», содержащий антигенсвязывающий участок, который связывается с Jagged, а также другим, отличным антигеном (см. US 2008/0069820, например).

7. Варианты антител

- 30 Согласно некоторым вариантам реализации в настоящее изобретение включены варианты аминокислотных последовательностей антител, предложенных в настоящей заявке. Например, желательным может быть улучшение аффинности связывания и/или других биологических свойств антитела. Варианты аминокислотных последовательностей антител могут быть получены путем внесения соответствующих
- 35 модификаций в нуклеотидную последовательность, кодирующую антитело, или с помощью пептидного синтеза. Такие модификации включают, например, удаления и/или вставки, и/или замены остатков в пределах аминокислотных последовательностей антител. Любая комбинация удалений, вставок и замен остатков может быть использована, чтобы получить готовую конструкцию, при условии, что готовая
- 40 конструкция обладает желаемыми характеристиками, например, антигенсвязывающими свойствами.

а) Варианты, содержащие замены, вставки и удаления

- Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, предложены варианты антител, содержащие одну или более аминокислотных замен. Участки, представляющие интерес для заместительного мутагенеза, включают HVR и FR.
- 45 Консервативные замены приведены в таблице 1 под заголовком «предпочтительные замены». Более значимые замены приведены в таблице 1 под заголовком «типичные замены», и дополнительно описаны ниже со ссылкой на классы боковых цепей

аминокислот. Аминокислотные замены могут быть введены в антитело, представляющее интерес, и полученные продукты могут быть подвергнуты скринингу для отбора клонов, имеющих желаемую активность, например, сохраненную/улучшенную способность связывать антиген, сниженную иммуногенность или улучшенную ADCC или CDC.

Таблица 1

Исходный остаток	Типичные замены	Предпочтительные замены
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (i)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; норлейцин	Leu
Leu (L)	Норлейцин; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (v)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; норлейцин	Leu

Аминокислоты могут быть сгруппированы в соответствии с общими свойствами боковой цепи:

- (1) гидрофобные: норлейцин, Met, Ala, Val, Leu, Ile;
- (2) нейтральные гидрофильные: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;
- (3) кислотные: Asp, Glu;
- (4) основные: His, Lys, Arg;
- (5) остатки, влияющие на ориентацию цепи: Gly, Pro;
- (6) ароматические: Trp, Tyr, Phe.

Неконсервативные аминокислотные замены приведут к замещению члена одного из этих классов членом другого класса.

Один из типов замещенных вариантов представляет собой замещение одного или более остатков гипервариабельной области исходного антитела (например, гуманизированного или человеческого антитела). Как правило, полученный в результате вариант(ы), отобранный(е) для дальнейшего исследования, будет содержать

модификации (например, улучшения) определенных биологических свойств (например, повышенную аффинность, сниженную иммуногенность) по сравнению с исходным антителом и/или будет иметь по существу сохраненные определенные биологические свойства исходного антитела. Типичный замещенный вариант представляет собой

5 антитело с созревшей аффинностью, которое может быть легко получено, например, с использованием методик созревания аффинности на основе фагового дисплея, таких как те, которые раскрыты в настоящей заявке. В общих чертах, один или более остатков HVR подвергают мутагенезу, и варианты антитела экспрессируют на поверхности фага и подвергают скринингу для отбора клонов с определенной биологической активностью

10 (например, аффинностью связывания).

Изменения (например, замены) могут быть введены в области HVR, например, для улучшения аффинности антитела. Такие изменения могут быть введены в «горячие точки» HVR, т.е. остатки, кодируемые кодонами, которые с высокой частотой подвергаются мутациям в ходе процесса соматического созревания (см., например,

15 работу Chowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196 (2008)), и/или остатки, вступающие в контакт с антигеном, с последующим исследованием аффинности связывания полученных вариантов VH или VL. Метод получения антител с созревшей аффинностью путем конструирования и повторного отбора из вторичных библиотек был описан, например, в работе Hoogenboom et al. in *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien et

20 al., ed., Human Press, Тотова, Нью-Джерси, (2001)). Согласно некоторым вариантам реализации способа созревания аффинности разнообразие вводят в вариабельные гены, отобранные для процесса созревания аффинности, с помощью любого из множества методов (например, ПЦР с внесением ошибок, перестановки цепей или олигонуклеотид-направленного мутагенеза). После этого получают вторичную библиотеку. Библиотеку

25 затем подвергают скринингу, чтобы идентифицировать любые варианты антител с желаемой аффинностью. Другой метод введения разнообразия включает подходы, основанные на модификации HVR, в которых рандомизируют несколько остатков HVR (например, 4-6 остатков одновременно). Остатки HVR, участвующие в связывании антигена, могут быть точно идентифицированы, например, с помощью мутагенеза со

30 сканированием аланином или моделирования. В частности, мишенями обычно являются области CDR-H3 и CDR-L3.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения замены, вставки или удаления могут происходить в одной или более областей HVR до тех пор, пока такие изменения существенно не уменьшают способность антитела связывать антиген.

35 Например, консервативные изменения (например, консервативные замены, как это предусмотрено в настоящей заявке), которые не снижают существенно аффинность связывания, могут быть внесены в области HVR. Такие изменения могут, например, находиться вне остатков, вступающих в контакт с антигеном, в HVR. В некоторых вариантах последовательностей VH и VL, предложенных выше, каждая область HVR

40 является либо немодифицированной, либо содержит не более одной, двух или трех аминокислотных замен.

Подходящий метод идентификации остатков или областей антитела, которые могут служить мишенями для мутагенеза, называется «мутагенез со сканированием аланином», как описано в работе Cunningham and Wells (1989) *Science*, 244:1081-1085. При применении

45 этого метода идентифицируют остаток или группу остатков-мишеней (например, заряженные остатки, такие как Arg, Asp, His, Lys и Glu) и заменяют нейтральной или отрицательно заряженной аминокислотой (например, аланином или полиаланином), чтобы определить, оказывает ли это влияние на взаимодействие антитела с антигеном.

Последующие замены могут быть введены в аминокислотных положениях, которые демонстрируют функциональную чувствительность к первоначальным заменам.

Альтернативно или дополнительно для идентификации точек контакта между антителом и антигеном используют данные о кристаллической структуре комплекса антиген-антитело. Такие контактные остатки и соседние остатки можно использовать как мишени или удалять в качестве кандидатов на замещение. Варианты могут быть подвергнуты скринингу, чтобы определить, обладают ли они желаемыми свойствами.

Вставки аминокислотных последовательностей включают amino- и/или карбоксил-концевые гибриды, длина которых варьируется от одного остатка до полипептидов, содержащих сто или более остатков, а также вставки одного или более аминокислотных остатков внутри последовательности. Примеры концевых вставок включают антитело с N-концевым остатком метионина. Другие варианты молекулы антитела, содержащей вставки, включают гибридизацию N- или C-конца антитела с ферментом (например, для ADEPT) или полипептидом, который увеличивает период полувыведения антитела из сыворотки.

б) Гликозилированные варианты

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антитело, предложенное в настоящей заявке, модифицируют, чтобы увеличить или уменьшить степень гликозилирования антитела. Добавление или удаление участков гликозилирования в молекуле антитела может быть удобно осуществлено путем изменения аминокислотной последовательности таким образом, что создается или удаляется один или более участков гликозилирования.

В том случае, если антитело содержит область Fc, могут быть модифицированы углеводные остатки, присоединенные к антителу. Нативные антитела, которые вырабатываются клетками млекопитающих, обычно содержат разветвленный, двухантенный олигосахарид, как правило, прикрепленный с помощью N-связи к Asn297 домена CH2 в области Fc. См., например, Wright et al. TIBTECH 15:26-32 (1997). Олигосахарид может содержать различные углеводные остатки, например, маннозу, N-ацетилглюкозамин (GlcNAc), галактозу и сиаловую кислоту, а также фукозу, прикрепленную к GlcNAc в «стволе» двухантенной структуры олигосахарида. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения модификации олигосахарида в молекуле антитела согласно настоящему изобретению могут быть получены с тем, чтобы создать варианты антител с определенными улучшенными свойствами.

Согласно одному из вариантов реализации, предложены варианты антител, в структуре углеводного остатка которых отсутствует фукоза, присоединенная (непосредственно или косвенно) к области Fc. Например, количество фукозы в таком антителе может быть от 1% до 80%, от 1% до 65%, от 5% до 65% или от 20% до 40%. Количество фукозы определяют путем вычисления среднего количества фукозы в сахарной цепи в положении Asn297 по отношению к суммарному количеству всех гликозильных структур, прикрепленных к остатку Asn297 (например, комплексные и гибридные цепи Сахаров и структуры с высоким содержанием маннозы), согласно результатам измерения методом масс-спектрометрии MALDI-TOF, как раскрыто в патенте WO 2008/077546, например. Asn297 относится к остатку аспарагина, расположенному приблизительно в положении 297 области Fc (в соответствии с нумерацией ЕС остатков области Fc); однако Asn297 также может быть расположен приблизительно ± 3 аминокислоты перед или после положения 297, т.е. между положениями 294 и 300, что обусловлено незначительными вариациями

последовательностей антител. Такие фукозилированные варианты могут иметь улучшенную функцию индукции ADCC. См., например, публикации патентных заявок США US 2003/0157108 (Presta, L.); US 2004/0093621 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd).

Примеры публикаций, относящихся к «дефукозилированным» или «фукозо-дефицитным»

- 5 вариантам антител, включают: патенты US 2003/0157108; WO 2000/61739; WO 2001/29246; US 2003/0115614; US 2002/0164328; US 2004/0093621; US 2004/0132140; US 2004/0110704; US 2004/0110282; US 2004/0109865; WO 2003/085119; WO 2003/084570; WO 2005/035586; WO 2005/035778; WO2005/053742; WO 2002/031140; Okazaki et al. J. Mol. Biol. 336: 1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004). Примеры клеточных
10 линий, способных вырабатывать дефукозилированные антитела, включают линию клеток яичника китайского хомяка (CHO) Lec13, продуцирующих лишенные фукозилирования белки (Ripka et al. Arch. Biochem. Biophys. 249:533-545 (1986); см. публикацию патентной заявки США US 2003/0157108 A1, Presta, L; и WO 2004/056312 A1, Adams et al., в частности, в примере 11), и линии клеток с блокированными генами,
15 например, клетки линии CHO, в которых блокирован ген альфа-1,6-фукозилтрансферазы, FUT8 (см., например, работы Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004); Kanda, Y. et al., Biotechnol. Bioeng., 94(4):680-688 (2006); и WO 2003/085107).

В настоящем изобретении дополнительно предложены варианты антител, содержащих разделенные пополам олигосахариды, например, в которых двухантенный

- 20 олигосахарид, присоединенный к области Fc антитела, разделен пополам остатком GlcNAc. Такие варианты антител могут иметь меньшее количество остатков фукозы и/или улучшенную функцию ADCC. Примеры таких вариантов антител раскрыты, например, в патенте WO 2003/011878 (Jean-Mairet et al.); в патенте США №6602684 (Umana et al.); и патенте США US 2005/0123546 (Umana et al.). В настоящем изобретении
25 также предложены варианты антител, содержащих по меньшей мере один остаток галактозы в структуре олигосахариды, прикрепленного к области Fc. Такие варианты антител могут иметь улучшенную функцию индукции CDC. Такие варианты антител раскрыты, например, в патентах WO 1997/30087 (Patel et al.); WO 1998/58964 (Raju, S.); и WO 1999/22764 (Raju, S.).

30 c) Варианты области Fc

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения одна или более модификаций аминокислотных остатков могут быть введены в область Fc антитела, предложенного в настоящей заявке, что обеспечивает вариант области Fc. Вариант
35 области Fc может содержать последовательность области Fc человека (например, область Fc IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4 человека), включающую модификацию аминокислотного остатка (например, замену) в одном или более аминокислотных положений.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, предложен вариант антитела, обладающего некоторыми, но не всеми эффекторными функциями,
40 которые делают его желательным кандидатом для способов применения, в которых период полувыведения антитела в условиях *in vivo* является важным, но некоторые эффекторные функции (такие как CDC и ADCC) являются ненужными или вредными. Чтобы подтвердить уменьшение/истощение активности индукции CDC и/или ADCC могут быть проведены количественные исследования цитотоксичности в условиях *in*
45 *vitro* или *in vivo*. Например, могут быть проведены количественные исследования связывания с Fc-рецептором (FcR), чтобы убедиться, что антитело не способно связываться с FcγR (следовательно, возможно, не обладает ADCC-индуцирующей активностью), но сохраняет способность связываться с FcRn. Первичные клетки, которые

индуцируют ADCC, природные клетки-киллеры (НК-клетки), экспрессируют только FcγRIII, тогда как моноциты экспрессируют FcγRI, FcγRII и FcγRIII. Результаты исследования экспрессии FcR на поверхности кроветворных клеток представлены в таблице 3 на стр. 464 в работе Ravetch and Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-492 (1991).

5 Неограничивающие примеры количественных исследований в условиях *in vitro* для оценки ADCC-индуцирующей активности молекулы, представляющей интерес, раскрыты в патенте США №5500362 (см., например, работы Hellstrom, I. et al. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 83:7059-7063 (1986)) и Hellstrom, I et al., *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 82:1499-1502 (1985); патенте США 5821337 (см. Bruggemann, M. et al., *J. Exp. Med.* 166:1351-1361 (1987)). В
10 другом варианте могут быть использованы нерадиоактивные методы количественных исследований (например, набор для нерадиоактивного исследования цитотоксичности АСТИ™ для проточной цитометрии (CellTechnology, Inc. Маунтин-Вью, Калифорния, США); и набор для нерадиоактивного исследования цитотоксичности CytoTox96® (Promega, Мэдисон, Висконсин, США)). Подходящие эффекторные клетки для таких
15 исследований включают моноклеарные клетки периферической крови (МКПК) и природные клетки-киллеры (НК-клетки). Альтернативно или дополнительно, ADCC-индуцирующую активность молекулы, представляющей интерес, можно исследовать в условиях *in vivo*, например, на животных моделях, как раскрыто в работе Clynes et al. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 95:652-656 (1998). Исследования связывания компонента системы
20 комплемента C1q также могут быть выполнены, чтобы подтвердить, что антитело не способно связывать C1q и, следовательно, у него отсутствует CDC-индуцирующая активность. См., например, способ исследования связывания C1q и C3с методом ИФА, раскрытый в патентах WO 2006/029879 и WO 2005/100402. Чтобы оценить эффективность активации комплемента может быть выполнено количественное исследование CDC
25 (см., например, работы Gazzano-Santoro et al., *J. Immunol. Methods* 202:163 (1996); Cragg, M.S. et al., *Blood* 101:1045-1052 (2003); и Cragg, M.S. and M.J. Glennie, *Blood* 103:2738-2743 (2004)). Исследование связывания с FcRn, а также определение величины клиренса/периода полувыведения в условиях *in vivo* также можно проводить с использованием
30 способов, известных в данной области техники (см., например, работу Petkova, S.B. et al., *Int'l. Immunol.* 18(12): 1759-1769 (2006)).

Антитела со сниженной эффекторной функцией включают антитела, в которых замещен один или более остатков области Fc в положениях 238, 265, 269, 270, 297, 327 и 329 (патент США №6737056). Такие мутантные варианты области Fc включают
35 мутантные варианты области Fc с заменами двух или более остатков в аминокислотных положениях 265, 269, 270, 297 и 327, включая так называемый «DANA» мутант Fc, в котором остатки в положениях 265 и 297 замещены аланином (патент США №7332581).

Раскрыты некоторые варианты антител с улучшенной или уменьшенной способностью связываться с FcRs (см., например, патент США №6737056; WO 2004/056312, и Shields et al., *J. Biol. Chem.* 9(2): 6591-6604 (2001)).

40 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения вариант антитела содержит область Fc с одной или более аминокислотными заменами, которые улучшают ADCC-индуцирующую активность, например, с заменами в положениях 298, 333 и/или 334 области Fc (остатки пронумерованы в соответствии с системой ЕС).

45 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения в область Fc вводят модификации, которые приводят к изменению (т.е. улучшению или ухудшению) ее способности связывать C1q и/или активировать комплемент-зависимую цитотоксичность (CDC), например, как раскрыто в патентах США №6194551, WO 99/51642, и работе Idusogie et al. *J. Immunol.* 164: 4178-4184 (2000).

Антитела с увеличенным периодом полувыведения и улучшенной способностью связываться с неонатальным рецептором Fc (FcRn), который отвечает за перенос материнских IgG плоду (Guyer et al., J. Immunol. 117:587 (1976) и Kim et al., J. Immunol. 24:249 (1994)), раскрыты в патенте США US 2005/0014934A1 (Hinton et al.).

5 антитела содержат область Fc с одной или более аминокислотными заменами, которые улучшают связывание области Fc с FcRn. Такие варианты Fc включают области с заменами одного или более аминокислотных остатков области Fc в положениях: 238, 256, 265, 272, 286, 303, 305, 307, 311, 312, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 382, 413, 424 или 434, например, замену остатка области Fc в положении 434 (патент США

10 №7371826).
См. также работу Duncan & Winter, Nature 322:738-40 (1988); патент США №5648260; патент США №5624821; и WO 94/29351, в которых раскрыты другие примеры вариантов области Fc.

d) Варианты антител, модифицированных путем введения остатка цистеина

15 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения желательным может быть создание антител, модифицированных путем введения остатка цистеина, например, «тиоМАТ», в которых один или более аминокислотных остатков антитела замещены остатками цистеина. В конкретных вариантах реализации замещенные остатки находятся в доступных участках антитела. При замене этих остатков на цистеин

20 реакционноспособные тиольные группы помещаются, таким образом, в доступные участки антитела и могут быть использованы для конъюгирования антитела с другими фрагментами, такими как фрагменты лекарственных средств или фрагменты линкер-лекарственное средство, чтобы получить иммуноконъюгат, раскрытый далее в настоящей заявке. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения

25 один или более из следующих остатков могут быть замещены цистеином: V205 (нумерация по Кабат) легкой цепи; A118 (нумерация ЕС) тяжелой цепи; и S400 (нумерация ЕС) области Fc тяжелой цепи. Антитела, модифицированные путем введения остатка цистеина, могут быть получены, как раскрыто, например, в патенте США №7521541.

e) Производные антител

30 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антитело, предложенное в настоящей заявке, может быть дополнительно модифицировано для включения дополнительных небелковых фрагментов, которые известны в данной области техники и общедоступны. Фрагменты, пригодные для получения производных антител, включают, но не ограничиваются ими, водорастворимые полимеры.

35 Неограничивающие примеры водорастворимых полимеров включают, но не ограничиваются ими, полиэтиленгликоль (ПЭГ), сополимеры этиленгликоля/пропиленгликоля, карбоксиметилцеллюлозу, декстран, поливиниловый спирт, поливинилпирролидон, поли-1,3-диоксолан, поли-1,3,6-триоксан, сополимеры этилена/малеинового ангидрида, полиаминокислоты (гомополимеры или статистические

40 сополимеры), а также декстран или поли(н-винилпирролидон)полиэтиленгликоль, гомополимеры пропропиленгликоля, сополимеры пролипропиленоксида/этиленоксида, полиоксиэтилированные полиолы (например, глицерин), поливиниловый спирт и их смеси. Полиэтиленгликоль-пропионовый альдегид может обеспечивать преимущества в процессе производстве благодаря своей стабильности в воде. Полимер может иметь

45 любую молекулярную массу, и может быть разветвленным или неразветвленным. Количество полимерных единиц, прикрепленных к антителу, может варьироваться, и, если прикреплено более одного полимера, то они могут быть одинаковыми или различными молекулами. В целом, количество и/или тип полимеров, применяемых для

получения производных антител, можно определить на основании факторов, которые включают, но не ограничиваются перечисленными: конкретные свойства или функции антитела, которые будут улучшены, возможность применения производного антитела в терапии при определенных условиях и т.д.

5 Согласно другому варианту реализации настоящего изобретения, предложены конъюгаты антитела и небелкового фрагмента, которые могут быть селективно нагреты под действием излучения. Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения, небелковый фрагмент представляет собой углеродную нанотрубку (Kam et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102: 11600-11605 (2005)). Излучение может иметь любую
10 длину волны и включает, но не ограничивается ими, длины волн, которые не повреждают обычные клетки, но которые нагревают небелковые фрагменты до температуры, при которой происходит гибель клеток, расположенных проксимально относительно конъюгата антитело-небелковый фрагмент.

В. Рекомбинантные способы и композиции

15 Антитела могут быть получены с использованием рекомбинантных способов и композиций, например, раскрытых в патенте США №4816567. Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения, предложена выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая антитело к Jagged, раскрытое в настоящей заявке. Такая нуклеиновая кислота может кодировать аминокислотную последовательность,
20 содержащую VL, и/или аминокислотную последовательность, содержащую VH антитела (например, легкую и/или тяжелую цепи антитела). В другом варианте реализации предложен один или более векторов (например, векторы экспрессии), содержащих такие нуклеиновые кислоты. В другом варианте реализации предложена клетка-хозяин, содержащая такую нуклеиновую кислоту. Согласно другому варианту реализации
25 настоящего изобретения, клетка-хозяин содержит (например, была трансформирована указанным далее вектором): (1) вектор, содержащий нуклеиновую кислоту, которая кодирует аминокислотную последовательность, содержащую VL антитела, и аминокислотную последовательность, содержащую VH антитела, или (2) первый вектор, содержащий нуклеиновую кислоту, которая кодирует аминокислотную
30 последовательность VL антитела, и второй вектор, содержащий нуклеиновую кислоту, которая кодирует аминокислотную последовательность VH антитела. Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения, клетка-хозяин является эукариотической, например, представляет собой клетку яичника китайского хомяка (СНО) или лимфоидную клетку (например, клетку линии Y0, NS0, Sp20). Согласно
35 одному из вариантов реализации настоящего изобретения, предложен способ получения антитела к Jagged, причем указанный способ включает культивирование клетки-хозяина, содержащей нуклеиновую кислоту, кодирующую антитело, предложенное выше, в условиях, подходящих для экспрессии антитела, и возможно выделение антитела из клетки-хозяина (или из среды культивирования клетки-хозяина).

40 Для получения антитела к Jagged с помощью рекомбинантных способов нуклеиновую кислоту, кодирующую антитело, например, раскрытое выше, выделяют и встраивают в один или более векторов для дальнейшего клонирования и/или экспрессии в клетке-хозяине. Такая нуклеиновая кислота может быть легко выделена и секвенирована с использованием стандартных методик (например, с использованием олигонуклеотидных
45 зондов, которые способны специфически связываться с генами, кодирующими тяжелые и легкие цепи антитела).

Клетки-хозяева, пригодные для клонирования или экспрессии векторов, кодирующих антитела, включают прокариотические или эукариотические клетки, раскрытые в

настоящей заявке. Например, антитела могут вырабатываться в бактериальных клетках, в частности, в том случае, если гликозилирование и эффекторные функции области Fc не требуются. Информацию в отношении экспрессии фрагментов антител и полипептидов в бактериальных клетках см., например, в патентах США №№5648237, 5789199 и 5840523 (см. также работы Charlton, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (В.К.С. Lo, ed., Humana Press, Тотова, Нью-Джерси, 2003), стр. 245-254, в которой описана экспрессия фрагментов антител в *E.coli*). После экспрессирования антитело может быть выделено из бактериальной клеточной массы в виде растворимой фракции и может быть дополнительно очищено.

Помимо прокариотических микроорганизмов, эукариотические микроорганизмы, такие как нитчатые грибы или дрожжи, являются пригодными хозяевами для клонирования или экспрессии векторов, кодирующих антитела, включая грибы и штаммы дрожжей, у которых была осуществлена гуманизация путей гликозилирования, что обеспечило получение антител, характер гликозилирования которых частично или полностью соответствует таковому у человека. См. работы Gerngross, *Nat. Biotech.* 22: 1409-1414 (2004), и Li et al., *Nat. Biotech.* 24:210-215 (2006).

Клетки-хозяева, пригодные для экспрессии гликозилированного антитела, также получают из многоклеточных организмов (беспозвоночных и позвоночных). Примеры клеток беспозвоночных включают клетки растений и насекомых. Были идентифицированы многочисленные штаммы бакуловирусов, которые можно применять в комбинации с клетками насекомых, в частности, для трансфекции клеток *Spodoptera frugiperda*.

Культуры клеток растений также можно применять в качестве хозяев. См., например, патенты США №№5959177, 6040498, 6420548, 7125978 и 6417429 (в которых раскрыта технология PLANTIBODIES™ для получения антител в трансгенных растениях).

Клетки позвоночных также можно применять в качестве хозяев. Например, пригодными клетками-хозяевами могут быть линии клеток млекопитающих, приспособленные к размножению в суспензии. Другие примеры пригодных клеток-хозяев млекопитающих включают линию клеток почки обезьяны CV1, трансформированных вирусом SV40 (COS-7); линию клеток мезонефроса человека (293 или клетки 293, как описано, например, в работе Graham et al., *J. Gen Virol.* 36:59 (1977)); линию клеток почки новорожденного хомяка (BHK); клетки Сертоли мыши (клетки линии TM4, как описано, например, в работе Mather, *Biol. Reprod.* 23:243-251 (1980); клетки почки обезьяны (CV1); клетки почки африканской зеленой мартышки (VERO-76); клетки карциномы шейки матки человека (HELA); клетки почки собаки (MDCK; клетки печени серой крысы (BRL 3A); клетки легких человека (W138); клетки печени человека (Hep G2); клетки опухоли молочной железы мыши (MMT 060562); клетки линии TRI, как описано, например, в работе Mather et al., *Annals NY. Acad. Sci.* 383:44-68 (1982); клетки линии MRC 5; и клетки линии FS4. Другие пригодные линии клеток-хозяев млекопитающих включают клетки яичника китайского хомяка (CHO), включая линию клеток DHFR⁻ CHO (Urlaub et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216 (1980)); и линии клеток миеломы, такие как Y0, NS0 и Sp2/0. Для обзора некоторых линий клеток-хозяев млекопитающих, пригодных для получения антител, см., например, работу Yazaki and Wu, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (В.К.С. Lo, ed., Humana Press, Тотова, Нью-Джерси), стр. 255-268 (2003).

С. Количественные исследования

Антитела к Jagged, предложенные в настоящей заявке, могут быть идентифицированы, подвергнуты скринингу или исследованы для определения их физических/химических

свойств и/или биологической активности с помощью различных способов количественных исследований, известных в данной области техники.

1. Исследования связывания и другие количественные исследования

В одном аспекте антитело согласно настоящему изобретению исследуют для определения активности связывания с антигеном, например, с помощью известных методов, таких как твердофазный иммуноферментный анализ (ИФА), Вестерн-блот и т.д.

Согласно другому аспекту исследования конкурентного связывания можно применять для идентификации антитела, которое конкурирует за связывание с Jagged1 человека или мыши с антителом А, А-1, А-2, С, С-1, D, D-1, D-2, D-3, D-4 и D-5. Согласно другому аспекту исследования конкурентного связывания можно применять для идентификации антитела, которое конкурирует за связывание с Jagged2 человека или мыши с антителом В, В-1, В-2, В-3, С, С-1, D, D-1, D-2, D-3, D-4 и D-5. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, такое конкурирующее антитело связывается с тем же эпитопом (например, линейным или конформационным эпитопом), с которым связывается антитело А, А-1, А-2, В, В-1, В-2, В-3, С, С-1, D, D-1, D-2, D-3, D-4 или D-5.

Подробное описание типичных способов картирования эпитопа, с которым связывается антитело, приведено в работе Morris (1996) «Epitope Mapping Protocols,») in Methods in Molecular Biology vol. 66 (Humana Press, Тотова, Нью-Джерси).

В соответствии с типичным способом исследования конкурентного связывания иммобилизованный Jagged1 или Jagged2 инкубируют в растворе, содержащем первое меченое антитело, которое связывается с Jagged1 или Jagged2 (например, А, А-1, А-2, В, В-1, В-2, В-3, С, С-1, D, D-1, D-2, D-3, D-4 или D-5), и второе немеченое антитело, способность которого конкурировать с первым антителом за связывание с Jagged1 или Jagged2 исследуют. Второе антитело может присутствовать в супернатанте гибридомы. В качестве контроля иммобилизованный Jagged1 или Jagged2 инкубируют в растворе, содержащем первое меченое антитело, но без второго немеченого антитела. После инкубации в условиях, обеспечивающих связывание первого антитела с Jagged1 или Jagged2, избыток несвязанного антитела удаляют, и измеряют количество метки, связанной с иммобилизованным Jagged1 или Jagged2. Если в исследуемом образце количество метки, связанной с иммобилизованным Jagged1 или Jagged2, существенно снижено по сравнению с контрольным образцом, это указывает на то, что второе антитело конкурирует с первым антителом за связывание с Jagged1 или Jagged2. См. работу Harlow and Lane (1988) Antibodies: A Laboratory Manual ch. 14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Колд Спринг Харбор, Нью-Йорк).

2. Количественные исследования активности

Согласно одному из аспектов настоящего изобретения, предложены методы количественных исследований для выявления антител к Jagged, обладающих биологической активностью. Биологическая активность может включать, например, ингибирование Jagged1- или Jagged2-индуцированной передачи сигналов в клетках посредством рецептора Notch, например, ингибирование Jagged1-индуцированной передачи сигналов посредством Notch1. Типичный метод количественного исследования приведен в примерах. В некоторых других вариантах реализации исследовали способность антитела согласно настоящему изобретению ингибировать экспрессию гена-репортера, который чувствителен к Jagged1-индуцированной передаче сигналов посредством рецептора Notch. Типичный метод количественного исследования приведен в примерах. В некоторых вариантах реализации исследуют наличие у антитела согласно настоящему изобретению такого вида биологической активности. В настоящем

изобретении также предложены антитела, обладающие таким видом биологической активности в условиях *in vivo* и/или *in vitro*.

D. Иммуноконъюгаты

В настоящем изобретении также предложены иммуноконъюгаты, содержащие антитело к Jagged согласно настоящему описанию, которое конъюгировано с одним или более цитотоксических агентов, таких как химиотерапевтические агенты или лекарственные средства, ингибирующие рост агенты, токсины (например, белковые токсины, обладающие ферментативной активностью токсины бактериального, грибкового, растительного или животного происхождения или их фрагменты) или радиоактивные изотопы.

Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения, иммуноконъюгат представляет собой конъюгат антитело-лекарственное средство (ADC), в котором антитело конъюгировано с одним или более лекарственных средств, включая, но не ограничиваясь ими, майтансиноид (см. патенты США 5208020, 5416064 и Европейский патент EP 042 235 B1); ауристин, такой как фрагменты монометилауристатина DE и DF (MMAE и MMAF) (см. патенты США 5635483 и 5780588, и 7498298); доластатин; калихеамицин или его производное (см. патенты США 5712374, 5714586, 5739116, 5767285, 5770701, 5770710, 5773001 и 5877296; Hinman et al., Cancer Res. 53:3336-3342 (1993); и Lode et al., Cancer Res. 58:2925-2928 (1998)); антрациклин, такой как дауномицин или доксорубицин (см. Kratz et al., Current Med. Chem. 13:477-523 (2006); Jeffrey et al., Bioorganic & Med. Chem. Letters 16:358-362 (2006); Torgov et al., Bioconj. Chem. 16:717-721 (2005); Nagy et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97:829-834 (2000); Dubowchik et al., Bioorg. & Med. Chem. Letters 12:1529-1532 (2002); King et al., J. Med. Chem. 45:4336-4343 (2002); и патент США №6630579); метотрексат; виндезин; таксан, такой как доцетаксел, паклитаксел, ларотаксел, тезетаксел, ортатаксел; трихотексин; и CC1065.

Согласно другому варианту реализации иммуноконъюгат содержит антитело, описанное в настоящей заявке, конъюгированное с обладающим ферментативной активностью токсином или его фрагментом, включая, но не ограничиваясь ими, цепь А дифтерийного токсина, несвязывающиеся активные фрагменты дифтерийного токсина, цепь А экзотоксина (из *Pseudomonas aeruginosa*), цепь А рицина, цепь А абрина, цепь А модекцина, альфа-сарцин, белки из *Aleurites fordii*, диантиновые белки, белки из *Phytolaca Americana* (PAPI, PAPPI и PAP-S), ингибитор из Момордики харантской, курцин, кротин, ингибитор из *Saponaia officinalis*, гелонин, митогеллин, рестриктоцин, феномицин, эномицин и трикотецены.

Согласно другому варианту реализации настоящего изобретения, иммуноконъюгат содержит антитело, описанное в настоящей заявке, конъюгированное с радиоактивным атомом с образованием радиоконъюгата. Различные радиоактивные изотопы доступны для получения радиоконъюгатов. Примеры включают At^{211} , I^{131} , I^{125} , Y^{90} , Re^{186} , Re^{188} , Sm^{153} , Bi^{212} , P^{32} , Pb^{212} и радиоактивные изотопы Lu. В случае использования радиоконъюгата для детектирования, он может содержать радиоактивный атом для скинтиграфических исследований, например Tc^{99m} или I^{123} , или спиновую метку для визуализации методом ядерного магнитного резонанса (ЯМР) (также известным как магнитно-резонансная томография, МРТ), такую как йод-123, йод-131, индий-111, фтор-19, углерод-13, азот-15, кислород-17, гадолиний, марганец или железо.

Конъюгаты антитела и цитотоксического агента могут быть получены с использованием ряда бифункциональных агентов, связывающих белки, таких как N-сукцинимидил-3-(2-пиридилдитио)пропионат (SPDP), сукцинимидил-4-(N-

малеимидометил)циклогексан-1-карбоксилат (SMCC), иминотиолан (ИТ), бифункциональные производные имидоэфиров (такие как диметиладипимидат HCl), активные сложные эфиры (такие как дисукцинимидилсуберат), альдегиды (такие как глутаровый альдегид), бис-азидо производные (такие как бис-(п-азидобензоил) гександиамин), производные бис-диазония (такие как бис-(п-диазобензоил) этилендиамин), диизоцианаты (такие как толуол-2,6-диизоцианат) и активные бис-соединения фтора (такие как 1,5-дифтор-2,4-динитробензол). Например, иммунотоксин ризин может быть получен, как описано в работе Vitetta et al., Science 238:1098 (1987). Меченая изотопом углерода-14 1-изотиоцианатбензил-3-метилдиэтилен

10 триаминпентауксусная кислота (MX-DTPA) является примером хелатирующего агента для конъюгации радионуклида с антителом. См. WO 94/11026. Линкер может представлять собой «расщепляемый линкер», облегчающий высвобождение цитотоксического лекарственного средства в клетке. Например, может быть использован

15 кислотолabile линкер, чувствительный к пептидазе линкер, фотолabile линкер, диметиловый линкер или дисульфид-содержащий линкер (Chari et al., Cancer Res. 52:127-131 (1992); патент США №5208020).

В настоящей заявке иммуноконъюгаты и ADC явным образом включают, но не ограничиваются ими, конъюгаты, полученные с использованием сшивающих реагентов, включая, но не ограничиваясь ими, BMPS, EMCS, GMBS, HBVS, LC-SMCC, MBS, MPBH,

20 SBAP, SIA, SIAB, SMCC, SMPB, SMPH, сульфо-EMCS, сульфо-GMBS, сульфо-KMUS, сульфо-MBS, сульфо-SIAB, сульфо-SMCC и сульфо-SMPB и SVSB (сукцинимидил-(4-винилсульфон)бензоат), которые коммерчески доступны (например, от Pierce Biotechnology, Inc., Рокфорд, Иллинойс, США).

Е. Способы и композиции для диагностики и детектирования

25 Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, любое из антител к Jagged1, предложенных в настоящей заявке, пригодно для детектирования наличия Jagged1 в биологическом образце. В некоторых вариантах реализации любое из антител к Jagged2, предложенных в настоящей заявке, пригодно для детектирования

30 наличия Jagged2 в биологическом образце. В настоящей заявке термин «детектирование» включает количественное или качественное детектирование. В некоторых вариантах реализации термин «биологический образец» включает, например, клетку или ткани, такие как раковые ткани.

Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения, предложено антитело к Jagged для применения в соответствии со способами диагностики или

35 детектирования. Согласно другому аспекту, предложен способ детектирования наличия Jagged1 в биологическом образце. Согласно другому аспекту предложен способ детектирования наличия Jagged2 в биологическом образце. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, способ включает приведение биологического образца в контакт с антителом к Jagged1 или антителом к Jagged2,

40 раскрытым в настоящей заявке, в условиях, которые обеспечивают связывание антитела к Jagged1 с Jagged1 или антитела к Jagged2 с Jagged2, соответственно, с последующим детектированием образования комплекса между антителом к Jagged1 и Jagged1, или между антителом к Jagged2 и Jagged2. Такой способ может быть осуществлен в условиях in vitro или in vivo. Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения,

45 антитело к Jagged1 применяют для отбора субъектов, удовлетворяющих критериям для получения терапии антителом к Jagged1, например, если Jagged1 является биомаркером для отбора пациентов. Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения, антитело к Jagged2 применяют для отбора субъектов, удовлетворяющих

критериям для получения терапии антителом к Jagged2, например, если Jagged2 является биомаркером для отбора пациентов.

Примеры заболеваний, которые могут быть диагностированы с использованием антитела согласно настоящему изобретению, включают рак, например, рак молочной железы, рак легких, рак мозга, рак шейки матки, рак толстой кишки, рак печени, рак желчных протоков, рак поджелудочной железы, рак кожи, В-клеточные злокачественные новообразования и Т-клеточные злокачественные новообразования.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, предложены меченые антитела к Jagged. Метки включают, но не ограничиваются ими, метки или фрагменты, которые детектируют непосредственно (например, флуоресцентные, хромофорные, электронно-плотные, хемилюминесцентные и радиоактивные метки), а также фрагменты, такие как ферменты или лиганды, которые детектируют косвенно, например, с помощью ферментативной реакции или молекулярного взаимодействия.

Типичные метки включают, но не ограничиваются ими, радиоизотопы ^{32}P , ^{14}C , ^{125}I , ^3H и ^{131}I , флуорофоры, такие как хелаторы редкоземельных металлов или флуоресцеин и его производные, родамин и его производные, дансил, умбеллиферон, люциферазы, например, люциферазу светлячка и бактериальную люциферазу (патент США №4737456), люциферин, 2,3-дигидрофалазиндионы, пероксидазу хрена (ПХ), щелочную фосфатазу, β -галактозидазу, глюкоамилазы, лизоцим, оксидазы сахаридов, например, глюкозооксидазу, галактозооксидазу и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназу, гетероциклические оксидазы, такие как уриказа и ксантиноксидаза, в комбинации с ферментом, который использует пероксид водорода для окисления предшественника красителя, таким как ПХ, лактопероксидаза или микропероксидаза, биотин/авидин, спиновые метки, метки бактериофагов, стабильные свободные радикалы и т.п.

Г. Фармацевтические составы

Фармацевтические составы, содержащие антитело к Jagged, раскрытое в настоящей заявке, получают в виде лиофилизированных составов или водных растворов путем смешивания такого антитела, имеющего желаемую степень чистоты, с одним или более возможными фармацевтически приемлемыми носителями (Remington's Pharmaceutical Sciences, 16-е изд., под ред. Osol, A. (1980)). Фармацевтически приемлемые носители в целом являются нетоксичными для реципиентов в используемых дозах и концентрациях и включают, но не ограничиваются ими: буферы, например, на основе фосфатов, цитратов и других органических кислот; антиоксиданты, включая аскорбиновую кислоту и метионин; консерванты (такие как хлорид октадецилдиметилбензиламмония; хлорид гексаметония; хлорид бензалкония; хлорид бензетония; фенол, бутиловый или бензиловый спирт; алкилпарабены, такие как метил- или пропилпарабен; катехол; резорцин; циклогексанол; 3-пентанол; и м-крезол); низкомолекулярные (менее приблизительно 10 остатков) полипептиды; белки, такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; аминокислоты, такие как глицин, глутамин, аспарагин, гистидин, аргинин или лизин; моносахариды, дисахариды и другие углеводы, включая глюкозу, маннозу или декстрины; хелатирующие агенты, такие как ЭДТА; сахара, такие как сахароза, маннит, трегалоза или сорбит; образующие соль противоионы, такие как натрий; комплексы металлов (например, Zn-белковые комплексы); и/или неионные поверхностно-активные вещества, такие как полиэтиленгликоль (ПЭГ). Примеры фармацевтически приемлемых носителей согласно настоящему изобретению дополнительно включают интерстициальные агенты для облегчения дисперсии лекарственного средства, такие как растворимые нейтрально-активные гликопротеины

гиалуронидазы (sHASEGP), например, растворимые гликопротеины гиалуронидазы PH-20 человека, такие как rHuPH20 (HYLENEX[®], Baxter International, Inc.). Некоторые примеры sHASEGPs и способы их применения, включая rHuPH20, раскрыты в публикациях патентных заявок США 2005/0260186 и 2006/0104968. В одном аспекте sHASEGP комбинируют с одним или более дополнительными гликозаминогликаназами, такими как хондроитиназы.

Примеры составов, содержащих лиофилизированное антитело, раскрыты в патенте США №6267958. Водные составы антитела включают те, которые раскрыты в патенте США №6171586 и WO 2006/044908, последние составы включают гистидин-ацетатный буфер.

Состав согласно настоящему изобретению также может содержать более одного действующего вещества, если это требуется для лечения конкретного состояния, предпочтительно те, виды дополнительной активности которых не оказывают взаимного отрицательного влияния. Например, может быть желательным обеспечить дополнительный цитотоксический агент, например, химиотерапевтический агент. Такие активные ингредиенты предпочтительно присутствуют в комбинации в количествах, которые эффективны для реализации предполагаемой цели применения.

Действующие вещества могут быть заключены в микрокапсулы, полученные, например, с помощью методики коацервации или межфазной полимеризации, например, микрокапсулы из гидроксиметилцеллюлозы или желатина и полиметилметакрилата, соответственно, в коллоидные системы для доставки лекарственных средств (например, липосомы, альбуминовые микросферы, микроэмульсии, наночастицы и микрокапсулы) или в макроэмульсии. Такие методики раскрыты в Remington's Pharmaceutical Sciences, 16-е изд., под ред. Osol, A. (1980).

Могут быть получены препараты с пролонгированным высвобождением. Подходящие примеры препаратов с пролонгированным высвобождением включают полупроницаемые носители из твердых гидрофобных полимеров, содержащие антитело, в которых носители находятся в виде формованных изделий, например, пленок или микрокапсул.

Составы, которые будут применять для введения в условиях *in vivo*, обычно являются стерильными. Стерильность может быть легко достигнута, например, путем фильтрации через стерильные фильтрующие мембраны.

G. Терапевтические способы и композиции

Любое из антител к Jagged, предложенных в настоящей заявке, можно применять в терапевтических способах.

Согласно одному из аспектов настоящего изобретения, предложено антитело к Jagged для применения в качестве лекарственного средства. В других аспектах предложено антитело к Jagged1 для применения в лечении заболевания или расстройства, связанного с нарушением передачи сигналов посредством рецептора Notch, например, рака.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, предложено антитело к Jagged1 для применения в соответствии со способом лечения. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, предложено антитело к Jagged1 для применения в соответствии со способом лечения субъекта, страдающего раком, включающим введение субъекту эффективного количества антитела к Jagged1. В одном указанном варианте реализации способ дополнительно включает введение субъекту эффективного количества по меньшей мере одного дополнительного терапевтического агента, например, описанного ниже. Согласно другим аспектам настоящего изобретения, предложено антитело к Jagged2 для применения в лечении

рака. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, предложено антитело к Jagged2 для применения в соответствии со способом лечения. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, предложено антитело к Jagged2 для применения в соответствии со способом лечения субъекта, страдающего раком, который включает введение субъекту эффективного количества антитела к Jagged2. Согласно одному указанному варианту реализации способ дополнительно включает введение субъекту эффективного количества по меньшей мере одного дополнительного терапевтического агента, например, описанного ниже.

Согласно другим вариантам реализации настоящего изобретения, предложено антитело к Jagged для применения в ингибировании роста клеток рака легких. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, предложено антитело к Jagged1 для применения в соответствии со способом уменьшения роста рака легких у субъекта, который включает введение субъекту эффективного количества антитела к Jagged1 для уменьшения роста рака легких. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, предложено антитело к Jagged2 для применения в соответствии со способом уменьшения роста рака легких у субъекта, который включает введение субъекту эффективного количества антитела к Jagged2 для уменьшения роста рака легких. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, предложено антитело к Jagged1 для применения в соответствии со способом уменьшения роста рака молочной железы у субъекта, который включает введение субъекту эффективного количества антитела к Jagged1 для уменьшения роста рака молочной железы. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, предложено антитело к Jagged2 для применения в соответствии со способом уменьшения роста рака молочной железы у субъекта, который включает введение субъекту эффективного количества антитела к Jagged2 для уменьшения роста рака молочной железы. «Индивидуум» согласно любому из указанных выше вариантов реализации предпочтительно представляет собой человека.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения, предложено применение антитела к Jagged для изготовления или получения лекарственного средства. Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения, лекарственное средство предназначено для лечения заболевания или расстройства, связанного с нарушением передачи сигналов посредством рецептора Notch. Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения, лекарственное средство предназначено для лечения рака. В другом варианте реализации настоящего изобретения лекарственное средство предназначено для применения в соответствии со способом лечения рака, включающим введение субъекту, страдающему раком, эффективного количества лекарственного средства. В одном указанном варианте реализации способ дополнительно включает введение субъекту эффективного количества по меньшей мере одного дополнительного терапевтического агента, например, описанного ниже. «Индивидуум» согласно любому из вышеупомянутых вариантов реализации может быть человеком.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения, предложен способ лечения заболевания или расстройства, связанного с нарушением передачи сигналов посредством рецептора Notch. Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения, способ включает введение субъекту, страдающему таким заболеванием или расстройством, эффективного количества антитела к Jagged. Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения, способ включает введение субъекту, страдающему раком, эффективного количества антитела к Jagged1. Согласно одному указанному варианту реализации способ дополнительно включает введение субъекту

эффективного количества по меньшей мере одного дополнительного терапевтического агента, описанного ниже. Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения, способ включает введение субъекту, страдающему раком, эффективного количества антитела к Jagged2. Согласно одному указанному варианту реализации

5 способ дополнительно включает введение субъекту эффективного количества по меньшей мере одного дополнительного терапевтического агента, описанного ниже. «Индивидуум» согласно любому из вышеупомянутых вариантов реализации может быть человеком.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения, предложен способ ингибирования

10 роста раковых клеток у субъекта. Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения, способ включает введение субъекту эффективного количества антитела к Jagged1 или антитела к Jagged2 для ингибирования роста раковых клеток. Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения, «индивидуум» представляет собой человека.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения, предложены фармацевтические составы, содержащие любое из антител к Jagged, предложенных в настоящей заявке, например, для применения в любом из предложенных выше терапевтических способов. Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения, фармацевтический состав содержит любое из антител к Jagged, предложенных в настоящей заявке, и

15 фармацевтически приемлемый носитель. Согласно другому варианту реализации настоящего изобретения фармацевтический состав содержит любое из антител к Jagged, предложенных в настоящей заявке, и по меньшей мере один дополнительный терапевтический агент, например, описанный ниже.

Антитела согласно настоящему изобретению можно применять в терапии по

25 отдельности или в комбинации с другими агентами. Например, антитело согласно настоящему изобретению можно вводить совместно по меньшей мере с одним дополнительным терапевтическим агентом. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения дополнительный терапевтический агент представляет собой цитотоксический агент. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего

30 изобретения дополнительный терапевтический агент представляет собой антитело.

Комбинированные схемы терапии, упомянутые выше, включают комбинированное введение (при котором два или более терапевтических агентов включены в один и тот же или в разные составы), и раздельное введение, в случае которого введение антитела согласно настоящему изобретению может иметь место до, одновременно, и/или после

35 введения дополнительного терапевтического агента или агентов. Согласно одному из вариантов реализации настоящего изобретения введение антитела к Jagged и введение дополнительного терапевтического агента осуществляют с интервалом равным приблизительно один месяц, или одну, две или три недели, или приблизительно один, два, три, четыре, пять или шесть дней. Антитела согласно настоящему изобретению

40 также можно применять в комбинации с лучевой терапией.

Антитело согласно настоящему изобретению (и любой дополнительный терапевтический агент) можно вводить с помощью любых подходящих способов, включая парентеральное, внутрилегочное и интраназальное, и, если желательно для местного лечения, внутриочаговое введение. Парентеральные инфузии включают

45 внутримышечное, внутривенное, внутриартериальное, внутрибрюшинное или подкожное введение. Дозирование можно осуществлять любым подходящим способом, например, путем инъекций, например, внутривенных или подкожных инъекций, отчасти в зависимости от того, является введение кратковременным или длительным. Различные

схемы дозирования, включая, но не ограничиваясь ими, однократное или многократное введение в течение различных периодов времени, болюсное введение и импульсную инфузию, включены в область настоящего изобретения.

Антитела согласно настоящему изобретению могут быть приготовлены, дозированы и введены способом, который соответствует требованиям надлежащей медицинской практики. Факторы, которые следует учитывать применительно к этим этапам, включают конкретное заболевание, которое лечат, конкретное млекопитающее, которое лечат, клиническое состояние конкретного пациента, причину заболевания, место доставки агента, способ введения, схему введения и другие факторы, известные практикующим врачам. Состав, содержащий антитело, возможно может быть приготовлен с добавлением одного или более агентов, используемых в настоящее время для предотвращения или лечения рассматриваемого заболевания, либо может быть приготовлен без них. Эффективное количество других агентов зависит от количества антитела, присутствующего в составе, типа заболевания или лечения и других факторов, описанных выше. В целом, такие агенты используют в тех же дозах и вводят с помощью способов, раскрытых в настоящей заявке, или в дозах, составляющих приблизительно от 1 до 99% от величин доз, раскрытых в настоящей заявке, или в любой дозировке и любым способом, который является подходящим, согласно определению эмпирическим путем или в клинической практике.

Соответствующая доза антитела согласно настоящему изобретению для профилактики или лечения заболевания (при использовании по отдельности или в комбинации с одним или более другими дополнительными терапевтическими агентами) будет зависеть от типа заболевания, подлежащего лечению, типа антитела, степени тяжести и течения заболевания, от того, вводят антитело для профилактических или терапевтических целей, предшествующей терапии, истории болезни пациента и его терапевтического ответа на антитело, а также решения лечащего врача. Антитело подходящим образом вводят пациенту однократно или в течение серии введений. В зависимости от типа и степени тяжести заболевания от приблизительно 1 мкг/кг до 15 мг/кг (например, от 0,1 мг/кг до 10 мг/кг) антитела может быть использовано в качестве начальной дозы для введения пациенту, независимо от способа введения, например, в виде отдельных однократных или многократных введений или путем непрерывной инфузии. Одна из типичных суточных дозировок может варьироваться от приблизительно 1 мкг/кг до 100 мг/кг или более, в зависимости от указанных выше факторов. В случае многократных введений в течение нескольких дней или более, в зависимости от состояния, лечение обычно может быть длительным, до достижения желаемой степени подавления симптомов заболевания. Одна из типичных дозировок антитела может варьироваться от приблизительно 0,05 мг/кг до приблизительно 10 мг/кг. Таким образом, пациенту может быть введена одна или более доз равных приблизительно 0,5 мг/кг, 2,0 мг/кг, 4,0 мг/кг или 10 мг/кг (или любая их комбинация). Такие дозы могут быть введены с перерывами, например, каждую неделю или каждые три недели (например, так, что пациент получает от приблизительно двух до приблизительно двадцати, или, например, приблизительно шесть доз антитела). Может быть введена более высокая начальная нагрузочная доза с последующим введением одной или нескольких более низких доз. Типичная схема дозирования включает введение начальной нагрузочной дозы 4 мг/кг с последующим еженедельным введением поддерживающей дозы 2 мг/кг антитела. Однако другие схемы дозирования также могут быть пригодными. Прогресс этой терапии легко контролировать с помощью стандартных методик и количественных исследований.

Следует понимать, что любой из предложенных выше составов или терапевтических способов может быть осуществлен с применением иммуноконъюгата согласно настоящему изобретению вместо или в комбинации с антителом к Jagged.

3. Готовые изделия

Согласно другому аспекту настоящего изобретения настоящего изобретения, предложено готовое изделие, содержащее материалы, пригодные для лечения, профилактики и/или диагностики заболеваний, описанных выше. Готовое изделие содержит контейнер и этикетку или вкладыш в упаковку, расположенный на контейнере или относящийся к нему. Пригодные контейнеры включают, например, бутылки, флаконы, шприцы и пакеты для внутривенного введения и т.д. Контейнеры могут быть изготовлены из различных материалов, таких как стекло или пластик. Контейнер содержит композицию, которая сама по себе или в комбинации с другой композицией является эффективной для лечения, профилактики и/или диагностики состояния, и может иметь стерильное входное отверстие (например, контейнер может представлять собой пакет для внутривенного раствора или флакон, имеющий пробку, прокалываемую иглой для подкожной инъекции). По меньшей мере одно действующее вещество в композиции представляет собой антитело согласно настоящему изобретению. На этикетке или вкладыше в упаковку указано, что композицию следует применять для лечения выбранного состояния. Готовое изделие также может включать (а) первый контейнер с содержащейся в нем композицией, в котором композиция содержит антитело согласно настоящему изобретению; и (б) второй контейнер с содержащейся в нем композицией, в котором композиция содержит дополнительный цитотоксический агент или другой терапевтический агент. Готовое изделие в данном варианте реализации настоящего изобретения может дополнительно содержать вкладыш в упаковку, в котором указано, что композиции можно применять для лечения конкретного состояния. Альтернативно или дополнительно, готовое изделие может дополнительно содержать второй (или третий) контейнер, содержащий фармацевтически приемлемый буфер, такой как бактериостатическая вода для инъекций (BWI), забуференный фосфатом физиологический раствор, раствор Рингера и раствор декстрозы. Готовое изделие может дополнительно содержать другие материалы, которые являются желательными с коммерческой и потребительской точки зрения, включая другие буферы, разбавители, фильтры, иглы и шприцы.

Следует понимать, что любое из указанных выше готовых изделий может включать иммуноконъюгат согласно настоящему изобретению вместо или в комбинации с антителом к Jagged.

III. ПРИМЕРЫ

Ниже приведены примеры способов и композиций согласно настоящему изобретению. Следует понимать, что на практике могут быть применены различные другие варианты реализации с учетом общего описания, приведенного выше.

Пример 1. Получение антител к Jagged.

а) Сортировка и скрининг библиотеки для выявления антител к Jagged1/2 Фаговые библиотеки антител человека, содержащие синтетическое разнообразие в выбранных областях, определяющих комплементарность, имитирующие природное разнообразие репертуара IgG человека, использовали для пэннинга фрагментов Fab, экспрессированных на поверхности частиц бактериофага M13. В качестве антигена для сортировки библиотеки использовали Jag1-DSL-EGF1-4 (SEQ ID NO: 6) человека или Jag2-DSL-EGF1-4 (SEQ ID NO: 8) человека. 96-Луночные планшеты для иммунологических исследований MaxiSorp (Nunc) покрывали в течение ночи при 4°C

антигеном-мишенью (10 мкг/мл) и блокировали в течение 1 ч при комнатной температуре с использованием блокирующего буфера для фага ФСБТ (забуференный фосфатом физиологический раствор (ФСБ) с добавлением 1% (масс/об.) бычьего сывороточного альбумина (БСА) и 0,05% (об./об.) Tween-20). V_H (см., например, Lee et al., J. Immunol. Meth. 284:119-132 (2004)) и V_H/V_L (см. Liang et al., JMB. 366: 815-829 (2007)) из фаговых библиотек антител добавляли по отдельности к планшетах, покрытых антигеном-мишенью, и инкубировали в течение ночи при комнатной температуре. На следующий день планшеты, покрытые антигеном-мишенью, промывали десять раз буфером ФСБТ (ФСБ с добавлением 0,05% Tween-20), и связанный фаг элюировали 50 mM HCl и 500 mM NaCl в течение 30 мин и нейтрализовали равным объемом 1M Трис-основания (pH=7,5). Выделенные фаговые частицы размножали в штамме E. coli XL-1 Blue. В течение последующих раундов отбора инкубацию фаговых частиц, экспрессирующих антитело, с планшетами, покрытыми антигеном, уменьшали до 2-3 ч, и постепенно увеличивали жесткость условий промывки планшетов.

После 4 раундов пэннинга наблюдали значительное обогащение. По 96 клонов было получено в ходе сортировки библиотеки V_H и V_H/V_L, чтобы определить их способность специфически связываться с человеческим Jagged1 или Jagged2. Вариабельные области таких клонов секвенировали с помощью ПЦР, чтобы выявить клоны с уникальными последовательностями. Величины аффинности фаговых антител ранжировали с использованием точечного конкурентного ИФА. Значения ИК₅₀ фаговых антител дополнительно определяли с использованием конкурентного ИФА со связыванием фага. Уникальные фаговые антитела, которые специфически связываются с Jagged1 человека (но не с Jagged2), Jagged2 (но не с Jagged1), или с обоими Jagged1 и Jagged2, отбирали и преобразовывали в полноразмерный IgG для оценки в количественных исследованиях в условиях *in vitro*.

Клоны, представляющие интерес, преобразовывали в IgG путем клонирования областей V_L и V_H отдельных клонов в вектор экспрессии в клетках млекопитающих pRK (pRK.LPG3.HumanKappa), содержащий константный домен легкой каппа-цепи человека, и вектор экспрессии (pRK.LPG4.HumanHC), кодирующий константный домен полноразмерного IgG1 человека (Shields et al., J Biol Chem 2000; 276: 6591-6604), соответственно. После этого антитела временно экспрессировали в клетках млекопитающих линии CHO, и очищали на колонке с белком А.

б) Конструирование библиотек для улучшения аффинности клонов, полученных из библиотек областей V_H или V_H/V_L

Фагмиду pW0703, полученную из фагмиды pV0350-2b (Lee et al., J. Mol. Biol 340, 1073-1093 (2004), содержащую стоп-кодон (ТАА) в любом положении CDR-L3 и экспрессирующую одновалентный фрагмент Fab на поверхности бактериофага M13), использовали в качестве матрицы библиотеки для прививки вариабельных доменов тяжелой цепи (V_H) клонов, представляющих интерес, из библиотеки V_H для созревания аффинности. Для созревания аффинности использовали две стратегии рандомизации, в строгих и мягких условиях. Для рандомизации в строгих условиях одну библиотеку легких цепей с выбранными положениями трех CDR легкой цепи рандомизировали, используя аминокислоты, предназначенные для имитации природных антител человека, и сконструированное вырождение ДНК соответствовало таковому, описанному в работе Lee et al. (J. Mol. Biol 340, 1073-1093 (2004)). Для достижения мягких условий рандомизации, которые позволяют вводить приблизительно 50% частоту мутаций в выбранных положениях, мутагенную ДНК синтезировали с использованием смесей

оснований в соотношении 70-10-10-10, способствующих включению нуклеотидов дикого типа (Gallop et al., Journal of Medicinal Chemistry 37:1233-1251 (1994)). Для рандомизации в мягких условиях мишенями являлись остатки в положениях 91-96 из CDR-L3, 30-33, 35 из CDR-H1, 50, 52, 53-54 и 56 из CDR-H2, 95-98 из CDR-H3; и для рандомизации

отбирали три различные комбинации петель CDR, H1/L3, H2/L3 и H3/L3.

Для клонов, полученных из библиотеки V_H/V_L , фагмиды, содержащие 4 стоп-кодона (ТАА) в каждой CDR и экспрессирующие одновалентный фрагмент Fab на поверхности бактериофага M13, получали в индивидуальном порядке, и использовали в качестве матриц для мутагенеза по методу Кункеля (Kunkel), чтобы сконструировать библиотеки для созревания аффинности. Для клонов, полученных из библиотеки V_H/V_L , использовали только стратегию рандомизации в мягких условиях, поскольку разнообразие CDR-L3 было создано в наивной библиотеке. Для достижения мягких условий рандомизации в качестве мишеней использовали остатки в положениях 28-31 из CDR-L1, 50, 53-55 из CDR-L2, 91-96 из CDR-L3, 30-35 из CDR-H1, 50-56 из CDR-H2, 95-100 из CDR-H3; и для рандомизации отбирали четыре различные комбинации петель CDR, H1/L3*, H2/L3*, и H3/L3* и L1/L2/L3* (где * обозначает положение стоп-кодонов в матрице).

с) Стратегия сортировка фагов для улучшения аффинности

Для отбора фагов с улучшенной аффинностью антигена Jag1 или Jag2 сначала биотинилировали в условиях лимитирующей концентрации реагентов. Фаговые библиотеки подвергали одному раунду сортировки в планшетах и пяти раундам сортировки в растворе с увеличением жесткости условий. Для первого раунда сортировки планшеты Maxisorp сначала покрывали 10 мкг/мл антигена и предварительно блокировали с использованием блокирующего буфера (1% БСА и 0,05% Tween 20 в ФСБ). Фаговые частицы в блокирующем буфере при оптической плотности 3 OD/мл инкубировали в планшетах, покрытых антигеном-мишенью, в течение 3 часов. Лунки промывали десять раз ФСБ-0,05% Tween-20. Связанный фаг элюировали с использованием 150 мкл/лунку 50 мМ HCl, 500 мМ KCl в течение 30 минут, и затем нейтрализовали 50 мкл/лунку 1 М Трис, pH=8, титровали и размножали для следующего раунда. Для последующих раундов пэннинг фаговых библиотек проводили в растворе, в котором фаговую библиотеку инкубировали с 100 нМ биотинилированного белка-мишени (концентрация основана на значении ИК₅₀ исходного клона фага) в 100 мкл буфера, содержащего 1% Superblock (Pierce Biotechnology) и 0,05% Tween-20 в течение 2 ч при комнатной температуре. Смесь затем разбавляли в 10 раз с использованием 1% Superblock, и вносили по 100 мкл в лунки, покрытые нейтравидином (10 мкг/мл), инкубировали в течение 30 минут при комнатной температуре и осторожном встряхивании. Для того чтобы определить неспецифическое связывание содержимое контрольных лунок, содержащих фаг, связывали на планшетах, покрытых нейтравидином. Связанный фаг затем промывали, элюировали и размножали, как описано для первого раунда. Дополнительные пять раундов сортировки в растворе проводили при повышении жесткости условий отбора. Первые несколько раундов предназначены для отбора по скорости прямой реакции за счет уменьшения концентрации биотинилированного белка-мишени с 100 нМ до 0,1 нМ, и последние два раунда предназначены для отбора по скорости обратной реакции за счет добавления избыточного количества небитинилированного белка-мишени (от 300 до 1000 раз выше), чтобы обеспечить конкурирование с более слабыми партнерами по связыванию при комнатной температуре.

d) Высокопроизводительный ИФА для скрининга антител с улучшенной аффинностью (конкурентный однотоочный ИФА)

Колонии отбирали после шестого раунда отбора. Колонии выращивали в 96-луночном планшете (Falcon) в течение ночи при 37°C в 150 мкл/лунку среды 2YT с

добавлением 50 мкг/мл карбенициллина и 1×10^{10} /мл M13KO7. Из того же планшета в качестве контроля отбирали колонию клеток XL-1, инфицированных исходным фагом. 96-Луночные планшеты MaxiSorp Nunc покрывали 100 мкл/лунку Jag1 или Jag2 (0,5 мкг/мл) в ФСБ при 4°C в течение ночи. Планшеты блокировали 150 мкл 1% БСА и 0,05% Tween-20 в ФСБ в течение 1 часа.

По 35 мкл фагового супернатанта разводили в 75 мкл буфера для ИФА (твердофазный иммуноферментный анализ) (ФСБ с добавлением 0,5% БСА, 0,05% Tween-20) в присутствии или без 5 нМ Jag1 или Jag2, и инкубировали в течение 1 ч при комнатной температуре в F-планшете (Nunc). По 95 мкл смеси переносили одновременно в планшеты, покрытые антигеном. Планшет осторожно встряхивали в течение 15 мин и промывали десять раз в ФСБ-0,05% Tween-20. Связывание количественно оценивали путем добавления антител к M13, конъюгированных с пероксидазой хрена (ПХ), в буфере для ИФА (1:2500), и инкубировали в течение 30 минут при комнатной температуре. Планшеты промывали десять раз в ФСБ-0,05% Tween-20. Затем по 100 мкл/лунку субстрата пероксидазы вносили в лунки и инкубировали в течение 5 минут при комнатной температуре. Реакцию останавливали добавлением в каждую лунку по 100 мкл 0,1 М фосфорной кислоты (H_3PO_4) и инкубировали в течение 5 минут при комнатной температуре. Величину интенсивности желтого окрашивания, OD (оптическая плотность), в каждой лунке определяли с использованием стандартного планшет-ридера для ИФА при длине волны 450 нм. Для анализа последовательности выбирали клоны, величина OD_{450нм} которых снижалась (%) более чем на 50%, по сравнению с уменьшением величины OD_{450нм} (%) в лунках, содержащих исходный фаг (100%).

Уникальные клоны отбирали для получения фага, чтобы определить аффинность связывания (ИК₅₀ фага) в отношении Jag1 или Jag2 путем сравнения с соответствующими исходными клонами. После этого большинство клонов с улучшенной аффинностью преобразовывали в IgG1 человека для получения антител и последующего исследования кинетики связывания, используя систему VIAcore, и другие методы количественных исследований в условиях in vivo или in vitro.

Пример 2. Специфичное связывание антител, полученных против Jagged1 или Jagged2.

Антитела D-1 (ФИГ. 10А, левая панель) и С-1 (ФИГ. 10А, правая панель) исследовали для оценки связывания с рекомбинантными очищенными лигандами Notch, Jagged1 человека (hJag-1), Jagged2 человека (hJag-2), Jagged2 мыши (mJag-2), Delta-подобным лигандом 1 человека (hDLL1), Delta-подобным лигандом 1 мыши (mDLL1) и Delta-подобным лигандом 4 человека (hDLL4) с использованием стандартного твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА). Планшеты для ИФА покрывали белком-лигандом Notch в концентрации 1 мкг/мл в ФСБ, pH=7,4 (Nunc Maxisorp) при 40°C в течение ночи, включая Jagged1 человека, Jagged2 человека и мыши, Delta-подобный лиганд 1 человека и мыши (DLL-1). Планшеты блокировали казеиновым блокатором в ФСБ (Pierce) в течение одного часа при комнатной температуре. Серийные 3-кратные разведения IgG к Jagged1/2 в буфере ФСБТ (буфер ФБТ (ФСБ + 0,05% (0,6/0,6) Tween-20) с добавлением 0,5% (масс/об.) БСА) добавляли к планшетам и инкубировали в течение одного часа при комнатной температуре. Затем планшеты промывали ФСБТ, и связанные антитела детектировали с использованием IgG козы, конъюгированного с пероксидазой хрена,

специфичного в отношении человеческого фрагмента Fab (Sigma). Использовали субстрат ТМВ (3,3',5,5'-тетраметилбензидин), и поглощение при длине волны 650 нм считывали с использованием стандартного планшет-ридера для ИФА. Зависимость величины поглощения от концентрации IgG представляли в графической форме с использованием KaleidaGraph (Synergy Software). На ФИГ. 10А приведены результаты, согласно которым величина OD₄₅₀ на оси Y представляет степень связывания. Ни одно из антител,

полученных в первом раунде скрининга антител, описанном в примере 1, не распознавало селективно только Jagged1 или только Jagged2. D-1 связывается с Jagged1 человека и мыши, а также с Jagged2 человека и мыши (ФИГ. 10А, левая панель, данные не приведены). C-1 связывается с Jagged1 человека и мыши, Jagged2 человека и мыши и Delta-подобным лигандом 1 человека и мыши (рис. 10А, правая панель, данные не приведены). Ни одно из антител не связывалось с Delta-подобным лигандом 4 человека.

Дальнейшие раунды скрининга выявили антитела, специфичные только в отношении одного из членов семейства Jagged, согласно результатам определения методом ИФА.

Антитело А связывалось с Jagged1 человека и мыши, но не с Jagged2 (ФИГ. 10В).

Напротив, антитело В связывалось с Jagged2 человека и мыши, но не с Jagged1 (ФИГ. 10В). Антитело С-1 использовали в качестве контроля для связывания как с Jagged1, так и с Jagged2.

Пример 3. Определение величины аффинности связывания антител и картирование эпитопов

Величины аффинности связывания фаговых антител к Jagged1/2 измеряли с помощью поверхностного плазмонного резонанса (SRP), используя систему BIAcore™-3000.

Фаговые IgG человека к Jagged1/2 захватывали с помощью иммуноглобулина мыши против человеческого IgG, нанесенного на сенсорный чип CM5, чтобы достичь приблизительно 150 единиц ответа (RU). Для измерений кинетики двукратные серийные разведения Jag1/2 DSL EGF1-4 человека или мыши (от 1,95 нМ до 250 нМ) впрыскивали в буфере ФБТ (ФСБ с добавлением 0,05% Tween-20) при 25°C и скорости потока 30 мл/мин. Скорости прямой реакции (k_{on}) и скорости обратной реакции (k_{off}) рассчитывали

с использованием простой модели связывания Ленгмюра в соотношении один к одному (BIAcore Evaluation Software, версия 3.2). Равновесную константу диссоциации (K_d)

рассчитывали как отношение k_{off}/k_{on} .

На ФИГ. 11 приведены обобщенные данные по величинам констант связывания для связывания антител А, А-1, А-2, В, В-1, В-2, В-3, В-4, С, С-1, D, D-1 и D-2 с очищенным Jagged1 человека, Jagged2 человека и Jagged2 мыши. Исходное антитело А специфически

связывалось с Jagged1 человека и мыши (ФИГ. 11, и данные не приведены). Антитела с созревшей аффинностью А-1 и А-2 связывались с Jagged1 человека и Jagged1 мыши с высокой аффинностью (ФИГ. 11). Антитела А, А-1 и А-2 не связывались с Jagged2

человека или мыши (ФИГ. 11). Напротив, ни одно из антител В, В-1, В-2, В-3 или В-4 не связывалось с Jagged1 человека или мыши. Антитела с созревшей аффинностью В-1, В-2, В-3 или В-4 специфически связывались с Jagged2 человека и мыши (ФИГ. 11, и

данные не приведены). Антитела С, С-1, D, D-1, D-2, D-3, D-4 и D-5 связывались с Jagged1 и Jagged2 как человека, так и мыши (ФИГ. 11). В отношении Jagged1 связывание антител С, С-1, D, D-1, D-2, D-3, D-4 и D-5 картировали в фрагменте DSL-EGF1-4 Jagged1 в ходе

экспериментов с использованием ИФА с перекрестным блокированием.

Пример 4. Антитела-антагонисты к Jagged ингибируют Jagged1-индуцированную передачу сигналов в условиях *in vitro*.

Чтобы определить, могут ли антитела к Jagged действовать в качестве антагонистов

Jagged-индуцированной передачи сигналов посредством рецептора Notch, эксперименты с использованием смешанной культуры проводили по существу, как описано в работе Wu et al., Nature 464, 1052-1057 (15 апреля 2010). Клетки NIH-3T3, модифицированные для экспрессии Jagged1, в качестве лиганда Notch, культивировали совместно с клетками NIH-3T3, которые стабильно экспрессируют Notch1 и которые были временно трансфецированы для экспрессии Notch-чувствительного гена-репортера люциферазы светлячка TP-1 (12X CSL) и конститутивно экспрессировали ген-репортер люциферазы Renilla (pRL-CMV, Promega). В смешанной культуре наблюдали сильный сигнал гена-репортера Notch (люцифераза светлячка) (ФИГ. 12, J1-индуцированный положительный контроль). Экспрессия гена-репортера снижалась до фонового уровня при добавлении ингибитора γ -секретазы к смешанной культуре (ФИГ. 12, соединение E+), что указывало на Notch-зависимую экспрессию репортерной конструкции.

Добавление возрастающих количеств (0,4-50 мкг/мл) анти-Jagged антител С или D привело к дозозависимому ингибированию экспрессии репортера (ФИГ. 12, сравнить С и D с J1-индуцированным положительным контролем). В отличие от этого, изотипическое контрольное антитело, которое не распознает Jagged или Notch, не уменьшало существенно экспрессию гена-репортера (ФИГ. 12, изотипическое контрольное антитело). В совокупности эти результаты показывают, что антитела С и D действуют как антагонисты, то есть ингибируют Jagged1-опосредованную передачу сигналов посредством рецептора Notch, Notch1, в зависимости от дозы.

Аналогичные результаты были получены для антител с созревшей аффинностью, исследованных с использованием описанной выше смешанной культуры, для определения их способности ингибировать Jagged1-опосредованную передачу сигналов посредством Notch. Как и соответствующие исходные антитела С и D, антитела с созревшей аффинностью С-1, D-1, D-2, D-3, D-4 и D-5 ингибировали Jagged1-опосредованную передачу сигналов посредством Notch в зависимости от дозы, тогда как для изотипического контрольного антитела не наблюдали ингибирования (ФИГ. 13А).

Пример 5. Антитела-антагонисты к Jagged ингибируют Jagged1-индуцированную передачу сигналов в условиях *in vitro*.

Антитела С и D, а также их соответствующие производные с созревшей аффинностью, связываются с Jagged1 человека и мыши и Jagged2 человека и мыши (например, ФИГ. 10А). Чтобы определить, могут ли антитела, которые являются селективными в отношении только Jagged1 или только Jagged2, ингибировать Jagged1 и/или Jagged2-индуцированную передачу сигналов посредством Notch, соответственно, эксперименты с использованием смешанной культуры, описанной в примере 4, повторяли с использованием Jagged1-специфичного антитела А-2 или Jagged2-специфичного антитела В-3. Передачу сигналов индуцировали Jagged1 (ФИГ. 13В, темно-серые столбики) или Jagged2 (ФИГ. 13В, светло-серые столбики), и ингибирование определяли, как описано в примере 4, с использованием антител в концентрациях 0,016-50 мкг/мл. Контрольные эксперименты проводили с культурами, которые не стимулировали лигандом и не обрабатывали антителом (ФИГ. 13В, необработанные), не стимулировали лигандом (ФИГ. 13В, без стимулирования или 3ТЗР), обрабатывали изотипическим контрольным антителом в дозе 5-10 мкг/мл (ФИГ. 13В, agD или gD), стимулировали лигандом, но не обрабатывали антителом (Стим/без антитела или без антитела), обрабатывали 5 мкМ ингибитора гамма-секретазы, DAPT, или ДМСО, который использовали в качестве контроля носителя DAPT.

Антитело А-2 ингибировало Jagged1-индуцированную передачу сигналов, но не

Jagged2-индуцированную передачу сигналов, в зависимости от дозы (ФИГ. 13В, верхняя левая панель). Величины ИК₅₀ для А-2 находились в пределах от 2 до 10 мкг/мл в отношении ингибирования Jagged1, в то время как даже при самой высокой концентрации 50 мкг/мл наблюдали лишь незначительное ингибирование Jagged2 либо оно отсутствовало. Результаты показывают, что антитело А-2 является Jagged1-селективным антагонистом, т.е. антитело А-2 ингибирует Jagged1-опосредованную передачу сигналов, но не Jagged2-опосредованную передачу сигналов. Напротив, антитело В-3 активно ингибировало Jagged2-индуцированную передачу сигналов в самой низкой из исследованных концентраций, но не ингибировало Jagged1-индуцированную передачу сигналов в самой высокой из исследованных концентраций, это свидетельствует о том, что В-3 является Jagged1-селективным антагонистом (нижняя левая панель). Антитело С-1 ингибировало Jagged1- и Jagged2-индуцированную передачу сигналов в зависимости от дозы (правая верхняя панель). В совокупности эти результаты показывают, что А-2 и В-3 действуют как Jagged1- и Jagged2-селективные ингибиторы, соответственно, тогда как С-1 действует в качестве ингибитора как Jagged1, так и Jagged2.

Пример 6. Влияние лечения антителом к Jagged на массу тела.

Как описано выше, ингибиторы гамма-секретазы и другие ингибиторы некоторых рецепторов Notch вызывают потерю массы тела и метаплазию бокаловидных клеток кишечника, что является нежелательным явлением для клинического применения.

Чтобы определить, как антитела, описанные в настоящей заявке, влияют на массу тела и состояние кишечника, мышам вводили два раза в неделю антитело к Jagged1/2, антитело С-1 (5-10 мг антитела на кг массы тела мыши (мг/кг)), антитело к Jagged1, А-2 (5-20 мг/кг), антитело к Jagged2, антитело В-3 (5-20 мг/кг), комбинацию антител А-2 и В-3 (каждое по 5 мг/кг) или изотипическое контрольное антитело gD (20 мг/кг).

Изотипическое контрольное антитело также использовали, чтобы довести общую концентрацию антител при каждом дозировании до 20 мг/кг. Общую массу тела каждой мыши определяли перед первым введением антител и контролировали до 12-го дня исследования. Средние изменения массы тела показаны на ФИГ. 14 в графической форме в виде зависимости процентного изменения относительно начальной массы тела.

Двойное ингибирование Jagged1 и Jagged2 с использованием антитела к Jagged1/2, антитела С-1, или комбинации Jagged1-специфичного антитела А-2 и Jagged2-специфичного антитела В-3 вызывало быструю и значительную потерю массы (ФИГ. 14А). К 4-му дню некоторые мыши, получавшие антитело к Jagged1/2, антитело С-1, потеряли более 5% массы тела, эта потеря прогрессировала почти до 8-10% массы тела к 7-му дню (ФИГ. 14А). Мыши, которые получали комбинацию А-2 и В-3, также быстро теряли массу тела, в некоторых случаях до 17% к 11-му дню (ФИГ. 14А). В отличие от этого, ни одно из Jagged1-специфичных или Jagged2-специфичных антител по отдельности не вызвало потери массы тела за время исследования при введении в дозах 5 мг/кг или 20 мг/кг (ФИГ. 14А). Лечение с использованием комбинации антитела к Jagged1 и антитела к Jagged2 привело к снижению потребления пищи (ФИГ. 14В), которое коррелировало с наблюдаемым снижением массы тела (ФИГ. 14А), этот факт указывает на то, что снижение потребления пищи может частично или полностью объяснить одновременное уменьшение массы тела.

Пример 7. Гистологическое исследование тканей кишечника после лечения антителом к Jagged

Общее ингибирование Notch, например, под действием ингибиторов гамма-секретазы, а также комбинированное ингибирование Notch1 плюс Notch2 или D111 плюс D114 (см. Wu et al., Nature 2010; Pellegrinet et al., Gastroenterology, 2011), вызывает метаплазию

бокаловидных клеток у мышей, и была выдвинута гипотеза, что такая метаплазия является причиной наблюдаемого снижения массы тела.

Чтобы определить, связана ли быстрая потеря массы тела после комбинированного ингибирования Jagged1 и Jagged2, наблюдаемого в примере 6, с метаплазией бокаловидных клеток, выделяли и исследовали образцы тканей кишечника мышей, получавших лечение, описанное в примере 6. Образцы тканей кишечника окрашивали гематоксилином и эозином (ФИГ. 15А, Н и Е) или альциановым синим для окрашивания слизистой оболочки, который является маркером секреторных бокаловидных клеток (ФИГ. 15А, альциановый синий). Некоторые образцы исследовали с помощью иммуногистохимических методов для определения экспрессии лизоцима, маркера клеток Панета, или для определения маркера пролиферации Ki-67 (ФИГ. 15В). Не было обнаружено очевидных различий между результатами гистологических исследований или уровнями экспрессии маркера в срезах тканей кишечника мышей, получавших контрольное антитело или антитело к Jagged1/2, антитело С-1. Эти результаты показывают, что потеря массы тела, наблюдаемая после ингибирования обоих лигандов Jagged1 и 2, не может быть отнесена к метаплазии бокаловидных клеток. Кроме того, эти результаты раскрывают новый механизм потери массы тела после обработки ингибиторами Notch, это свидетельствует о том, что метаплазия бокаловидных клеток может являться недостаточным основанием, чтобы объяснить потерю массы тела после обработки универсальными ингибиторами Notch.

Пример 8. Антитела-антагонисты к Jagged1 ингибируют рост клеток рака легких человека в условиях *in vivo*

Голым бестимусным мышам от Harlan вводили подкожно клетки Calu-6, клетки линии немелкоклеточного рака легких человека. После того как объем опухоли достигал приблизительно 200 мм³ мышам вводили внутривентриально (в/б) два раза в неделю (0,4, 7, 11, 14 и 18 дни) 20 мг/кг изотопического контрольного антитела gD (n=10) или антитела к Jagged1, А-2 (n=10). Объем опухоли у каждой мыши измеряли с использованием циркуля в течение дополнительных 19 дней. Общую массу тела каждой мыши контролировали на протяжении всего исследования.

Объемы опухолей у мышей, получавших антитело к Jagged1, значительно снижались по отношению к объемам опухолей в контрольной группе (ФИГ. 16А). Влияние лечения антителом к Jagged1 можно было детектировать уже на седьмой день после начала лечения (ФИГ. 16А). К 18-му дню средний объем опухолей у мышей, получавших антитело к Jagged1, достигал приблизительно 500 мм³, в то время как средний объем опухолей у контрольных животных на 18 день достигал приблизительно 750 мм³. Не наблюдали существенных изменений массы тела между группой, получавшей лечение, и контрольной группой (ФИГ. 16В).

Пример 9. Антитела к Jagged1 и Jagged2 ингибируют рост клеток рака молочной железы человека в условиях *in vivo*

Мышам линии CB-17 SCID.bg вводили в скопление жировой ткани в молочной железе клетки MDA-MD-468, клетки линии рака базального эпителия молочной железы человека. После того как объем опухоли достигал 200 мм³, мышам вводили в/б 30 мг/кг изотопического контрольного антитела gD (изотип IgG1 человека), изотипического контрольного антитела к агглютиниону амброзии (изотип IgG2a мыши), антитела к Jagged1, А-2, содержащего каркас IgG1 человека, антитела к Jagged1, А-2, содержащего каркас IgG2a мыши или антитела к Jagged2, антитела В-3, содержащего каркас IgG1 человека на 0, 4, 7, 12, 15, 18, 22, 25, 29, 32, 36, 43, 50, и 57 дни. Объем опухоли (ось Y)

измеряли с помощью циркуля в течение 60 дней после первой инъекции. Объемы опухолей в каждой группе (n=9 в каждой группе) представляли в графической форме с использованием линейной модели со смешанными эффектами (ФИГ. 17А). Объемы опухолей для каждой мыши в каждой группе показаны на ФИГ. 17В.

5 Все три антитела к Jagged существенно ингибировали рост опухоли. Оба антитела к Jagged1 ингибировали рост опухоли в сопоставимой степени, это свидетельствует о том, что наблюдаемые противоопухолевые свойства являются устойчивыми и не зависят от каркаса антител.

10 Несмотря на то, что вышеизложенное изобретение было подробно описано с помощью иллюстраций и примеров для целей ясности понимания, описания и примеры не должны быть истолкованы как ограничивающие объем изобретения. Содержание всех патентных заявок и научных публикаций, приведенных в настоящей заявке, явным образом полностью включено в настоящую заявку посредством ссылок.

15 (57) Формула изобретения

1. Выделенное антитело или его антиген-связывающий фрагмент, которые специфически связываются с Jagged1, содержащие:

- (a) HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 81;
- (b) HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 84;
- 20 (c) HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 87;
- (d) HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 110;
- (e) HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 111; и
- (f) HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 114.

2. Антитело или фрагмент по п. 1, содержащие:

- 25 (a) HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 81;
- (b) HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 82;
- (c) HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 85;
- (d) HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 110;
- (e) HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 111; и
- 30 (f) HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 112.

3. Антитело или фрагмент по п. 1, содержащие:

- (a) HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 81;
- (b) HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 82;
- (c) HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86;
- 35 (d) HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 110;
- (e) HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 111; и
- (f) HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 113.

4. Антитело или фрагмент по п.1, содержащие:

- (a) HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 81;
- 40 (b) HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 83;
- (c) HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 85;
- (d) HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 110;
- (e) HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 111; и
- (f) HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 112.

45 5. Антитело по любому из пп. 1-4, которое представляет собой моноклональное антитело.

6. Антитело по любому из пп. 1-4, которое представляет собой человеческое, гуманизированное или химерное антитело.

7. Антитело или фрагмент по любому из пп. 1-4, содержащие каркасный участок переменного домена легкой цепи FR1, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60; FR2, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61; FR3, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62; и FR4, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 135.

8. Антитело по п. 3 или 4, содержащее каркасный участок переменного домена тяжелой цепи FR1, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50; FR2, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 136; FR3, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 57; и FR4, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35.

9. Антитело или фрагмент по п. 1, содержащие (а) последовательность VH, которая по меньшей мере на 95% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 10; (б) последовательность VL, которая по меньшей мере на 95% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 19; или (с) последовательность VH, приведенную в (а), и последовательность VL, приведенную в (б).

10. Антитело или фрагмент по п. 9, содержащие последовательность VH, приведенную в SEQ ID NO: 10.

11. Антитело или фрагмент по п. 9, содержащие последовательность VL, приведенную в SEQ ID NO: 19.

12. Антитело или его антиген-связывающий фрагмент, которые специфически связываются с Jagged1, содержащие последовательность VH, приведенную в SEQ ID NO: 10, и последовательность VL, приведенную в SEQ ID NO: 19.

13. Антитело или фрагмент по п. 1, содержащие (а) последовательность VH, которая по меньшей мере на 95% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 11; (б) последовательность VL, которая по меньшей мере на 95% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 20; или (с) последовательность VH, приведенную в (а), и последовательность VL, приведенную в (б).

14. Антитело или фрагмент по п. 13, содержащие последовательность VH, приведенную в SEQ ID NO: 11.

15. Антитело или фрагмент по п. 13, содержащие последовательность VL, приведенную в SEQ ID NO: 20.

16. Антитело или его антиген-связывающий фрагмент, которые специфически связываются с Jagged1, содержащие последовательность VH, приведенную в SEQ ID NO: 11, и последовательность VL, приведенную в SEQ ID NO: 20.

17. Антитело или фрагмент по п. 1, которые представляют собой полноразмерное антитело IgG1.

18. Антитело или фрагмент по п. 1, которые являются антагонистом Jagged1-опосредованной передачи сигналов.

19. Выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая антитело или фрагмент по п. 1.

20. Клетка-хозяин для получения антитела или фрагмента по п. 1, содержащая нуклеиновую кислоту по п. 19.

21. Способ получения антитела или фрагмента по п. 1, включающий культивирование клетки-хозяина по п. 20 с получением антитела.

22. Иммуноконъюгат для лечения рака, содержащий антитело или фрагмент по любому из пп. 1-4 и цитотоксический агент.

23. Фармацевтический состав для лечения рака, содержащий эффективное количество антитела или фрагмента по любому из пп. 1-4 и фармацевтически приемлемый носитель.

24. Применение антитела или фрагмента по любому из пп. 1-18 в лечении рака.

25. Применение антитела или фрагмента по любому из пп. 1-18 в уменьшении роста раковых клеток.

26. Применение антитела или фрагмента по любому из пп. 1-18 в получении
5 лекарственного средства для лечения заболевания или расстройства, связанных с нарушением передачи сигналов посредством рецептора Notch.

27. Применение по п. 26, где указанное лекарственное средство предназначено для лечения рака.

28. Применение по п. 26, где указанное лекарственное средство предназначено для
10 уменьшения роста раковых клеток.

29. Способ лечения субъекта, страдающего раком, включающий введение указанному субъекту эффективного количества антитела или фрагмента по любому из пп. 1-18.

30. Способ по п. 29, где указанный рак выбран из группы, состоящей из рака
15 молочной железы, рака легких, рака мозга, рака шейки матки, рака толстой кишки, рака печени, рака желчных протоков, рака поджелудочной железы, рака кожи, В-клеточных злокачественных новообразований и Т-клеточных злокачественных новообразований.

20

25

30

35

40

45

Перечень последовательностей

<110> GENENTECH, INC. ET AL

<120> Антитела к Jagged и способы их применения

<130> P4959R1-WO

<140>

<141>

<150> 61/784,332

<151> 2013-03-14

<150> 61/682,640

<151> 2012-08-12

<160> 138

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 1218

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

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

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

Страница 1

Страница 2

435 440 445
 Ile Asn Ile Asn Asp Cys Leu Gly Gln Cys Gln Asn Asp Ala Ser Cys
 450 455 460
 Arg Asp Leu Val Asn Gly Tyr Arg Cys Ile Cys Pro Pro Gly Tyr Ala
 465 470 475 480
 Gly Asp His Cys Glu Arg Asp Ile Asp Glu Cys Ala Ser Asn Pro Cys
 485 490 495
 Leu Asn Gly Gly His Cys Gln Asn Glu Ile Asn Arg Phe Gln Cys Leu
 500 505 510
 Cys Pro Thr Gly Phe Ser Gly Asn Leu Cys Gln Leu Asp Ile Asp Tyr
 515 520 525
 Cys Glu Pro Asn Pro Cys Gln Asn Gly Ala Gln Cys Tyr Asn Arg Ala
 530 535 540
 Ser Asp Tyr Phe Cys Lys Cys Pro Glu Asp Tyr Glu Gly Lys Asn Cys
 545 550 555 560
 Ser His Leu Lys Asp His Cys Arg Thr Thr Pro Cys Glu Val Ile Asp
 565 570 575
 Ser Cys Thr Val Ala Met Ala Ser Asn Asp Thr Pro Glu Gly Val Arg
 580 585 590
 Tyr Ile Ser Ser Asn Val Cys Gly Pro His Gly Lys Cys Lys Ser Gln
 595 600 605
 Ser Gly Gly Lys Phe Thr Cys Asp Cys Asn Lys Gly Phe Thr Gly Thr
 610 615 620
 Tyr Cys His Glu Asn Ile Asn Asp Cys Glu Ser Asn Pro Cys Arg Asn
 625 630 635 640
 Gly Gly Thr Cys Ile Asp Gly Val Asn Ser Tyr Lys Cys Ile Cys Ser
 645 650 655
 Asp Gly Trp Glu Gly Ala Tyr Cys Glu Thr Asn Ile Asn Asp Cys Ser
 660 665 670
 Gln Asn Pro Cys His Asn Gly Gly Thr Cys Arg Asp Leu Val Asn Asp
 675 680 685
 Phe Tyr Cys Asp Cys Lys Asn Gly Trp Lys Gly Lys Thr Cys His Ser
 690 695 700
 Arg Asp Ser Gln Cys Asp Glu Ala Thr Cys Asn Asn Gly Gly Thr Cys

Страница 3

705 710 715 720
 Tyr Asp Glu Gly Asp Ala Phe Lys Cys Met Cys Pro Gly Gly Trp Glu
 725 730 735
 Gly Thr Thr Cys Asn Ile Ala Arg Asn Ser Ser Cys Leu Pro Asn Pro
 740 745 750
 Cys His Asn Gly Gly Thr Cys Val Val Asn Gly Glu Ser Phe Thr Cys
 755 760 765
 Val Cys Lys Glu Gly Trp Glu Gly Pro Ile Cys Ala Gln Asn Thr Asn
 770 775 780
 Asp Cys Ser Pro His Pro Cys Tyr Asn Ser Gly Thr Cys Val Asp Gly
 785 790 795 800
 Asp Asn Trp Tyr Arg Cys Glu Cys Ala Pro Gly Phe Ala Gly Pro Asp
 805 810 815
 Cys Arg Ile Asn Ile Asn Glu Cys Gln Ser Ser Pro Cys Ala Phe Gly
 820 825
 Ala Thr Cys Val Asp Glu Ile Asn Gly Tyr Arg Cys Val Cys Pro Pro
 835 840 845
 Gly His Ser Gly Ala Lys Cys Gln Glu Val Ser Gly Arg Pro Cys Ile
 850 855 860
 Thr Met Gly Ser Val Ile Pro Asp Gly Ala Lys Trp Asp Asp Asp Cys
 865 870 875 880
 Asn Thr Cys Gln Cys Leu Asn Gly Arg Ile Ala Cys Ser Lys Val Trp
 885 890 895
 Cys Gly Pro Arg Pro Cys Leu Leu His Lys Gly His Ser Glu Cys Pro
 900 905 910
 Ser Gly Gln Ser Cys Ile Pro Ile Leu Asp Asp Gln Cys Phe Val His
 915 920 925
 Pro Cys Thr Gly Val Gly Glu Cys Arg Ser Ser Ser Leu Gln Pro Val
 930 935 940
 Lys Thr Lys Cys Thr Ser Asp Ser Tyr Tyr Gln Asp Asn Cys Ala Asn
 945 950 955 960
 Ile Thr Phe Thr Phe Asn Lys Glu Met Met Ser Pro Gly Leu Thr Thr
 965 970 975
 Glu His Ile Cys Ser Glu Leu Arg Asn Leu Asn Ile Leu Lys Asn Val

Страница 4

980	985	990
Ser Ala Glu Tyr Ser Ile Tyr	Ile Ala Cys Glu Pro	Ser Pro Ser Ala
995	1000	1005
Asn Asn Glu Ile His Val	Ala Ile Ser Ala Glu	Asp Ile Arg Asp
1010	1015	1020
Asp Gly Asn Pro Ile Lys	Glu Ile Thr Asp Lys	Ile Ile Asp Leu
1025	1030	1035
Val Ser Lys Arg Asp Gly	Asn Ser Ser Leu Ile	Ala Ala Val Ala
1040	1045	1050
Glu Val Arg Val Gln Arg	Arg Pro Leu Lys Asn	Arg Thr Asp Phe
1055	1060	1065
Leu Val Pro Leu Leu Ser	Ser Val Leu Thr Val	Ala Trp Ile Cys
1070	1075	1080
Cys Leu Val Thr Ala Phe	Tyr Trp Cys Leu Arg	Lys Arg Arg Lys
1085	1090	1095
Pro Gly Ser His Thr His	Ser Ala Ser Glu Asp	Asn Thr Thr Asn
1100	1105	1110
Asn Val Arg Glu Gln Leu	Asn Gln Ile Lys Asn	Pro Ile Glu Lys
1115	1120	1125
His Gly Ala Asn Thr Val	Pro Ile Lys Asp Tyr	Glu Asn Lys Asn
1130	1135	1140
Ser Lys Met Ser Lys Ile	Arg Thr His Asn Ser	Glu Val Glu Glu
1145	1150	1155
Asp Asp Met Asp Lys His	Gln Gln Lys Ala Arg	Phe Ala Lys Gln
1160	1165	1170
Pro Ala Tyr Thr Leu Val	Asp Arg Glu Glu Lys	Pro Pro Asn Gly
1175	1180	1185
Thr Pro Thr Lys His Pro	Asn Trp Thr Asn Lys	Gln Asp Asn Arg
1190	1195	1200
Asp Leu Glu Ser Ala Gln	Ser Leu Asn Arg Met	Glu Tyr Ile Val
1205	1210	1215

<210> 2
 <211> 1218
 <212> PRT
 <213> Mus sp.

<400> 2
 Met Arg Ser Pro Arg Thr Arg Gly Arg Pro Gly Arg Pro Leu Ser Leu
 1 5 10 15
 Leu Leu Ala Leu Leu Cys Ala Leu Arg Ala Lys Val Cys Gly Ala Ser
 20 25 30
 Gly Gln Phe Glu Leu Glu Ile Leu Ser Met Gln Asn Val Asn Gly Glu
 35 40 45
 Leu Gln Asn Gly Asn Cys Cys Gly Gly Val Arg Asn Pro Gly Asp Arg
 50 55 60
 Lys Cys Thr Arg Asp Glu Cys Asp Thr Tyr Phe Lys Val Cys Leu Lys
 65 70 75 80
 Glu Tyr Gln Ser Arg Val Thr Ala Gly Gly Pro Cys Ser Phe Gly Ser
 85 90 95
 Gly Ser Thr Pro Val Ile Gly Gly Asn Thr Phe Asn Leu Lys Ala Ser
 100 105 110
 Arg Gly Asn Asp Arg Asn Arg Ile Val Leu Pro Phe Ser Phe Ala Trp
 115 120 125
 Pro Arg Ser Tyr Thr Leu Leu Val Glu Ala Trp Asp Ser Ser Asn Asp
 130 135 140
 Thr Ile Gln Pro Asp Ser Ile Ile Glu Lys Ala Ser His Ser Gly Met
 145 150 155 160
 Ile Asn Pro Ser Arg Gln Trp Gln Thr Leu Lys Gln Asn Thr Gly Ile
 165 170 175
 Ala His Phe Glu Tyr Gln Ile Arg Val Thr Cys Asp Asp His Tyr Tyr
 180 185 190
 Gly Phe Gly Cys Asn Lys Phe Cys Arg Pro Arg Asp Asp Phe Phe Gly
 195 200 205
 His Tyr Ala Cys Asp Gln Asn Gly Asn Lys Thr Cys Met Glu Gly Trp
 210 215 220
 Met Gly Pro Asp Cys Asn Lys Ala Ile Cys Arg Gln Gly Cys Ser Pro
 225 230 235 240
 Lys His Gly Ser Cys Lys Leu Pro Gly Asp Cys Arg Cys Gln Tyr Gly
 245 250 255
 Trp Gln Gly Leu Tyr Cys Asp Lys Cys Ile Pro His Pro Gly Cys Val
 260 265 270

His Gly Thr Cys Asn Glu Pro Trp Gln Cys Leu Cys Glu Thr Asn Trp
 275 280 285
 Gly Gly Gln Leu Cys Asp Lys Asp Leu Asn Tyr Cys Gly Thr His Gln
 290 295 300
 Pro Cys Leu Asn Arg Gly Thr Cys Ser Asn Thr Gly Pro Asp Lys Tyr
 305 310 315 320
 Gln Cys Ser Cys Pro Glu Gly Tyr Ser Gly Pro Asn Cys Glu Ile Ala
 325 330 335
 Glu His Ala Cys Leu Ser Asp Pro Cys His Asn Arg Gly Ser Cys Lys
 340 345 350
 Glu Thr Ser Ser Gly Phe Glu Cys Glu Cys Ser Pro Gly Trp Thr Gly
 355 360 365
 Pro Thr Cys Ser Thr Asn Ile Asp Asp Cys Ser Pro Asn Asn Cys Ser
 370 375 380
 His Gly Gly Thr Cys Gln Asp Leu Val Asn Gly Phe Lys Cys Val Cys
 385 390 395 400
 Pro Pro Gln Trp Thr Gly Lys Thr Cys Gln Leu Asp Ala Asn Glu Cys
 405 410 415
 Glu Ala Lys Pro Cys Val Asn Ala Arg Ser Cys Lys Asn Leu Ile Ala
 420 425 430
 Ser Tyr Tyr Cys Asp Cys Leu Pro Gly Trp Met Gly Gln Asn Cys Asp
 435 440 445
 Ile Asn Ile Asn Asp Cys Leu Gly Gln Cys Gln Asn Asp Ala Ser Cys
 450 455 460
 Arg Asp Leu Val Asn Gly Tyr Arg Cys Ile Cys Pro Pro Gly Tyr Ala
 465 470 475 480
 Gly Asp His Cys Glu Arg Asp Ile Asp Glu Cys Ala Ser Asn Pro Cys
 485 490 495
 Leu Asn Gly Gly His Cys Gln Asn Glu Ile Asn Arg Phe Gln Cys Leu
 500 505 510
 Cys Pro Thr Gly Phe Ser Gly Asn Leu Cys Gln Leu Asp Ile Asp Tyr
 515 520 525
 Cys Glu Pro Asn Pro Cys Gln Asn Gly Ala Gln Cys Tyr Asn Arg Ala
 530 535 540

Ser Asp Tyr Phe Cys Lys Cys Pro Glu Asp Tyr Glu Gly Lys Asn Cys
 545 550 555 560
 Ser His Leu Lys Asp His Cys Arg Thr Thr Thr Cys Glu Val Ile Asp
 565 570 575
 Ser Cys Thr Val Ala Met Ala Ser Asn Asp Thr Pro Glu Gly Val Arg
 580 585 590
 Tyr Ile Ser Ser Asn Val Cys Gly Pro His Gly Lys Cys Lys Ser Gln
 595 600 605
 Ser Gly Gly Lys Phe Thr Cys Asp Cys Asn Lys Gly Phe Thr Gly Thr
 610 615 620
 Tyr Cys His Glu Asn Ile Asn Asp Cys Glu Ser Asn Pro Cys Lys Asn
 625 630 635 640
 Gly Gly Thr Cys Ile Asp Gly Val Asn Ser Tyr Lys Cys Ile Cys Ser
 645 650 655
 Asp Gly Trp Glu Gly Ala His Cys Glu Asn Asn Ile Asn Asp Cys Ser
 660 665 670
 Gln Asn Pro Cys His Tyr Gly Gly Thr Cys Arg Asp Leu Val Asn Asp
 675 680 685
 Phe Tyr Cys Asp Cys Lys Asn Gly Trp Lys Gly Lys Thr Cys His Ser
 690 695 700
 Arg Asp Ser Gln Cys Asp Glu Ala Thr Cys Asn Asn Gly Gly Thr Cys
 705 710 715 720
 Tyr Asp Glu Val Asp Thr Phe Lys Cys Met Cys Pro Gly Gly Trp Glu
 725 730 735
 Gly Thr Thr Cys Asn Ile Ala Arg Asn Ser Ser Cys Leu Pro Asn Pro
 740 745 750
 Cys His Asn Gly Gly Thr Cys Val Val Asn Gly Asp Ser Phe Thr Cys
 755 760 765
 Val Cys Lys Glu Gly Trp Glu Gly Pro Ile Cys Thr Gln Asn Thr Asn
 770 775 780
 Asp Cys Ser Pro His Pro Cys Tyr Asn Ser Gly Thr Cys Val Asp Gly
 785 790 795 800
 Asp Asn Trp Tyr Arg Cys Glu Cys Ala Pro Gly Phe Ala Gly Pro Asp
 805 810 815

Cys Arg Ile Asn Ile Asn Glu Cys Gln Ser Ser Pro Cys Ala Phe Gly
 820 825 830
 Ala Thr Cys Val Asp Glu Ile Asn Gly Tyr Gln Cys Ile Cys Pro Pro
 835 840 845
 Gly His Ser Gly Ala Lys Cys His Glu Val Ser Gly Arg Ser Cys Ile
 850 855 860
 Thr Met Gly Arg Val Ile Leu Asp Gly Ala Lys Trp Asp Asp Asp Cys
 865 870 875 880
 Asn Thr Cys Gln Cys Leu Asn Gly Arg Val Ala Cys Ser Lys Val Trp
 885 890 895
 Cys Gly Pro Arg Pro Cys Arg Leu His Lys Ser His Asn Glu Cys Pro
 900 905 910
 Ser Gly Gln Ser Cys Ile Pro Val Leu Asp Asp Gln Cys Phe Val Arg
 915 920 925
 Pro Cys Thr Gly Val Gly Glu Cys Arg Ser Ser Ser Leu Gln Pro Val
 930 935 940
 Lys Thr Lys Cys Thr Ser Asp Ser Tyr Tyr Gln Asp Asn Cys Ala Asn
 945 950 955 960
 Ile Thr Phe Thr Phe Asn Lys Glu Met Met Ser Pro Gly Leu Thr Thr
 965 970 975
 Glu His Ile Cys Ser Glu Leu Arg Asn Leu Asn Ile Leu Lys Asn Val
 980 985 990
 Ser Ala Glu Tyr Ser Ile Tyr Ile Ala Cys Glu Pro Ser Leu Ser Ala
 995 1000 1005
 Asn Asn Glu Ile His Val Ala Ile Ser Ala Glu Asp Ile Arg Asp
 1010 1015 1020
 Asp Gly Asn Pro Val Lys Glu Ile Thr Asp Lys Ile Ile Asp Leu
 1025 1030 1035
 Val Ser Lys Arg Asp Gly Asn Ser Ser Leu Ile Ala Ala Val Ala
 1040 1045 1050
 Glu Val Arg Val Gln Arg Arg Pro Leu Lys Asn Arg Thr Asp Phe
 1055 1060 1065
 Leu Val Pro Leu Leu Ser Ser Val Leu Thr Val Ala Trp Val Cys
 1070 1075 1080

Cys Leu Val Thr Ala Phe Tyr Trp Cys Val Arg Lys Arg Arg Lys
 1085 1090 1095
 Pro Ser Ser His Thr His Ser Ala Pro Glu Asp Asn Thr Thr Asn
 1100 1105 1110
 Asn Val Arg Glu Gln Leu Asn Gln Ile Lys Asn Pro Ile Glu Lys
 1115 1120 1125
 His Gly Ala Asn Thr Val Pro Ile Lys Asp Tyr Glu Asn Lys Asn
 1130 1135 1140
 Ser Lys Met Ser Lys Ile Arg Thr His Asn Ser Glu Val Glu Glu
 1145 1150 1155
 Asp Asp Met Asp Lys His Gln Gln Lys Val Arg Phe Ala Lys Gln
 1160 1165 1170
 Pro Val Tyr Thr Leu Val Asp Arg Glu Glu Lys Ala Pro Ser Gly
 1175 1180 1185
 Thr Pro Thr Lys His Pro Asn Trp Thr Asn Lys Gln Asp Asn Arg
 1190 1195 1200
 Asp Leu Glu Ser Ala Gln Ser Leu Asn Arg Met Glu Tyr Ile Val
 1205 1210 1215
 <210> 3
 <211> 1238
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 3
 Met Arg Ala Gln Gly Arg Gly Arg Leu Pro Arg Arg Leu Leu Leu Leu
 1 5 10 15
 Leu Ala Leu Trp Val Gln Ala Ala Arg Pro Met Gly Tyr Phe Glu Leu
 20 25 30
 Gln Leu Ser Ala Leu Arg Asn Val Asn Gly Glu Leu Leu Ser Gly Ala
 35 40 45
 Cys Cys Asp Gly Asp Gly Arg Thr Thr Arg Ala Gly Gly Cys Gly His
 50 55 60
 Asp Glu Cys Asp Thr Tyr Val Arg Val Cys Leu Lys Glu Tyr Gln Ala
 65 70 75 80
 Lys Val Thr Pro Thr Gly Pro Cys Ser Tyr Gly His Gly Ala Thr Pro
 85 90 95
 Val Leu Gly Gly Asn Ser Phe Tyr Leu Pro Pro Ala Gly Ala Ala Gly
 Страница 10

100					105					110					
Asp	Arg	Ala ₁₁₅	Arg	Ala	Arg	Ala	Arg	Ala ₁₂₀	Gly	Gly	Asp	Gln ₁₂₅	Asp	Pro	Gly
Leu	Val ₁₃₀	Val	Ile	Pro	Phe	Gln ₁₃₅	Phe	Ala	Trp	Pro	Arg ₁₄₀	Ser	Phe	Thr	Leu
Ile ₁₄₅	Val	Glu	Ala	Trp	Asp ₁₅₀	Trp	Asp	Asn	Asp	Thr ₁₅₅	Thr	Pro	Asn	Glu	Glu ₁₆₀
Leu	Leu	Ile	Glu	Arg ₁₆₅	Val	Ser	His	Ala	Gly ₁₇₀	Met	Ile	Asn	Pro	Glu ₁₇₅	Asp
Arg	Trp	Lys	Ser ₁₈₀	Leu	His	Phe	Ser	Gly ₁₈₅	His	Val	Ala	His	Leu ₁₉₀	Glu	Leu
Gln	Ile	Arg ₁₉₅	Val	Arg	Cys	Asp	Glu ₂₀₀	Asn	Tyr	Tyr	Ser	Ala ₂₀₅	Thr	Cys	Asn
Lys	Phe ₂₁₀	Cys	Arg	Pro	Arg	Asn ₂₁₅	Asp	Phe	Phe	Gly	His ₂₂₀	Tyr	Thr	Cys	Asp
Gln ₂₂₅	Tyr	Gly	Asn	Lys	Ala ₂₃₀	Cys	Met	Asp	Gly	Trp ₂₃₅	Met	Gly	Lys	Glu	Cys ₂₄₀
Lys	Glu	Ala	Val	Cys ₂₄₅	Lys	Gln	Gly	Cys	Asn ₂₅₀	Leu	Leu	His	Gly	Gly ₂₅₅	Cys
Thr	Val	Pro	Gly ₂₆₀	Glu	Cys	Arg	Cys	Ser ₂₆₅	Tyr	Gly	Trp	Gln	Gly ₂₇₀	Arg	Phe
Cys	Asp	Glu ₂₇₅	Cys	Val	Pro	Tyr	Pro ₂₈₀	Gly	Cys	Val	His	Gly ₂₈₅	Ser	Cys	Val
Glu	Pro ₂₉₀	Trp	Gln	Cys	Asn	Cys ₂₉₅	Glu	Thr	Asn	Trp	Gly ₃₀₀	Gly	Leu	Leu	Cys
Asp ₃₀₅	Lys	Asp	Leu	Asn	Tyr ₃₁₀	Cys	Gly	Ser	His	His ₃₁₅	Pro	Cys	Thr	Asn	Gly ₃₂₀
Gly	Thr	Cys	Ile	Asn ₃₂₅	Ala	Glu	Pro	Asp	Gln ₃₃₀	Tyr	Arg	Cys	Thr	Cys ₃₃₅	Pro
Asp	Gly	Tyr	Ser ₃₄₀	Gly	Arg	Asn	Cys	Glu ₃₄₅	Lys	Ala	Glu	His	Ala ₃₅₀	Cys	Thr
Ser	Asn	Pro ₃₅₅	Cys	Ala	Asn	Gly	Gly ₃₆₀	Ser	Cys	His	Glu	Val ₃₆₅	Pro	Ser	Gly
Phe	Glu	Cys	His	Cys	Pro	Ser	Gly	Trp	Ser	Gly	Pro	Thr	Cys	Ala	Leu

Страница 11

370 375 380
 Asp Ile Asp Glu Cys Ala Ser Asn Pro Cys Ala Ala Gly Gly Thr Cys
 385 390 395 400
 Val Asp Gln Val Asp Gly Phe Glu Cys Ile Cys Pro Glu Gln Trp Val
 405 410 415
 Gly Ala Thr Cys Gln Leu Asp Ala Asn Glu Cys Glu Gly Lys Pro Cys
 420 425 430
 Leu Asn Ala Phe Ser Cys Lys Asn Leu Ile Gly Gly Tyr Tyr Cys Asp
 435 440 445
 Cys Ile Pro Gly Trp Lys Gly Ile Asn Cys His Ile Asn Val Asn Asp
 450 455 460
 Cys Arg Gly Gln Cys Gln His Gly Gly Thr Cys Lys Asp Leu Val Asn
 465 470 475 480
 Gly Tyr Gln Cys Val Cys Pro Arg Gly Phe Gly Gly Arg His Cys Glu
 485 490 495
 Leu Glu Arg Asp Glu Cys Ala Ser Ser Pro Cys His Ser Gly Gly Leu
 500 505 510
 Cys Glu Asp Leu Ala Asp Gly Phe His Cys His Cys Pro Gln Gly Phe
 515 520 525
 Ser Gly Pro Leu Cys Glu Val Asp Val Asp Leu Cys Glu Pro Ser Pro
 530 535 540
 Cys Arg Asn Gly Ala Arg Cys Tyr Asn Leu Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys
 545 550 555 560
 Ala Cys Pro Asp Asp Phe Gly Gly Lys Asn Cys Ser Val Pro Arg Glu
 565 570 575
 Pro Cys Pro Gly Gly Ala Cys Arg Val Ile Asp Gly Cys Gly Ser Asp
 580 585 590
 Ala Gly Pro Gly Met Pro Gly Thr Ala Ala Ser Gly Val Cys Gly Pro
 595 600 605
 His Gly Arg Cys Val Ser Gln Pro Gly Gly Asn Phe Ser Cys Ile Cys
 610 615 620
 Asp Ser Gly Phe Thr Gly Thr Tyr Cys His Glu Asn Ile Asp Asp Cys
 625 630 635 640
 Leu Gly Gln Pro Cys Arg Asn Gly Gly Thr Cys Ile Asp Glu Val Asp

Страница 12

Страница 13

915	920	925
Arg Cys Leu Glu Lys Ala	Pro Gly Gln Cys Leu	Arg Pro Pro Cys Glu
930	935	940
Ala Trp Gly Glu Cys Gly	Ala Glu Glu Pro Pro	Ser Thr Pro Cys Leu
945	950	955
Pro Arg Ser Gly His	Leu Asp Asn Asn Cys	Ala Arg Leu Thr Leu His
965	970	975
Phe Asn Arg Asp His Val	Pro Gln Gly Thr Thr	Val Gly Ala Ile Cys
980	985	990
Ser Gly Ile Arg Ser Leu	Pro Ala Thr Arg Ala	Val Ala Arg Asp Arg
995	1000	1005
Leu Leu Val Leu Leu Cys	Asp Arg Ala Ser Ser	Gly Ala Ser Ala
1010	1015	1020
Val Glu Val Ala Val Ser	Phe Ser Pro Ala Arg	Asp Leu Pro Asp
1025	1030	1035
Ser Ser Leu Ile Gln Gly	Ala Ala His Ala Ile	Val Ala Ala Ile
1040	1045	1050
Thr Gln Arg Gly Asn Ser	Ser Leu Leu Leu Ala	Val Thr Glu Val
1055	1060	1065
Lys Val Glu Thr Val Val	Thr Gly Gly Ser Ser	Thr Gly Leu Leu
1070	1075	1080
Val Pro Val Leu Cys Gly	Ala Phe Ser Val Leu	Trp Leu Ala Cys
1085	1090	1095
Val Val Leu Cys Val Trp	Trp Thr Arg Lys Arg	Arg Lys Glu Arg
1100	1105	1110
Glu Arg Ser Arg Leu Pro	Arg Glu Glu Ser Ala	Asn Asn Gln Trp
1115	1120	1125
Ala Pro Leu Asn Pro Ile	Arg Asn Pro Ile Glu	Arg Pro Gly Gly
1130	1135	1140
His Lys Asp Val Leu Tyr	Gln Cys Lys Asn Phe	Thr Pro Pro Pro
1145	1150	1155
Arg Arg Ala Asp Glu Ala	Leu Pro Gly Pro Ala	Gly His Ala Ala
1160	1165	1170
Val Arg Glu Asp Glu Glu	Asp Glu Asp Leu Gly	Arg Gly Glu Glu

Страница 14

1175 1180 1185
 Asp Ser Leu Glu Ala Glu Lys Phe Leu Ser His Lys Phe Thr Lys
 1190 1195 1200
 Asp Pro Gly Arg Ser Pro Gly Arg Pro Ala His Trp Ala Ser Gly
 1205 1210 1215
 Pro Lys Val Asp Asn Arg Ala Val Arg Ser Ile Asn Glu Ala Arg
 1220 1225 1230
 Tyr Ala Gly Lys Glu
 1235
 <210> 4
 <211> 1247
 <212> PRT
 <213> Mus sp.
 <400> 4
 Met Arg Ala Arg Gly Trp Gly Arg Leu Pro Arg Arg Leu Leu Leu Leu
 1 5 10 15
 Leu Val Leu Cys Val Gln Ala Thr Arg Pro Met Gly Tyr Phe Glu Leu
 20 25 30
 Gln Leu Ser Ala Leu Arg Asn Val Asn Gly Glu Leu Leu Ser Gly Ala
 35 40 45
 Cys Cys Asp Gly Asp Gly Arg Thr Thr Arg Ala Gly Gly Cys Gly Arg
 50 55 60
 Asp Glu Cys Asp Thr Tyr Val Arg Val Cys Leu Lys Glu Tyr Gln Ala
 65 70 75 80
 Lys Val Thr Pro Thr Gly Pro Cys Ser Tyr Gly Tyr Gly Ala Thr Pro
 85 90 95
 Val Leu Gly Gly Asn Ser Phe Tyr Leu Pro Pro Ala Gly Ala Ala Gly
 100 105 110
 Asp Arg Ala Arg Ala Arg Ser Arg Thr Gly Gly His Gln Asp Pro Gly
 115 120 125
 Leu Val Val Ile Pro Phe Gln Phe Ala Trp Pro Arg Ser Phe Thr Leu
 130 135 140
 Ile Val Glu Ala Trp Asp Trp Asp Asn Asp Thr Thr Pro Asp Glu Glu
 145 150 155 160
 Leu Leu Ile Glu Arg Val Ser His Ala Gly Met Ile Asn Pro Glu Asp
 165 170 175

Страница 15

Arg Trp Lys Ser₁₈₀ Leu His Phe Ser Gly₁₈₅ His Val Ala His Leu₁₉₀ Glu Leu
 Gln Ile Arg₁₉₅ Val Arg Cys Asp Glu₂₀₀ Asn Tyr Tyr Ser Ala₂₀₅ Thr Cys Asn
 Lys Phe₂₁₀ Cys Arg Pro Arg Asn₂₁₅ Asp Phe Phe Gly His₂₂₀ Tyr Thr Cys Asp
 Gln Tyr Gly Asn Lys Ala₂₃₀ Cys Met Asp Gly Trp₂₃₅ Met Gly Lys Glu Cys₂₄₀
 Lys Glu Ala Val Cys₂₄₅ Lys Gln Gly Cys Asn₂₅₀ Leu Leu His Gly Gly₂₅₅ Cys
 Thr Val Pro Gly₂₆₀ Glu Cys Arg Cys Ser₂₆₅ Tyr Gly Trp Gln Gly₂₇₀ Lys Phe
 Cys Asp Glu₂₇₅ Cys Val Pro Tyr Pro₂₈₀ Gly Cys Val His Gly₂₈₅ Ser Cys Val
 Glu Pro₂₉₀ Trp His Cys Asp Cys₂₉₅ Glu Thr Asn Trp Gly₃₀₀ Gly Leu Leu Cys
 Asp Lys Asp Leu Asn Tyr₃₁₀ Cys Gly Ser His His₃₁₅ Pro Cys Val Asn Gly₃₂₀
 Gly Thr Cys Ile Asn₃₂₅ Ala Glu Pro Asp Gln₃₃₀ Tyr Leu Cys Ala Cys₃₃₅ Pro
 Asp Gly Tyr Leu₃₄₀ Gly Lys Asn Cys Glu₃₄₅ Arg Ala Glu His Ala₃₅₀ Cys Ala
 Ser Asn Pro₃₅₅ Cys Ala Asn Gly Gly₃₆₀ Ser Cys His Glu Val₃₆₅ Pro Ser Gly
 Phe Glu₃₇₀ Cys His Cys Pro Ser₃₇₅ Gly Trp Ser Gly Pro₃₈₀ Thr Cys Ala Leu
 Asp Ile Asp Glu Cys Ala₃₉₀ Ser Asn Pro Cys Ala₃₉₅ Ala Gly Gly Thr Cys₄₀₀
 Val Asp Gln Val Asp₄₀₅ Gly Phe Glu Cys Ile₄₁₀ Cys Pro Glu Gln Trp Val₄₁₅
 Gly Ala Thr Cys₄₂₀ Gln Leu Asp Ala Asn₄₂₅ Glu Cys Glu Gly Lys₄₃₀ Pro Cys
 Leu Asn Ala₄₃₅ Phe Ser Cys Lys Asn₄₄₀ Leu Ile Gly Gly Tyr₄₄₅ Tyr Cys Asp

Cys Leu Pro Gly Trp Lys Gly Ile Asn Cys Gln Ile Asn Ile Asn Asp
 450 455 460
 Cys His Gly Gln Cys Gln His Gly Gly Thr Cys Lys Asp Leu Val Asn
 465 470 475 480
 Gly Tyr Gln Cys Val Cys Pro Arg Gly Phe Gly Gly Arg His Cys Glu
 485 490 495
 Leu Glu Tyr Asp Lys Cys Ala Ser Ser Pro Cys Arg Arg Gly Gly Ile
 500 505 510
 Cys Glu Asp Leu Val Asp Gly Phe Arg Cys His Cys Pro Arg Gly Leu
 515 520 525
 Ser Gly Leu His Cys Glu Val Asp Met Asp Leu Cys Glu Pro Ser Pro
 530 535 540
 Cys Leu Asn Gly Ala Arg Cys Tyr Asn Leu Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys
 545 550 555 560
 Ala Cys Pro Glu Asp Phe Gly Gly Lys Asn Cys Ser Val Pro Arg Asp
 565 570 575
 Thr Cys Pro Gly Gly Ala Cys Arg Val Ile Asp Gly Cys Gly Phe Glu
 580 585 590
 Ala Gly Ser Arg Ala Arg Gly Val Ala Pro Ser Gly Ile Cys Gly Pro
 595 600 605
 His Gly His Cys Val Ser Leu Pro Gly Gly Asn Phe Ser Cys Ile Cys
 610 615 620
 Asp Ser Gly Phe Thr Gly Thr Tyr Cys His Glu Asn Ile Asp Asp Cys
 625 630 635 640
 Met Gly Gln Pro Cys Arg Asn Gly Gly Thr Cys Ile Asp Glu Val Asp
 645 650 655
 Ser Phe Arg Cys Phe Cys Pro Ser Gly Trp Glu Gly Glu Leu Cys Asp
 660 665 670
 Ile Asn Pro Asn Asp Cys Leu Pro Asp Pro Cys His Ser Arg Gly Arg
 675 680 685
 Cys Tyr Asp Leu Val Asn Asp Phe Tyr Cys Ala Cys Asp Asp Gly Trp
 690 695 700
 Lys Gly Lys Thr Cys His Ser Arg Glu Phe Gln Cys Asp Ala Tyr Thr
 705 710 715 720

Cys Ser Asn Gly Gly Thr Cys Tyr Asp Ser Gly Asp Thr Phe Arg Cys
 725 730 735
 Ala Cys Pro Pro Gly Trp Lys Gly Ser Thr Cys Thr Ile Ala Lys Asn
 740 745 750
 Ser Ser Cys Val Pro Asn Pro Cys Val Asn Gly Gly Thr Cys Val Gly
 755 760 765
 Ser Gly Asp Ser Phe Ser Cys Ile Cys Arg Asp Gly Trp Glu Gly Arg
 770 775 780
 Thr Cys Thr His Asn Thr Asn Asp Cys Asn Pro Leu Pro Cys Tyr Asn
 785 790 795 800
 Gly Gly Ile Cys Val Asp Gly Val Asn Trp Phe Arg Cys Glu Cys Ala
 805 810 815
 Pro Gly Phe Ala Gly Pro Asp Cys Arg Ile Asn Ile Asp Glu Cys Gln
 820 825 830
 Ser Ser Pro Cys Ala Tyr Gly Ala Thr Cys Val Asp Glu Ile Asn Gly
 835 840 845
 Tyr Arg Cys Ser Cys Pro Pro Gly Arg Ser Gly Pro Arg Cys Gln Glu
 850 855 860
 Val Val Ile Phe Thr Arg Pro Cys Trp Ser Arg Gly Met Ser Phe Pro
 865 870 875 880
 His Gly Ser Ser Trp Met Glu Asp Cys Asn Ser Cys Arg Cys Leu Asp
 885 890 895
 Gly His Arg Asp Cys Ser Lys Val Trp Cys Gly Trp Lys Pro Cys Leu
 900 905 910
 Leu Ser Gly Gln Pro Ser Asp Pro Ser Ala Gln Cys Pro Pro Gly Gln
 915 920 925
 Gln Cys Gln Glu Lys Ala Val Gly Gln Cys Leu Gln Pro Pro Cys Glu
 930 935 940
 Asn Trp Gly Glu Cys Thr Ala Glu Glu Pro Leu Pro Pro Ser Thr Pro
 945 950 955 960
 Cys Gln Pro Arg Ser Ser His Leu Asp Asn Asn Cys Ala Arg Leu Thr
 965 970 975
 Leu Arg Phe Asn Arg Asp Gln Val Pro Gln Gly Thr Thr Val Gly Ala
 980 985 990

Ile Cys Ser Gly Ile Arg Ala Leu Pro Ala Thr Arg Ala Ala Ala His
 995 1000 1005
 Asp Arg Leu Leu Leu Leu Leu Cys Asp Arg Ala Ser Ser Gly Ala
 1010 1015 1020
 Ser Ala Val Glu Val Ala Met Ser Phe Ser Pro Ala Arg Asp Leu
 1025 1030 1035
 Pro Asp Ser Ser Leu Ile Gln Ser Thr Ala His Ala Ile Val Ala
 1040 1045 1050
 Ala Ile Thr Gln Arg Gly Asn Ser Ser Leu Leu Leu Ala Val Thr
 1055 1060 1065
 Glu Val Lys Val Glu Thr Val Val Met Gly Gly Ser Ser Thr Gly
 1070 1075 1080
 Leu Leu Val Pro Val Leu Cys Ser Val Phe Ser Val Leu Trp Leu
 1085 1090 1095
 Ala Cys Val Val Ile Cys Val Trp Trp Thr Arg Lys Arg Arg Lys
 1100 1105 1110
 Glu Arg Glu Arg Ser Arg Leu Pro Arg Asp Glu Ser Thr Asn Asn
 1115 1120 1125
 Gln Trp Ala Pro Leu Asn Pro Ile Arg Asn Pro Ile Glu Arg Pro
 1130 1135 1140
 Gly Gly Ser Gly Leu Gly Thr Gly Gly His Lys Asp Ile Leu Tyr
 1145 1150 1155
 Gln Cys Lys Asn Phe Thr Pro Pro Pro Arg Arg Ala Gly Glu Ala
 1160 1165 1170
 Leu Pro Gly Pro Ala Gly His Gly Ala Gly Gly Glu Asp Glu Glu
 1175 1180 1185
 Asp Glu Glu Leu Ser Arg Gly Asp Gly Asp Ser Pro Glu Ala Glu
 1190 1195 1200
 Lys Phe Ile Ser His Lys Phe Thr Lys Asp Pro Ser Cys Ser Leu
 1205 1210 1215
 Gly Arg Pro Ala Cys Trp Ala Pro Gly Pro Lys Val Asp Asn Arg
 1220 1225 1230
 Ala Val Arg Ser Thr Lys Asp Val Arg Arg Ala Gly Arg Glu
 1235 1240 1245

<210> 5
 <211> 365
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <221> Источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид»
 <400> 5
 Ala Asp Leu Gly Ser Gln Phe Glu Leu Glu Ile Leu Ser Met Gln Asn
 1 5 10 15
 Val Asn Gly Glu Leu Gln Asn Gly Asn Cys Cys Gly Gly Val Arg Asn
 20 25 30
 Pro Gly Asp Arg Lys Cys Thr Arg Asp Glu Cys Asp Thr Tyr Phe Lys
 35 40 45
 Val Cys Leu Lys Glu Tyr Gln Ser Arg Val Thr Ala Gly Gly Pro Cys
 50 55 60
 Ser Phe Gly Ser Gly Ser Thr Pro Val Ile Gly Gly Asn Thr Phe Asn
 65 70 75 80
 Leu Lys Ala Ser Arg Gly Asn Asp Arg Asn Arg Ile Val Leu Pro Phe
 85 90 95
 Ser Phe Ala Trp Pro Arg Ser Tyr Thr Leu Leu Val Glu Ala Trp Asp
 100 105 110
 Ser Ser Asn Asp Thr Ile Gln Pro Asp Ser Ile Ile Glu Lys Ala Ser
 115 120 125
 His Ser Gly Met Ile Asn Pro Ser Arg Gln Trp Gln Thr Leu Lys Gln
 130 135 140
 Asn Thr Gly Ile Ala His Phe Glu Tyr Gln Ile Arg Val Thr Cys Asp
 145 150 155 160
 Asp His Tyr Tyr Gly Phe Gly Cys Asn Lys Phe Cys Arg Pro Arg Asp
 165 170 175
 Asp Phe Phe Gly His Tyr Ala Cys Asp Gln Asn Gly Asn Lys Thr Cys
 180 185 190
 Met Glu Gly Trp Met Gly Pro Asp Cys Asn Lys Ala Ile Cys Arg Gln
 195 200 205
 Gly Cys Ser Pro Lys His Gly Ser Cys Lys Leu Pro Gly Asp Cys Arg
 210 215 220

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 6

<211> 344

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> Источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид»

<400> 6

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

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

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

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

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

Gly Asn Asp Arg Asn Arg Ile Val Leu Pro Phe Ser Phe Ala Trp Pro
Страница 21

<210> 7

<211> 383
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <221> Источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид»

<400> 7
 Ala Asp Leu Gly Ser Met Gly Tyr Phe Glu Leu Gln Leu Ser Ala Leu
 1 5 10 15
 Arg Asn Val Asn Gly Glu Leu Leu Ser Gly Ala Cys Cys Asp Gly Asp
 20 25 30
 Gly Arg Thr Thr Arg Ala Gly Gly Cys Gly Arg Asp Glu Cys Asp Thr
 35 40 45
 Tyr Val Arg Val Cys Leu Lys Glu Tyr Gln Ala Lys Val Thr Pro Thr
 50 55 60
 Gly Pro Cys Ser Tyr Gly Tyr Gly Ala Thr Pro Val Leu Gly Gly Asn
 65 70 75 80
 Ser Phe Tyr Leu Pro Pro Ala Gly Ala Ala Gly Asp Arg Ala Arg Ala
 85 90 95
 Arg Ser Arg Thr Gly Gly His Gln Asp Pro Gly Leu Val Val Ile Pro
 100 105 110
 Phe Gln Phe Ala Trp Pro Arg Ser Phe Thr Leu Ile Val Glu Ala Trp
 115 120 125
 Asp Trp Asp Asn Asp Thr Thr Pro Asp Glu Glu Leu Leu Ile Glu Arg
 130 135 140
 Val Ser His Ala Gly Met Ile Asn Pro Glu Asp Arg Trp Lys Ser Leu
 145 150 155 160
 His Phe Ser Gly His Val Ala His Leu Glu Leu Gln Ile Arg Val Arg
 165 170 175
 Cys Asp Glu Asn Tyr Tyr Ser Ala Thr Cys Asn Lys Phe Cys Arg Pro
 180 185 190
 Arg Asn Asp Phe Phe Gly His Tyr Thr Cys Asp Gln Tyr Gly Asn Lys
 195 200 205
 Ala Cys Met Asp Gly Trp Met Gly Lys Glu Cys Lys Glu Ala Val Cys
 210 215 220
 Lys Gln Gly Cys Asn Leu Leu His Gly Gly Cys Thr Val Pro Gly Glu
 225 230 235 240

Страница 23

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 8

<211> 381

<212> PRT

<213> искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид»

<400> 8

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

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

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

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

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

Страница 24

Tyr Leu Pro Pro Ala Gly Ala Ala Gly Asp Arg Ala Arg Ala Arg Ala
 85 90 95
 Arg Ala Gly Gly Asp Gln Asp Pro Gly Leu Val Val Ile Pro Phe Gln
 100 105 110
 Phe Ala Trp Pro Arg Ser Phe Thr Leu Ile Val Glu Ala Trp Asp Trp
 115 120 125
 Asp Asn Asp Thr Thr Pro Asn Glu Glu Leu Leu Ile Glu Arg Val Ser
 130 135 140
 His Ala Gly Met Ile Asn Pro Glu Asp Arg Trp Lys Ser Leu His Phe
 145 150 155 160
 Ser Gly His Val Ala His Leu Glu Leu Gln Ile Arg Val Arg Cys Asp
 165 170 175
 Glu Asn Tyr Tyr Ser Ala Thr Cys Asn Lys Phe Cys Arg Pro Arg Asn
 180 185 190
 Asp Phe Phe Gly His Tyr Thr Cys Asp Gln Tyr Gly Asn Lys Ala Cys
 195 200 205
 Met Asp Gly Trp Met Gly Lys Glu Cys Lys Glu Ala Val Cys Lys Gln
 210 215 220
 Gly Cys Asn Leu Leu His Gly Gly Cys Thr Val Pro Gly Glu Cys Arg
 225 230 235 240
 Cys Ser Tyr Gly Trp Gln Gly Arg Phe Cys Asp Glu Cys Val Pro Tyr
 245 250 255
 Pro Gly Cys Val His Gly Ser Cys Val Glu Pro Trp Gln Cys Asn Cys
 260 265 270
 Glu Thr Asn Trp Gly Gly Leu Leu Cys Asp Lys Asp Leu Asn Tyr Cys
 275 280 285
 Gly Ser His His Pro Cys Thr Asn Gly Gly Thr Cys Ile Asn Ala Glu
 290 295 300
 Pro Asp Gln Tyr Arg Cys Thr Cys Pro Asp Gly Tyr Ser Gly Arg Asn
 305 310 315 320
 Cys Glu Lys Ala Glu His Ala Cys Thr Ser Asn Pro Cys Ala Asn Gly
 325 330 335
 Gly Ser Cys His Glu Val Pro Ser Gly Phe Glu Cys His Cys Pro Ser
 340 345 350

Страница 25

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

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

<210> 9
<211> 116
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> Источник
<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид»

<400> 9
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

Thr Val Ser Ser
115

<210> 10
<211> 116
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> Источник
<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид»

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
Страница 26

<210> 11
<211> 116
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> Источник
<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид»

<400> 11
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30
Gly Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Gly Trp Ile Thr Gly Asn Gly Gly Tyr Ser Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Ala Gly Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser
115

<210> 12
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> Источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид»

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

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

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

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

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

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

 Ala Arg Asn Asp Tyr Asp Val Arg Ser Val Gly Ser Gly Met Asp Tyr
 100 105 110

 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 13
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> Источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид»

 <400> 13
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

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

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

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

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

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

Ala Arg Asn Asp Tyr Asp Val Arg Thr Val Gly Ser Gly Met Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 14

<211> 123

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> Источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид»

<400> 14

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Asn Asp Tyr Asp Val Arg Ser Val Gly Ser Gly Met Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 15

<211> 123

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> Источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид»

<400> 15
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Asp Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Gly Ile Ser Pro Ala Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Ala Asn Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asn Asp Tyr Asp Val Arg Phe Val Gly Ser Gly Met Asp Tyr
 100 105 110
 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 16
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <221> Источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид»

<400> 16
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asn Ser
 20 25 30
 Asp Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Gly Ile Thr Pro Ala Asp Gly Tyr Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Страница 30

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

Ala Arg Ser Tyr Trp Asn Asn Ser Pro Gly Ser Gly Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 17

<211> 122

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид»

<400> 17

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Ser Tyr Trp Ser Ser Ser Pro Gly Ser Ala Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 18

<211> 107

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид»

<400> 18

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

Страница 31

1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
 20 25 30
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Thr Thr Pro Pro
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 19
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> Источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид»

<400> 19
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
 20 25 30
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Thr Thr Ala Thr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 20
 <211> 107

Страница 32

<212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <221> Источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид»

<400> 20
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
 20 25 30
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Thr Thr Pro Pro
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 21
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <221> Источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид»

<400> 21
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
 20 25 30
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Страница 33

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

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

<210> 22

<211> 107

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> Источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид»

<400> 22

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

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

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

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

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

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

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

<210> 23

<211> 107

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> Источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид»

<400> 23

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

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

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

Страница 34

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

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

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

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

<210> 24

<211> 107

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> Источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид»

<400> 24

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

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

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

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

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

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

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

<210> 25

<211> 107

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> Источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид»

<400> 25

Страница 35

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
 20 25 30
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Thr Thr Pro Pro
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 26
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид»

<400> 26
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
 20 25 30
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ile Ser Pro Ser
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 27

Страница 36

<211> 107
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид»

<400> 27
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Ser Pro Leu
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 28
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид»

<400> 28
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Страница 37

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

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

<210> 29

<211> 122

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> Источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид»

<400> 29

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

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

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

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

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

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

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

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 30

<211> 122

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> Источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид»

<400> 30

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

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

Страница 38

```

<210> 33
<211> 14
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 33
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly
1          5          10

<210> 34
<211> 32

```

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 34
Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu
1 5 10 15
Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
20 25 30

<210> 35
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 35
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 36
<211> 25
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 36
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser
20 25

<210> 37
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 37
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
1 5 10

<210> 38
<211> 31
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 38
Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu
1 5 10 15
Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
20 25 30

<210> 39
<211> 30
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 39
Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu
1 5 10 15

Страница 40

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

<210> 40
<211> 30
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 40
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

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

<210> 41
<211> 14
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 41
Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly
1 5 10

<210> 42
<211> 32
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 42
Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys
1 5 10 15

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

<210> 43
<211> 25
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 43
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser
20 25

<210> 44
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 44
Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
1 5 10

<210> 45
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 45
 Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys
 1 5 10 15

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

<210> 46
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 46
 Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys
 1 5 10 15

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

<210> 47
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 47
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

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

<210> 48
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 48
 Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser
 1 5 10

<210> 49
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 49
 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 Arg
 20 25 30

<210> 50
 <211> 25

<212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 50
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
 20 25

<210> 51
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 51
 Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 1 5 10

<210> 52
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<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
 20 25 30

<210> 53
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 53
 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
 20 25 30

<210> 54
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 54
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys
 20 25 30

<210> 55
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 55
 Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
 1 5 10 15

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

<210> 56
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 56
 Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
 1 5 10 15

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

<210> 57
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 57
 Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
 1 5 10 15

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

<210> 58
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 58
 Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
 1 5 10 15

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

<210> 59
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 59
 Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
 1 5 10 15

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

<210> 60
 <211> 23

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 60
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
20

<210> 61
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 61
Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 62
<211> 32
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 62
Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

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

<210> 63
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 63
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 64
<211> 23
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 64
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys
20

<210> 65
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 65
Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

Страница 45

<210> 66
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 66
 Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15

Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys
 20 25 30

<210> 67
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 67
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys
 20

<210> 68
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 68
 Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
 1 5 10 15

<210> 69
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 69
 Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys
 20 25 30

<210> 70
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 70
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys
 20

<210> 71
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 71
 Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 1 5 10 15

<210> 72
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 72
 Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15
 Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys
 20 25 30

<210> 73
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> искусственная последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид»

<400> 73
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Val Lys Pro Met
 20 25 30

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

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

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

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

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

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

Страница 47

<210> 74
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> Источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид»

<400> 74
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ile Ser Asn
 20 25 30
 Tyr Val Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Thr Ile Trp Tyr Gln Ser Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Ser Ser Pro Trp Ser Gly Glu Gly Phe Gly Met Asp Val Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 75
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> Источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид»

<400> 75
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Val Thr Pro Leu
 20 25 30
 Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Thr Ile Trp Tyr Gln Ser Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Страница 48

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

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

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

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 76

<211> 122

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> Источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид»

<400> 76

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Val Thr Pro Met
20 25 30

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

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

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

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

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

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 77

<211> 107

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> Источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид»

<400> 77

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

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

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

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

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

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

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

<210> 78

<211> 107

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> Источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид»

<400> 78

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

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

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

Страница 50

100

105

<210> 79
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> Источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид»

<400> 79
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Ser Pro Leu
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 80
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <221> Источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический полипептид»

<400> 80
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Страница 51

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

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

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

<210> 81

<211> 10

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

<400> 81

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Gly Ile His
1 5 10

<210> 82

<211> 17

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

<400> 82

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

Gly

<210> 83

<211> 17

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

<400> 83

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

Gly

<210> 84

<211> 17

Страница 52

<212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <221> Источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

<220>
 <221> Вариант
 <222> (4)..(4)
 <223> /замена=«Gly»

<220>
 <221> Вариант
 <222> (5)..(5)
 <223> /замена=«Asn»

<220>
 <221> Вариант
 <222> (9)..(9)
 <223> /замена=«Ser»

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(17)
 <223> /примечание= «Варианты остатков, приведенные в последовательности, не являются предпочтительными по отношению к остаткам, указанным в описаниях, в отношении положений вариантов»

<400> 84
 Trp Ile Thr Pro Asp Gly Gly Tyr Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 85
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> Источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

<400> 85
 Ala Gly Ser Trp Phe Ala Tyr
 1 5

<210> 86
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> Источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

<400> 86
 Ala Gly Ser Leu Phe Ala Tyr
 1 5

Страница 53

<210> 87
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> Источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

<220>
 <221> Вариант
 <222> (4)..(4)
 <223> /замена=«Leu»

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(7)
 <223> /примечание=«Варианты остатков, приведенные в последовательности, не являются предпочтительными по отношению к остаткам, указанным в описаниях, в отношении положений вариантов»

<400> 87
 Ala Gly Ser Trp Phe Ala Tyr
 1 5

<210> 88
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> Источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

<400> 88
 Gly Phe Thr Phe Thr Ser Tyr Asp Ile His
 1 5 10

<210> 89
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> Источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

<400> 89
 Gly Ile Ser Pro Ala Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Ala Asn Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 90
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

Страница 54

<220>
 <221> Источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

<400> 90
 Asn Asp Tyr Asp Val Arg Ser Val Gly Ser Gly Met Asp Tyr
 1 5 10

<210> 91
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> Источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

<400> 91
 Asn Asp Tyr Asp Val Arg Thr Val Gly Ser Gly Met Asp Tyr
 1 5 10

<210> 92
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> Источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

<400> 92
 Asn Asp Tyr Asp Val Arg Phe Val Gly Ser Gly Met Asp Tyr
 1 5 10

<210> 93
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> Источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

<400> 93
 Asn Asp Tyr Asp Val Arg Tyr Phe Gly Ser Gly Met Asp Tyr
 1 5 10

<210> 94
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> Источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

<220>

Страница 55

<221> Вариант
 <222> (7)..(7)
 <223> /замена=«Thr» или «Phe» или «Tyr»

<220>
 <221> Вариант
 <222> (8)..(8)
 <223> /замена=«Phe»

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(14)
 <223> /примечание=«Варианты остатков, приведенные в последовательности, не являются предпочтительными по отношению к остаткам, указанным в описаниях, в отношении положений вариантов»

<400> 94
 Asn Asp Tyr Asp Val Arg Ser Val Gly Ser Gly Met Asp Tyr
 1 5 10

<210> 95
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

<400> 95
 Gly Phe Thr Phe Thr Asn Ser Asp Ile His
 1 5 10

<210> 96
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

<400> 96
 Gly Phe Thr Phe Ala Asp Gly Tyr Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 97
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

<400> 97
 Ser Tyr Trp Asn Asn Ser Pro Gly Ser Gly Phe Asp Tyr
 1 5 10

Страница 56

<210> 98
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

<400> 98
 Ser Tyr Trp Ser Ser Ser Pro Gly Ser Ala Phe Asp Tyr
 1 5 10

<210> 99
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

<220>
 <221> Вариант
 <222> (4)..(5)
 <223> /замена=«Ser»

<220>
 <221> Вариант
 <222> (10)..(10)
 <223> /замена=«Ala»

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(13)
 <223> /примечание=«Варианты остатков, приведенные в последовательности, не являются предпочтительными по отношению к остаткам, указанным в описаниях, в отношении положений вариантов»

<400> 99
 Ser Tyr Trp Asn Asn Ser Pro Gly Ser Gly Phe Asp Tyr
 1 5 10

<210> 100
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

<400> 100
 Gly Phe Thr Phe Thr Ser Asn Tyr Met Ser
 1 5 10

<210> 101
 <211> 10
 <212> PRT

Страница 57

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> Источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

<400> 101

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

<210> 102

<211> 10

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> Источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

<400> 102

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

<210> 103

<211> 10

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> Источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

<400> 103

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

<210> 104

<211> 10

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> Источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

<400> 104

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

<210> 105

<211> 10

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> Источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

<220>
 <221> Вариант
 <222> (3)..(3)
 <223> /замена=«Ser»

<220>
 <221> Вариант
 <222> (4)..(4)
 <223> /замена=«Val»

<220>
 <221> Вариант
 <222> (5)..(5)
 <223> /замена=«Lys» или «Ile»

<220>
 <221> Вариант
 <222> (6)..(6)
 <223> /замена=«Pro»

<220>
 <221> Вариант
 <222> (7)..(7)
 <223> /замена=«Met» или «Leu»

<220>
 <221> Вариант
 <222> (9)..(9)
 <223> /замена=«Val»

<220>
 <221> Вариант
 <222> (10)..(10)
 <223> /замена=«Thr»

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(10)
 <223> /примечание=«Варианты остатков, приведенные в последовательности, не являются предпочтительными по отношению к остаткам, указанным в описаниях, в отношении положений вариантов»

<400> 105
 Gly Phe Thr Phe Thr Ser Asn Tyr Met Ser
 1 5 10

<210> 106
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

<400> 106
 Thr Ile Trp Tyr Gln Ser Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 107

Страница 59

<211> 13
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

 <400> 107
 Ser Ser Pro Trp Ser Gly Glu Gly Phe Gly Met Asp Val
 1 5 10

 <210> 108
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

 <400> 108
 Asp Ser Pro Trp Pro Ser Lys Gly Phe Gly Met Asp Val
 1 5 10

 <210> 109
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

 <220>
 <221> Вариант
 <222> (1)..(1)
 <223> /замена=«Asp»

 <220>
 <221> Вариант
 <222> (5)..(5)
 <223> /замена=«Pro»

 <220>
 <221> Вариант
 <222> (6)..(6)
 <223> /замена=«Ser»

 <220>
 <221> Вариант
 <222> (7)..(7)
 <223> /замена=«Lys»

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(13)
 <223> /примечание=«Варианты остатков, приведенные в последовательности, не являются предпочтительными по отношению к остаткам, указанным в описаниях, в отношении положений вариантов»

<400> 109
 Ser Ser Pro Trp Ser Gly Glu Gly Phe Gly Met Asp Val
 1 5 10

<210> 110
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> искусственная последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

<400> 110
 Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala Val Ala
 1 5 10

<210> 111
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> искусственная последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

<400> 111
 Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser
 1 5

<210> 112
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> искусственная последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

<400> 112
 Gln Gln Ser Tyr Thr Thr Pro Pro Thr
 1 5

<210> 113
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> искусственная последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

<400> 113
 Gln Gln Tyr Tyr Thr Thr Ala Thr Thr
 1 5

<210> 114
 <211> 9
 <212> PRT

Страница 61

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> Источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

<220>

<221> Вариант

<222> (3)..(3)

<223> /замена=«Tyr»

<220>

<221> Вариант

<222> (7)..(7)

<223> /замена=«Ala»

<220>

<221> Вариант

<222> (8)..(8)

<223> /замена=«Thr»

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(9)

<223> /примечание=«Варианты остатков, приведенные в последовательности, не являются предпочтительными по отношению к остаткам, указанным в описаниях, в отношении положений вариантов»

<400> 114

Gln Gln Ser Tyr Thr Thr Pro Pro Thr
1 5

<210> 115

<211> 11

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> Источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

<400> 115

Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala Val Ala
1 5 10

<210> 116

<211> 7

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<221> Источник

<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

<400> 116

Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser
1 5

<210> 117

<211> 9

Страница 62

<212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> Источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

 <400> 117
 Gln Gln Ser Tyr Thr Thr Pro Pro Thr
 1 5

 <210> 118
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> Источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

 <400> 118
 Gln Gln Ser Tyr Thr Ser Ala Pro Thr
 1 5

 <210> 119
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> Источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

 <400> 119
 Gln Gln Ser Trp Thr Ala Pro Pro Thr
 1 5

 <210> 120
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> Источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

 <400> 120
 Gln Gln Ser Phe Thr Ala Pro Pro Thr
 1 5

 <210> 121
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <221> Источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

<400> 121
Gln Gln Ser Tyr Ile Ser Pro Pro Thr
1 5

<210> 122
<211> 9
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> Источник
<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

<220>
<221> Вариант
<222> (4)..(4)
<223> /замена=«Trp» или «Phe»

<220>
<221> Вариант
<222> (5)..(5)
<223> /замена=«Ile»

<220>
<221> Вариант
<222> (6)..(6)
<223> /замена=«Ser» или «Ala»

<220>
<221> Вариант
<222> (7)..(7)
<223> /замена=«Ala»

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(9)
<223> /примечание=«Варианты остатков, приведенные в последовательности, не являются предпочтительными по отношению к остаткам, указанным в описаниях, в отношении положений вариантов»

<400> 122
Gln Gln Ser Tyr Thr Thr Pro Pro Thr
1 5

<210> 123
<211> 11
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<221> Источник
<223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

<400> 123
Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala Val Ala
1 5 10

<210> 124
<211> 7
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

Страница 64

<220>
 <221> Источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

<400> 124
 Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser
 1 5

<210> 125
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> Источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

<400> 125
 Gln Gln Ser Tyr Thr Thr Pro Pro Thr
 1 5

<210> 126
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> Источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

<400> 126
 Gln Gln Ser Tyr Ile Ser Pro Ser Thr
 1 5

<210> 127
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> Источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

<220>
 <221> Вариант
 <222> (5)..(5)
 <223> /замена=«Ile»

<220>
 <221> Вариант
 <222> (6)..(6)
 <223> /замена=«Ser»

<220>
 <221> Вариант
 <222> (8)..(8)
 <223> /замена=«Ser»

<220>

Страница 65

<221> misc_feature
 <222> (1)..(9)
 <223> /примечание=«Варианты остатков, приведенные в последовательности, не являются предпочтительными по отношению к остаткам, указанным в описаниях, в отношении положений вариантов»

<400> 127
 Gln Gln Ser Tyr Thr Thr Pro Pro Thr
 1 5

<210> 128
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

<400> 128
 Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Ala
 1 5 10

<210> 129
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

<400> 129
 Gly Ala Ser Ser Arg Ala Ser
 1 5

<210> 130
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

<400> 130
 Gln Gln Tyr Tyr Ser Ser Pro Leu Thr
 1 5

<210> 131
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

<400> 131
 Gln Gln Tyr Leu Ser Ser Pro Ile Thr

Страница 66

1 5

<210> 132
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> Источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

<400> 132
 Gln Gln Tyr Ser Ser Ser Pro Leu Thr
 1 5

<210> 133
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> Источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

<400> 133
 Gln Gln Tyr His Ser Ser Pro Leu Thr
 1 5

<210> 134
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> Источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

<220>
 <221> Вариант
 <222> (4)..(4)
 <223> /замена=«Leu» или «Ser» или «His»

<220>
 <221> Вариант
 <222> (8)..(8)
 <223> /замена=«Ile»

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(9)
 <223> /примечание=«Варианты остатков, приведенные в последовательности, не являются предпочтительными по отношению к остаткам, указанным в описаниях, в отношении положений вариантов»

<400> 134
 Gln Gln Tyr Tyr Ser Ser Pro Leu Thr
 1 5

<210> 135

Страница 67

<211> 11
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 135
 Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
 1 5 10

<210> 136
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 136
 Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly
 1 5 10

<210> 137
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетический пептид»

<400> 137
 Leu Val Pro Arg Gly Ser
 1 5

<210> 138
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание=«Описание искусственной последовательности: синтетическая 6-His метка»

<400> 138
 His His His His His His
 1 5

1 / 36

Jag1 человека (SEQ ID NO:1)

MRSPTTRGRSGRPLSLLLALLCALRAKVCASGQFELEILSMQNVNDELQNGNCCGGARN
 PGDRKCTRDECDTYFKVCLKEYQSRVTAGGPCSFSGSGSTPVIIGNTFNLKASRGNDNRRI
 VLPFSFAWPRSYYTLLEAWDSSNDTVQPDSTIEKASHSGMINPSRQWQTLKQNTGVAHFE
 YQIRVTCDDYYYGFGCNKFCRPRDDFFGHYACDQNGNKTCEGWMGPECNRAICRQGCSP
 KHGSKCLPGDCRCQYQWQGLYCDKCIHPHGCVHGICNEPWQCLCETNWGGQLCDKDLNYC
 GTHQFCLNGGTCSTNGPDKYQCSCPEGYSGPNCIEAEHACLSDFCHNRGSKETSLSGFEC
 ECSPGWTGPTCSTNIDDCSPNNCSHGGTCQDLVNGFKVCPPQWTGKTCQLDANECEAKP
 CVNAKSKCNLIASYYCDCLPGWMGQNCININDCLGQCQNDASCRDLVNGYRCICPPGYA
 GDHCERDIDECASNPCNLNGGHCQNEINRFQCLCPTGFSGNLCQLDIDYCEPNPCQNGAQC
 YNRASDYFCCKPEDYEGKNCSHLKDHCRTPCEVIDSCTVAMASNDTPEGVRYISSNVCG
 PHGKCKSQSGGKFTCDCKNGFTGTYPHENINDCESNPCRNGGTCIDGVNSYKICSDGWE
 GAYCETNINDCSQNPCHNGGTCRDLVNDIFYCDCKNGWKGTCHSRDSQCDEATCNNGGTC
 YDEGDAFKCMCPGGWEGTTCNIARNSSCLPNPCHNGGTCVVNGESFTCVCKEGWEGPICA
 QNTNDCSPHPCYNSGTCVDGDNWYRCECAPGFAGPDCRININECQSSPCAFGATCVDEIN
 GYRCVCPGHSKACQEVSGRSCITMGSVIPDGAKWDDDCNTCQCLNGRIACSKVWCGPR
 PCLLHKHGHSECPGQSCIPVLDQCFVHPCTGVGECRSSSLQPVKTKCTSDSYQDNCAN
 ITFTFNKEMMSPGLTTEHICSELRLNLILKNVSAEYSIYIACEPSPSANNEIHVAISAED
 IRDDGNPIKEITDKIIDLVSKRDGNSSLIAAFAEVRVQRRPLKNRTDFLVPLLSSVLTVA
 WICCLVTAIFYWCLRRKRPKSGTHSASEDNTTNNVREQLNQIKNPIEKHGANTVPIKDYE
 NKNSKMSKIRTHNSEVEEDMDKHQQKARFAKQPAYTLVDREEKPPNGTPTKHPNWTNKQ
 DNRDLESAQSLNRMEYIV

Jag1 мыши (SEQ ID NO:2)

MRSPTTRGRSGRPLSLLLALLCALRAKVCASGQFELEILSMQNVNDELQNGNCCGGVRN
 PGDRKCTRDECDTYFKVCLKEYQSRVTAGGPCSFSGSGSTPVIIGNTFNLKASRGNDNRRI
 VLPFSFAWPRSYYTLLEAWDSSNDTIQPDSTIEKASHSGMINPSRQWQTLKQNTGIAHFE
 YQIRVTCDDHYYGFGCNKFCRPRDDFFGHYACDQNGNKTCEGWMGFPDCKATCRQGCSP
 KHGSKCLPGDCRCQYQWQGLYCDKCIHPHGCVHGTCNEPWQCLCETNWGGQLCDKDLNYC
 GTHQFCLNRGTCSNTGPDKYQCSCPEGYSGPNCIEAEHACLSDFCHNRGSKETSLSGFEC
 ECSPGWTGPTCSTNIDDCSPNNCSHGGTCQDLVNGFKVCPPQWTGKTCQLDANECEAKP
 CVNARSKCNLIASYYCDCLPGWMGQNCININDCLGQCQNDASCRDLVNGYRCICPPGYA
 GDHCERDIDECASNPCNLNGGHCQNEINRFQCLCPTGFSGNLCQLDIDYCEPNPCQNGAQC
 YNRASDYFCCKPEDYEGKNCSHLKDHCRTPCEVIDSCTVAMASNDTPEGVRYISSNVCG
 PHGKCKSQSGGKFTCDCKNGFTGTYPHENINDCESNPCRNGGTCIDGVNSYKICSDGWE
 GAHCENNINDCSQNPCHYGGTCRDLVNDIFYCDCKNGWKGTCHSRDSQCDEATCNNGGTC
 YDEVDTFKCMCPGGWEGTTCNIARNSSCLPNPCHNGGTCVVNGDSFTCVCKEGWEGPICT
 QNTNDCSPHPCYNSGTCVDGDNWYRCECAPGFAGPDCRININECQSSPCAFGATCVDEIN
 GYQCICPPGHSKACKEVSGRSCITMGRVILDGAKWDDDCNTCQCLNGRVACSKVWCGPR
 PCRLHSHNECPGQSCIPVLDQCFVRPCTGVGECRSSSLQPVKTKCTSDSYQDNCAN
 ITFTFNKEMMSPGLTTEHICSELRLNLILKNVSAEYSIYIACEPSPSANNEIHVAISAED
 IRDDGNPVKEITDKIIDLVSKRDGNSSLIAAFAEVRVQRRPLKNRTDFLVPLLSSVLTVA
 WVCCLVTAIFYWCVRRKRPSSHTHSAPEDNTTNNVREQLNQIKNPIEKHGANTVPIKDYE
 NKNSKMSKIRTHNSEVEEDMDKHQQKVRFAKQPVYTLVDREEKAPSGTPTKHPNWTNKQ
 DNRDLESAQSLNRMEYIV

ФИГ. 1

2 / 36

Jag2 человека (SEQ ID NO:3)

MRAQGRGRLPRRLLLLLLALWVQAARPMGYFELQLSALRNVNGELLSGACCDGGRTRTAG
 GCGHDECPTYVRVCLKEYQAKVTPTGPCSYGHGATFVLGGNSFYLPFAGAAGDRARARAR
 AGGDQDPGLVVIPFQFAWPRSFTLIVEAWDWDNDTTTNEELLIERVSHAGMINPEDRWKS
 LHFSGHVAHLELQIRVRCDENYYSATCNKFCRPRNDDFGHYTCDQYGNKACMDGWMGKEC
 KEAVCKQGCNLLHGGCTVPGECCRSYGWQGRFCDECVPYPGCVHGSCVEPWQCNCECETNWG
 GLLCDKDLNLYCGSHHPCNTGGTCINAEPDQYRCTCPDGYSGRNCEKAETHACTSNPCANGG
 SCHEVPSGFECHCPSGWSGPTCALDIDECASNPCAAGGTCVDQVDGFECICPEQWVGATC
 QLDANECEGKPCLNAFSCKNLIGGYCDICPGWKGINCHINVNDRCGQCQHGCTCKDLVN
 GYQVCVPRGFGGRHCELEDERDECASSPHSGGLCEDLADGFHCHCPQGFSGPLCEVDVLDL
 EPSPCRNGARCYNLEGDYYCACPDFFGGKNCVPREPCPGGACRVIDGCGSDAGPMPGT
 AASGVCGPHGRCVSQPGGNFSCICDSGFTGTTCYCHENIDDCLGQPCRNGGTCIDEVDAFRC
 FCPSGWEGELCDTNPNDCPLPDPCHSRGRCYDLVNDFYCACDDGWKGKTCHSREFQCDAYT
 CSNGGTCYDSGDTFRACAPPGWKGSTCAVAKNSSCLPNPCVNGGTCVGSASFSCICRDG
 WEGRTCTHNTNDCNPLPCYNGGICVDGVNWFRCCEAPGFAGPDCRINIDECQSSPCAYGA
 TCVDEINGYRCSCPPGRAGPRCQEVIGFGRSCWSRGTPFFHGSSWVEDCNCRCLDGRRD
 CSKVWCGWKPCLLAGQPEALSAQCPLGQRCLEKAPGQCLRPCEAWGECGAEEPPSTPCL
 PRSGHLDNNCARLTLHFNRDHPVQGTTVGAICSGIRSLPATRAVARDRLVLLCDRASSG
 ASAVEVAVSFSPARDLPDSSLIQGAHAIAVAITQRGNSSLLAVTEVKVETVVTGGSST
 GLLVPVLCGAFSVLWLVLCVWVTRKRRKERERSRLPREESANNQWAPLNPINPIER
 PGGHKDVLVYQCKNFTPPRRADEALPGPAGHAAREDEEDEDLGRGEEDSLEAEKFLSHK
 FTKDPRSPGRPAHWASGPKVDNRAVRSINEARYAGKE

Jag2 мыши (SEQ ID NO:4)

MRARGWGRLPRRLLLLLLVLCVQATPRPMGYFELQLSALRNVNGELLSGACCDGGRTRTAG
 GCGRDECPTYVRVCLKEYQAKVTPTGPCSYGYGATFVLGGNSFYLPFAGAAGDRARARSR
 TGGHQDPGLVVIPFQFAWPRSFTLIVEAWDWDNDTTTDEELLIERVSHAGMINPEDRWKS
 LHFSGHVAHLELQIRVRCDENYYSATCNKFCRPRNDDFGHYTCDQYGNKACMDGWMGKEC
 KEAVCKQGCNLLHGGCTVPGECCRSYGWQGRFCDECVPYPGCVHGSCVEPWCHDCETNWG
 GLLCDKDLNLYCGSHHPCVNGGTCINAEPDQYLCACPDGYLGKNCERAETHACASNPCANGG
 SCHEVPSGFECHCPSGWSGPTCALDIDECASNPCAAGGTCVDQVDGFECICPEQWVGATC
 QLDANECEGKPCLNAFSCKNLIGGYCDCLPGWKGINCQININDCHGQCQHGCTCKDLVN
 GYQVCVPRGFGGRHCELEYDKCASSPCRRGGICEDLVDGFRCHCPRGLSGLHCEVMDLCL
 EPSPCLNARCYNLEGDYYCACPEDFGGKNCVPRDTCPPGACRVIDGCGFEAGSRARGV
 APSGTCGPHGHCVSLPGGNFSCICDSGFTGTTCYCHENIDDCMGQPCRNGGTCIDEVDSFRC
 FCPSGWEGELCDINPNDCPLPDPCHSRGRCYDLVNDFYCACDDGWKGKTCHSREFQCDAYT
 CSNGGTCYDSGDTFRACAPPGWKGSTCTIAKNSSCVNPNPCVNGGTCVGSDFSFCICRDG
 WEGRTCTHNTNDCNPLPCYNGGICVDGVNWFRCCEAPGFAGPDCRINIDECQSSPCAYGA
 TCVDEINGYRCSCPPGRSGPRCQEVVITTRPCWSRGMSFPHGSSWMEDCNCRCLDGRHD
 CSKVWCGWKPCLLSGQPSDPSAQCPGQCCQEKAVGQCLQPPCENWGECTAEELPPSTP
 CQPRSSHLNDCARLTLRFNRDQVPQGTTVGAICSGIRALPATRAAAHDLRLLLLCDRAS
 SGASAVEVAVSFSPARDLPDSSLIQSTAHAIVAITQRGNSSLLAVTEVKVETVVMGGS
 STGLLVPLCSVFSVLWLVLCVWVTRKRRKERERSRLPRDESTNNQWAPLNPINPIER
 ERPGSGGLGTGGHKDILYQCKNFTPPRRAGEALPGPAGHGAGGEDEEDELRSRGDSDP
 EAEKFI SHKFTKDPSCSLGRPACWAPGPKVDNRAVRSTKDVRRAGRE

ФИГ. 2

3 / 36

**Последовательность экспрессированного мышинного белка Jag1-DSL-EGF1-4
(антиген Jag1 мыши)**

ADLGSQFELEILSMQNVNGELQNGNCCGGVRNPGDRKCTRDECDTYFKVCLKEYQSRVTAGGPCSFGSGSTPVI GGNTFNLKASRGNDNRNIVLPFSFAWPRS YTL LVEAWDSSNDTIQPD SII EKASHGMINPSRQWQTLKQNTGIAHFEYQIRVTCDDHYYGFGCNKF CRPRDDFFGHYACDQNGNKTCEGWMGPDCNKAI CRQGCSPKHGSKLP GDCRCQYGWQGLYCDKCI PHPGCVHGT CNEPWQCLCETN WGGQLCDKDLNYCGTHQPCLN RGTC SNTGPDKYQCSCPEGYSGPNCEIAEHACLSDPCHNRGSKETSSGFECESPGWTGPTCSTNIDDE**EFGLVPRGSGHHHHHH** (SEQ ID NO. 5)

ФИГ. 3А

Последовательность экспрессированного человеческого белка Jag1-DSL-EGF1-4 (антиген Jag1 человека)

QFELEILSMQNVNGELQNGNCCGGARNPGDRKCTRDECDTYFKVCLKEYQSRVTAGGPCSFGSGSTPVI GGNTFNLKASRGNDNRNIVLPFSFAWPRS YTL LVEAWDSSNDTVQPD SII EKASHGMINPSRQWQTLKQNTGVAHFEYQIRVTCDDY YGFGCNKF CRPRDDFFGHYACDQNGNKTCEGWMGPDCNKAI CRQGCSPKHGSKLP GDCRCQYGWQGLYCDKCI PHPGCVHGT CNEPWQCLCETN WGGQLCDKDLNYCGTHQPCLN GGTCSNTGPDKYQCSCPEGYSGPNCEIAEHACLSDPCHNRGSKETSLGFECESPGWTGPTCSTNIDD (SEQ ID NO. 6)

ФИГ. 3В

**Последовательность экспрессированного мышинного белка Jag2-DSL-EGF1-4
(антиген Jag2 мыши)**

ADLGSMGYFELQLSALRN VNGELL SGACCDGDGR TTRAGGCGRDECDTYVRVCLKEYQAKVTPTGPCSYGYGATPVLGGNSFYLP PAGAAGDRARARSRTGGHQDPGLVVI PFQFAWPRSFTLIVEAWDNDNDTTPDEELLIERVSHAGMINPEDRWKSLHFSGHVAHLELQIRVRCDENYYSATCNKFCRP RNDFFGHYTCDOYGNKACMDGWMGKECKEAVCKQGCNLLHGGCTVPGE CRCSYGWQGFCD ECVFYPGCVHGS CVEPWHCD CETNWGGLL CDKDLNYCGSHHPCVNGGTCINAEPDQYLCACPDGYLGKNCERA EHACASNPCANGGSCHEVPSGFEC HCPSGWNGPTCALDIDEE**EFGLVPRGSGHHHHHH** (SEQ ID NO. 7)

ФИГ. 3С

Последовательность экспрессированного человеческого белка Jag2-DSL-EGF1-4 (антиген Jag2 человека)

ARPMGYFELQLSALRN VNGELL SGACCDGDGR TTRAGGCGHDECDTYVRVCLKEYQAKVTPTGPCSYGHGATPVLGGNSFYLP PAGAAGDRARARARAGGDQDPGLVVI PFQFAWPRSFTLIVEAWDNDNDTTPNEELLIERVSHAGMINPEDRWKSLHFSGHVAHLELQIRVRCDENYYSATCNKFCRP RNDFFGHYTCDOYGNKACMDGWMGKECKEAVCKQGCNLLHGGCTVPGE CRCSYGWQGRFCDECVYPGCVHGS CVEPWQCN CETNWGGLL CDKDLNYCGSHHPCVNGGTCINAEPDQYRCTCPDGYSGRNCEKA EHACTSNPCANGGSCHEVPSGFEC HCPSGWSGPTCALDIDEE**EFGLVPRGSGHHHHHH** (SEQ ID NO. 8)

ФИГ. 3D

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40

Нумерация остатков в соответствии с системой Чотиа - CDR H1

[illegible][illegible]

Нумерация остатков в соответствии с системой Чотна - CDR H2

[illegible]

ФИГ. 4А-1

Нумерация остатков в соответствии с системой Кабат #

79 80 81 82 А В С 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99 100 А В С D E F G H K L M 101 102 103 104 105 106 107 108 109 110 111 112 113

Нумерация остатков в соответствии с системой Кабат- CDR H3

Нумерация остатков в соответствии с системой Чотия - CDR H3

Контактные области - CDR H3	
C	Y L Q M N S L R A E D T A V I Y C A R R S Y W E N S P G S G - - - P D Y
C-1	Y L Q M N S L R A E D T A V V Y C A R R S Y W S S S P G S A - - - P D Y
D	Y L Q M N S L R A E D T A V V Y C A R R S S P R S S G E G F G - - - M D V V
D-1	Y L Q M N S L R A E D T A V V Y C A R R D S S P R S S G E G F G - - - M D V V
A	Y L Q M N S L R A E D T A V V Y C A R R A G S S - - - - - P A Y W G Q G T L V T V S S
A-1	Y L Q M N S L R A E D T A V V Y C A R R A G S S - - - - - P A Y W G Q G T L V T V S S
A-2	Y L Q M N S L R A E D T A V V Y C A R R A G S S - - - - - P A Y W G Q G T L V T V S S
B	Y L Q M N S L R A E D T A V V Y C A R R M D Y D V R S V G S G - - - M D Y W G Q G T L V T V S S
B-1	Y L Q M N S L R A E D T A V V Y C A R R M D Y D V R T V G S G - - - M D Y W G Q G T L V T V S S
B-2	Y L Q M N S L R A E D T A V V Y C A R R M D Y D V R S V G S G - - - M D Y W G Q G T L V T V S S
B-3	Y L Q M N S L R A E D T A V V Y C A R R M D Y D V R F V G S G - - - M D Y W G Q G T L V T V S S
D-2	Y L Q M N S L R A E D T A V V Y C A R R S S P R S S G E G F G . . . M D V W G Q G T L V T V S S
D-3	Y L Q M N S L R A E D T A V V Y C A R R S S P R S S G E G F G . . . M D V W G Q G T L V T V S S
D-4	Y L Q M N S L R A E D T A V V Y C A R R S S P R S S G E G F G . . . M D V W G Q G T L V T V S S
D-5	Y L Q M N S L R A E D T A V V Y C A R R S S P R S S G E G F G . . . M D V W G Q G T L V T V S S

ФИГ. 4А-2

ФИГ. 4В-1

Нумерация остатков в соответствии с системой Кабат #

81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99 100 101 102 103 104 105 106 107

Нумерация остатков в соответствии с системой Кабат - CDR L3

Нумерация остатков в соответствии с системой Чотия - CDR L3

Контактные области-CDR L3	
---------------------------	--

C	SEQ ID NO: 26	K	I	V	E
C-1	SEQ ID NO: 26	K	I	V	E
D-1	SEQ ID NO: 27	K	I	V	E
D-1	SEQ ID NO: 28	K	I	V	E
A-1	SEQ ID NO: 18	K	I	V	E
A-2	SEQ ID NO: 19	K	I	V	E
B-1	SEQ ID NO: 20	K	I	V	E
B-1	SEQ ID NO: 21	K	I	V	E
B-2	SEQ ID NO: 22	K	I	V	E
B-3	SEQ ID NO: 23	K	I	V	E
D-2	SEQ ID NO: 24	K	I	V	E
D-3	SEQ ID NO: 77	K	I	V	E
D-3	SEQ ID NO: 78	K	I	V	E
D-4	SEQ ID NO: 79	K	I	V	E
D-5	SEQ ID NO: 80	K	I	V	E

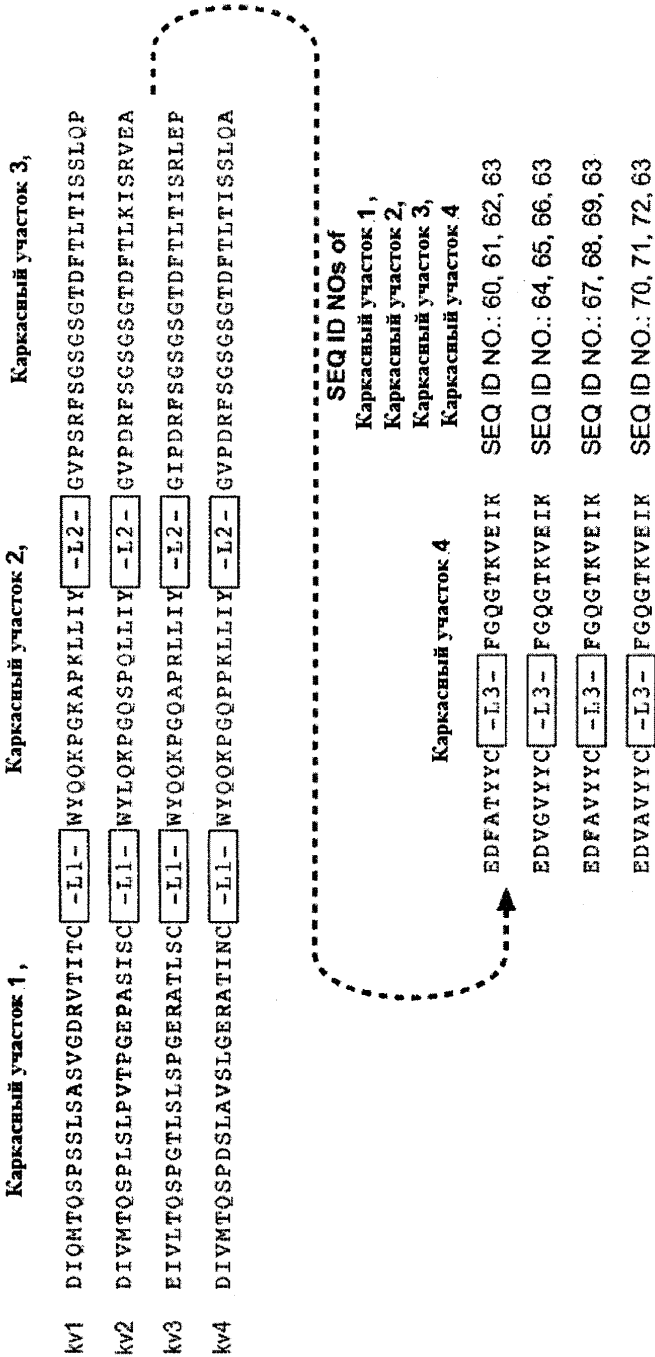
ФИГ. 4В-2

Каркасный участок 1		Каркасный участок 2	
I			
A	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT	-H1-	WVRQAPGGGLEWMG
B	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS	-H1-	WVRQAPGGGLEWM
C	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS	-H1-	WVRQAPGGGLEWM
D	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS	-H1-	WVRQAPGGGLEWM
II			
A	QVQLQESGPGGLVKPSQTLSTCTVS	-H1-	WIRQPPGKGLEWIG
B	QVQLQESGPGGLVKPSQTLSTCTVS	-H1-	WIRQPPGKGLEWI
C	QVQLQESGPGGLVKPSQTLSTCTVS	-H1-	WIRQPPGKGLEWI
D	QVQLQESGPGGLVKPSQTLSTCTVS	-H1-	WIRQPPGKGLEWI
III			
A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS	-H1-	WVRQAPGKGLEWVS
B	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS	-H1-	WVRQAPGKGLEWV
C	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS	-H1-	WVRQAPGKGLEWV
D	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS	-H1-	WVRQAPGKGLEWV
Акценторная последовательность - 1			
A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS	-H1-	WVRQAPGKGLEWVS
B	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS	-H1-	WVRQAPGKGLEWV
C	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS	-H1-	WVRQAPGKGLEWV
Акценторная последовательность - 2			
A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS	-H1-	WVRQAPGKGLEWVS
B	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS	-H1-	WVRQAPGKGLEWV
C	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS	-H1-	WVRQAPGKGLEWV
D	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS	-H1-	WVRQAPGKGLEWV

ФИГ. 5А

SEQ ID NOs of			
Каркасный участок 1,			
Каркасный участок 2,			
Каркасный участок 3,			
Каркасный участок 4			
Каркасный участок 3	Каркасный участок 4		
I			
A	ITADTSTSTAYMELSSLSRSED	TAVVYCAR	SEQ ID NO.: 32, 33, 34, 35
B	ITADTSTSTAYMELSSLSRSED	TAVVYCAR	SEQ ID NO.: 36, 37, 38, 35
C	ITADTSTSTAYMELSSLSRSED	TAVVYCAR	SEQ ID NO.: 36, 37, 38, 35
D	ITADTSTSTAYMELSSLSRSED	TAVVYCAR	SEQ ID NO.: 36, 37, 39, 35
II			
A	ISVDTSKNQFSLKLSVTAAD	TAVVYCAR	SEQ ID NO.: 40, 41, 42, 35
B	ISVDTSKNQFSLKLSVTAAD	TAVVYCAR	SEQ ID NO.: 43, 44, 42, 35
C	ISVDTSKNQFSLKLSVTAAD	TAVVYCAR	SEQ ID NO.: 43, 44, 45, 35
D	ISVDTSKNQFSLKLSVTAAD	TAVVYCAR	SEQ ID NO.: 43, 44, 46, 35
III			
A	ISRDNKNTLYLQMNLSLRAED	TAVVYCAR	SEQ ID NO.: 47, 48, 49, 35
B	ISRDNKNTLYLQMNLSLRAED	TAVVYCAR	SEQ ID NO.: 50, 51, 49, 35
C	ISRDNKNTLYLQMNLSLRAED	TAVVYCAR	SEQ ID NO.: 50, 51, 52, 35
D	ISRDNKNTLYLQMNLSLRAED	TAVVYCAR	SEQ ID NO.: 50, 51, 53, 35
Акценторная последовательность - 1			
A	ISADTSKNTAYLQMNLSLRAED	TAVVYCAR	SEQ ID NO.: 54, 48, 55, 35
B	ISADTSKNTAYLQMNLSLRAED	TAVVYCAR	SEQ ID NO.: 50, 51, 55, 35
C	ISADTSKNTAYLQMNLSLRAED	TAVVYCAR	SEQ ID NO.: 50, 51, 56, 35
Акценторная последовательность - 2			
A	ISADTSKNTAYLQMNLSLRAED	TAVVYCAR	SEQ ID NO.: 54, 48, 57, 35
B	ISADTSKNTAYLQMNLSLRAED	TAVVYCAR	SEQ ID NO.: 50, 51, 57, 35
C	ISADTSKNTAYLQMNLSLRAED	TAVVYCAR	SEQ ID NO.: 50, 51, 58, 35
D	ISADTSKNTAYLQMNLSLRAED	TAVVYCAR	SEQ ID NO.: 50, 51, 59, 35

ФИГ. 5В



ФИГ. 6

Последовательности HVR-H1 - антитело A и антитела с созревшей аффинностью, полученные из антитела A

		Номер остатка в соответствии с системой нумерации Кабат											
Антитело #	SEQ ID NO:	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35		
A, A-1, A-2	81	G	F	T	F	S	N	Y	G	I	H		

Последовательности HVR-H2 - антитело A и антитела с созревшей аффинностью, полученные из антитела A

		Номер остатка в соответствии с системой нумерации Кабат																	
Антитело #	SEQ ID NO:	50	51	52	52A	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	
A, A-1	82	W	I	T	P	D	G	G	Y	T	D	Y	A	D	S	V	K	G	
A-2	83	W	I	T	G	N	G	G	Y	S	D	Y	A	D	S	V	K	G	
Компьютерная последовательность	84	W	I	T	P/G	D/N	G	G	Y	T/S	D	Y	A	D	S	V	K	G	

ФИГ. 7А

Последовательности HVR-H2 - антитело А и антитела с созревшей аффинностью, полученные из антитела А

		Номер остатка в соответствии с системой нумерации Кабат							
Антитело #	SEQ ID NO:	95	96	97	98	100k	101	102	
A, A-2	85	A	G	S	W	F	A	Y	
A-1	86	A	G	S	L	F	A	Y	
Консенсусная последовательность	87	A	G	S	W/L	F	A	Y	

Последовательности HVR-H1 - антитело В и антитела с созревшей аффинностью, полученные из антитела В

		Номер остатка в соответствии с системой нумерации Кабат									
Антитело #	SEQ ID NO:	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35
B, B-1, B-2, B-3, B-4	88	G	F	T	F	T	S	Y	D	I	H

ФИГ. 7В

Последовательности HVR-H3 - антитело В и антитела с созревшей аффинностью, полученные из антитела В

		Номер остатка в соответствии с системой нумерации Кабат																
Антитело #	SEQ ID NO:	50	51	52	52A	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65
B, B-1, B-2, B-3, B-4	89	G	I	S	P	A	D	G	D	T	D	Y	A	N	S	V	K	G

Последовательности HVR-H3 - антитело В и антитела с созревшей аффинностью, полученные из антитела В

		Номер остатка в соответствии с системой нумерации Кабат															
Антитело #	SEQ ID NO:	95	96	97	98	99	100	100A	100B	100C	100D	100E	100K	101	102		
В, В2	90	N	D	Y	D	V	R	S	V	G	S	G	M	D	Y		
В-1	91	N	D	Y	D	V	R	T	V	G	S	G	M	D	Y		
В-3	92	N	D	Y	D	V	R	F	V	G	S	G	M	D	Y		
В-4	93	N	D	Y	D	V	R	Y	F	G	S	G	M	D	Y		
Консенсусная последовательность	94	N	D	Y	D	V	R	S/T/ F/Y	V/F	G	S	G	M	D	Y		

ФИГ. 7С

Последовательности HVR-H1 - антитело С и антитела с созревшей аффинностью, полученные из антитела С

Номер остатка в соответствии с системой нумерации Кабат											
Антитело #	SEQ ID NO:	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35
C, C-1	95	G	F	T	F	T	N	S	D	I	H

Последовательности HVR-H2 - антитело С и антитела с созревшей аффинностью, полученные из антитела С

		Номер остатка в соответствии с системой нумерации Кабат																
Антигено #	SEQ ID NO:	50	51	52	52A	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65
C, C-1	96	G	F	T	F	A	D	G	Y	T	D	Y	A	D	S	V	K	G

Последовательности HVR-H3 - антитело С и антитела с созревшей аффинностью, полученные из антитела С

Номер остатка в соответствии с системой нумерации Кабат																	
Антитело #	SEQ ID NO:	95	96	97	98	99	100	100A	100B	100C	100D	100K	101	102			
C	97	S	Y	W	N	N	S	P	G	S	G	F	D	Y			
C-1	98	S	Y	W	S	S	S	P	G	S	A	F	D	Y			
Консенсусная последовательность	99	S	Y	W	N/S	N/S	S	P	G	S	G/A	F	D	Y			

ФИГ. 7D

		Номер остатка в соответствии с системой нумерации Кабат										
Антителo #	SEQ ID NO:	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	
D, D-1	100	G	F	T	F	T	S	N	Y	M	S	
D-2	101	G	F	S	V	K	P	M	Y	M	T	
D-3	102	G	F	T	F	I	S	N	Y	V	S	
D-4	103	G	F	T	V	T	P	L	Y	M	S	
D-5	104	G	F	T	V	T	P	M	Y	M	S	
Консенсусная последовательность	105	G	F	T/S	F/V	T/K I/T	S/P	N/M/ L	Y	M/V	S/T	

		Номер остатка в соответствии с системой нумерации Кабат																
Антигено #	SEQ ID NO:	50	51	52	52A	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65
D, D-1, D-2, D-3, D-4, D-5	106	T	I	W	Y	Q	S	G	T	T	D	Y	A	D	S	V	K	G

Фиг. 7Е

Последовательности HVR-НЗ - антигено D и антигена с созревшей аффинностью, полученные из антигена D

Антиген #	SEQ ID NO:	Номер остатка в соответствии с системой нумерации Кэбят										
		95	96	97	98	99	100	100A	100B	100C	100D	100K
D, D-2, D-3, D-4, D-5	107	S	S	P	W	S	G	E	G	F	G	M
D-1	108	D	S	P	W	P	S	K	G	F	G	M
Консенсусная последовательность	109	S/D	S	P	W	S/P	G/S	E/K	G	F	G	M

ФИГ. 7F

Последовательности HVR-L1 – антигено A и антигена с созревшей аффинностью, полученные из антигена A												
		Номер остатка в соответствии с системой нумерации Кабат										
Антигено #	SEQ ID NO:	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34
A, A-1, A-2	110	R	A	S	Q	D	V	S	T	A	V	A
Последовательности HVR-L2 – антигено A и антигена с созревшей аффинностью, полученные из антигена A												
		Номер остатка в соответствии с системой нумерации Кабат										
Антигено #	SEQ ID NO:	50	51	52	53	54	55	56				
A, A-1, A-2	111	S	A	S	F	L	Y	S				
Последовательности HVR-L3 – антигено A и антигена с созревшей аффинностью, полученные из антигена A												
		Номер остатка в соответствии с системой нумерации Кабат										
Клон #	SEQ ID NO:	89	90	91	92	93	94	95	96	97		
A, A-2	112	Q	Q	S	Y	T	T	P	P	T		
A-1	113	Q	Q	Y	Y	T	T	A	T	T		
Консенсусная последовательность	114	Q	Q	S/Y	Y	T	T	P/A	P/T	T		

ФИГ. 8А

Последовательности HVR-L1 – антигено В и антигено с созревшей аффинностью, полученные из антигена В

		Номер остатка в соответствии с системой нумерации Кабат											
АНТИТЕЛО #	SEQ ID NO:	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	
В, В-1, В-2 В-3, В-4	115	R	A	S	Q	D	V	S	T	A	V	A	

Последовательности HVR-L2 – антигено В и антигено с созревшей аффинностью, полученные из антигена В

		Номер остатка в соответствии с системой нумерации Кабат							
Антиген #	SEQ ID NO:	50	51	52	53	54	55	56	
B, B-1, B-2 B-3, B-4	116	S	A	S	F	L	Y	S	

ФИГ. 8В

Последовательности HVR-L3 – антитело В и антитела с созревшей аффинностью, полученные из антитела В

		Номер остатка в соответствии с системой нумерации Кабат														
Клон #	SEQ ID NO:	89	90	91	92	93	94	95	96	97						
В	117	Q	Q	S	Y	T	T	P	P	T						
В-1	118	Q	Q	S	Y	T	S	A	P	T						
В-2	119	Q	Q	S	W	T	A	P	P	T						
В-3	120	Q	Q	S	F	T	A	P	P	T						
В-4	121	Q	Q	S	Y	I	S	P	P	T						
Консенсусная последовательность	122	Q	Q	S	Y/W/ F	T/I	T/S/ A	P/A	P	T						

Последовательности HVR-L1 – антитело С и антитела с созревшей аффинностью, полученные из антитела С

		Номер остатка в соответствии с системой нумерации Кабат												
Антитело #	SEQ ID NO:	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34		
С, С-1	123	R	A	S	Q	D	V	S	T	A	V	A		

ФИГ. 8С

Последовательности HVR-L2 – антигено С и антигена с созревшей аффинностью, полученные из антигена С

Антиген #	SEQ ID NO:	Номер остатка в соответствии с системой нумерации Кабат					
		50	51	52	53	54	55
С, С-1	124	S	A	S	F	L	Y

Последовательности HVR-L3 – антигена С и антигена с созревшей аффинностью, полученные из антигена С

Клон #	SEQ ID NO:	Номер остатка в соответствии с системой нумерации Кабат									
		89	90	91	92	93	94	95	96	97	
С	125	Q	Q	S	Y	T	T	P	P	T	
С-1	126	Q	Q	S	Y	I	S	P	S	T	
Консервация последовательности	127	Q	Q	S	Y	T/I	T/S	P	P/S	T	

Последовательности HVR-L1 – антигена D и антигена с созревшей аффинностью, полученные из антигена D

Антиген #	SEQ ID NO:	Номер остатка в соответствии с системой нумерации Кабат											
		24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	
D, D-1, D-2, D-3, D-4, D-5	128	R	A	S	Q	S	I	S	S	Y	L	A	

ФИГ. 8D

Последовательности HVR-L2 – антигено D и антигена с созревшей аффинностью, полученные из антигена D

		Номер остатка в соответствии с системой нумерации Кабат									
Антиген #	SEQ ID NO:	50	51	52	53	54	55	56			
D, D-1, D-2, D-3, D-4, D-5	129	G	A	S	S	R	A	S			

Последовательности HVR-L3 – антигено D и антигена с созревшей аффинностью, полученные из антигена D

		Номер остатка в соответствии с системой нумерации Кабат														
Клон #	SEQ ID NO:	89	90	91	92	93	94	95	96	97						
D	130	Q	Q	Y	Y	S	S	P	L	T						
D-1	131	Q	Q	Y	L	S	S	P	I	T						
D-2, D-4, D-5	132	Q	Q	Y	S	S	S	P	L	T						
D-3	133	Q	Q	Y	H	S	S	P	L	T						
Консенсусная последовательность	134	Q	Q	Y	Y/L/S/H	S	S	P	L/I	T						

ФИГ. 8E

Последовательности каркаса вариабельного домена легкой цепи антитела A, A-1, A-2, B, B-1, B-2, B-3, C, C-1, D, D-1, D-2, D-3, D-4 и D-5

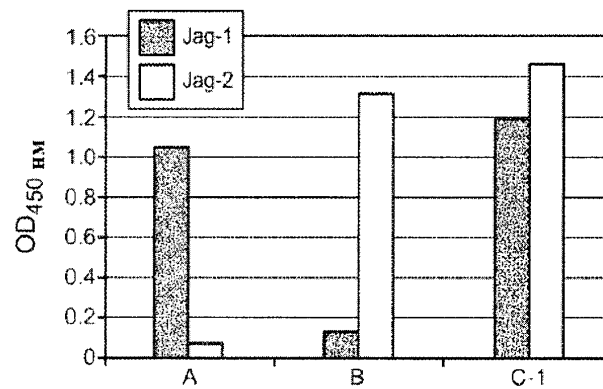
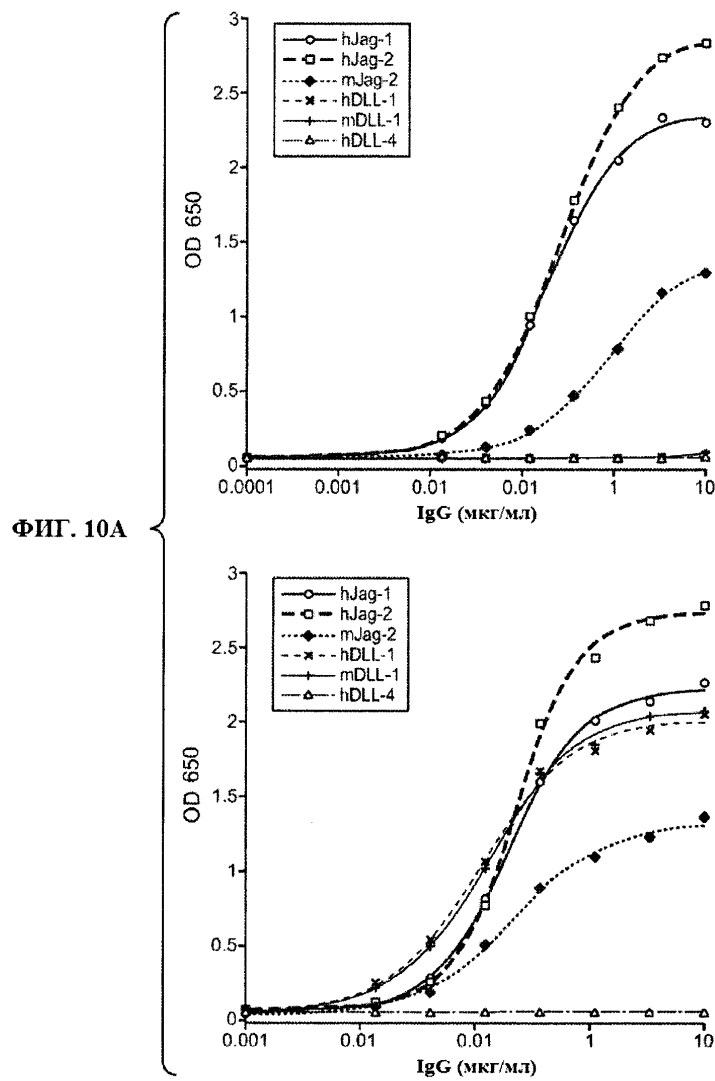
LC-FR1	¹ Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys ²³ (SEQ ID NO:60)
LC-FR2	³⁵ Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Ile Tyr ⁴⁹ (SEQ ID NO:61)
LC-FR3	⁵⁷ Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys ⁸⁸ (SEQ ID NO:62)
LC-FR4	⁹⁶ Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg ¹⁰⁸ (SEQ ID NO:135)

Последовательности каркаса вариабельного домена тяжелой цепи антитела A, A-1, A-2, B, B-1, B-2, B-3, C и C-1

HC-FR1	¹ Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser ²⁵ (SEQ ID NO:50)
HC-FR2	³⁶ Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly ⁴⁹ (SEQ ID NO:136)
HC-FR3	⁶⁶ Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg ⁹⁴ (SEQ ID NO:57)
HC-FR4	¹⁰³ Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser ¹¹³ (SEQ ID NO:35)

Последовательности каркаса вариабельного домена тяжелой цепи антитела D, D-1, D-2, D-3, D-4 и D-5

HC-FR1	¹ Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser ²⁵ (SEQ ID NO:50)
HC-FR2	³⁶ Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser ⁴⁹ (SEQ ID NO:48)
HC-FR3	⁶⁶ Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg ⁹⁴ (SEQ ID NO:57)
HC-FR4	¹⁰³ Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser ¹¹³ (SEQ ID NO:35)

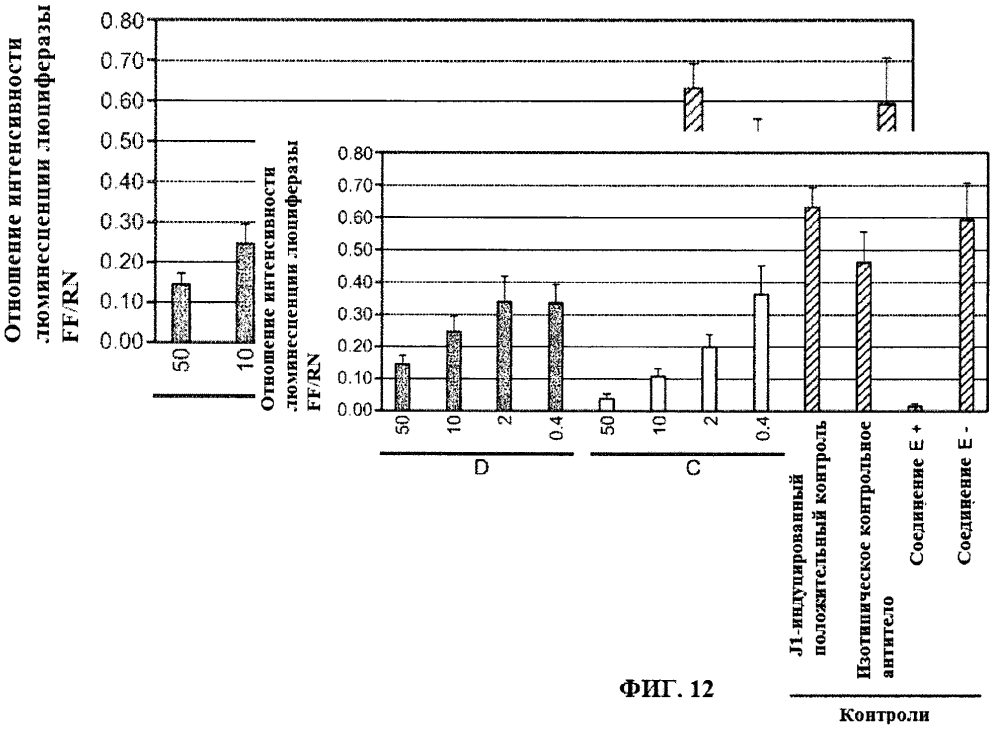


ФИГ. 10В

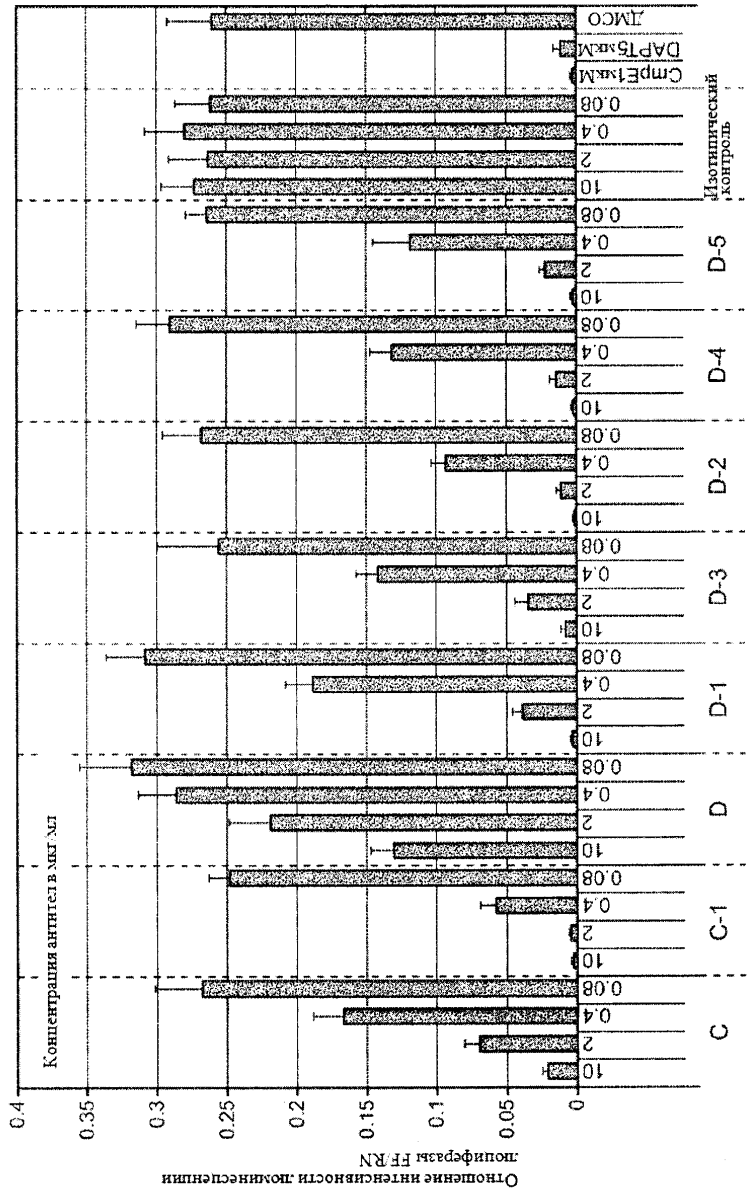
Сводная таблица данных B15016		Человеческий Jag1				Человеческий Jag2				Мышиный Jag2			
Клон (hlgG1)	Скорость связывания (1/Mc)	Скорость образования (1/c)	Kd(M)	Скорость связывания (1/Mc)	Скорость образования (1/c)	Kd(M)	Скорость связывания (1/Mc)	Скорость образования (1/c)	Kd(M)	Скорость связывания (1/Mc)	Скорость образования (1/c)	Kd(M)	Скорость связывания (1/Mc)
C	2.7E+05	6.2E-04	2.3E-09	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C-1	2.9E+05	9.0E-05	3.1E-10	8.9E+05	1.1E+04	1.2E-10	7.4E+05	5.40E-04	1.2E-10	7.4E+05	5.40E-04	7.3E-10	7.3E-10
D	1.8E+05	2.3E-03	1.3E-08	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
D-2	1.2E+05	1.3E-04	1.1E-09	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
D-1	8.1E+04	4.2E-05	5.2E-10	5.7E+04	2.7E+04	4.6E-09	6.2E+04	8.50E-04	4.6E-09	6.2E+04	8.50E-04	1.4E-08	1.4E-08
A	2.3E+04	2.1E-03	9.4E-08	No Binding up to 0.5 µM									
A-1	8.3E+04	5.9E-05	7.1E-10										
A-2	2.3E+05	7.1E-05	3.0E-10										
B	Связывание отсутствует при концентрации не более 0.5 µM			2.5E+06	2.6E-03	1.0E-09	2.5E+06	2.6E-03	1.0E-09	2.5E+06	2.6E-03	1.0E-09	1.0E-09
B-1							8.5E+05	1.61E-03		8.5E+05	1.61E-03	1.1E-09	1.1E-09
B-2							1.3E+06	3.23E-06		1.3E+06	3.23E-06	2.5E-12	2.5E-12
B-4							6.6E+05	3.25E-04		6.6E+05	3.25E-04	4.9E-10	4.9E-10
B-3							5.8E+05	1.75E-04		5.8E+05	1.75E-04	3.0E-10	3.0E-10

Фиг. 11

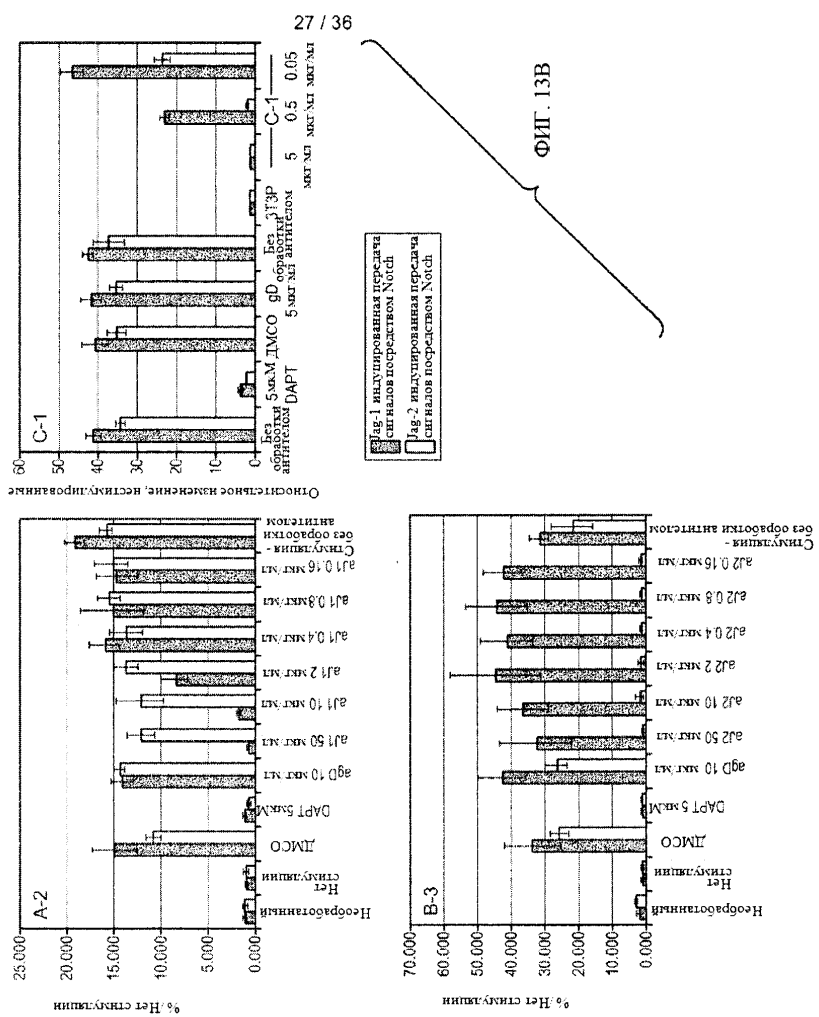
25 / 36



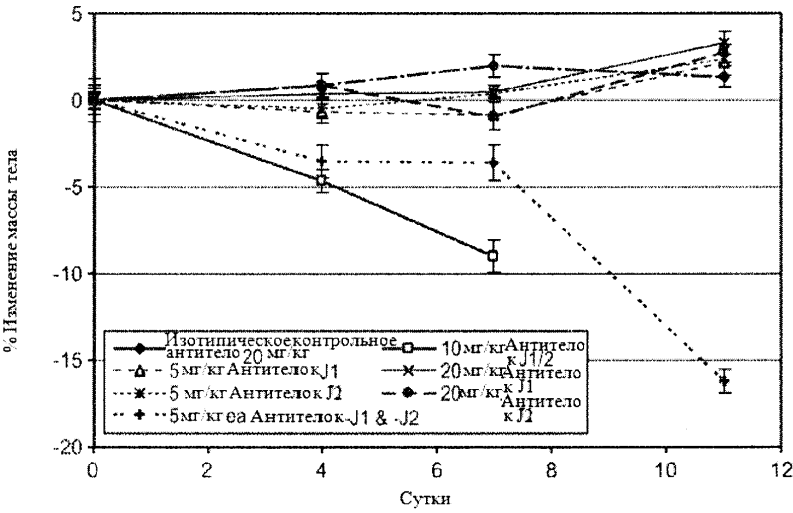
ФИГ. 12



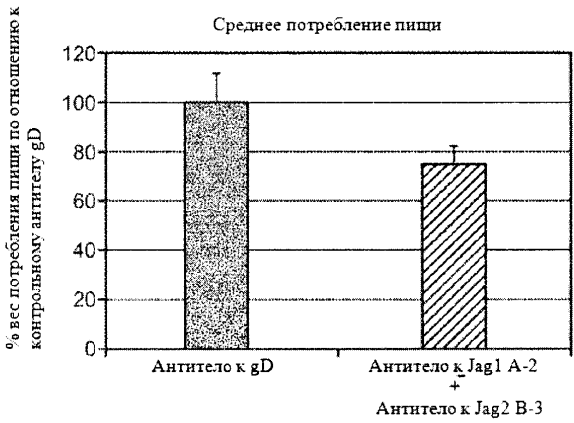
ФИГ. 13А



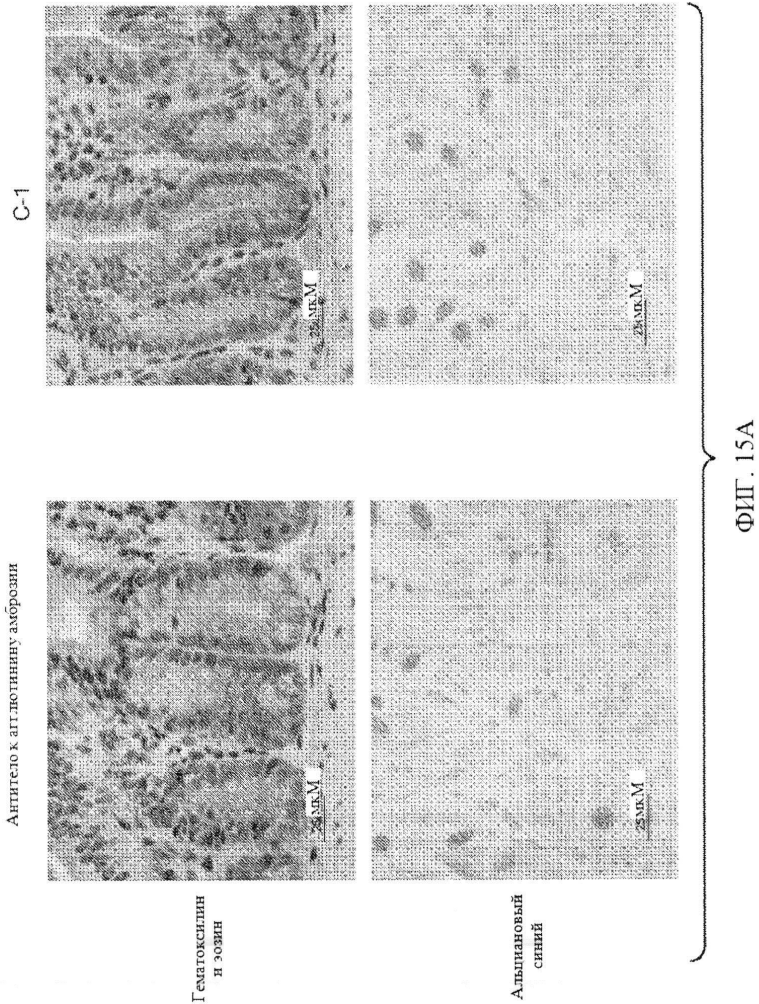
28 / 36

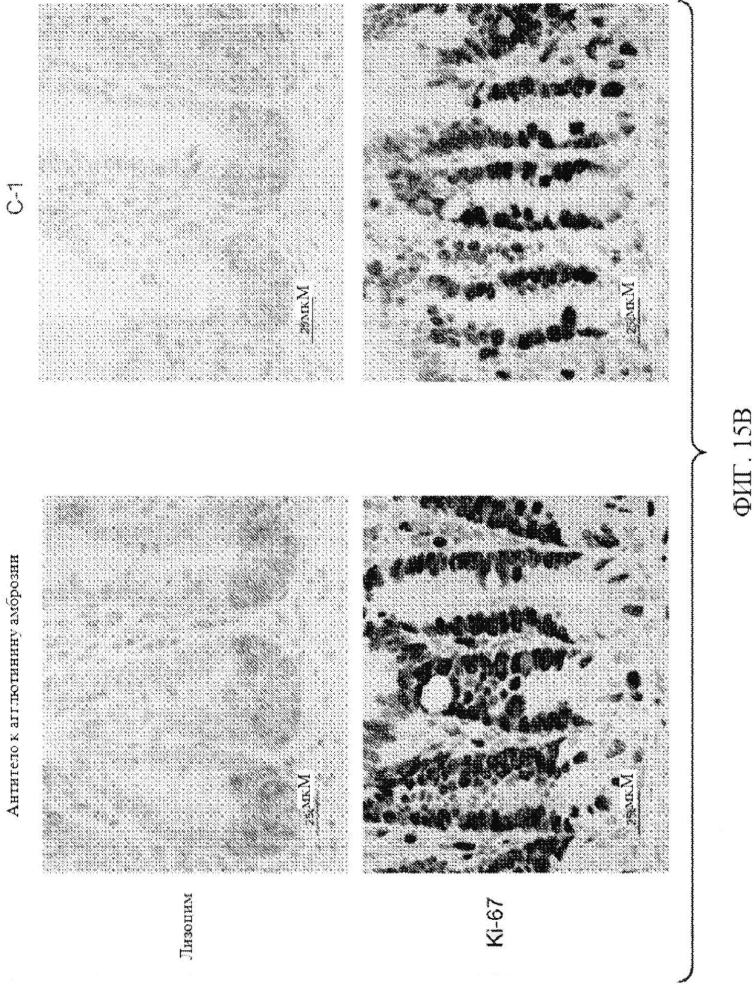


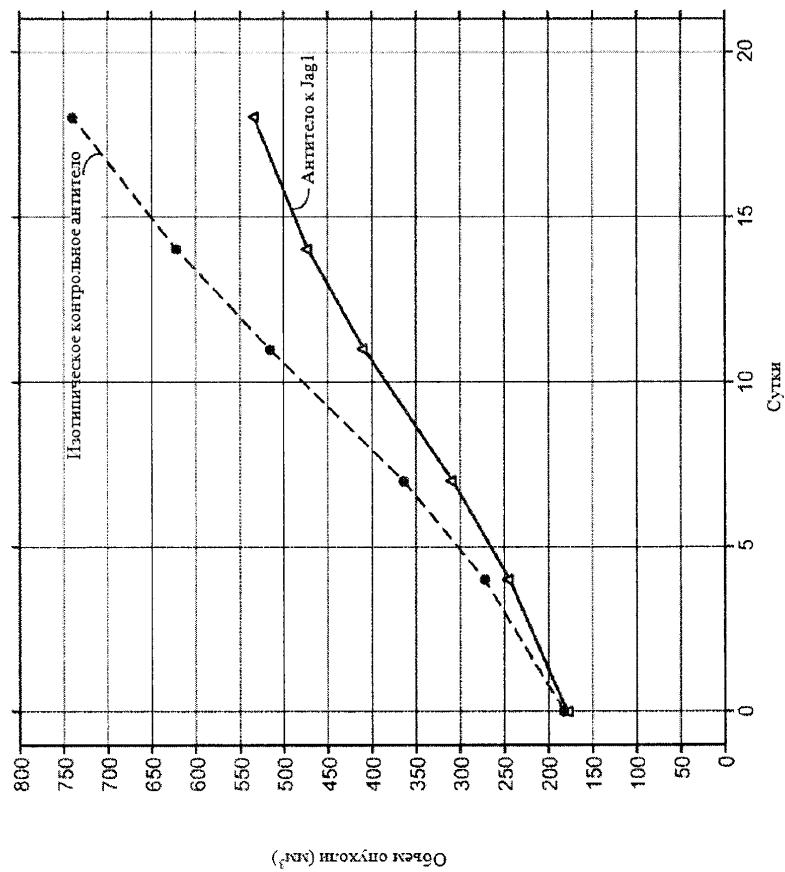
ФИГ. 14А



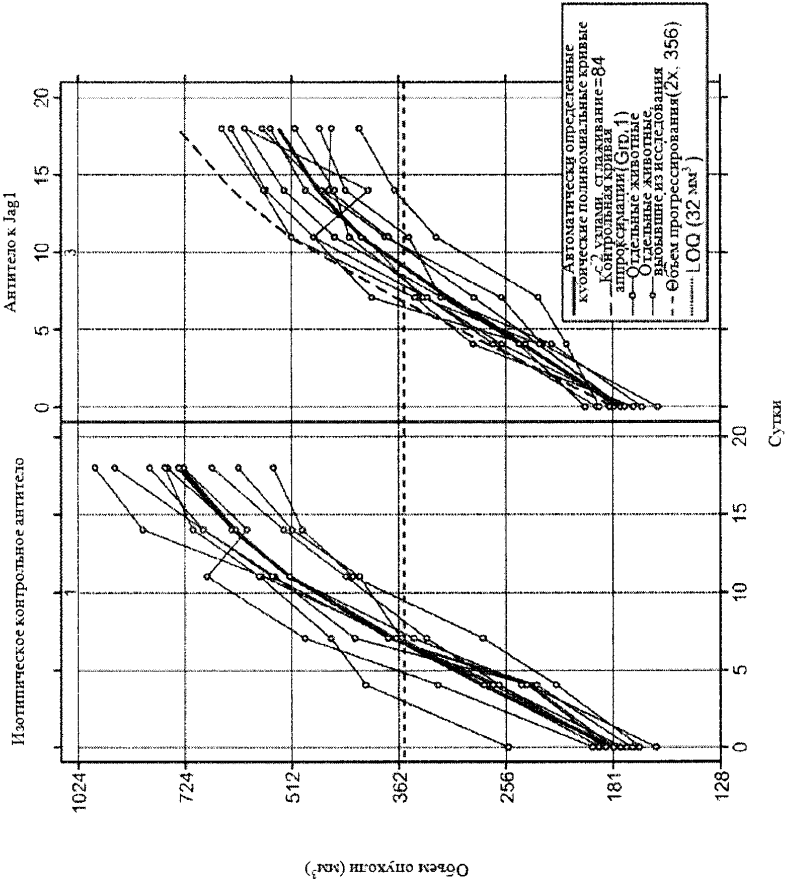
ФИГ. 14В



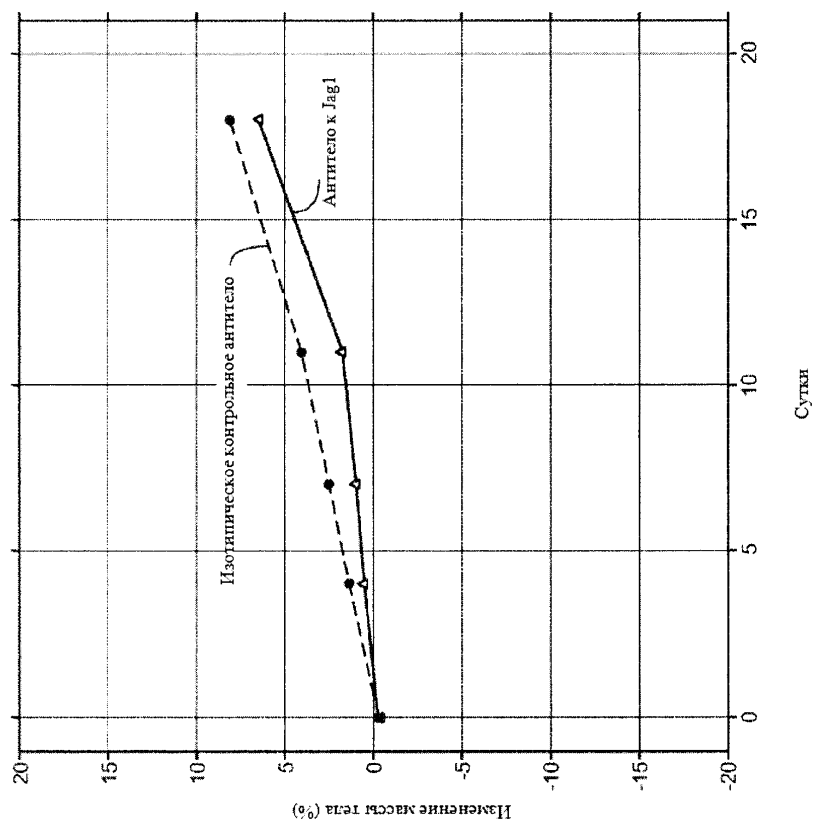




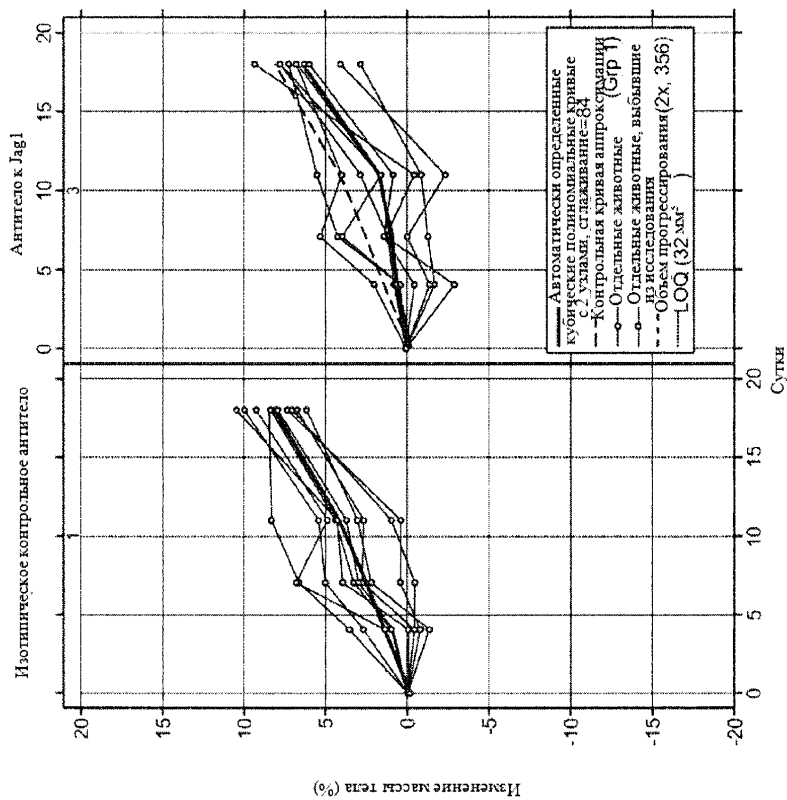
ФИГ. 16А-1



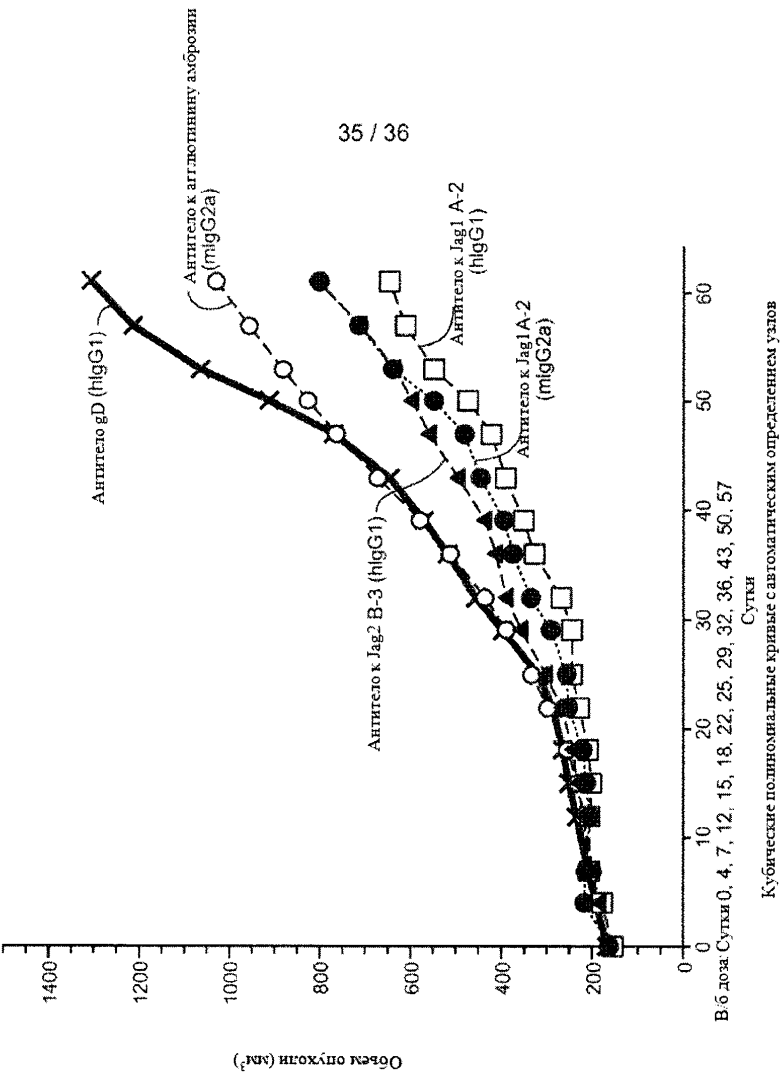
ФИГ. 16А-2



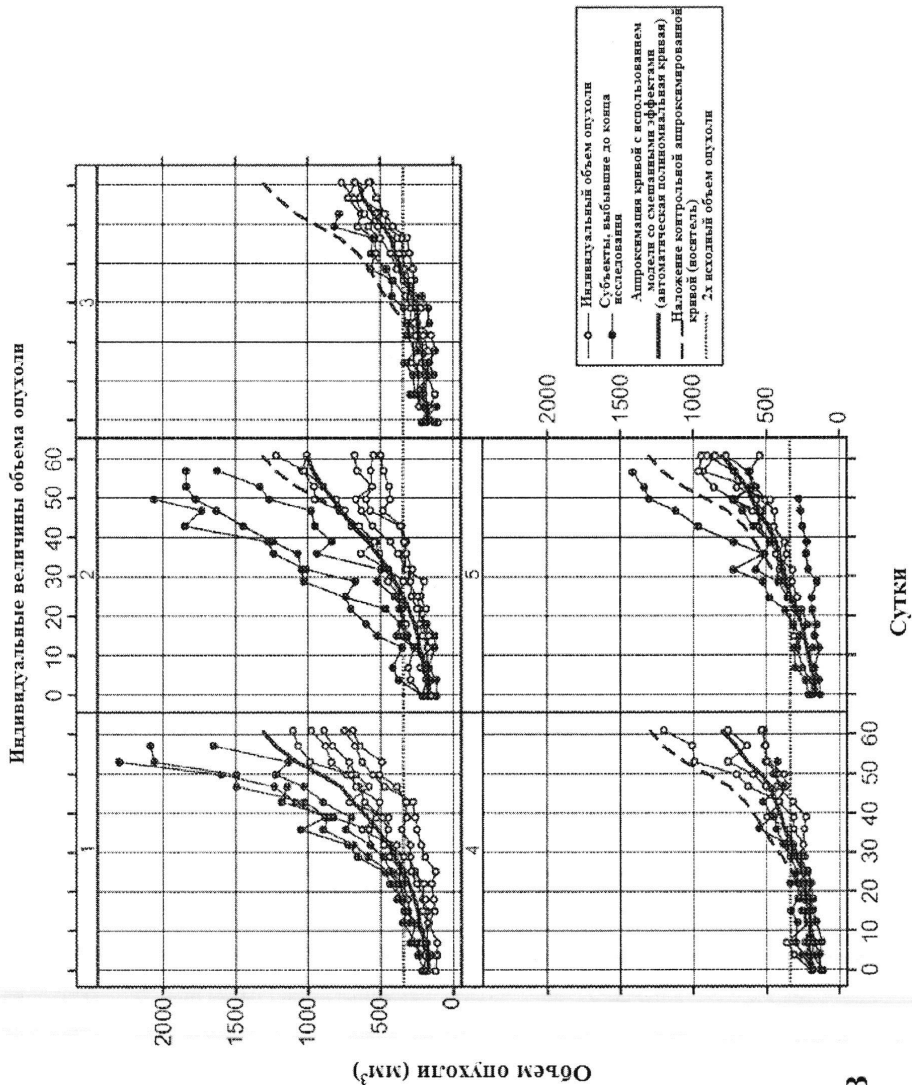
ФИГ. 16В-1



ФИГ. 16B-2



ФИГ. 17А



ФИГ. 17В