

Заявка на данный патент претендует на приоритет по предварительной заявке США № 60/348980, поданной 9 ноября 2001 г.

### Характеристика известного уровня техники

Антиген CD40 представляет собой гликопротеин клеточной поверхности в 50 кДа, который относится к семейству рецепторов фактора некроза опухолей (TNF-R). (Stamenkovic et al., EMBO J. 8:1403-10 (1989)). CD40 экспрессируется во многих типах нормальных и опухолевых клеток, включая В-лимфоциты, дендритные клетки, моноциты, макрофаги, эпителий вилочковой железы, эндотелиальные клетки, фибробласты и клетки гладкой мускулатуры. (Paulie S. et al., Cancer Immunol. Immunother. 20:23-8 (1985); Banchereau J. et al., Adv. Exp. Med. & Biol. 378:79-83 (1995); Alderson M.R. et al., J. of Exp. Med. 178:669-74 (1993); Ruggiero G. et al., J. of Immunol. 156:3737-46 (1996); Hollenbaugh D. et al., J. of Exp. Med. 182:33-40 (1995); Yellin M.J. et al., J. of Leukocyte Biol. 58:209-16 (1995); и Lazaar A.L. et al., J. of Immunol. 161:3120-7 (1998)). CD40 экспрессируется во всех В-лимфомах и в 70% всех солидных опухолей. Несмотря на конститутивную экспрессию, CD40 хорошо регулируется в антигенпрезентирующих клетках с помощью сигналов созревания, таких как LPS, IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$  и GM-CSF.

Активация CD40 играет решающую роль в регуляции гуморального и клеточного иммунных ответов. Антигенная презентация без активации CD40 может привести к толерантности, а CD40-сигнализация может способствовать обратимости такой толерантности, усилить антигенную презентацию с помощью всех антигенпрезентирующих клеток (АПК), привести к секреции хелперных цитокинов и хемокинов, повысить экспрессию костимулирующих молекул и передачу сигналов, а также стимулировать цитолитическую активность иммунных клеток.

CD40 играет ключевую роль в пролиферации В-клеток, созревании и переключении класса иммуноглобулинов. (Foy T.M. et al., Ann. Rev. of Immunol. 14:591-617 (1996)). Нарушение сигнального пути CD40 ведет к аномальному распределению изотипов сывороточного иммуноглобулина, к отсутствию CD4+-Т-клеточного примирования и к дефектам вторичных гуморальных ответов. Например, Х-сцепленный синдром избыточного образования IgM представляет собой заболевание, связанное с мутацией у человека гена CD40L, которое характеризуется неспособностью пораженных индивидов вырабатывать антитела, отличные от IgM-изотопа, и свидетельствующее о том, что для эффективного иммунного ответа необходимо продуктивное взаимодействие между CD40 и CD40L.

Захват CD40 с помощью CD40L приводит к ассоциации цитоплазматического домена CD40 с TRAF (TNF-R-ассоциируемые факторы). (Lee H.H. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96:1421-6 (1999); Pullen S.S. et al., Biochemistry 37:11836-45 (1998); Grammar A.C. et al., J. of Immunol. 161:1183-93 (1998); Ishida T.K. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:9437-42 (1996); Pullen S.S. et al., J. of Biol. Chem. 274:14246-54 (1999)). Такое взаимодействие с TRAF может завершать активацию обоих путей - NF $\kappa$ B и Jun/AP1. (Tsukamoto N. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96:1234-9 (1999); Sutherland C.L. et al., J. of Immunol. 162:4720-30 (1999)). В зависимости от типа клеток, данная сигнализация приводит к усилению секреции цитокинов, таких как IL-6 (Jeppson J.D. et al., J. of Immunol. 161:1738-42 (1998); Uejima Y. et al., Int. Arch. of Allergy & Immunol. 110:225-32, (1996), IL-8 (Gruss H.J. et al., Blood 84:2305-14 (1994); von Leoprechting A. et al., Cancer Res. 59:1287-94 (1999); Denfeld R.W. et al., Europ. J. of Immunol. 26:2329-34 (1996)), IL-12 (Cella M. et al., J. of Exp. Med. 184:747-52 (1996); Ferlin W.G. et al., Europ. J. of Immunol. 28:525-31 (1998); Armant M. et al., Europ. J. of Immunol. 26:1430-4 (1996); Koch F. et al., J. of Exp. Med. 184:741-6 (1996); Seguin R. and L.H. Kasper, J. of Infect. Diseases 179:467-74 (1999); Chaussabel D. et al., Infection & Immunity 67:1929-34 (1999)), IL-15 (Kuniyoshi J.S. et al., Cellular Immunol. 193:48-58 (1999)) и хемокинов (MIP1 $\alpha$ , MIP1 $\beta$ , RANTES и другие) (McDyer J.F. et al., J. of Immunol. 162:3711-7 (1999); Schaniel C. et al., J. of Exp. Med. 188:451-63 (1998); Altenburg A. et al., J. of Immunol. 162:4140-7 (1999); Deckers J.G. et al., J. of the Am. Society of Nephrology 9:1187-93 (1998)), повышает экспрессию МНС класса I и II (Santos-Argumedo L. et al., Cellular Immunol. 156:272-85 (1994)), и повышает экспрессию адгезивных молекул (например, ICAM) (Lee H.H. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96:1421-6 (1999); Grousson J. et al., Archives of Dermatol. Res. 290:325-30 (1998); Katada Y. et al., Europ. J. of Immunol. 26:192-200 (1996); Mayumi M. et al., J. of Allergy & Clin. Immunol. 96:1136-44 (1995); Flores-Romo L. et al., Immunol. 79:445-51 (1993) и костимулирующих молекул (например, B7) (Roy M. et al., Europ. J. of Immunol. 25:596-603 (1995); Jones K.W. and C.J. Hackett, Cellular Immunol. 174:42-53 (1996); Caux C. et al., Journal of Exp. Med. 180:1263-72 (1994); Kiener P.A. et al., J. of Immunol. 155:4917-25 (1995)). Цитокины индуцировали в результате захвата CD40, что повышает выживаемость и активацию Т-клеток.

Помимо усиления клеточной и иммунной функции, эффекты CD40-активации включают в себя рекрутинг клеток и их дифференцировку с помощью хемокинов и цитокинов; активацию моноцитов, повышение цитолитической активности цитолитических Т-лимфоцитов (CTL) и природных киллерных (NK) клеток; индукцию апоптоза в CD40-позитивных злокачественных опухолях; усиление иммуногенности CD40-позитивных злокачественных опухолей; и образование антител, специфичных в отношении злокачественных опухолей. Установлена также роль CD40-активации в опосредованных клеткой иммунных ответах, которая рассматривается у Grewall et al., Ann. Rev. of Immunol. 16:111-35 (1998); Mackey et al., J. of Leukocyte Biol. 63:418-28 (1998); и Noelle R.J., Agents & Actions - Suppl. 49:17-22 (1998).

Исследования с использованием модельной системы перекрестного примирования показывают, что CD40-активация АПК может заменить потребность в хелперных Т-клетках, необходимых для образования цитолитических Т-лимфоцитов (CTL). (Bennett et al., *Nature* 393:478-480 (1998)). Данные, полученные на мышах с недостатком CD40L, свидетельствуют о явной потребности в CD40-сигналах для инициации хелперных Т-клеток. (Grewal I.S. et al., *Science* 273:1864-7 (1996); Grewal I.S. et al., *Nature* 378:617-20 (1995)). CD40-активация преобразует в противном случае толерогенные, антиген несущие В-клетки в компетентные АПК. (Buhlmann J.E. et al., *Immunity* 2:645-53 (1995)). CD40-активация индуцирует созревание и дифференцировку клеток-предшественников пуповинной крови в дендритные клетки. (Flores-Romo L. et al., *J. of Exp. Med.* 185:341-9 (1997); Mackey M.F. et al., *J. of Immunol.* 161:2094-8 (1998)). CD40-активация индуцирует также дифференцировку моноцитов в функциональные дендритные клетки. (Brossart P. et al., *Blood* 92:4238-47 (1998)). Кроме того, CD40-активация повышает цитолитическую активность NK-клеток с помощью АПК-CD40 индуцированных цитокинов. (Carbone E. et al., *J. of Exp. Med.* 185:2053-60 (1997); Martin-Fontecha A. et al., *J. of Immunol.* 162:5910-6 (1999)). Данные наблюдения свидетельствуют о том, что CD40 играет существенную роль в инициации и усилении иммунных ответов путем индукции созревания АПК, секреции хелперных цитокинов, улучшенной регуляции ко-стимулирующих молекул, а также в усилении эффекторных функций.

Ключевая роль CD40-сигналов в инициации и развитии гуморального и цитотоксического иммунных ответов делает данную систему идеальной мишенью для иммунного усиления. Такое усиление может быть особенно важным для поддержания эффективных иммунных ответов на антигены злокачественных опухолей, которые, как правило, представляются иммунной системе через примирование перекрестнореагирующим антигеном активированных АПК. (Huang A.Y. et al., *Ciba Foundation Symp.* 187:229-44 (1994); Toes R.E.M. et al., *Seminars in Immunol.* 10:443-8 (1998); Albert M.L. et al., *Nature* 392:8 6-9 (1998); Bennett S.R. et al., *J. of Exp. Med.* 186:65-70 (1997)).

Несколько групп исследователей продемонстрировали эффективность CD40-активации в отношении противоопухолевых ответов *in vitro* и *in vivo* (Toes R.E.M. et al., *Seminars in Immunol.* 10:443-8 (1998)). Две группы исследователей, используя модель легочных метастазов почечно-клеточной карциномы и подкожные опухоли, вызванные с помощью трансформированных вирусом клеток, независимо показали, что активация CD40 может обратить толерантность к опухолеспецифичным антигенам, вызывая эффективную противоопухолевую инициацию Т-клеток. (Sotomayor E.M. et al., *Nature Medicine* 5:780-787 (1999); Diehl L. et al., *Nature Medicine* 5:774-9 (1999)). О противоопухолевой активности в отсутствие иммунных клеток сообщается также для обработанной с помощью CD40L и антитела к CD40 модельной линии злокачественных клеток молочной железы человека у SCID-мышей (Hirano A. et al., *Blood* 93:2999-3007 (1999)). На мышинных моделях недавно показана ликвидация лимфом CD40<sup>+</sup> и CD40<sup>-</sup> в результате CD40-активации с помощью антител к CD40. (French R.R. et al., *Nature Medicine* 5:548-53 (1999)). Более того, в предыдущих исследованиях Glennie и соавторов сделан вывод о том, что сигнальная активность антител к CD40 более эффективна для индукции клиренса опухоли *in vivo*, чем сигнальная активность других антител к поверхностным маркерам, способных вызывать рекрутинг эффекторов. (Tutt A.L. et al., *J. of Immunol.* 161:3176-85 (1998)). Согласно этим наблюдениям, при тестировании антитела к CD40 на активность против CD40<sup>+</sup>-злокачественных клеток *in vivo* в большинстве случаев, хоть и не всегда, туморицидная активность ассоциируется скорее с CD40-сигналом, чем с ADCC. (Funakoshi S. et al., *J. of Immunotherapy with Emphasis on Tumor Immunol.* 19:93-101 (1996)). В другом исследовании дендритные клетки костного мозга обрабатывали *ex vivo* различными агентами, и тестировали *in vivo* противоопухолевую активность. Эти исследования показали, что ДК, стимулированные CD40L, являются наиболее зрелыми и наиболее эффективными клетками, повышающими противоопухолевый ответ.

Существенная роль CD40 в противоопухолевом иммунитете показана также при сравнении ответов на противоопухолевые вакцины у мышей дикого типа и у мышей CD40<sup>-/-</sup>. Эти исследования показали, что мыши CD40<sup>-/-</sup> не способны реализовать противоопухолевый иммунитет, присущий нормальным мышам. (Mackey M.F. et al., *Cancer Research* 57:2569-74 (1997)). В другом исследовании спленоциты мышей, носителей опухоли, стимулированные опухолевыми клетками и обработанные активирующими *ex vivo* антителами к CD40, показали повышенную опухолеспецифичную CTL-активность. (Donerudi M. et al., *Cancer Immunol. Immunother.* 48:153-164 (1999)). Эти исследования показали, что CD40 занимает ключевую позицию в противоопухолевом иммунитете, как в позитивных, так и в негативных по CD40 злокачественных опухолях. Поскольку CD40 экспрессируется в лимфомах, лейкозах, множественной миеломе, в большинстве карцином носоглотки, мочевого пузыря, яичника и печени, а также в некоторых карциномах молочной железы и прямой кишки, активация CD40 может иметь широкий диапазон клинического применения.

Активация моноклональных антител к CD40 может способствовать ликвидации злокачественной опухоли с помощью нескольких важных механизмов. Первый из них заключается в активации хозяйских дендритных клеток для усиления процессинга опухолевого антигена и его презентации, а также повышения антигенной презентации или иммуногенности самих опухолевых CD40-позитивных клеток, что приводит к активации опухолеспецифичных CD4<sup>+</sup>- и CD8<sup>+</sup>-лимфоцитов. Дополнительная противоопухолевая активность может быть опосредована иными усиливающими иммунитет эффектами CD40-сигналов

(выработка хемокинов и цитокинов, набор и активирование моноцитов, повышение CTL- и NK-цитолитической активности), а также прямым уничтожением CD40<sup>+</sup>-опухолей в результате индукции апоптоза или путем стимуляции гуморального ответа, приводящего к ADCC. Клетки апоптозной и погибающей опухоли могут также являться важным источником опухолеспецифичных антигенов, которые процессируются и презентуются АПК, активированными CD40.

В соответствии с изложенным существует острая необходимость в терапевтических, клинически пригодных антител против CD40-агонистов.

#### Краткое описание чертежей

На фиг. 1А-1Н представлены выравнивания предсказанных аминокислотных последовательностей для выделенных вариабельных доменов легкой и тяжелой цепей моноклонального антитела к CD40 с аминокислотными последовательностями соответствующих легкой и тяжелой цепей генов зародышевой линии. Различия между клонами и соответствующей последовательностью зародышевой линии отнесены. Последовательности зародышевых линий CDR1, CDR2 и CDR3 подчеркнуты. В выровненных последовательностях тяжелой цепи появление инсерций на CDR3-участке в последовательности зародышевой линии указаны знаком тире (-), появление в последовательности данного клона делеции в CDR3-участке указаны знаком тире (-).

Фиг. 1А: предсказанные аминокислотные последовательности вариабельной области легкой каппа-цепи из монАТ 3.1.1 и 7.1.2 с  $V_k=A3/A19$  и  $J=J_k1$  аминокислотные последовательности гена зародышевой линии;

фиг. 1В: аминокислотные последовательности предсказанной вариабельной области легкой каппа-цепи из клона 15.1.1 и аминокислотная последовательность ( $V_k=A3/A19$  и  $J=J_k2$ ) клеток зародышевой линии;

фиг. 1С: аминокислотные последовательности предсказанной вариабельной области легкой каппа-цепи из монАТ 10.8.3 и 21.4.1 и аминокислотная последовательность ( $V_k=L5$  (DP5) и  $J=J_k4$ ) клеток зародышевой линии;

фиг. 1D: аминокислотная последовательность предсказанной вариабельной области тяжелой цепи из монАТ 3.1.1 и аминокислотная последовательность ( $V_H=3-30+$  (DP-49),  $D=D4+DIR3$  и  $J=J_H6$ ) клеток зародышевой линии;

фиг. 1Е: аминокислотная последовательность предсказанной вариабельной области тяжелой цепи из монАТ 7.1.2 и аминокислотная последовательность ( $V_H=3-30+$  (DP-49),  $D=DIR5+D1-26$  и  $J=J_H6$ ) клеток зародышевой линии;

фиг. 1F: аминокислотные последовательности предсказанной вариабельной области тяжелой цепи из монАТ 10.8.3 и аминокислотная последовательность ( $V_H=4.35$  (VIV-4),  $D=DIR3$  и  $J=J_H6$ ) клеток зародышевой линии;

фиг. 1G: аминокислотные последовательности предсказанной вариабельной области тяжелой цепи из монАТ 15.1.1 и аминокислотная последовательность ( $V_H=4-59$  (DP-71),  $D=D4-23$  и  $J=J_H4$ ) клеток зародышевой линии;

фиг. 1Н: аминокислотные последовательности предсказанной вариабельной области тяжелой цепи из монАТ 21.4.1 и аминокислотная последовательность ( $V_H=1-02$  (DP-75),  $D=DLR1$  и  $J=J_H4$ ) клеток зародышевой линии.

На фиг. 2А-2Н представлено выравнивание предсказанных аминокислотных последовательностей выделенных доменов легкой и тяжелой цепи моноклонального антитела к CD40 и аминокислотных последовательностей соответствующих легкой и тяжелой цепи генов зародышевой линии. Различия между клонами и данной последовательностью зародышевой линии выделены жирным шрифтом. Последовательности клеток зародышевой линии CDR1, CDR2 и CDR3 подчеркнуты. При выравнивании последовательностей тяжелой цепи появление вставок на CDR3-участке зародышевой линии указаны знаком тире (-), появление в последовательности данного клона делеции в CDR3-участке указаны знаком тире (-).

Фиг. 2А: предсказанные аминокислотные последовательности легкой каппа-цепи из монАТ 22.1.1, 23.5.1 и 23.29.1 и аминокислотная последовательность ( $V_k=A3/A19$  и  $J=J_k1$ ) клеток зародышевой линии;

фиг. 2В: предсказанные аминокислотные последовательности легкой каппа-цепи из монАТ 21.2.1 и аминокислотная последовательность ( $V_k=A3/A19$  и  $J=J_k3$ ) клеток зародышевой линии;

фиг. 2С: предсказанные аминокислотные последовательности легкой каппа-цепи из монАТ 23.28.1, 23.28.1L-C92A и 24.2.1 и аминокислотная последовательность ( $V_k=A27$  и  $J=J_k3$ ) клеток зародышевой линии;

фиг. 2D: предсказанная аминокислотная последовательность тяжелой цепи из монАТ 21.2.1 и аминокислотная последовательность ( $V_H=3-30+$ ,  $D=DIR3+D6-19$  и  $J=J_H4$ ) клеток зародышевой линии;

фиг. 2Е: предсказанная аминокислотная последовательность тяжелой цепи из монАТ 21.1.1, 22.1.1H-C109A и аминокислотная последовательность ( $V_H=3-30+$ ,  $D=D1-1$  и  $J=J_H6$ ) клеток зародышевой линии;

фиг. 2F: предсказанная тяжелая цепь аминокислотной последовательности из монАТ 23.5.1 и аминокислотная последовательность ( $V_H=3-30+$ ,  $D=D4-17$  и  $J=J_H6$ ) клеток зародышевой линии;

фиг. 2G: предсказанная аминокислотная последовательность тяжелой цепи из монАТ 23.29.1 и ами-

нокислотная последовательность ( $V_H=3-30.3$ ,  $D=D4-17$  и  $J=J_H6$ ) клеток зародышевой линии;

фиг. 2Н: предсказанные аминокислотные последовательности тяжелой цепи из монАТ 23.28.1, 23.28.1H-D16E и 24.2.1 и аминокислотная последовательность клеток зародышевой линии ( $V_H=4-59$ ,  $D=DIR1+D4-17$  и  $J=J_H5$ ).

На фиг. 3 представлена кривая зависимости "доза-эффект", которая иллюстрирует способность антитела против CD40 согласно изобретению (21.4.1) повышать образование IL-12p40 дендритными клетками человека.

На фиг. 4 представлена кривая зависимости "доза-эффект", которая иллюстрирует способность антитела против CD40 согласно изобретению (21.4.1) повышать образование IL-12p70 дендритными клетками человека.

На фиг. 5 представлен график, который иллюстрирует способность антитела против CD40 согласно изобретению (21.4.1) повышать иммуногенность стимулирующих клеток Jy и усиливать CTL-активность против клеток-мишеней Jy.

На фиг. 6 представлена кривая ингибирования роста злокачественной опухоли, которая иллюстрирует снижение роста позитивных по CD40 злокачественных опухолей Daudi у SCID-beige мышей, обработанных антителом к CD40 (21.4.1) согласно изобретению.

На фиг. 7 представлена кривая ингибирования роста злокачественной опухоли, которая иллюстрирует снижение роста негативных по CD40 злокачественных опухолей K562 у мышей SCID-beige, обработанных антителом к CD40 (21.4.1) согласно изобретению и дендритными клетками человека, а также Т-клетками.

На фиг. 8 показано ингибирование роста негативных по CD40 злокачественных опухолей K562 у SCID-мышей разными концентрациями агониста монАТ 23.29.1 к CD40.

На фиг. 9 показано ингибирование роста негативных по CD40 злокачественных опухолей K562 разными концентрациями агониста монАТ 3.1.1 к CD40.

На фиг. 10 показано ингибирование роста позитивных по CD40 злокачественных опухолей Raji в присутствии или отсутствии Т-клеток и дендритных клеток у SCID-мышей с помощью агониста монАТ к CD40.

На фиг. 11 показано ингибирование роста позитивных по CD40 злокачественных опухолей Raji у SCID-мышей с помощью агониста антител к CD40.

На фиг. 12 показано ингибирование роста клеток BT 474 злокачественной опухоли молочной железы у мышей SCID-beige с помощью агониста антител к CD40.

На фиг. 13 показано ингибирование роста злокачественных опухолей PC-3 предстательной железы у мышей SCID-beige с помощью агониста антител к CD40.

На фиг. 14 представлена кривая выживаемости для мышей SCID-beige, инъецированных (iv) злокачественными клетками Daudi и обработанных агонистом антител к CD40.

На фиг. 15 представлен Вестерн-блот-анализ к CD40-агонисту антител для редуцированного (R) и нередуцированного (NR) CD40 человека.

На фиг. 16 представлены результаты выравнивания D1-D4-доменов CD40 мыши и человека.

На фиг. 17 представлены результаты выравнивания аминокислотных последовательностей CD40 мыши и человека, демонстрирующих положение сайтов слияния в данных химерах.

На фиг. 18 схематически представлена группа диаграмм для химерных CD40-конструкций.

#### **Краткое изложение существа изобретения**

В настоящем изобретении представлено выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть, которые связывает CD40 и действуют в качестве CD40-агониста.

В настоящем изобретении представлена композиция, содержащая антитело к CD40 или его антигенсвязывающую часть, и фармацевтически приемлемый носитель. Кроме того, созданная композиция может включать в себя второй компонент, такой как противоопухолевый агент или визуализирующий агент. В настоящем изобретении разработаны также диагностические и терапевтические способы.

В настоящем изобретении представлена выделенная клеточная линия, такая как гибридома, которая производит антитело к CD40 или его антигенсвязывающую часть.

В настоящем изобретении представлены также молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие тяжелую и/или легкую цепь антитела к CD40 или его антигенсвязывающую часть.

В настоящем изобретении представлены векторы и хозяйские клетки, содержащие молекулы нуклеиновых кислот, а также способы рекомбинантного получения полипептидов, кодируемых молекулами нуклеиновых кислот.

Предусмотрены также не принадлежащие человеческому роду трансгенные животные, которые экспрессируют тяжелую и/или легкую цепь антитела к CD40 или его антигенсвязывающую часть.

В настоящем изобретении разработан также способ лечения пациента, нуждающегося в этом, эффективным количеством молекул нуклеиновой кислоты, кодирующей тяжелую и/или легкую цепь антитела к CD40 или его антигенсвязывающую часть.

### Подробное описание изобретения

Определения и общие методики.

За исключением особо оговоренных случаев, научные и технические термины, используемые в связи с настоящим изобретением, подразумевают их обычное понимание рядовыми специалистами в данной области. Кроме того, если не оговорено в контексте, употребление терминов в единственном числе подразумевает также и множественное толкование, и наоборот. Вообще терминология и методы, используемые применительно к культуре клеток и культуре тканей, к молекулярной биологии, иммунологии, микробиологии, генетике, а также к белковой химии и химии нуклеиновых кислот и описанной здесь гибридизации, представляют собой хорошо известную терминологию и методы, обычно используемые в данной области.

Способы и методы настоящего изобретения, как правило, осуществляют в соответствии с традиционными способами, хорошо известными в данной области, а также описанными в разных общих и более конкретных ссылках, которые цитируются и обсуждаются в настоящем описании, если не указано иначе. См., например, Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2d ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989) и Ausubel et al., *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing Associates (1992), а также Harlow and Lane *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1990), которые включены здесь путем ссылки. Ферментативные реакции и методы выделения очисткой осуществляют в соответствии с предписаниями производителей, как обычно принято в данной области или как описано здесь. Терминология, используемая в этой связи, а также лабораторные операции и методы аналитической химии, синтетической органической химии, а также медицинской и фармацевтической химии, описываемые здесь, относятся к лабораторным операциям и методам, хорошо известным и обычно используемым в данной области. Стандартные методы используют для химического синтеза, химического анализа, для получения фармацевтического препарата, в технологии приготовления лекарственного средства, а также для доставки и лечения пациентов.

Если не указано иначе, нижеследующие термины имеют следующие значения.

Термин "полипептид" подразумевает природные или синтетические белки, белковые фрагменты и полипептидные аналоги белковой последовательности. Полипептид может быть мономерным или полимерным.

Термин "выделенный белок", "выделенный полипептид" или "выделенное антитело" представляет собой белок, полипептид или антитело, которое в силу своего происхождения или источника получения (1) не ассоциируется с естественно связанными компонентами, которые сопровождают его в своем нативном состоянии, (2) свободно от других белков из одних и тех же видов, (3) экспрессируется клетками разных видов или (4) не встречается в природе. Таким образом, полипептид, который химически синтезирован или синтезирован в клеточной системе, отличной от клетки, из которой он естественным образом произошел, должен быть "выделенным" из своих естественно связанных компонентов. Любой белок можно также практически освободить от естественно связанных компонентов путем выделения, применяя методы выделения очистки белка, хорошо известные в данной области.

Примеры выделенных антител включают в себя антитело к CD40, которое выделяют путем очистки по родству с использованием CD40, антитело к CD40, которое синтезируют с помощью гибридомной или иной линии клеток *in vitro*, и антитело человека к CD40, получаемое из трансгенной мыши.

Белок или полипептид является "практически чистым", "практически гомогенным" или "практически очищенным", если по меньшей мере около 60-75% образца представлено одним видом полипептида. Данный белок или полипептид может быть мономерным или мультимерным. Практически чистый полипептид или белок обычно содержит около 50, 60, 70, 80 или 90% мас./мас. белкового образца, чаще около 95% и предпочтительно свыше 99% чистоты. Степень очистки белка или степень гомогенности можно показать несколькими способами, хорошо известными в данной области, такими как электрофорез белкового образца в полиакриламидном геле с последующей визуализацией одиночной полипептидной полосы после окраски геля красителем, хорошо известным в данной области. Для некоторых целей, что касается выделения очисткой, высокое разрешение можно получить путем использования ВЭЖХ или иными способами, хорошо известными в данной области.

Используемый здесь термин "полипептидный фрагмент" относится к полипептиду, который имеет аминоконцевую и/или карбоксиконцевую делецию, а остальная аминокислотная последовательность идентична по соответствующим положениям встречающейся в природе последовательности. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения длина фрагментов составляет по меньшей мере 5, 6, 8 или 10 аминокислот. В других вариантах осуществления настоящего изобретения длина фрагментов составляет по меньшей мере 14, по меньшей мере 20, по меньшей мере 50 или по меньшей мере 70, 80, 90, 100, 150 или 200 аминокислот.

Используемый здесь термин "полипептидный аналог" относится к полипептиду, который включает в себя сегмент, практически идентичный части аминокислотной последовательности и который обладает, по меньшей мере, следующими характеристиками:

- (1) специфически связывается с CD40 в подходящих условиях связывания,
- (2) способен активировать CD40,

(3) способен хорошо регулировать экспрессию молекул на поверхности клетки, таких как ICAM, MHC-II, B7-1, B7-2, CD71, CD23 и CD83, или

(4) способен повышать секрецию цитокинов, таких как IFN- $\beta$ 1, IL-2, IL-8, IL-12, IL-15, IL-18 и IL-23.

Как правило, полипептидные аналоги включают в себя консервативную аминокислотную замену (или вставку, или делецию) во встречающейся в природе последовательности. Как правило, аналоги содержат в длину по меньшей мере 20 или 25 аминокислот, предпочтительно по меньшей мере 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150 или 200 аминокислот или больше, и часто могут обладать такой же длиной, как и естественно встречающийся полноразмерный полипептид.

Предпочтительными аминокислотными заменами являются те, которые:

(1) уменьшают чувствительность к протеолизу,

(2) уменьшают чувствительность к окислению,

(3) изменяют сродство к связыванию при образовании белковых комплексов и

(4) придают или модифицируют другие физикохимические или функциональные характеристики таких аналогов.

Аналоги могут содержать различные изменения последовательности, отличающиеся от изменений в естественно встречающейся пептидной последовательности. Например, одиночную или множественные аминокислотные замены (предпочтительно консервативные аминокислотные замены) можно создать в естественно встречающейся последовательности (предпочтительно на участке полипептида, находящемся вне домена(ов), образующего межмолекулярные контакты). Консервативная аминокислотная замена не должна существенно изменять структурные характеристики родительской последовательности (например, замена аминокислоты не должна приводить к разрушению спирали, которая существует в данной родительской последовательности, или разрушать другие виды вторичной структуры, которая характеризует данную родительскую последовательность). Примеры общеизвестных вторичных и третичных полипептидных структур описаны в *Proteins, Structures and Molecular Principles* (Creighton, Ed., W.H. Freeman and Company, New York (1984)); *Introduction to Protein Structure* (C. Branden and J. Tooze, eds., Garland Publishing, New York, N.Y. (1991)); and Thornton et al., *Nature* 354:105 (1991), каждая из которых включена в данное описание путем ссылки.

Непептидные аналоги обычно используют в фармацевтической промышленности в виде лекарственных средств с характеристиками, аналогичными характеристикам данного матричного пептида. Данные виды непептидного фармацевтического соединения называют "пептидными миметиками" или "пептидомиметиками", Fauchere, J. *Adv. Drug Res.* 15:29 (1986); Veber and Freidinger, *TINS* p.392 (1985); и Evans et al., *J. Med. Chem.* 30:1229 (1987), включены здесь путем ссылки. Такие соединения часто создают с помощью компьютерного молекулярного моделирования. Пептидные миметики, которые структурно сходны с терапевтически пригодными пептидами, можно использовать для получения эквивалентного терапевтического или профилактического эффекта. Вообще пептидомиметики структурно сходны с образцовым полипептидом (т.е. полипептидом, который обладает требуемым биохимическим свойством или фармакологической активностью), таким как антитело человека, но обладает одним или несколькими пептидными связями, необязательно замещенными связью, выбранной из группы, состоящей из  $-\text{CH}_2\text{NH}-$ ,  $-\text{CH}_2\text{S}-$ ,  $\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ ,  $-\text{CH}=\text{CH}-$  (цис и транс),  $-\text{COCH}_2-$ ,  $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2-$  и  $-\text{CH}_2\text{SO}-$ , способами, хорошо известными в данной области. Для получения более стабильных пептидов можно также использовать системную замену одной или нескольких аминокислот консенсусной последовательности D-аминокислотой такого же типа (например, D-лизин вместо L-лизина). Кроме того, связанные пептиды, содержащие консенсусную последовательность или практически идентичную вариацию консенсусной последовательности, можно получить способами, хорошо известными в данной области (Rizo and Gierasch, *Ann. Rev. Biochem.* 61:387 (1992), включены сюда в виде ссылки); например, путем добавления внутренних цистеиновых остатков, способных образовывать межмолекулярные дисульфидные мостики, которые циклизуют данный пептид.

"Антитело" относится к полному антителу или к его антигенсвязывающему участку, которые конкурируют с интактным антителом за специфическое связывание. См., главным образом, *Fundamental Immunology*, Ch. 7 (Paul, W., ed., 2<sup>nd</sup> ed. Raven Press, N.Y. (1989)) (включенную во всей полноте для всех целей). Антигенсвязывающие участки можно получить с помощью методов рекомбинантной ДНК или путем ферментативного или химического расщепления интактных антител. Антигенсвязывающие участки включают в себя, в частности, Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fd, Fv, dAb и фрагменты, определяющие участок комплементарности (CDR), одноцепочечные антитела (scFv), химерные антитела, диателыца и полипептиды, которые содержат, по меньшей мере, участок антитела, который достаточен для придания специфичности связывания антигена с данным полипептидом.

От N-конца до C-конца варибельные домены тяжелой и легкой цепи включают в себя участки FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 и FR4. Отнесение аминокислот к каждому из доменов производят в соответствии с определениями Kabat, *Sequences of Proteins of Immunological Interest* (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987 and 1991)), или Chothia & Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987); Chothia et al., *Nature* 342:878-883 (1989).

Здесь антители, которое обозначается числом, представляет собой моноклональное антитело, которое получено из гибридомы с тем же числом. Например, моноклональное антитело 3.1.1 получают из гибридомы 3.1.1.

Здесь Fd-фрагмент означает фрагмент антитела, который состоит из доменов  $V_H$  и  $C_H 1$ ; Fv-фрагмент состоит из доменов  $V_L$  и  $V_H$  одноплечевого антитела; и dAb-фрагмент (Ward et al., Nature 341:544-546 (1989)), который состоит из  $V_H$ -домена.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения данное антитело представляет собой одноцепочечное антитело (scFv), в котором домены  $V_L$  и  $V_H$  спарены с помощью синтетического линкера с образованием моновалентных молекул, что позволяет им образовывать одноцепочечный белок. (Bird et al., Science 242:423-426 (1988) и Huston et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883 (1988)). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения данные антитела представляют собой диателъца, т.е. представляют собой бивалентные антитела, в которых домены  $V_H$  и  $V_L$  экспрессируются в одной полипептидной цепи, но использующие линкер, который слишком короток, чтобы позволить образовывать пару между этими двумя доменами в этой же цепи, тем самым вынуждая эти домены образовывать пару с комплементарными доменами другой цепи и создавая два антигенсвязывающих сайта (см., например, Holliger P. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448 (1993) и Poljak R.J. et al., Structure 2:1121-1123 (1994)). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения один или несколько CDR антитела согласно изобретению могут быть ковалентно или нековалентно включены в молекулу с превращением ее в иммуоадгезин, который специфически связывается с CD40. В таких вариантах осуществления настоящего изобретения CDR может встраиваться в качестве участка большей полипептидной цепи, может ковалентно присоединяться к другой полипептидной цепи или может встраиваться нековалентно.

В вариантах осуществления настоящего изобретения с одним или несколькими связывающими сайтами эти связывающие сайты могут быть идентичны друг другу, а могут быть разными.

В качестве используемого здесь термин "антитело человека" подразумевает любое антитело, в котором все переменные и константные доменные последовательности представляют собой последовательности человека. Данные антитела можно получить разнообразными способами, как описано ниже.

Используемый здесь термин "химерное антитело" подразумевает антитело, которое содержит области из двух или нескольких разных антител. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения один или несколько CDR получают из антитела человека к CD40. В другом варианте осуществления настоящего изобретения все указанные CDR получают из антитела человека к CD40. В другом варианте осуществления настоящего изобретения указанные CDR из более чем одного антитела человека к CD40 объединяют в химерное антитело. Например, химерное антитело может включать в себя CDR1 легкой цепи первого антитела человека к CD40, CDR2 легкой цепи второго антитела человека к CD40, а также CDR3 и CDR3 легкой цепи третьего антитела человека к CD40, а CDR из тяжелой цепи можно получить из одного или нескольких других антител к CD40. Кроме того, каркасные области можно получить из одних и тех же антител к CD40 или из одного или нескольких разных антител человека.

"Активирующее антитело" (именуемое также здесь "агонист антитела"), использование которого подразумевает антитело, которое при добавлении к клетке, ткани или организму, экспрессирующим CD40, повышает одну или несколько активностей CD40 по меньшей мере приблизительно на 20%. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения данное антитело активирует CD40-активность по меньшей мере на 40, 50, 60, 70, 80, 85%. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения активирующее антитело добавляют в присутствии CD40L. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения активность активирующего антитела измеряют с использованием анализа повышающей регуляции молекулярной поверхности клеток цельной крови. См. пример VII. В другом варианте осуществления настоящего изобретения активность активирующего антитела измеряют с использованием анализа дендритных клеток для измерения высвобождения IL-12. См. пример VIII. В другом варианте осуществления настоящего изобретения активность активирующего антитела измеряют с использованием *in vivo*-модели злокачественной опухоли. См. пример X.

Фрагменты или аналоги антител или иммуноглобулиновых молекул могут легко получить рядовые специалисты в данной области, следуя указаниям данного описания. Предпочтительны аминоконцевые фрагменты или аналоги, встречающиеся вблизи границ функциональных доменов. Структурные и функциональные домены можно идентифицировать путем сравнения нуклеотидной и/или аминокислотной последовательности с последовательностью, опубликованной или зарегистрированной в базах данных. Для идентификации мотивов последовательности или предсказанной белковой конформации доменов, которые встречаются в белках известной структуры и/или функции, предпочтительно используют методы компьютерного сравнения. Способы идентификации белковых последовательностей, которые упакованы в известную трехмерную структуру, известны. См. Bowie et al., Science 253:164 (1991).

Используемый здесь термин "поверхностный плазмонный резонанс" относится к оптическому феномену, который позволяет анализировать в реальном времени биоспецифичные взаимодействия путем детектирования изменений концентрации белка в биосенсорной матрице, например, с использованием

системы BIAcore (Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Sweden and Piscataway, N.J.). Дальнейшее описание см. Jonsson U. et al., *Ann. Biol. Clin.* 51:19-26 (1993); Jonsson U. et al., *Biotechniques* 11:620-627 (1991); Jonsson B. et al., *J. Mol. Recognit.* 8:125-131 (1995); и Johnsson B. et al., *Anal. Biochem.* 198:268-277 (1991).

Термин "K<sub>D</sub>" относится к константе диссоциации конкретного взаимодействия антиген-антитело.

Термин "эпитоп" включает в себя любую белковую детерминанту, способную специфически связываться с иммуноглобулином или Т-клеточным рецептором. Эпитопные детерминанты обычно состоят из химически активных сгруппированных на поверхности молекул, таких как аминокислоты или сахарные боковые цепочки, и обычно обладают специфичными трехмерными структурными характеристиками, а также определенными значениями заряда. Считается, что антитело специфически связывает антиген при константе диссоциации  $\leq 1$  мкМ, предпочтительно  $\leq 100$  нМ и наиболее предпочтительно  $\leq 10$  нМ.

Используемые здесь двадцать стандартных аминокислот и их аббревиатуры соответствуют общепринятому использованию. См. *Immunology - A Synthesis* (2<sup>nd</sup> Edition, E.S.Golub and D.R.Gren, Eds., Sinauer Associates, Sunderland, Mass. (1991)), которая включена здесь путем ссылки.

Приводимый здесь термин "полинуклеотид" подразумевает полимерную форму нуклеотидов, состоящую по меньшей мере из 10 оснований в длину, любых рибонуклеотидов или дезоксирибонуклеотидов, либо модифицированную форму, состоящую из нуклеотидов любого типа. Данный термин включает в себя одноцепочечные и двухцепочечные формы.

Используемый здесь термин "выделенный полинуклеотид" подразумевает полинуклеотид геномного, кДНК-го или синтетического происхождения или их некоторую комбинацию, который в силу того, что он является "выделенным полинуклеотидом" (1), не связывается со всеми или с частью полинуклеотидов, с которыми "выделенный полинуклеотид" обнаруживается в природе, (2) присоединяется путем сшивки к полинуклеотиду, с которым в природе он не связывается, или (3) не встречается в природе в виде части большей последовательности.

Используемый здесь термин "олигонуклеотид" включает в себя естественно встречающиеся и модифицированные нуклеотиды, соединенные вместе с помощью естественно встречающихся или не встречающихся в природе олигонуклеотидных связей.

Олигонуклеотиды представляют собой полинуклеотидную подгруппу, как правило, длиной в 200 оснований или меньше. Предпочтительно олигонуклеотиды содержат 10-60 оснований и наиболее предпочтительно 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20-40 оснований. Олигонуклеотиды, как правило, являются одноцепочечными, например, праймеры и зонды; хотя олигонуклеотиды могут быть и двухцепочечными, например, для использования в конструировании генного мутанта. Олигонуклеотиды согласно изобретению могут представлять собой либо смысловые, либо антисмысловые олигонуклеотиды.

Используемый здесь термин "естественно встречающиеся олигонуклеотиды" включают в себя дезоксирибонуклеотиды и рибонуклеотиды. Используемый здесь термин "модифицированные нуклеотиды" включают в себя нуклеотиды с модифицированными или замещенными сахарными группами и т.п. Приводимый здесь термин "олигонуклеотидные связи" включает в себя олигонуклеотидные связи, такие как тиофосфатная, дитиофосфатная, фосфоселеноатная, фосфодиселеноатная, фосфоанилиотиоатная, фосфоаниладатная, фосфоамидатная и т.п. См., например, LaPlanche et al., *Nucl. Acids Res.* 14:9081 (1986); Stec et al., *J. Am. Chem. Soc.* 106:6077 (1984); Stein et al., *Nucl. Acids Res.* 16:3209 (1988); Zon et al., *Anti-Cancer Drug Design* 6:539 (1991); Zon et al., *Oligonucleotides and Analogous: A Practical Approach*, pp.87-108 (F. Eckstein, Ed., Oxford University Press, Oxford England (1991)); патент США № 5151510; Uhlmann and Peyman, *Chemical Reviews* 90:543 (1990), раскрытие которых включено тем самым путем ссылки. При необходимости, олигонуклеотид может включать метку для детектирования.

Последовательности, "присоединенные путем сшивки", включают в себя и экспрессирующие контрольные последовательности, которые соприкасаются с представляющим интерес геном, и экспрессирующие контрольные последовательности для контроля за интересующим геном и которые действуют в транс-положении или на расстоянии. Используемый здесь термин "экспрессирующая контрольная последовательность" подразумевает полинуклеотидные последовательности, которые необходимы для воздействия на экспрессию и процессинг кодирующих последовательностей, с которыми они лигированы. Экспрессирующие контрольные последовательности включают в себя соответствующие последовательности инициации транскрипции, терминации, промоторную и энхансерную последовательности; эффективные сигналы процессинга РНК, такие как сигналы сплайсинга и полиаденилирования; последовательности, которые стабилизируют цитоплазматическую мРНК; последовательности, которые повышают эффективность трансляции (т.е. консенсусную Козак-последовательность); последовательности, которые повышают стабильность белка; и, при необходимости, последовательности, которые повышают секрецию белка. Природа таких контрольных последовательностей различна и зависит от организма хозяина; у прокариот такие контрольные последовательности, как правило, содержат промотор, сайт связывания рибосом, и последовательность терминации транскрипции; у эукариот, как правило, такие контрольные последовательности включают в себя промоторы и последовательность терминации транскрипции. Термин "контрольные последовательности" подразумевает включение, как минимум, всех компонентов, присутствие которых существенно для экспрессии и процессинга, и может также включать в себя дополнительные компоненты, присутствие которых создает преимущество, например, лидерные последова-



тельности и последовательности партнеров слияния.

Используемый здесь термин "вектор" подразумевает молекулу нуклеиновой кислоты, способную переносить другую нуклеиновую кислоту, к которой она прикреплена. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения вектор представляет собой плазмиду, т.е. кольцевую двухцепочечную ДНК-петлю, в которую могут быть лигированы дополнительные ДНК-сегменты. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения вектор представляет собой вирусный вектор, в вирусный геном которого могут быть дополнительно лигированы ДНК-сегменты. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения векторы могут автономно реплицироваться в клетке-хозяине, в которую они интродуцированы (например, бактериальные векторы, обладающие бактериальным ориджином репликации или эписомные векторы млекопитающих). В других вариантах осуществления настоящего изобретения векторы (например, неэписомные векторы млекопитающих) могут интегрироваться в геном клетки-хозяина после внедрения в хозяйскую клетку и, таким образом, реплицироваться одновременно с хозяйским геномом. Вместе с тем, некоторые векторы способны управлять экспрессией генов, к которым они присоединены путем сшивки. Такие векторы именуют здесь "рекомбинантные экспрессирующие векторы" (или просто "экспрессирующие векторы").

Используемый здесь термин "рекомбинантная клетка-хозяин" (или просто "клетка-хозяин") подразумевает клетку, в которую внедрен рекомбинантный экспрессирующий вектор. Следует иметь в виду, что "рекомбинантная клетка-хозяин" и "клетка-хозяин" подразумевает не только отдельную клетку пациента, но также и потомство такой клетки. Поскольку из-за какой-либо мутации или влияния окружающей среды в последующих поколениях могут происходить некоторые модификации, то такое потомство в действительности не может быть идентично родительской клетке, но все же его включают в рамки используемого здесь термина "клетка-хозяин".

Приводимый здесь термин "селективно гибридизуется" подразумевает обнаружение и специфическое связывание. Полинуклеотиды, олигонуклеотиды и их фрагменты в соответствии с настоящим изобретением селективно гибридизуются с цепями нуклеиновой кислоты в условиях гибридизации и отмывки, которые минимизируют существенный уровень детектируемого связывания с неспецифическими нуклеиновыми кислотами. "Очень жесткие" или "исключительно жесткие" условия можно использовать для осуществления условий селективной гибридизации, которые известны в данной области и рассматриваются здесь. Один из примеров "очень жестких" или "исключительно жестких" условий представляет собой инкубацию полинуклеотида с другим полинуклеотидом, где один из полинуклеотидов может быть прикреплен к твердой поверхности, такой как мембрана, в гибридизационном буфере, состоящем из 6X SSPE или SSC, 50% формамида, 5X раствора Денхардта, 0,5% SDS, 100 мкг/мл денатурированной, фрагментированной ДНК спермы лосося, при температуре гибридизации 42°C в течение 12-16 ч, с последующей двукратной отмывкой при 55°C с использованием буфера для отмывки, состоящего из 1X SSC, 0,5% SDS. См. также Sambrook et al., выше, pp. 9.50-9.55.

Термин "процентная идентичность последовательности" применительно к последовательностям нуклеиновой кислоты подразумевает нуклеотидные остатки в двух последовательностях, которые одинаковы при выравнивании на максимальное соответствие. Длина идентичной сравниваемой последовательности может быть удлинена по меньшей мере почти на девять нуклеотидов, как правило, по меньшей мере почти на 18 нуклеотидов, в большинстве случаев, как правило, по меньшей мере почти на 24 нуклеотида, обычно по меньшей мере почти на 28 нуклеотидов, чаще по меньшей мере почти на 32 нуклеотида и предпочтительно по меньшей мере почти на 36, 48 или более нуклеотидов. Существует ряд различных алгоритмов, известных в данной области, которые можно использовать для измерения идентичности нуклеотидной последовательности. Например, полинуклеотидные последовательности можно сравнивать с использованием FASTA, Gap или Bestfit, которые представляют собой программы в Wisconsin Package Version 10.0, Genetics Computer Group (GCG), Madison, Wisconsin. FASTA, которая включает в себя, например, программы FASTA2 и FASTA3, производит выравнивания и определяет процентную идентичность областей с наилучшим перекрытием между запрашиваемой и исследуемой последовательностями (Pearson, Methods Enzymol. 183:63-98 (1990); Pearson, Methods Mol. Biol. 132:185-219 (2000); Pearson, Methods Enzymol. 266:227-258 (1996); Pearson, J. Mol. Biol. 276:71-84 (1998); включенные здесь путем ссылки). Если не оговорено иначе, используют параметры по умолчанию для конкретной программы или алгоритма. Например, процентную идентичность между последовательностями нуклеиновых кислот можно определить с использованием FASTA и ее параметрами по умолчанию (размер слова из 6 и NOPAM-фактор для матрицы оценок) или с использованием GAP и его параметров по умолчанию, которые разработаны для GCG Version 6.1, включенные здесь путем ссылки.

Ссылка на нуклеотидную последовательность включает в себя комплементарную ей последовательность, если не оговорено иначе. Таким образом, следует иметь в виду, что ссылка на нуклеиновую кислоту, обладающую конкретной последовательностью, относится также к комплементарной ей цепи и ее комплементарной последовательности.

В молекулярной биологии исследователи используют взаимозаменяемые термины "процентная идентичность последовательности", "процентное сходство последовательности" и "процентная гомоло-

гия последовательности". В данном патенте эти термины имеют то же значение и относятся только к последовательностям нуклеиновых кислот.

Термин "существенно сходный" или "существенно сходная последовательность" в отношении нуклеиновой кислоты или ее фрагмента означает, что оптимальное выравнивание, при соответствующем числе нуклеотидных вставок или делеций, с другой нуклеиновой кислотой (или с ее комплементарной цепью), означает идентичность нуклеотидной последовательности по меньшей мере на 85%, предпочтительно по меньшей мере почти на 90% и наиболее предпочтительно по меньшей мере почти на 95, 96, 97, 98 или 99% нуклеотидных оснований, и это измеряется с помощью хорошо известного алгоритма идентичности последовательностей, такого как FASTA, BLAST или Gap, рассматриваемого выше.

Применительно к полипептидам термин "существенно идентичный" подразумевает, что две пептидные последовательности при оптимальном выравнивании с помощью таких программ как GAP или BESTFIT, использующих по умолчанию взвешенные пробелы, обладают по меньшей мере 70-, 75- или 80-процентной идентичностью последовательностей, предпочтительно по меньшей мере 90- или 95-процентной идентичностью последовательностей и наиболее предпочтительно по меньшей мере 97-, 98- или 99-процентной идентичностью последовательностей. Предпочтительно остальные неидентичные позиции отличаются по консервативным аминокислотным заменам. "Консервативная аминокислотная замена" представляет собой замену, в которой аминокислотный остаток замещается другим аминокислотным остатком, обладающим боковой цепью в виде R-группы, с аналогичными химическими характеристиками (например, зарядом или гидрофобностью). В целом, консервативная аминокислотная замена не должна существенно изменять функциональные характеристики белка. В случае, когда две или более аминокислотные последовательности отличаются друг от друга консервативными аминокислотными заменами, процентная идентичность последовательности или степень сходства может быть повышена введением поправок на консервативную природу данной замены. Способы такого повышения хорошо известны специалистам в данной области. См., например, Pearson, *methods Mol. Biol.* 243:307-31 (1994). Примеры аминокислотных групп, которые обладают боковыми цепями со сходными химическими характеристиками, включают в себя: 1) алифатические боковые цепи: глицин, аланин, валин, лейцин и изолейцин; 2) алифатические с гидроксильной группой боковые цепи: серин и треонин; 3) амидсодержащие боковые цепи: аспарагин и глутамин; 4) ароматические боковые цепи: фенилаланин, тирозин и триптофан; 5) основные боковые цепи: лизин, аргинин и гистидин; 6) кислотные боковые цепи: аспарагиновая и глутаминовая кислота; и 7) серосодержащие боковые цепи: цистеин и метионин. Предпочтительные аминокислотные группы с консервативными заменами представляют собой валин-лейцин-изолейцин, фенилаланин-тирозин, лизин-аргинин, аланин-валин, глутамин-аспарагиновая кислота и аспарагин-глутамин.

В качестве альтернативы, консервативная замена представляет собой любое изменение, обладающее положительной величиной в логарифмической матрице правдоподобия PAM250, раскрытой у Gonnet et al., *Science* 256:1443-45 (1992), включенной здесь путем ссылки. "Умеренно консервативная" замена представляет собой любое изменение, обладающее неотрицательной величиной в логарифмической матрице правдоподобия PAM250.

Сходство последовательностей полипептидов, которое также именуют идентичностью последовательностей, как правило, измеряют с использованием программ анализа последовательности. Белковая аналитическая программа сопоставляет сходные последовательности с использованием измерения сходства, выравниваемые по разным заменам, делециям и иным модификациям, в том числе и консервативным аминокислотным заменам. Например, GCG содержит программы, такие как "Gap" и "Bestfit", которые можно использовать с параметрами по умолчанию для определения гомологии последовательностей или идентичности последовательностей между близкородственными полипептидами, такими как гомологичные полипептиды разных видов организмов или между белком дикого типа и его мутантом. См., например, GCG Version 6.1. Полипептидные последовательности можно также сравнивать с помощью FASTA, используя параметры по умолчанию или рекомендуемые параметры, программа для GCG Version 6.1. FASTA (например, FASTA2 и FASTA3) обеспечивает выравнивание и процентную идентичность последовательности в областях наилучшего перекрытия между запрашиваемой и исследуемой последовательностями (Pearson, *Methods Enzymol.* 183:63-98 (1990); Pearson, *Methods Mol. Biol.* 132:185-219 (2000)). Другой предпочтительный алгоритм для сравнения последовательности согласно изобретению с базой данных, содержащей большое число последовательностей из разных организмов, представляет собой компьютерная программа BLAST, в частности, blastp или blastn, с использованием параметров по умолчанию. См., например, Altschul et al., *J. Mol. Biol.* 215:403-410 (1990); Altschul et al., *Nucleic Acids Res.* 25:3389-402 (1997); включенные здесь путем ссылки.

Длины полипептидных последовательностей, сравниваемых на предмет гомологии, составляет, как правило, по меньшей мере около 16 аминокислотных остатков, обычно по меньшей мере около 20 остатков, чаще обычно по меньшей мере около 24 остатков, обычно, как правило, по меньшей мере около 28 остатков и предпочтительно свыше около 35 остатков. Если поисковая база данных содержит последовательности большого числа разных организмов, она является предпочтительной для сравнения аминокислотных последовательностей.

Используемые здесь термины "метка" или "меченый" относятся к внедрению другой молекулы в данное антитело. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения метка представляет собой детектируемый маркер, например, включенную в аминокислоту радиоактивную метку или присоединенную к полипептиду биотинилированную составляющую, которая может обнаруживаться с помощью маркируемого авидина (например, стрептавидина, содержащего флуоресцентный маркер или ферментативную активность, которую можно детектировать оптическим или колориметрическим способами). В другом варианте осуществления настоящего изобретения метка или маркер могут быть терапевтическими, например, лекарственным конъюгатом или токсином. В данной области известны и могут использоваться различные способы мечения полипептидов и гликопротеинов. Примеры меток для полипептидов включают в себя, не ограничиваясь ими, радиоизотопы или радионуклиды (например,  $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{90}\text{Y}$ ,  $^{99}\text{Tc}$ ,  $^{111}\text{In}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ ), флуоресцентные метки (например, FITC, родамин, фосфатные лантаноиды), ферментные метки (например, пероксидаза хрена,  $\beta$ -галактозидаза, люцифераза, щелочная фосфатаза), хемилюминесцентные маркеры, биотинильные группы, предопределенные полипептидные эпитопы, узнаваемые вторичным репортером (например, лейциновая застежка парных последовательностей, связывающие сайты вторичных антител, металлосвязывающие домены, эпитопные метки), магнитные агенты, такие как хелатные соединения гадолиния, токсины, такие как коклюшный токсин, таксол, цитохалазин В, грамицидин D, этидийбромид, эметин, митомицин, этопозид, тенопозид, винкристин, винбластин, колхицин, доксорубицин, даунорубицин, дигидроксиантрацидин, митоксантрон, митрамицин, актиномицин D, 1-дегидротестостерон, глюкокортикоиды, прокаин, тетракаин, лидокаин, пропранолол и пуромицин, а также его аналоги и гомологи. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения метки присоединяют с помощью "ножки" разной длины для уменьшения возможного пространственного затруднения.

Термин пациент включает человека и животных.

В рамках данного описания и формулы изобретения слово "включать" или его варианты, такие как "включает" или "включающий", подразумевает включение установленного целого числа или группы чисел, а не исключение любого иного целого числа или группы целых чисел.

Антитела человека к CD40 и их характеристика.

Антитела человека помогают избежать некоторых проблем, связанных с ассоциацией антител, которыми обладают вариabельная и/или константная области антител животных, не являющихся человеком (например, грызунов). Такие осложнения включают в себя быстрый клиренс антител или иммунную реакцию против этого антитела. Поэтому в одном из вариантов осуществления настоящего изобретения созданы гуманизированные антитела к CD40. В другом варианте осуществления настоящего изобретения получены антитела человека к CD40. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитела человека к CD40 получают путем иммунизации грызуна, геном которого включает в себя гены иммуноглобулина человека, с тем, чтобы данный грызун продуцировал антитела человека. Предполагается, что антитела человека к CD40 минимизируют иммуногенность и аллергические реакции, свойственные антителам, не принадлежащим человеку, или моноклональным антителам, не производимым человеком (монАТ), и, следовательно, повышают эффективность и безопасность вводимых антител. Использование полностью человеческих антител можно рассматривать предположительно для создания существенного преимущества при лечении хронических и возвратных заболеваний человека, таких как воспаление и злокачественная опухоль, которые могут потребовать повторного введения антител.

В настоящем изобретении создано одиннадцать активирующих моноклональных антител человека к CD40 (монАТ) и производящих их гибридных клеточных линий. В табл. А приведен список идентификаторов последовательностей (SEQ ID NO:) нуклеиновых кислот, кодирующих полноразмерные тяжелые и легкие цепи (включая лидерную последовательность), соответствующие полноразмерные выведенные аминокислотные последовательности, а также нуклеотидная и выведенная на ее основе аминокислотная последовательность вариabельных областей тяжелой и легкой цепи.

Таблица А

Антитела человека к CD40								
Идентификатор последовательности (SEQ ID NO:)								
монАТ	Вариабельная область				Полная длина			
	Тяжелая		Легкая		Тяжелая		Легкая	
	ДНК	Белок	ДНК	Белок	ДНК	Белок	ДНК	Белок
3.1.1	1	2	3	4	5	6	7	8
7.1.2	9	10	11	12	13	14	15	16
10.8.3	17	18	19	20	21	22	23	24
15.1.1	25	26	27	28	29	30	31	32
21.2.1	33	34	35	36	37	38	39	40
21.4.1	41	42	43	44	45	46	47	48
22.1.1	49	50	51	52	53	54	55	56
23.5.1	57	58	59	60	61	62	63	64
23.28.1	65	66	67	68	69	70	71	72
23.29.1	73	74	75	76	77	78	79	80
24.2.1	81	82	83	84	85	86	87	88

Кроме того, в настоящем изобретении предусмотрены монАТ 23.25.1 человека к CD40 и линия гибридомных клеток, которая их продуцирует.

Кроме того, в настоящем изобретении предусмотрены варианты тяжелой и/или легкой цепи некоторых вышеперечисленных монАТ человека к CD40, содержащих одну или несколько аминокислотных замен. В настоящем изобретении созданы два варианта монАТ 3.1.1 тяжелых цепей. В одном из них 78 остаток аланина заменен на треонин, в другом 78 остаток аланина заменен на треонин, а 88 и 97 остатки валина заменены аланином. В настоящем изобретении создан также вариант монАТ 3.1.1 легкой цепи, в котором 4 остаток лейцина и 83 остаток лейцина заменены, соответственно, на метионин и валин. Сочетания измеренной тяжелой или легкой цепи с легкой или тяжелой цепью дикого типа обозначается, соответственно, как мутантная цепь. Таким образом, антитело, содержащее легкую цепь дикого типа и тяжелую цепь, включающую изменение аланина на треонин по остатку 78, обозначено в виде 3.1.1H-A78T. Однако в других вариантах осуществления настоящего изобретения включены антитела, содержащие любое сочетание измененной тяжелой цепи и измененной легкой цепи из 3.1.1.

Далее в настоящем изобретении создан вариант монАТ 22.1.1 тяжелой цепи, в которой 109 остаток цистеина заменен на аланин. Моноклональное антитело, включающее измененную тяжелую цепь и легкую цепь 22.1.1, обозначено монАТ 22.1.1 H-C109A. Еще в настоящем изобретении созданы два варианта тяжелой цепи и вариант легкой цепи монАТ 23.28.1. В одном из вариантов тяжелой цепи 16 остаток аспарагиновой кислоты заменен на глутаминовую кислоту. монАТ, включающее вариантную тяжелую цепь и легкую цепь 23.28.1, обозначено 23.28.1 H-D16E. Настоящее изобретение включает также 23.28.1-вариант легкой цепи, в которой 92 остаток цистеина заменен на аланин. монАТ, включающее 23.28.1-тяжелую цепь и вариант легкой цепи, обозначено 23.28.1 L C92A. В настоящем изобретении созданы также монАТ, включающие любой из вариантов тяжелой цепи 23.28.1 с вариантом легкой цепи 23.28.1.

Легкая цепь, продуцируемая гибридомой 23.29.1, содержит мутацию в константной области по остатку 174. Легкая цепь, продуцируемая данной гибридомой, в этом положении несет аргинин вместо канонического лизина. В соответствии с этим в настоящем изобретении создана также легкая цепь 23.2.9.1 с каноническим лизином по остатку 174 и монАТ, обозначенным 23.29.1L-R174K, содержащим тяжелую цепь 23.29.1 и измененную легкую цепь.

В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения антитело к CD40 представляет собой 3.1.1, 3.1.1H-A78T, 3.1.1H-A78T-V88A-V97A, 3.1.1L-L4M-L83V, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 22.1.1H-C109A, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1H-D16E, 23.28.1L-C92A, 23.29.1, 23.29.1L-R174K и 24.2.1. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело к CD40 содержит легкую цепь, включающую в себя аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 8, 16, 24, 32, 40, 48, 56, 64, 72, 80, 88 или 102, либо ее вариабельную область, или же кодируется последовательностью нуклеиновой кислоты, выбранной из SEQ ID NO: 7, 15, 23, 31, 39, 47, 55, 63, 71, 79, 87 или 101. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело к CD40 включает в себя легкую цепь, содержащую, по меньшей мере, CDR2 одного из перечисленных антител, одну из идентифицированных выше аминокислотных последовательностей (как показано на фиг. 1A-1C и 2A-2C), либо кодируемую одной из идентифицированных выше последовательностей нуклеиновой кислоты. В другом варианте осуществления настоящего изобретения данная легкая цепь дополнительно содержит CDR1 и CDR3, независимо выбранные из вариабельной области легкой цепи, которая включает в себя не более десяти аминокислот из аминокислотной последовательности, кодируемой геном зародышевой линии V<sub>k</sub> A3/A19, L5 или A27, либо включает в себя CDR1 и CDR3, независимо выбранные из CDR1 и CDR3 (1) антитела, выбранного из 3.1.1, 3.1.1L-L4M-L83V, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1L-C92A, 23.29.1, 23.29.1L-R174K или 24.2.1; (2) аминокислотной последовательности SEQ

ID NO: 4, 12, 20, 28, 36, 44, 52, 60, 68, 76, 84, 94, 100 или 102 или (3) кодируемой последовательностью нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 3, 11, 19, 27, 35, 43, 51, 59, 67, 75, 83, 93, 99 или 101.

В другом предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения антитело к CD40 включает в себя тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 6, 14, 22, 30, 38, 46, 54, 62, 70, 78 или 86, либо ее варибельную область, или кодируемую последовательностью нуклеиновой кислоты, выбранной из SEQ ID NO: 5, 13, 21, 29, 37, 45, 53, 61, 69, 77 или 85. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело против CD40 включает в себя тяжелую цепь, содержащую, по меньшей мере, CDR3 одного из перечисленных антител, одну из вышеуказанных аминокислотных последовательностей (как показано на фиг. 1A-1C и 2A-2C), либо кодируемую одной из вышеуказанных последовательностей нуклеиновой кислоты. В другом варианте осуществления настоящего изобретения данная тяжелая цепь дополнительно включает CDR1 и CDR2, независимо выбранные из варибельной области тяжелой цепи, которая включает не более восемнадцати аминокислот из аминокислотной последовательности, кодируемой геном зародышевой линии V<sub>H</sub>3-30+, 4-59, 1-02, 4.35 или 3-30.3, либо включает CDR1 и CDR2, независимо выбранные из CDR1 или CDR2 (1) антитела, выбранного из 3.1.1, 3.1.1H-A78T, 3.1.1H-A78T-V88A-V97A, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 22.1.1H-C109A, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1H-D16E, 23.29.1 и 24.2.1; (2) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 2, 10, 18, 26, 34, 42, 50, 58, 66, 74, 82, 90, 92, 96 или 98, либо (3) кодируемой последовательностью нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 1, 9, 17, 25, 33, 41, 49, 57, 65, 73, 81, 89, 91, 95 или 97. В другом варианте осуществления настоящего изобретения антитело к CD40 включает в себя тяжелую цепь и легкую цепь, как указано выше.

Используемое здесь антитело 3.1.1H-A78T идентично антителу 3.1.1 за тем исключением, что остаток 78 тяжелой цепи представляет собой треонин вместо аланина. Аналогично, в антителе 3.1.1H-A78T-V88A-V97A остаток 78 заменен на А, а остатки 88 и 97 заменены в данной тяжелой цепи с валина на аланин. Антитело 3.1.1L-L4M-L83V идентично антителу 3.1.1, за тем исключением, что остаток 4 представляет собой метионин вместо лейцина, а остаток 83 представляет собой в данной легкой цепи валин вместо лейцина. Антитело 22.1.1H-C109A идентично антителу 22.1.1, за тем исключением, что остаток 109 данной тяжелой цепи заменен с цистеина на аланин. Антитела 23.28.1H-D16E и 23.28.1L-C92A идентичны антителу 23.28.1, за тем исключением, что остаток 16 данной тяжелой цепи заменен с аспартата на глутамат, а остаток 92 данной легкой цепи заменен, соответственно, с цистеина на аланин. Антитело 23.29.1L-R174K идентично антителу 23.29.1, за тем исключением, что остаток 174 данной легкой цепи заменен с аргинина на лизин.

Классы и подклассы антител к CD40.

Классы и подклассы антител к CD40 можно определить любым способом, известным в данной области. Вообще класс и подкласс любого антитела можно определить с использованием антител, которые специфичны для конкретного класса и подкласса любого антитела. Такие антитела коммерчески доступны. Класс и подкласс можно определить с помощью ИФА или Вестерн-блота, также как и другими методами. В качестве альтернативы, класс и подкласс можно определить путем секвенирования всех или части константных доменов данной тяжелой и/или легкой цепей определенных антител, сравнивая их аминокислотные последовательности с известными аминокислотными последовательностями разных классов и подклассов иммуноглобулинов и определяя класс и подкласс антител.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело к CD40 представляет собой моноклональное антитело. Антитело к CD40 может представлять собой молекулу IgG, IgM, IgE, IgA или IgD. В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения антитело к CD40 представляет собой IgG и соответствует подклассу IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. В другом предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения антитела к CD40 представлены подклассом IgG2.

Видовая и молекулярная селективность.

В другом аспекте настоящего изобретения антитела к CD40 демонстрируют и видовую, и молекулярную селективность. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело к CD40 связывается с CD40 приматов и человека. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело к CD40 связывается с CD40 человека, суномолгус или резус-обезьяны. В других вариантах осуществления настоящего изобретения антитело к CD40 не связывается с CD40 мыши, крысы, собаки или кролика. Следуя указаниям настоящего описания, можно определить видовую селективность антитела к CD40, применяя способы, хорошо известные в данной области. Например, можно определить видовую селективность с использованием Вестерн-блота, FACS, ИФА или РИА. (См., например, пример IV).

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело к CD40 обладает селективностью в отношении CD40, которая в 100 раз выше, чем его селективность в отношении RANK (рецепторный активатор ядерного фактора каппа-цепи В-клеток), 4-1BB (CD137), TNRF-1 (Рецептор-1 Фактора Некроза Опухоли) и TNRF-2 (Рецептор-2 Фактора Некроза Опухоли). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело к CD40 не обнаруживает какого-либо существенного специфичного связывания с любым другим белком, отличающимся от CD40. Можно определить селективность антитела к CD40 в отношении CD40, используя способы, хорошо известные в данной области, сле-

дую указаниям данного описания. Например, можно определить селективность, используя Вестерн-блот, FACS, ИФА или РИА. (См., например, пример V).

Идентификация CP40-эпитопов, распознаваемых антителом к CD40.

Далее, в настоящем изобретении создано моноклональное антитело человека к CD40, которое связывает CD40 и перекрестно конкурирует, и/или связывается, с тем же эпитопом и/или связывается с CD40 с той же  $K_D$ , что и антитело человека к CD40, выбранное из антител 3.1.1, 3.1.1H-A78T, 3.1.1H-A78T-V88A-V97A, 3.1.1L-L4M-L83V, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 22.1.1H-C109A, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1H-D16E, 23.28.1L-C92A, 23.29.1, 23.29.1L-R174K или 24.2.1; или антитело человека к CD40, которое включает в себя вариабельную область тяжелой цепи, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, 10, 18, 26, 34, 42, 50, 58, 66, 74, 82, 90, 92, 96 или 98, либо антитело человека к CD40, которое включает в себя вариабельную область легкой цепи, имеющей последовательность SEQ ID NO: 4, 12, 20, 28, 36, 44, 52, 60, 68, 76, 84, 94, 100 или 102.

Представляется возможным определить, действительно ли связывается антитело с одним и тем же эпитопом или перекрестно конкурирует за связывание с антителом против CD40, используя любую способ, известный в данной области. В одном из вариантов осуществления согласно изобретению можно позволить данному антителу к CD40 настоящего изобретения связать CD40 в условиях насыщения, а затем измерить способность тестируемого антитела связывать CD40. Если тестируемое антитело способно связывать CD40 одновременно с антителом к CD40, тогда это тестируемое антитело свяжется с другим эпитопом в качестве антитела к CD40. Однако если тестируемое антитело не способно одновременно связываться с CD40, тогда тестируемое антитело свяжется с тем же самым эпитопом, перекрывающимся эпитопом, или эпитопом, который находится в непосредственной близости к эпитопу, связанному антителом человека к CD40. Данный эксперимент можно осуществить с использованием ИФА, РИА, FACS или поверхностного плазмонного резонанса. (См., например, пример VI). В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения данный эксперимент осуществляют с использованием поверхностного плазмонного резонанса. В более предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения используют BIAcore.

Связывание антител против CD40 с CD40 по родству.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело против CD40 связывается с CD40 с высоким родством. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело против CD40 связывается с CD40 с  $K_D$   $2 \times 10^{-8}$  М или с  $K_D$  меньшего значения. В других предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения антитело против CD40 связывается с CD40 с  $K_D$   $2 \times 10^{-9}$ ,  $2 \times 10^{-10}$ ,  $4,0 \times 10^{-11}$  М или с  $K_D$  меньшего значения. В наиболее предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения антитело связывается с CD40 с  $K_D$   $2,5 \times 10^{-12}$  М или с  $K_D$  меньшего значения. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело связывается с CD40 практически с той же  $K_D$ , что и антитело, выбранное из 3.1.1, 3.1.1H-A78T, 3.1.1H-A78T-V88A-V97A, 3.1.1L-L4M-L83V, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 22.1.1H-C109A, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1H-D16E, 23.28.1L-C92A, 23.29.1, 23.29.1L-R174K или 24.2.1. В другом предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения антитело связывается с CD40 практически с той же  $K_D$ , что и антитело, которое включает в себя CDR2 легкой цепи, и/или CDR3 тяжелой цепи антитела, выбранного из 3.1.1, 3.1.1H-A78T, 3.1.1H-A78T-V88A-V97A, 3.1.1L-L4M-L83V, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 22.1.1H-C109A, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1H-D16E, 23.28.1L-C92A, 23.29.1, 23.29.1L-R174K и 24.2.1. Еще в одном предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения антитело связывается с CD40 практически с той же  $K_D$ , что и антитело, которое включает в себя вариабельную область тяжелой цепи, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, 10, 18, 26, 34, 42, 50, 58, 66, 74, 82, 90, 92, 96 или 98, или которое включает в себя легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4, 12, 20, 28, 36, 44, 52, 60, 68, 76, 84, 94, 100 или 102. В другом предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения антитело связывается с CD40 практически с той же  $K_D$ , что и антитело, которое включает в себя CDR2 вариабельной области легкой цепи, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4, 12, 20, 28, 36, 44, 52, 60, 68, 76, 84, 94, 100 или 102, либо CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, 10, 18, 26, 34, 42, 50, 58, 66, 74, 82, 90, 92, 96 или 98.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения данное антитело против CD40 имеет низкую скорость диссоциации. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело против CD40 имеет  $K_{off}$   $2,0 \times 10^{-4}$  или менее. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения  $K_{off}$  составляет  $2 \times 10^{-7}$  или менее. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения  $K_{off}$  практически такая же, что и для описанного здесь антитела, включая антитело, выбранное из 3.1.1, 3.1.1H-A78T, 3.1.1H-A78T-V88A-V97A, 3.1.1L-L4M-L83V, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 22.1.1H-C109A, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1H-D16E, 23.28.1L-C92A, 23.29.1, 23.29.1L-R174K и 24.2.1. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело связывается с CD40 практически с таким же значением  $K_{off}$ , что и у антитела, которое включает в себя CDR3 тяжелой цепи или CDR2 легкой цепи антитела, выбранного из 3.1.1, 3.1.1H-A78T, 3.1.1H-A78T-V88A-V97A, 3.1.1L-L4M-L83V,

7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 22.1.1H-C109A, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1H-D16E, 23.28.1L-C92A, 23.29.1, 23.29.1L-R174K и 24.2.1. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело связывается с CD40 практически с таким же значением  $K_{off}$ , что и у антитела, которое включает в себя переменную область тяжелой цепи, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, 10, 18, 26, 34, 42, 50, 58, 66, 74, 82, 90, 92, 96 или 98, либо которая включает в себя переменную область легкой цепи, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4, 12, 20, 28, 36, 44, 52, 60, 68, 76, 84, 94, 100 или 102. В другом предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения антитело связывается с CD40 практически с такой же  $K_{off}$ , что и у антитела, которое включает в себя CDR2 переменной области легкой цепи, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4, 12, 20, 28, 36, 44, 52, 60, 68, 76, 84, 94, 100 или 102, либо CDR3 переменной области тяжелой цепи, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, 14, 22, 30, 38, 46, 54, 62, 70, 78, 86, 90, 92, 96 или 98.

Связывание по сродству и скорость диссоциации антитела против CD40 с CD40 можно определить любым способом, известным в данной области. Связывание по сродству можно измерить конкурентными ИФА, РИА или поверхностным плазмонным резонансом, таким как BIAcore. Скорость диссоциации можно также измерить с помощью поверхностного плазмонного резонанса. Предпочтительно, связывание по сродству и скорость диссоциации измеряют поверхностным плазмонным резонансом. Более предпочтительно связывание по сродству и скорость диссоциации измеряют с использованием BIAcore™. См., например, пример XIV.

Использование генов легкой и тяжелой цепи.

Антитело к CD40 согласно изобретению может включать в себя легкую каппа- или лямбда-цепь человека или аминокислотную последовательность, полученную из них. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, включающих легкую каппа-цепь, переменный домен ( $V_L$ ) легкой цепи частично кодируется геном человека A3/A19 (DPK-15), L5 (DP5) или A27 (DPK-22) $V_k$ .

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения  $V_L$  антитела к CD40 содержит одну или несколько аминокислотных замен в сравнении с аминокислотной последовательностью клеток зародышевой линии. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения  $V_L$  антитела к CD40 содержит 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 аминокислотных замен в сравнении с аминокислотной последовательностью клеток зародышевой линии. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения одна или несколько из этих замен клеток зародышевой линии находятся в CDR-участках легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения эти аминокислотные замены, по сравнению с клетками зародышевой линии, находятся в одной или в нескольких одинаковых положениях, как и замены в сравнении с клетками зародышевой линии для одного или нескольких  $V_L$  антител 3.1.1, 3.1.1L-L4M-L83V, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1L-C92A, 23.29.1, 23.29.1L-R174K и 24.2.1. Например,  $V_L$  антитела к CD40 может содержать одну или несколько аминокислотных замен, в сравнении с клетками зародышевой линии, обнаруживаются в антителе 21.4.1, а другие аминокислотные замены, в сравнении с клетками зародышевой линии, обнаруживаются в антителе 10.8.3, которое использует тот же  $V_k$ -ген, что и ген антитела 21.4.1. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения аминокислотные изменения происходят в одном или нескольких одних и тех же положениях, но вызывает их иная мутация, чем в данном эталонном антителе.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения аминокислотные изменения, по сравнению с зародышевой линией, происходят в одном или нескольких одних и тех же положениях, что и в любой из  $V_L$  антител 3.1.1, 3.1.1L-L4M-L83V, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1L-C92A, 23.29.1, 23.29.1L-R174K и 24.2.1, но данные изменения могут соответствовать консервативным аминокислотным заменам в этом положении(ях) относительно аминокислоты в эталонном антителе. Например, когда конкретное положение в одном из этих антител изменяется по отношению к клеткам зародышевой линии и представлено глутаматом, в этом положении можно консервативно заменить аспаргат. Аналогично, если аминокислотное замещение в сравнении с замещением клеток зародышевой линии представлено серином, в этом положении можно консервативно заменить треонин на серин. Консервативные аминокислотные замены рассматриваются выше.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения легкая цепь антитела человека к CD40 включает в себя аминокислотную последовательность, которая представляет собой ту же аминокислотную последовательность, что и аминокислотная последовательность  $V_L$  антитела 3.1.1 (SEQ ID NO: 4), 3.1.1L-L4M-L83V (SEQ ID NO: 94), 7.1.2 (SEQ ID NO: 12), 10.8.3 (SEQ ID NO: 20), 15.1.1 (SEQ ID NO: 28), 21.4.1 (SEQ ID NO:), 21.2.1 (SEQ ID NO: 36), 21.4.1 (SEQ ID NO: 44), 22.1.1 (SEQ ID NO: 52), 23.5.1 (SEQ ID NO: 60), 23.28.1 (SEQ ID NO: 68), 23.28.1L-C92A (SEQ ID NO: 100), 23.29.1 (SEQ ID NO: 76), 23.29.1L-R174K (SEQ ID NO: 102) или 24.2.1 (SEQ ID NO: 84), или указанная аминокислотная последовательность имеет до 1, 2, 3, 4, 6, 8 или 10 консервативных аминокислотных замен и/или в общей сложности до 3-х неконсервативных аминокислотных замен.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения легкая цепь антитела человека к CD40 включает в себя, по меньшей мере, легкую цепь CDR2 и может также включать в себя участки CDR1 и CDR3 в последовательности клеток зародышевой линии, как описано здесь. В другом варианте

осуществления настоящего изобретения легкая цепь может включать CDR1 и CDR2 из антитела, независимо выбранного из 3.1.1, 3.1.1L-L4M-L83V, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1L-C92A, 23.29.1 и 24.2.1, или CDR-участки, каждый, обладающий менее 8, менее 6, менее 4 или менее 3 консервативных замен и/или в общей сложности тремя или менее неконсервативными аминокислотными заменами. В других вариантах осуществления настоящего изобретения легкая цепь указанного антитела к CD40 включает в себя, по меньшей мере, легкую цепь CDR2, и может также включать в себя CDR1- и CDR3-участки, каждый из которых независимо выбран из CDR1- и CDR3-участков антитела, обладающего вариабельной областью легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 4, 12, 20, 28, 36, 44, 52, 60, 68, 76, 84, 94 или 100, или кодируемую молекулой нуклеиновой кислоты, выбранной из SEQ ID NO: 3, 11, 19, 27, 35, 43, 51, 59, 67, 75, 83, 93 или 99.

Что касается тяжелой цепи, то в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения вариабельная область аминокислотной последовательности тяжелой цепи частично кодируется геном человека  $V_H$  3-30+,  $V_H$  4-59,  $V_H$  1-02,  $V_H$  4.35 или  $V_H$  3-30.3. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения  $V_H$  антитело к CD40 содержит одну или несколько аминокислотных замен, делеций или вставок (добавок) по сравнению с аминокислотной последовательностью клеток зародышевой линии. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения вариабельный домен тяжелой цепи содержит 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 или 18 мутаций по сравнению с аминокислотной последовательностью клеток зародышевой линии. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения мутация(и) представляют собой неконсервативные замены по сравнению с аминокислотной последовательностью клеток зародышевой линии. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения данные мутации находятся в CDR-участках данной тяжелой цепи. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения аминокислотные изменения произведены в одном или нескольких одинаковых положениях по сравнению с мутациями в последовательности клеток зародышевой линии в любой одной или в нескольких  $V_H$  антител 3.1.1, 3.1.1H-A78T, 3.1.1H-A78T-V88A-V97A, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 22.1.1H-C109A, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1H-D16E, 23.29.1 и 24.2.1. В других вариантах осуществления настоящего изобретения аминокислотные изменения происходят в одном или в нескольких одинаковых позициях, но содержат другую мутацию по сравнению с эталонным антителом.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения тяжелая цепь включает в себя аминокислотную последовательность вариабельного домена ( $V_H$ ) антитела 3.1.1 (SEQ ID NO: 2), 3.1.1H-A78T (SEQ ID NO: 90), 3.1.1H-A78T-V88A-V97A (SEQ ID NO: 92), 7.1.2 (SEQ ID NO: 10), 10.8.3 (SEQ ID NO: 18), 15.1.1 (SEQ ID NO: 26), 21.2.1 (SEQ ID NO: 34), 21.4.1 (SEQ ID NO: 42), 22.1.1 (SEQ ID NO: 50), 22.1.1H-C109A (SEQ ID NO: 96), 23.5.1 (SEQ ID NO: 58), 23.28.1 (SEQ ID NO: 66), 23.28.1H-D16E (SEQ ID NO: 98), 23.29.1 (SEQ ID NO: 74) и 24.2.1 (SEQ ID NO: 82) или указанную аминокислотную последовательность, обладающую до 1, 2, 3, 4, 6, 8 или 10 консервативных аминокислотных замен и/или до 3 неконсервативных аминокислотных замен.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения тяжелая цепь включает в себя тяжелую цепь CDR1-, CDR2- и CDR3-участков антитела 3.1.1, 3.1.1H-A78T, 3.1.1H-A78T-V88A-V97A, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 22.1.1H-C109A, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1H-D16E, 23.29.1 и 24.2.1 (как показано на фиг. 1D-1H или 2D-2H), или указанных CDR-участков, каждый, обладающий менее 8, менее 6, менее 4 или менее 3 консервативных аминокислотных замен или до трех или меньше неконсервативных аминокислотных замен.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения тяжелая цепь включает в себя CDR3 и может также включать CDR1- и CDR2-участки последовательности клеток зародышевой линии, как описано выше, или может включать CDR1 и CDR2 антитела, каждое из которых независимо выбрано из антитела, включающего в себя тяжелую цепь антитела, выбранного из 3.1.1, 3.1.1H-A78T, 3.1.1H-A78T-V88A-V97A, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 22.1.1H-C109A, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1H-D16E, 23.29.1 и 24.2.1. В другом варианте осуществления настоящего изобретения данная тяжелая цепь включает в себя CDR3 и может также содержать CDR1- и CDR2-участки, каждый из которых независимо выбран из CDR1- и CDR2-участков вариабельной области тяжелой цепи, включающей в себя аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 2, 10, 18, 26, 34, 42, 50, 58, 66, 74, 82, 90, 92, 96 или 98 (как показано на фиг. 1D-1H или на фиг. 2D-2H) или кодируемую последовательностью нуклеиновой кислоты, выбранной из SEQ ID NO: 1, 9, 17, 25, 33, 41, 49, 57, 65, 73, 81, 89, 91, 95 или 97. В другом варианте осуществления настоящего изобретения антитело включает в себя тяжелую цепь, как описано выше, и легкую цепь, как описано выше.

Один из видов аминокислотной замены, которую можно произвести, представляет собой замену одного или нескольких цистеинов в данном антителе, которые могут быть химически реакционноспособными, на другой остаток, такой, каким, без ограничения, являются аланин или серин. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения замену цистеина осуществляют в кармашковой области вариабельного домена или в константном домене антитела. В другом варианте осуществления настоящего изобретения указанный цистеин находится в неканонической области данного антитела. Другой вид



аминокислотной замены, которую можно произвести, заключается в замене любого потенциального из протеолитических сайтов в данном антителе, в частности, тех из них, которые находятся в каркасной области вариабельного домена, в константном домене антитела или в неканонической области данного антитела. Замена цистеиновых остатков и удаление протеолитических сайтов может снизить риск любой гетерогенности в данном антительном продукте и, таким образом, увеличить его гомогенность. Другой вид аминокислотной замены заключается в элиминации пар аспарагин-глицин, которые образуют потенциальные сайты дезамидирования, путем изменения одного или обоих остатков. Это предпочтительно осуществлять в каркасных областях, константном домене или неканонических областях антитела.

Активация CD40 с помощью антитела к CD40.

Другой аспект настоящего изобретения включает в себя антитело к CD40, которое представляет собой активирующее антитело, т.е. CD40-агонист. Активирующее антитело усиливает или заменяет действие CD40L относительно CD40. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения активирующее антитело представляет собой, по существу, имитатор CD40L, и конкурирует с CD40L за связывание с CD40. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело не конкурирует с CD40L за связывание с CD40, но усиливает эффект связывания CD40L с CD40. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело к CD40 активирует CD40 в присутствии или в отсутствие CD40L.

Ингибирование опухолевого роста *in vivo* антителами к CD40.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления настоящего изобретения предусмотрено антитело к CD40, которое ингибирует пролиферацию опухолевых клеток *in vitro* или рост опухоли *in vivo*.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения данное антитело подавляет рост опухоли по меньшей мере на 50, 55, 60, 65, 70, 75%. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения данное антитело подавляет рост опухоли на 75%. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения ингибирование роста опухоли детектируется через 14 дней после начала ее обработки антителом. В других вариантах осуществления настоящего изобретения ингибирование роста опухоли детектируется через 7 дней после начала ее обработки антителом. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения животному вводят другой противоопухолевый агент вместе с антителом к CD40. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения противоопухолевый агент дополнительно ингибирует рост опухоли. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения противоопухолевый агент представляет собой адриамицин или таксол. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения совместное введение противоопухолевого агента и антитела к CD40 ингибирует рост опухоли по меньшей мере на 50% через 22-24 дня после начала обработки, по сравнению с ростом опухоли у необработанного животного.

Индукция апоптоза антителами к CD40.

Другая цель настоящего изобретения - создать антитело к CD40, которое индуцирует клеточную смерть в CD40-позитивных клетках. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения данное антитело вызывает апоптоз CD40-позитивных клеток либо *in vivo*, либо *in vitro*.

Усиление экспрессии молекул клеточной поверхности.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело к CD40 усиливает экспрессию молекул В-клеточной поверхности, в том числе, но не ограничиваясь ими, ICAM, МНС-II, B7-2, CD71, CD23 и CD83. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения концентрация антитела 1 мкг/мл усиливает экспрессию молекулы ICAM В-клеточной поверхности в цельной крови, повышая ее содержание по меньшей мере в 2 раза или более предпочтительно по меньшей мере в 4 раза. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения концентрация антитела 1 мкг/мл усиливает экспрессию молекулы МНС-II В-клеточной поверхности в цельной крови, повышая ее содержание по меньшей мере в 2 раза или более предпочтительно по меньшей мере в 3 раза. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения концентрация антитела 1 мкг/мл усиливает экспрессию молекулы CD23 поверхности В-клетки в цельной крови, повышая ее содержание по меньшей мере в 2 раза или более предпочтительно по меньшей мере в 5 раз. См., например, пример VII, табл. 25.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело к CD40 усиливает экспрессию молекул, в том числе, но не ограничиваясь этим, МНС-II, ICAM, B7-2, CD83 и B7-1, на поверхности дендритных клеток. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения диапазон повышенного содержания аналогичен диапазону повышенного содержания, наблюдаемого в В-клетках. См., например, табл. 25 и 26 ниже. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело предпочтительно повышает экспрессию молекул поверхности дендритных клеток, таких как B7-2 и МНС-II, по сравнению с экспрессией этих молекул на поверхности В-клеток. См., например, табл. 27.

Усиление секреции клеточных цитокинов.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело усиливает клеточную секрецию цитокинов, включая, но не ограничиваясь ими, IL-8, IL-12, IL-15, IL-18 и IL-23.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело усиливает секрецию цитокинов дендритными клетками и прилипающими моноцитами. В некоторых вариантах осуществления

настоящего изобретения образование цитокинов усиливается в результате костимуляции одним или несколькими LPS, IFN- $\gamma$  или IL-1 $\beta$ . Еще в одном аспекте настоящего изобретения в опыте с дендритными клетками антитело вместе с LPS костимулирует усиление образования IL-12p70 в отношении EC<sub>50</sub> почти на 0,48 мкг/мл. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело усиливает образование IL-12p40 в дендритных клетках в отношении EC<sub>50</sub> почти на 0,21 мкг/мл. (См., например, пример VIII).

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело усиливает секрецию гамма-IFN Т-клетками в опыте с Т-клетками/дендритными клетками, как описано в примере VIII. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело усиливает секрецию гамма-IFN в опыте с Т-клетками/дендритными клетками, что касается EC<sub>50</sub>, почти на 0,3 мкг/мл. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело усиливает секрецию гамма-IFN в опыте с Т-клетками/дендритными клетками, что касается EC<sub>50</sub>, почти на 0,2 мкг/мл. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело усиливает секрецию гамма-IFN в опыте с Т-клетками/дендритными клетками, что касается EC<sub>50</sub>, почти на 0,03 мкг/мл.

Способы получения антител и антителопродуцирующих клеточных линий.

Иммунизация.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитела человека получают путем иммунизации животного, не являющегося человеком, антигеном CD40, содержащего в своем геноме некоторые или все локусы тяжелой и легкой цепи иммуноглобулина человека. В предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения не являющееся человеком животное представляет собой XenoMouse<sup>TM</sup>-животное (ксеногенная мышь).

XenoMouse-мыши представлены генно-инженерными мышинными линиями, которые содержат большие фрагменты тяжелой цепи и легкой цепи иммуноглобулиновых локусов человека и являются дефектными в отношении выработки мышинных антител. См., например, Green et al., Nature Genetics 7:13-21 (1994) и патенты США № 5916771, 5939598, 5985615, 5998209, 6075181, 6091001, 6114598, 6130364, 6162963 и 6150584. См. также WO 91/10741, WO 94/02602, WO 96/34096, WO 96/33735, WO 98/16654, WO 98/24893, WO 98/50433, WO 99/45031, WO 99/53049, WO 00/09560 и WO 00/037504.

В другом аспекте в настоящем изобретении разработан способ получения антител у животных, не принадлежащих человеческому роду и не относящихся к мышам, путем иммунизации антигеном CD40, а также у не принадлежащих человеческому роду трансгенных животных, которые включают иммуноглобулиновые локусы человека. Таких животных можно получить, используя способы, описанные в цитированных выше документах. Способы, раскрытые в этих документах, можно модифицировать, как описано в патенте США № 5994619. В предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения не принадлежащие человеческому роду животные представляют собой крыс, овец, свиней, коз, крупный рогатый скот и лошадей.

XenoMouse<sup>TM</sup>-мыши, подобно взрослому человеку, продуцируют набор полноразмерных человеческих антител и синтезируют антиген-специфичные антитела человека. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения XenoMouse<sup>TM</sup>-мыши содержат приблизительно 80% набора антител человеческого гена V, полученного в результате введения участка искусственной дрожжевой хромосомы (YAC) с конфигурацией клеток зародышевой линии и размером до одной т.н., содержащей локусы тяжелой и легкой каппа-цепи человека. См. Mendez et al., Nature Genetics 15:146-156 (1997), Green and Jakobovits, J. Exp. med. 188:483-495 (1998) и WO 98/24893, раскрытие которых включено здесь путем ссылки.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения не принадлежащее человеческому роду животное, включающее иммуноглобулиновые гены человека, представляет собой животное, которое обладает иммуноглобулиновым "минилокусом" человека. В таком "минилокусном" методе экзогенный Ig-локус имитируется путем включения индивидуальных генов из Ig-локуса. В соответствии с этим один или несколько V<sub>H</sub>-генов, один или несколько D<sub>H</sub>-генов, один или несколько J<sub>H</sub>-генов, константный домен  $\mu$ c, и второй константный домен (предпочтительно константный гамма-домен) вводят в конструкцию для внедрения в животное. Данный метод описан, в частности, в патентах США № 5545807, 5545806, 5569825, 5625126, 5633425, 5661016, 5770429, 5789650, 5814318, 5591669, 5612205, 5721367, 5789215 и 5643763, включенных таким образом путем ссылки.

Преимущество мини-локусного метода заключается в скорости, с которой могут быть образованы и внедрены животным конструкции, содержащие части IG-локуса. Вместе с тем, потенциальное неудобство данного мини-локусного метода заключается в отсутствие достаточного разнообразия иммуноглобулинов, необходимого для поддержания полного развития В-клеток, что может снижать продукцию антител.

В другом аспекте в настоящем изобретении разработан способ получения гуманизированных антител к CD40. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, не являющихся человеком животных иммунизируют CD40-антигеном, как описано ниже, в условиях, которые предоставляют возможность для получения антител. Из иммунизированных животных выделяют антителопродуцирующие клетки, сливают с миеломными клетками для получения гибридом, из которых выделяют нуклеиновые

кислоты, кодирующие тяжелую и легкую цепи представляющего интерес CD40-антитела. Данные нуклеиновые кислоты последовательно создают, используя генно-инженерные методы, известные специалистам в данной области и, как описано ниже, уменьшают размер нечеловеческой последовательности, т.е. гуманизируя данное антитело для уменьшения иммунной реакции у людей.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антиген CD40 отделяют и/или выделяют очисткой. В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения антиген CD40 представляет собой CD40 человека. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антиген CD40 представляет собой фрагмент CD40. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения фрагмент антигена CD40 представляет собой внеклеточный домен CD40. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения фрагмент антигена CD40 включает в себя по меньшей мере один эпитоп из CD40. В других вариантах осуществления настоящего изобретения антиген CD40 представляет собой клетку, которая на своей поверхности экспрессирует или сверхэкспрессирует CD40 или его иммуногенный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антиген CD40 представляет собой слитый белок CD40.

Иммунизацию животных можно осуществить любым способом, известным в данной области. См., например, Harlow and Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual*, New York: Cold Spring Harbor Press, 1990. Способы иммунизации отличных от человека животных, таких как мыши, крысы, овцы, козы, свиньи, крупный рогатый скот и лошади, хорошо известны в данной области. См., например, Harlow and Lane, выше, а также патент США № 5994619. В предпочтительном варианте осуществления антиген CD40 вводят с адъювантом для стимуляции иммунного ответа. Образцы адъювантов включают в себя полный или неполный адъювант Фрейнда, RIBI (мурамилные дипептиды) или ISCOM (иммуностимулирующие комплексы). Такие адъюванты могут защитить данный полипептид от рассасывания путем его связывания в локальный осадок, или же они могут содержать вещества, которые стимулируют хозяина выделять факторы, вызывающие хемотаксис макрофагов и других компонентов данной иммунной системы. Предпочтительно при введении полипептида режим иммунизации растягивать на несколько недель и включать два или более введения данного полипептида.

Пример I описывает получение моноклональных антител к CD40.

Получение антител и антителопродуцирующих клеточных линий.

После иммунизации животного антигеном CD40 из этого животного можно получить антитела и/или антителопродуцирующие клетки. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения сыворотку, содержащую антитело к CD40, получают от животного путем взятия крови или умерщвления животного. Эту сыворотку можно использовать в качестве полученной от животного для получения из нее иммуноглобулиновой фракции или для выделения путем очистки из сыворотки антител к CD40. Специалистам в данной области хорошо известно, что сыворотка или иммуноглобулины, полученные данным способом, являются поликлональными. Неудобство использования получаемых из сыворотки поликлональных антител заключается в том, что количество получаемых антител ограничено, и данное поликлональное антитело обладает совокупностью разных характеристик.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антителопродуцирующие иммортализованные клеточные линии получают из клеток, выделенных из иммунизированного животного. После иммунизации животное умерщвляют, а лимфатические узлы и/или В-клетки селезенки иммортализируют. Способы иммортализации клеток включают в себя, не ограничиваясь этим, перенесение их вместе с онкогенами, заражение их онкогенным вирусом, культивирование их в условиях, в которых отбирают иммортализованные клетки, воздействие на них канцерогенных и мутагенных соединений, слияние их с иммортализованной клеткой, например, с миеломной клеткой, и инактивация опухолевого гена-супрессора. См., например, Harlow and Lane выше. Если используют слияние с миеломными клетками, то такие миеломные клетки предпочтительно не секретируют иммуноглобулиновые полипептиды (несекретирующая клеточная линия). Иммортализованные клетки скринируют с использованием CD40, его участка, или с использованием клетки, экспрессирующей CD40. В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения начальное скринирование осуществляют с использованием иммуноферментного анализа или радиоиммуноанализа. Пример ИФА-скринирования описан в WO 00/37504, включенной здесь путем ссылки.

Клетки, продуцирующие антитело к CD40, например гибридомы, отбирают, клонируют и в дальнейшем скринируют на предмет выявления нужных характеристик, включая устойчивый рост, высокий выход и требуемые свойства антител, что рассматривается далее ниже. Гибридомы можно размножить *in vivo* в организме сингенных животных, в организме животных с недостаточной иммунной системой, например у голых мышей, или в культуре клеток *in vitro*. Способы селекции, клонирования и размножения гибридом хорошо известны рядовым специалистам в данной области.

В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения иммунизированное животное представляет собой не принадлежащее человеческому роду животное, которое экспрессирует иммуноглобулиновые гены человека, а его В-клетки селезенки сливают с миеломной клеточной линией животного того же вида, что и указанное иммунизированное животное, не являющееся человеком. В более предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения иммунизированное животное явля-

ется XenoMouse™-животным, а миеломная клеточная линия представлена несекретирующей мышино-миеломой. В еще более предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения миеломная клеточная линия представляет собой P3-X63-AG8.653. См., например, пример I.

Кроме того, в настоящем изобретении созданы гибридомы, вырабатывающие антитела человека к CD40. В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения данные гибридомы представляют собой мышинные гибридомы, которые описаны выше. В других вариантах осуществления настоящего изобретения такие гибридомы создают в организме животных (но не человека), в организме таких животных, как крысы, овцы, свиньи, козы, крупный рогатый скот или лошади, но не мыши. В другом варианте осуществления настоящего изобретения гибридомы представляют собой гибридомы человека.

Нуклеиновые кислоты, векторы, хозяйские клетки и способы создания рекомбинантных антител.

Нуклеиновые кислоты.

Настоящее изобретение включает в себя молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие антитела против CD. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения разные молекулы нуклеиновой кислоты кодируют тяжелую цепь и легкую цепь иммуноглобулина к CD. В других вариантах осуществления настоящего изобретения одна и та же молекула нуклеиновой кислоты кодирует тяжелую цепь и легкую цепь иммуноглобулина к CD40.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая переменный домен легкой цепи, включает в себя генную последовательность человека A3/A19 (DPK-15), L5 (DP5) или A27 (DPK-22)  $V_k$  или полученную из них последовательность. В других вариантах осуществления настоящего изобретения молекула нуклеиновой кислоты включает в себя нуклеотидную последовательность гена A3/A19  $V_k$  и гена  $J_{k1}$ ,  $J_{k2}$  или  $J_{k3}$ , либо последовательность, полученную из них. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения данная молекула нуклеиновой кислоты включает в себя нуклеотидную последовательность гена L5  $V_k$  и гена  $J_{k4}$ . В других вариантах осуществления настоящего изобретения молекула нуклеиновой кислоты включает в себя нуклеотидную последовательность гена A27  $V_k$  и гена  $J_{k3}$ .

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая легкую цепь, кодирует аминокислотную последовательность, содержащую 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 мутаций из аминокислотной последовательности клеток зародышевой линии. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения молекула нуклеиновой кислоты включает в себя нуклеотидную последовательность, кодирующую аминокислотную последовательность  $V_L$ , содержащую 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 неконсервативных аминокислотных замен и/или 1, 2 или 3 неконсервативных замен по сравнению с последовательностью из клеток зародышевой линии. Замены могут находиться в CDR-участках, в каркасных участках или в константном домене.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая переменный домен легкой цепи ( $V_L$ ), кодирует аминокислотную последовательность  $V_L$ , содержащую одну или несколько мутаций по сравнению с последовательностью из клеток зародышевой линии, которые идентичны мутациям, обнаруживаемым в  $V_L$  одного из антител 3.1.1, 3.1.1L-L4M-L83V, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.2.1, 22.1.1, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1L-C92A, 23.29.1 и 24.2.1. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения молекула нуклеиновой кислоты кодирует по меньшей мере три аминокислотные мутации, по сравнению с последовательностью из клеток зародышевой линии, обнаруживаемые в  $V_L$  одного из антител 3.1.1, 3.1.1L-L4M-L83V, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.2.1, 22.1.1, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1L-C92A, 23.29.1 и 24.2.1.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения молекула нуклеиновой кислоты включает в себя нуклеотидную последовательность, которая кодирует аминокислотную последовательность  $V_L$  моноклонального антитела 3.1.1 (SEQ ID NO: 4), 3.1.1L-L4M-L83V (SEQ ID NO: 94), 7.1.2 (SEQ ID NO: 12), 10.8.3 (SEQ ID NO: 20), 15.1.1 (SEQ ID NO: 28), 21.2.1 (SEQ ID NO: 36), 21.4.1 (SEQ ID NO: 44), 22.1.1 (SEQ ID NO: 52), 23.5.1 (SEQ ID NO: 60), 23.28.1 (SEQ ID NO: 68), 23.28.1L-C92A (SEQ ID NO: 100), 23.29.1 (SEQ ID NO: 76) или 24.2.1 (SEQ ID NO: 84) либо ее часть. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения указанная часть включает в себя, по меньшей мере, CDR3-участок. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения нуклеиновая кислота кодирует аминокислотную последовательность легкой цепи CDR указанного антитела. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения указанная часть представляет собой смежную часть, включающую в себя CDR1-CDR3.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения молекула нуклеиновой кислоты включает в себя нуклеотидную последовательность, которая кодирует аминокислотную последовательность одной из SEQ ID NO: 4, 12, 20, 28, 36, 44, 52, 60, 68, 76, 84, 94 или 100, или указанную последовательность без сигнальной последовательности. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения молекула нуклеиновой кислоты включает в себя нуклеотидную последовательность из SEQ ID NO: 3, 11, 19, 27, 35, 43, 51, 59, 67, 75, 83, 93 или 99 или ее часть, причем в указанной последовательности необязательно отсутствует сигнальная последовательность.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения указанная часть кодирует  $V_L$ -

область. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения указанная часть кодирует, по меньшей мере, область CDR2. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения нуклеиновая кислота кодирует аминокислотную последовательность легкой цепи CDR указанного антитела. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения указанная часть кодирует прилежащий участок из CDR1-CDR3.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения молекула нуклеиновой кислоты кодирует аминокислотную последовательность  $V_L$ , которая идентична по меньшей мере на 70, 75, 80, 85, 90, 95, 97, 98, 99%  $V_L$ -аминокислотной последовательности одного из антител 3.1.1, 3.1.1L-L4M-L83V, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1L-C92A, 23.29.1 или 24.2.1, либо  $V_L$ -аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 4, 12, 20, 28, 36, 44, 52, 60, 68, 76, 84, 94 или 100. Молекулы нуклеиновой кислоты согласно изобретению включают в себя нуклеиновые кислоты, которые гибридизуются в жестких условиях, таких, которые описаны выше, с последовательностью нуклеиновой кислоты, кодирующей аминокислотную последовательность из числа SEQ ID NO: 4, 12, 20, 28, 36, 44, 52, 60, 68, 76, 84, 94 или 100, либо которая обладает последовательностью нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 3, 11, 19, 27, 35, 43, 51, 59, 67, 75, 83, 93 или 99.

В других вариантах осуществления настоящего изобретения последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полноразмерную легкую цепь антитела, выбранного из 3.1.1, 3.1.1L-L4M-L83V, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1L-C92A, 23.29.1, 23.29.1L-R174K или 24.2.1, либо легкую цепь, включающую в себя аминокислотную последовательность из числа SEQ ID NO: 8, 16, 24, 32, 40, 48, 56, 64, 72, 80, 88, 94, 100 или 102, либо легкую цепь, содержащую такую мутацию, как раскрытая здесь мутация. Кроме того, нуклеиновая кислота может включать в себя нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 7, 15, 23, 31, 39, 47, 55, 63, 71, 79 или 87, либо молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую легкую цепь, содержащую одну из мутаций, которая раскрыта здесь.

В другом предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения молекула нуклеиновой кислоты кодирует вариативный домен тяжелой цепи ( $V_H$ ), который включает в себя генную последовательность  $V_H$  человека 3-30+, 4-59, 1-02, 4.35 или 3-30.3 или последовательность, полученную из нее. В различных вариантах осуществления настоящего изобретения молекула нуклеиновой кислоты включает в себя  $V_H$ -ген человека 3-30+, ген D4 (DIR3) и ген  $J_H6$  человека;  $V_H$ -ген человека 3-30+, ген D4 (DIR3) и ген  $J_H6$  человека;  $V_H$ -ген человека 4.35, ген DIR3 и ген  $J_H6$  человека;  $V_H$ -ген человека 4-59, ген D4-23 и ген  $J_H4$  человека;  $V_H$ -ген человека 1-02, ген DLR1 и ген  $J_H4$  человека;  $V_H$ -ген человека 3-30+, ген D6-19 (DIR3) и ген  $J_H4$  человека;  $V_H$ -ген человека 3-30+, ген D1-1 и ген  $J_H6$  человека;  $V_H$ -ген человека 3-30+, ген D4-17 и ген  $J_H6$  человека;  $V_H$ -ген человека 3-30.3, ген D4-17 и ген  $J_H6$  человека;  $V_H$ -ген человека 4-59, ген D4-17 (DIR1) и ген  $J_H5$  человека, или последовательность, полученную из этих генов человека.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения молекула нуклеиновой кислоты кодирует аминокислотную последовательность, содержащую 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 или 18 мутаций по сравнению с аминокислотной последовательностью генов клеток зародышевой линии человека V, D или J. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения указанные мутации находятся в  $V_H$ -области. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения указанные мутации находятся в CDR-участках.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения молекула нуклеиновой кислоты кодирует одну или несколько аминокислотных мутаций, в сравнении с последовательностью из клеток зародышевой линии, которые идентичны аминокислотным мутациям, обнаруживаемым в  $V_H$  моноклонального антитела 3.1.1, 3.1.1H-A78T, 3.1.1H-A78T-V88A-V97A, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 22.1.1H-C109A, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1H-D16E, 23.29.1 и 24.2.1. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения нуклеиновая кислота кодирует по меньшей мере три аминокислотные мутации по сравнению с последовательностями из клеток зародышевой линии, которые идентичны по меньшей мере трем аминокислотным мутациям, обнаруживаемым в одном из вышеперечисленных моноклональных антител.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения молекула нуклеиновой кислоты включает в себя нуклеотидную последовательность, которая кодирует по меньшей мере часть аминокислотной последовательности  $V_H$  антитела 3.1.1 (SEQ ID NO: 2), 3.1.1H-A78T (SEQ ID NO: 90), 3.1.1H-A78T-V88A-V97A (SEQ ID NO: 92), 7.1.2 (SEQ ID NO: 10), 10.8.3 (SEQ ID NO: 18), 15.1.1 (SEQ ID NO: 26), 21.2.1 (SEQ ID NO: 34), 21.4.1 (SEQ ID NO: 42), 22.1.1 (SEQ ID NO: 50), 22.1.1H-C109A (SEQ ID NO: 96), 23.5.1 (SEQ ID NO: 58), 23.28.1 (SEQ ID NO: 66), 23.28.1H-D16E (SEQ ID NO: 98), 23.29.1 (SEQ ID NO: 74) или 24.2.1 (SEQ ID NO: 82), либо указанная последовательность обладает консервативными аминокислотными мутациями и/или в общей сложности тремя или менее неконсервативными аминокислотными заменами. В различных вариантах осуществления настоящего изобретения данная последовательность кодирует один или несколько CDR-участков, предпочтительно CDR3-участок, все три CDR-участка, смежную часть, включающую в себя CDR1-CDR3, или полную  $V_H$ -область с сигнальной последовательностью или без нее.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения молекула нуклеиновой кислоты включает в себя нуклеотидную последовательность, которая кодирует аминокислотную последователь-

ность из числа SEQ ID NO: 2, 10, 18, 26, 34, 42, 50, 58, 66, 74, 82, 90, 92, 96 или 98, или указанную последовательность без сигнальной последовательности. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения молекула нуклеиновой кислоты включает в себя по меньшей мере часть нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 1, 9, 17, 25, 33, 41, 49, 57, 65, 73, 81, 89, 91, 95 или 97, либо указанную последовательность без сигнальной последовательности.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения указанная часть кодирует  $V_H$ -область (с сигнальной последовательностью или без нее), CDR3-участок, все три CDR-участка или прилегающую смежную область, содержащую CDR1-CDR3.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения молекула нуклеиновой кислоты кодирует аминокислотную последовательность  $V_H$ , которая идентична по меньшей мере на 70, 75, 80, 85, 90, 95, 97, 98 или 99% аминокислотной последовательности  $V_H$ , представленной на фиг. 1A-1C или 2A-2C, или аминокислотной последовательности  $V_H$  из любой SEQ ID NO: 2, 10, 18, 26, 34, 42, 50, 58, 66, 74, 82, 90, 92, 96 или 98. Молекулы нуклеиновой кислоты согласно изобретению включают в себя нуклеиновые кислоты, которые гибридизуются в жестких условиях, таких, которые описаны выше, с последовательностью нуклеиновой кислоты, кодирующей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, 10, 18, 26, 34, 42, 50, 58, 66, 74, 82, 90, 92, 96 или 98, или которая обладает последовательностью нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 1, 9, 17, 25, 33, 41, 49, 57, 65, 73, 81, 89, 91, 95 или 97. Последовательность нуклеиновой кислоты согласно изобретению включает в себя молекулу нуклеиновой кислоты, которая гибридизуется в жестких условиях, таких, которые описаны выше, с последовательностью нуклеиновой кислоты, кодирующей только что описанную выше  $V_H$ .

В другом варианте осуществления настоящего изобретения нуклеиновая кислота кодирует полно-размерную тяжелую цепь антитела, выбранного из 3.1.1, 3.1.1H-A78T, 3.1.1H-A78T-V88A-V97A, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 22.1.1H-C109A, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1H-D16E, 23.29.1 и 24.2.1, или тяжелую цепь, обладающую аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 6, 14, 22, 30, 38, 46, 54, 62, 70, 78 или 86, либо тяжелую цепь, содержащую мутацию, такую как одна из мутаций, рассматриваемых здесь. Кроме того, нуклеиновая кислота включает в себя нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 5, 13, 21, 29, 37, 45, 53, 61, 69, 77, 85 или 89 или последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую тяжелую цепь, содержащую мутацию, такую как одна из рассматриваемых здесь мутаций.

Молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая тяжелую или полную легкую цепь антитела к CD40 или их части, может быть выделена из любого источника, который производит такое антитело. В различных вариантах осуществления настоящего изобретения молекулы нуклеиновой кислоты выделяют из В-клетки, выделенной из животного, иммунизированного CD40, или из иммортализованной клетки, произведенной от такой В-клетки, экспрессирующей антитело к CD40. Способы выделения мРНК, кодирующей антитело, хорошо известны в данной области. См., например, Sambrook et al. Выделенную мРНК можно применять для получения кДНК при использовании в полимеразной цепной реакции (ПЦР) или для кДНК-клонирования антительных генов. В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения молекулу нуклеиновой кислоты выделяют из гибридомы, содержащей в качестве одного из своих партнеров слияния иммуноглобулин-продуцирующую клетку, выделенную из трансгенного животного, не принадлежащего человеческому роду. В еще более предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения клетку, продуцирующую иммуноглобулин человека, выделяют из XenoMouse<sup>TM</sup>-животного. В другом варианте осуществления настоящего изобретения клетка, продуцирующая иммуноглобулин человека, происходит от любого трансгенного животного, как описано выше, но не от человека и не от мыши. В другом варианте осуществления настоящего изобретения нуклеиновую кислоту выделяют из нетрансгенного животного, но не человека. Молекулы нуклеиновой кислоты, выделяемые из такого нетрансгенного животного, могут использоваться, например, для получения гуманизированных антител.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения нуклеиновая кислота, кодирующая тяжелую цепь антитела к CD40 согласно изобретению, может включать в себя нуклеотидную последовательность, кодирующую  $V_H$ -домен согласно изобретению, объединенную в одной рамке считывания с нуклеотидной последовательностью, кодирующей тяжелую цепь константного домена из любого источника. Аналогичным образом, молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая легкую цепь антитела к CD40 согласно изобретению, может включать в себя нуклеотидную последовательность, кодирующую  $V_L$ -домен согласно изобретению, объединенную в одной рамке считывания с нуклеотидной последовательностью, кодирующей легкую цепь константного домена из любого источника.

В дополнительном аспекте настоящего изобретения молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие переменный домен тяжелой ( $V_H$ ) и легкой ( $V_L$ ) цепей, преобразуют в полноразмерные антительные гены. В одном из вариантов настоящего изобретения молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие домены  $V_H$  или  $V_L$ , преобразуют в полноразмерные гены антител путем встраивания в экспрессирующий вектор константные домены, уже кодирующие, соответственно, тяжелую цепь или легкую цепь, и встраивают так, чтобы в данном векторе присоединить путем сшивки  $V_H$ -сегмент к  $C_H$ -сегменту(ам), а  $V_L$ -сегмент присоединить путем сшивки к  $C_L$ -сегменту. В другом варианте осуществления настоящего

изобретения, используя стандартные методы молекулярной биологии, молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие домены  $V_H$  и/или  $V_L$ , преобразуют в полноразмерные гены антител путем сшивки (например, лигирования) молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующей домены  $C_H$  и/или  $C_L$ . Последовательности нуклеиновой кислоты константных доменов тяжелой и легкой цепи иммуноглобулиновых генов известны в данной области. См., например, Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5<sup>th</sup> Ed., NIH Publ. № 91-3242, 1991. Молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие полноразмерные тяжелую и/или легкую цепи, можно затем экспрессировать во встроеной клетке и выделить антитело к CD40.

Молекулы нуклеиновой кислоты можно использовать для рекомбинантной экспрессии больших количеств антител к CD40. Ниже описано, как данные молекулы нуклеиновой кислоты можно использовать для получения химерных антител, биспецифических антител, одноцепочечных антител, иммуоадгезинов, диателец, мутировавших антител и производных антител. Если данные молекулы нуклеиновой кислоты получены не из человека, а из нетрансгенного животного, то эти молекулы нуклеиновой кислоты можно использовать для гуманизации антитела, что также описано ниже.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения молекулу нуклеиновой кислоты согласно изобретению используют в качестве зонда или ПЦР-праймера для специфичной антительной последовательности. Например, нуклеиновую кислоту можно использовать в качестве зонда в диагностических способах или в качестве ПЦР-праймера для амплификации участков ДНК, которые можно было бы использовать, в частности, для выделения дополнительных молекул нуклеиновой кислоты, кодирующих переменные домены антител к CD40. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения молекулы нуклеиновой кислоты представляют собой олигонуклеотиды. В других вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды происходят из высоковариабельных участков тяжелой и легкой цепей представляющего интерес антитела. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды кодируют полностью или частично один или несколько CDR антитела 3.1.1, 3.1.1H-A78T, 3.1.1H-A78T-V88A-V97A, 3.1.1L-L4M-L83V, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 22.1.1H-C109A, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1H-D16E, 23.28.1L-C92A, 23.29.1 или 24.2.1.

#### Векторы.

В настоящем изобретении созданы векторы, включающие в себя молекулы нуклеиновой кислоты, которые кодируют тяжелую цепь антитела к CD40 согласно изобретению или его антигенсвязывающую часть. В настоящем изобретении созданы также векторы, включающие в себя молекулы нуклеиновой кислоты, которые кодируют легкую цепь таких антител или их антигенсвязывающую часть. Кроме того, в настоящем изобретении созданы векторы, включающие в себя молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие слитые белки, модифицированные антитела, антительные фрагменты и их зонды.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитела к CD40 или антигенсвязывающие части согласно изобретению экспрессируются путем встраивания ДНК, кодирующих неполные или полноразмерные легкую и тяжелую цепи, полученные, как описано выше, в экспрессирующие векторы, так, чтобы эти гены оказались присоединенными путем сшивки к требуемым экспрессионным контрольным последовательностям, таким как транскрипционные и трансляционные контрольные последовательности. Экспрессирующие векторы включают в себя плазмиды, ретровирусы, аденовирусы, аденоассоциированные вирусы (AAV), растительные вирусы, такие как вирус мозаики цветной капусты, вирус табачной мозаики, космиды, YAC, производные EBV эписомы и т.п. Ген антитела лигируют в вектор так, чтобы транскрипционная и трансляционная контрольные последовательности в векторе выполняли свою предполагаемую функцию регуляции транскрипции и трансляции антительного гена. Выбирают экспрессирующий вектор и экспрессионные контрольные последовательности, которые совместимы с используемой экспрессирующей хозяйской клеткой. Ген легкой цепи антитела и ген тяжелой цепи антитела можно встроить в разные векторы. В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения оба гена встраивают в один и тот же экспрессирующий вектор. Антительные гены встраивают в экспрессирующий вектор с помощью стандартных способов (например, лигированием комплементарных сайтов рестрикции фрагмента антительного гена и вектора или лигированием по тупым концам, если сайты рестрикции не представлены).

Удобным вектором является вектор, который кодирует функционально полную, иммуноглобулиновую последовательность  $C_H$  или  $C_L$  человека с соответствующими сконструированными сайтами рестрикции, так, чтобы последовательности  $V_H$  или  $V_L$  можно было легко встроить и экспрессировать, как описано выше. В таких векторах сплайсинг обычно происходит между донорным сайтом сплайсинга, во встраиваемом J-участке, и акцепторным сайтом сплайсинга, предшествующим человеческому C-домену, а также на участках сплайсинга, которые находятся в  $C_H$ -экзонах человека. Полиаденилирование и терминирование транскрипции происходят в нативных хромосомных сайтах правее от кодирующих областей. Рекомбинантный экспрессирующий вектор может также кодировать сигнальную последовательность, которая обеспечивает секрецию антительной цепи из хозяйской клетки. Ген антительной цепи можно клонировать в вектор так, чтобы сигнальный пептид оказывался присоединенным к аминоконцу иммуноглобулиновой цепи. Сигнальный пептид может представлять собой иммуноглобулиновый сигнальный пептид или гетерологичный сигнальный пептид (т.е. сигнальный пептид неиммуноглобулинового белка).

Помимо генов антительных цепей, рекомбинантные экспрессирующие векторы несут регуляторные

последовательности, которые контролируют экспрессию генов антительных цепей в хозяйской клетке. Специалистам в данной области следует иметь в виду, что создание экспрессирующего вектора, включая выбор регуляторных последовательностей, может зависеть от таких факторов, как выбор клетки-хозяина, которая будет трансформирована, уровня экспрессии требуемого белка и т.д. Предпочтительные регуляторные последовательности экспрессии клетки-хозяина млекопитающего включают в себя вирусные элементы, которые контролируют высокие уровни белковой экспрессии в клетках млекопитающего, такие как промоторы и/или энхансеры, полученные из ретровирусных LTR, цитомегаловируса (CMV) (такой как CMV-промотор/энхансер), вируса 40 иммунодефицита обезьян (SV40) (такой как SV40-промотор/энхансер), аденовируса (например, большой поздний промотор аденовируса (AdMLP)), полиомы и сильные промоторы млекопитающего в виде иммуноглобулинового и актинового промоторов. Более полное описание вирусных регуляторных элементов и их последовательностей см., например, в патентах США № 5168062, 4510245 и 4968615. Способы экспрессии антител у растений, включая описание промоторов и векторов, а также трансформация растений, известны в данной области. См., например, патент США № 6517529, включенный здесь путем ссылки. Способы экспрессии полипептидов в бактериальных клетках или клетках грибов, например, в дрожжевых клетках, также хорошо известны в данной области.

Помимо генов антительных цепей и регуляторных последовательностей, рекомбинантные экспрессирующие векторы согласно изобретению могут нести дополнительные последовательности, такие, например, как последовательности, которые регулируют репликацию данного вектора в хозяйских клетках (например, ориджины репликации) и селективные маркерные гены. Селективный маркерный ген обеспечивает селекцию хозяйских клеток, в которые вектор встроен (см., например, патенты США № 4399216, 4634665 и 5179017). Например, типично селективный маркерный ген придает резистентность к лекарственным средствам, таким как G418, гигромицин или метотрексат, хозяйской клетке, в которую встроен данный вектор. Предпочтительные селективные маркерные гены включают в себя ген дигидрофолатредуктазы (DHFR) (для использования в dhfr-хозяйских клетках с селекцией/амплификацией по метотрексату), нео-ген (для G418-селекции), и ген глутаматсинтетазы.

Негибридомные хозяйские клетки и способы рекомбинантного получения белка.

Молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие антитела к CD и векторы, включающие эти молекулы нуклеиновой кислоты, можно использовать для трансфекции хозяйских клеток соответствующего млекопитающего, растения, бактерии или дрожжевой клетки. Трансформацию можно осуществлять с помощью любого известного способа внедрения полинуклеотидов в хозяйскую клетку. Способы внедрения гетерологичных полинуклеотидов в клетки млекопитающих хорошо известны в данной области и включают в себя опосредованную декстраном трансфекцию, кальций-фосфатное осаждение, polybrene-опосредованную трансфекцию, слияние протопластов, электропорацию, инкапсулирование полинуклеотида(ов) в липосомы и прямую микроинъекцию ДНК в ядро. Кроме того, молекулы нуклеиновой кислоты можно внедрить в клетки млекопитающего с помощью вирусных векторов. Способы трансформации клеток хорошо известны в данной области. См., например, патенты США № 4399216, 4912040, 4740461 и 4959455 (патенты, которые таким образом включены здесь путем ссылки). Способы трансформации растительных клеток хорошо известны в данной области, включая, например, опосредованную *Agrobacterium* трансформацию, трансформацию путем бомбардировки микрочастицами, прямую инъекцию, электропорацию и вирусную трансформацию.

Способы трансформации бактериальных и дрожжевых клеток хорошо известны в данной области.

Клеточные линии млекопитающих, доступные в качестве хозяйских для экспрессии, хорошо известны в данной области и включают в себя многочисленные линии иммортализованных клеток, доступных из Американской коллекции типовых культур (ATCC). В частности, они включают в себя овариальные клетки китайского хомячка (CHO), NSO, SP2-клетки, клетки HeLa, клетки почки детеныша хомяка (BHK), клетки почки обезьяны (COS), клетки гепатоцеллюлярной карциномы (например, Hep G2), A549-клетки и ряд других клеточных линий. Особенно предпочтительными клеточными линиями являются клеточные линии, выбранные путем определения того, какие клеточные линии обладают высокими уровнями экспрессии. Другие клеточные линии, которые можно использовать, являются клеточными линиями насекомых, например, такие как Sf9-клетки. Когда рекомбинантные экспрессирующие векторы, кодирующие антительные гены, внедряют в хозяйские клетки млекопитающего, соответствующие антитела продуцируются путем культивирования хозяйских клеток в течение периода времени, достаточного для осуществления экспрессии данного антитела в этих хозяйских клетках или, более предпочтительно, путем секреции антитела в культуральную среду, в которой выращивают хозяйские клетки. Антитела можно извлечь из культуральной среды с использованием стандартных способов выделения белка путем очистки. Растительные хозяйские клетки включают в себя, например, *Nicotiana*, *Arabidopsis*, яска, кукурузу, пшеницу, картофель и др. Бактериальные хозяйские клетки включают в себя *E. coli* и виды *Streptomyces*. Дрожжевые клетки включают в себя *Schizosaccharomyces pombe*, *Saccharomyces cerevisiae* и *Pichia pastoris*.

Далее, экспрессию антител согласно изобретению (или другие их составляющие) в продуцирующих клеточных линиях можно усилить с использованием ряда известных методов. Например, экспрессиру-



шая система глутаминсинтетазного гена (GS-система) представляет собой обычное решение усиления экспрессии в определенных условиях. GS-система рассматривается целиком или частично в связи с Европейскими патентами № 0216846, 0256055 и 0323997 и Европейской патентной заявкой № 89303964.4.

Возможно, что антитела, экспрессируемые разными клеточными линиями или в трансгенных животных, будут обладать отличающимся друг от друга гликозилированием. Однако все антитела, кодируемые созданными здесь молекулами нуклеиновой кислоты или содержащие представленные здесь аминокислотные последовательности, являются частью настоящего изобретения, независимо от гликозилирования антител.

#### Трансгенные животные и растения.

Антитела к CD40 согласно изобретению можно получить трансгенно путем создания млекопитающего или растения, которое является трансгенным в отношении представляющих интерес иммуноглобулиновых последовательностей тяжелой и легкой цепей и многократного получения из них антитела. В связи с трансгенной продукцией у млекопитающих, антитела к CD40 можно получить и извлечь из молока коз, коров или иных млекопитающих. См., например, патенты США № 5827690, 5756687, 5750172 и 5741957. В других вариантах осуществления настоящего изобретения не принадлежащих человеческому роду трансгенных животных, которые содержат иммуноглобулиновые локусы человека, иммунизируют CD40 или его иммуногенной частью, как описано выше. Способы создания антител у растений описаны, например, в патентах США № 6046037 и 5959177.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения не принадлежащие человеческому роду трансгенные животные или растения получают путем внедрения в данное животное или растение с помощью стандартных трансгенных методик одной или нескольких молекул нуклеиновой кислоты, кодирующих антитело к CD40 согласно изобретению. См. Hogan и патент США № 6417429 выше. Трансгенные клетки, используемые для создания трансгенного животного, могут представлять собой эмбриональные стволовые клетки или соматические клетки. Трансгенные, не принадлежащие человеческому роду, животные могут представлять собой химерные, нехимерные гетерозиготы и нехимерные гомозиготы. См., например, Hogan et al., *Manipulating the Mouse Embryo: A Laboratory Manual 2ed.*, Cold Spring Harbor Press (1999); Jackson et al., *Mouse Genetics and Transgenics: A Practical Approach*, Oxford University Press (2000); и Pinkert, *Transgenic Animal Technology: A Laboratory Handbook*, Academic Press (1999). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения не принадлежащие человеческому роду трансгенные животные имеют направленный разрыв и замену в конструкции-мишени, которая кодирует представляющую интерес тяжелую цепь и/или легкую цепь. В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения трансгенные животные содержат и экспрессируют молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие тяжелую и легкую цепи, специфически связывающие CD40, предпочтительно CD40 человека. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения трансгенные животные содержат молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие модифицированное антитело, такое как одноцепочечное антитело, химерное антитело или гуманизированное антитело. Антитела к CD40 можно создать в любом трансгенном животном. В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения не принадлежащие человеческому роду животные представляют собой мышей, крыс, овец, свиней, коз, крупный рогатый скот или лошадей. Не принадлежащее человеческому роду трансгенное животное экспрессирует указанные кодируемые полипептиды в крови, молоке, моче, слюне, слезах, слизи и других организменных жидкостях.

#### Библиотеки фагового дисплея.

В настоящем изобретении разработан способ получения антитела к CD40 или его антигенсвязывающей части, включающий в себя стадии синтеза библиотеки антител человека в фаге, скрининга библиотеки для CD40 или его части, выделения фага, который связывает CD40, и получения антитела из данного фага. В примере осуществления один из способов получения библиотеки антител, основанный на использовании методики фагового дисплея, включает в себя определенные стадии иммунизации не принадлежащего человеческому роду животного, содержащего иммуноглобулиновые локусы человека для CD40 или его антигенной части, для создания иммунного ответа, извлечения антителопродуцирующих клеток из данного иммунизированного животного; стадии выделения РНК из извлеченных клеток, обратного транскрибирования РНК с образованием кДНК, амплификации кДНК с использованием праймера, встраивания кДНК в вектор фагового дисплея, так, чтобы антитела экспрессировались в фаге. Рекомбинантные антитела к CD40 согласно изобретению можно получить данным путем.

Рекомбинантные антитела к CD40 согласно изобретению можно выделить путем скринирования рекомбинантной комбинаторной библиотеки антител. Предпочтительно данная библиотека представляет собой scFv-библиотеку фагового дисплея, образуемую с использованием V<sub>L</sub>- и V<sub>H</sub>-кДНК, получаемых из мРНК, выделяемой из В-клеток. Методы получения и скринирования таких библиотек известны в данной области. Существуют коммерчески доступные наборы для создания библиотек фагового дисплея (например, Pharmacia Recombinant Phage Antibody System, № по каталогу 27-9400-01; и Stratagene SurfZAP™ phage display kit, № по каталогу 240612). Существуют также и другие способы и реагенты, которые можно использовать для создания и скринирования антительных дисплейных библиотек (см., например, патент США № 5223409; публикации PCT № WO 92/18619, WO 91/17271, WO 92/20791, WO 92/15679, WO

93/01288, WO 92/01047, WO 92/09690; Fuchs et al., *Bio/Technology* 9:1370-1372 (1991); Hay et al., *Hum. Antibod. Hybridomas* 3:81-85 (1992); Huse et al., *Science* 246:1275-1281 (1989); McCafferty et al., *Nature* 348:552-554 (1990); Griffiths et al., *EMBO J.* 12:725-734 (1993); Hawkins et al., *J. Mol. Biol.* 226:889-896 (1992); Clackson et al., *Nature* 352:624-628 (1991); Gram et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:3576-3580 (1992); Garrad et al., *Bio/Technology* 9:1373-1377 (1991); Hoogenboom et al., *Nuc. Acid Res.* 19:4133-4137 (1991); и Barbas et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:7978-7982 (1991)).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения для выделения антител человека к CD40 с требуемыми характеристиками антител человека к CD40, как описано здесь, впервые используют для отбора последовательностей тяжелой и легкой цепи, обладающих подобной связывающей активностью по отношению к CD40, применяя способы эпиптопного импринтинга, описанные в публикации PCT № WO 93/06213. Библиотеки антител, используемые в данном способе, предпочтительно представляют собой scFv-библиотеки, полученные и скринированные, как описано в публикации PCT № WO 92/01047, McCafferty et al., *Nature* 348:552-554 (1990); и Griffiths et al., *EMBO J.* 12:725-734 (1993). Библиотеку антител scFv предпочтительно скринируют с использованием в качестве антигена CD40 человека.

После того как исходные домены  $V_L$  и  $V_H$  человека выбраны, осуществляют эксперименты "смешать и сопоставить", в которых различные пары исходно выбранных  $V_L$ - и  $V_H$ -сегментов скринируют в отношении CD40-связывания с выбранными предпочтительными  $V_L/V_H$ -парными сочетаниями. Кроме того, для последующего улучшения качества данного антитела, в сегментах  $V_L$  и  $V_H$  из предпочтительной пары (пар)  $V_L/V_H$  случайным образом вызывают мутации, предпочтительно в CDR3-участке  $V_H$  и/или  $V_L$ ; в процессе, аналогичном соматическому мутационному процессу *in vivo*, ответственному за созревание по сродству антител в течение естественного иммунного ответа. Созревание по сродству *in vitro* можно осуществить путем амплификации доменов  $V_H$  и  $V_L$  с использованием ПЦП-праймеров, комплементарных, соответственно,  $V_H$  CDR3 или  $V_L$  CDR3, в которой праймеры "скрепляют" с помощью случайной смеси из четырех нуклеотидных оснований в определенных положениях, так, что результирующие ПЦП-продукты кодируют сегменты  $V_H$  и  $V_L$ , в которые были интродуцированы случайные мутации по  $V_H$  и/или  $V_L$  CDR3-участков. Эти случайным образом мутировавшие сегменты  $V_H$  и  $V_L$  можно скринировать повторно в отношении связывания с CD40.

После скринирования и выделения из рекомбинантной дисплейной библиотеки иммуноглобулина к CD40 согласно изобретению нуклеиновые кислоты, кодирующие отобранное антитело, можно извлечь из дисплейного пакета (например, из фагового генома) и субклонировать в другие экспрессирующие векторы с помощью стандартных методов рекомбинантной ДНК. При необходимости, извлеченную нуклеиновую кислоту в последующем можно использовать для создания других форм антител согласно изобретению, как описано ниже. Чтобы экспрессировать рекомбинантное антитело человека, выделенное путем скринирования комбинаторной библиотеки, ДНК, кодирующую антитело, клонируют в рекомбинантный экспрессирующий вектор и внедряют в хозяйские клетки млекопитающего, как описано выше.

Переключение класса.

Другая цель настоящего изобретения заключается в разработке способа преобразования данного класса или подкласса антитела к CD40 в другой класс или подкласс. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая  $V_L$  или  $V_H$ , которая не включает какие-либо последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующие  $C_L$  или  $C_H$ , выделяют с использованием способов, хорошо известных в данной области. Затем молекулу нуклеиновой кислоты присоединяют путем сшивки к последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей  $C_L$  или  $C_H$  требуемого класса или подкласса иммуноглобулинов. Это можно осуществить с использованием вектора или молекулы нуклеиновой кислоты, которая содержит  $C_L$ - или  $C_H$ -цепь, как описано выше. Например, антитело к CD40, которое изначально представляет собой IgM, можно переключить (переделать) в класс IgG. Далее, класс переключения можно использовать для преобразования одного IgG-подкласса в другой, например, из IgG1 в IgG2. Другой способ получения антитела согласно изобретению, содержащего требуемый изотип, включает в себя стадии выделения нуклеиновой кислоты, кодирующей тяжелую цепь антитела к CD40, и нуклеиновой кислоты, кодирующей легкую цепь антитела к CD40, выделение последовательности, кодирующей  $V_H$ -участок, лигирование данной  $V_H$ -последовательности с последовательностью, кодирующей константный домен тяжелой цепи требуемого изотипа, экспрессию гена легкой цепи и конструирование тяжелой цепи в клетке, и сборку антитела к CD40 с требуемым изотипом.

Деиммунизированные антитела.

Другой путь получения антител со сниженной иммуногенностью заключается в деиммунизации антител. В другом аспекте настоящего изобретения данное антитело можно деиммунизировать с использованием методов, описанных, например, в публикациях PCT № WO 98/52976 и WO 00/34317 (которые включены здесь путем ссылки в их полноте).

Мутантные антитела.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения молекулы нуклеиновой кислоты, векторы и хозяйские клетки можно использовать для создания мутантных антител против CD40. Антитела можно изменить с помощью мутаций по вариабельным доменам тяжелой и/или легкой цепей, например,

изменить характеристику связывания антитела. Например, мутацию можно осуществить по одному или нескольким CDR-участкам для увеличения или уменьшения  $K_D$  данного антитела к CD40, для увеличения или уменьшения  $K_{off}$  или для изменения специфичности связывания антитела. Методы сайто-направленного мутагенеза хорошо известны в данной области. См., например, Sambrook et al. и Ausubel et al. выше. В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения мутации осуществляют по аминокислотному остатку, так, чтобы он был измененным по сравнению с остатком в варибельном домене антитела против CD40 у клеток зародышевой линии. В другом варианте осуществления настоящего изобретения одну или несколько мутаций осуществляют по аминокислотному остатку, который известным образом изменен по сравнению с остатком из клеток зародышевой линии на CDR-участке или в области рамки считывания варибельного домена, или в константном домене моноклонального антитела 3.1.1, 3.1.1H-A78T, 3.1.1H-A78T-V88A-V97A, 3.1.1L-L4M-L83V, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 22.1.1H-C109A, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1H-D16E, 23.28.1L-C92A, 23.29.1, 23.29.1L-R174K и 24.2.1. В другом варианте осуществления настоящего изобретения одну или несколько мутаций осуществляют по аминокислотному остатку, который известным образом изменен по сравнению с остатком из клеток зародышевой линии на CDR-участке или в области рамки считывания варибельного домена аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 4, 12, 20, 28, 36, 44, 52, 60, 68, 76, 84, 94, 100, 102, 2, 10, 18, 26, 34, 42, 50, 58, 66, 74, 82, 90, 92, 96, 98, 100 или 102, или последовательности нуклеиновой кислоты, которая представлена в SEQ ID NO: 3, 11, 19, 27, 35, 43, 51, 59, 67, 75, 83, 93, 99, 101, 1, 9, 17, 25, 33, 41, 49, 57, 65, 73, 81, 89, 91, 95, 97, 99 и 101.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения область рамки считывания видоизменяют таким образом, чтобы полученный участок (участки) обладал аминокислотной последовательностью соответствующего гена клеток зародышевой линии. Мутацию можно осуществить в области рамки считывания или константного домена для увеличения времени полужизни антитела к CD40. См., например, публикацию PCT № WO 00/09560, включенную здесь путем ссылки. Мутацию в области рамки считывания или константного домена можно также осуществить для изменения иммуногенности антитела, для создания сайта ковалентного или нековалентного связывания с другой молекулой или для изменения таких характеристик, как фиксация комплемента, FcR-связывание и ADCC. В соответствии с настоящим изобретением одиночное антитело может обладать мутациями в любом одном или нескольких участках рамки считывания, в константном домене и в варибельных областях.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения существует от 1 до 18 аминокислотных мутаций в любом из  $V_H$ - или  $V_L$ -доменов мутантного антитела к CD40 (в том числе любое число мутаций между ними) по сравнению с антителом против CD40 до мутирования. В любой из вышеуказанных ситуаций данные мутации могут происходить в одном или в нескольких CDR-участках. Далее, любая мутация может быть представлена консервативными аминокислотными заменами. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения существует не более чем 5, 4, 3, 2 или 1 аминокислотных замен в константных доменах.

Модифицированные антитела.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения слитое антитело или иммуноадгезин можно осуществить так, чтобы оно включало антитело к CD40 согласно изобретению, целиком или частично, присоединенное к другому полипептиду. В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения только варибельные домены антитела к CD40 соединены с другим полипептидом. В другом предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения  $V_H$ -домен антитела к CD40 присоединен к первому полипептиду, а  $V_L$ -домен антитела к CD40 присоединен ко второму полипептиду, который связан с первым полипептидом таким образом, что домены  $V_H$  и  $V_L$  могут взаимодействовать друг с другом с образованием сайта связывания антитела. В другом предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения  $V_H$ -домен отделен от  $V_L$ -домена линкером таким образом, что домены  $V_H$  и  $V_L$  могут взаимодействовать друг с другом (см. ниже в разделе "Одноцепочечные Антитела"). В последующем  $V_H$ -линкер присоединяется к представляющему интерес полипептиду. Такое слияние антитела полезно для направленного перехода полипептида в клетку или ткань, экспрессирующие CD40. Полипептид может представлять собой терапевтический агент, такой как токсин, фактор роста или иной регуляторный белок, или может представлять собой диагностический агент, такой как фермент, который можно легко визуализировать, такой как пероксидаза хрена. Кроме того, можно создать слитые антитела, в которых соединены друг с другом два (или более) одноцепочечных антитела. Это удобно, когда хотят создать бивалентное или поливалентное антитело в одной полипептидной цепи или когда хотят создать антитело с двойной спецификой.

Для создания одноцепочечного антитела (scFv) фрагменты  $V_H$ - и  $V_L$ -кодирующей ДНК присоединяют путем сшивки к другому фрагменту, кодирующему гибкий линкер, например, кодирующему данную аминокислотную последовательность  $(Gly_4-Ser)_3$ , так, чтобы последовательности  $V_H$  и  $V_L$  могли экспрессироваться в виде соответствующего смежного одноцепочечного белка, содержащего объединенные гибким линкером  $V_L$ - и  $V_H$ -домены. См., например, Bird et al., Science 242:423-426 (1988); Huston et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883 (1988); McCafferty et al., Nature 348:552-554 (1990). Одноцепочечное антитело может быть одновалентным, если используются только единичные  $V_H$  и  $V_L$ , может быть

бивалентным, если используются два  $V_H$  и  $V_L$ , или поливалентным, если используется более двух  $V_H$  и  $V_L$ . Можно создать биспецифические или поливалентные антитела, которые специфически свяжутся с CD40 и с другой молекулой.

В других вариантах осуществления настоящего изобретения могут быть получены другие модифицированные антитела с использованием молекул нуклеиновой кислоты, кодирующих антитело к CD40. Например, "Каппа-тельца" (Ill et al., Protein Eng. 10:949-57 (1997)), "Минительца" (Martin et al., EMBO J. 13:5303-9 (1994)), "Диательца" (Holliger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448 (1993)), или "Janus-ins" (Traunecker et al., EMBO J. 10:3655-3659 (1991) и Traunecker et al., Int. J. Cancer (Suppl.) 7:51-52 (1992)) можно получить с использованием стандартных методов молекулярной биологии, следуя указаниям соответствующих описаний.

Биспецифические антитела или антигенсвязывающие фрагменты можно получить разнообразными способами, в том числе слиянием гибридом или соединением Fab'-фрагментов. См., например, Songsivilai & Lachmann, Clin. Exp. Immunol. 79:315-321 (1990), Kostelny et al., J. Immunol. 148:1547-1553 (1992). Кроме того, биспецифические антитела можно образовывать в виде "диателец" или "Janusins". В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифические антитела связывают два разных эпитопа CD40. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения биспецифическое антитело обладает первой тяжелой цепью и первой легкой цепью моноклонального антитела 3.1.1, 3.1.1H-A78T, 3.1.1H-A78T-V88A-V97A, 3.1.1L-L4M-L83V, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 22.1.1H-C109A, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1H-D16E, 23.28.1L-C92A, 23.29.1, 23.29.1L-R174K и 24.2.1, и дополнительной тяжелой цепью и легкой цепью антитела. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения дополнительная легкая цепь и тяжелая цепь также представлены цепями одного из вышеуказанных моноклональных антител, но отличаются от указанной первой тяжелой и легкой цепей.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения вышеописанные модифицированные антитела получают с использованием одного или нескольких переменных доменов или CDR-участков созданного здесь моноклонального антитела человека к CD40, из аминокислотной последовательности указанного моноклонального антитела или из тяжелой цепи или легкой цепи, кодируемой последовательностью нуклеиновой кислоты, кодирующей указанное моноклональное антитело.

Антитела преобразованные и меченые.

Антитело к CD40 или его антигенсвязывающую часть согласно изобретению можно преобразовать или соединить с другой молекулой (например, другого пептида или белка). Вообще данное антитело или его часть преобразуют так, чтобы связывание CD40 не оказывало отрицательного влияния на преобразование или мечение. В соответствии с этим антитела или части антител согласно изобретению распространяются как на интактные, так и на модифицированные формы описанных здесь антител человека против CD40. Например, антитело или часть антитела согласно изобретению можно функционально соединить (путем химического присоединения, генетического слияния, нековалентного связывания или иначе) с одним или несколькими другими молекулярными элементами, такими как другое антитело (например, биспецифическое антитело или диатеельце), детектирующий агент, цитотоксический агент, фармацевтический агент и/или белок или пептид, которые могут опосредовать связь антитела или его части с другой молекулой (такой как коровая область стрептавидина или полигистидиновая метка).

Один из типов преобразованного антитела получают путем перекрестного связывания двух или нескольких антител (одного и того же типа или разных типов, например, для создания биспецифических антител). Соответствующие перекрестные линкеры включают в себя линкеры, которые являются гетеробифункциональными, обладающими двумя разными реакционными группами, разделенными подходящим спейсером (например, сложный эфир мета-малеимидобензоил-N-гидроксисукцинимид) или гомобифункциональными (например, дисукцинимидилсуберат). Такие линкеры доступны от Pierce Chemical Company, Rockford, Ill.

Другой тип преобразованного антитела представляет собой меченое антитело. Пригодные детектирующие агенты, с помощью которых антитело или антигенсвязывающую часть согласно изобретению можно преобразовать, включают в себя флуоресцентные соединения, в том числе флуоресцеин, флуоресцеинизотиоцианат, родамин, 5-диметиламин-1-нафталинсульфонилхлорид, фикоэретрин, лантаноидные фосфаты и т.п. Антитело можно также пометить с помощью ферментов, которые используют для детекции, таких как пероксидаза хрена,  $\beta$ -галактозидаза, люцифераза, щелочная фосфатаза, глюкооксидаза и тому подобное. Если антитело метят с помощью детектируемого фермента, то его выявляют при добавлении дополнительных реагентов, чтобы использовать фермент для получения продукта реакции, который можно визуально распознать. Например, если агент представляет собой пероксидазу хрена, то добавление пероксида водорода и диаминобензидина дает цветной продукт реакции, который и детектируется. Антитело можно также метить биотином и детектировать путем непрямого измерения авидинового или стрептавидинового связывания. Антитело можно также метить с помощью эпитопа заранее установленного полипептида, узнаваемого вторичным репортером (например, парными последовательностями лейциновой застежки, сайтами связывания вторичных антител, металлосвязывающими доменами, эпитопными метками). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения метки присоединяют с помощью "ножек" разной длины, чтобы уменьшить возможное пространственное затруднение.

Антитело к CD40 можно также метить аминокислотой с радиоактивной меткой. Радиоактивная метка может использоваться для диагностических и терапевтических целей. Например, радиоактивная метка может использоваться для детекции опухолей, экспрессирующих CD40, методами рентгенодиагностики или иными методами диагностики. Далее, радиоактивная метка может использоваться терапевтически в виде токсина для раковых клеток или опухолей. Примеры меток для полипептидов включают в себя, не ограничиваясь ими, следующие радиоизотопы или радионуклиды -  $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{90}\text{Y}$ ,  $^{99}\text{Tc}$ ,  $^{111}\text{In}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ .

Антитело против CD40 можно также преобразовать с помощью химической группы, такой как полиэтиленгликолевая (PEG), метиловая или этиловая группа или с помощью углеводной группы.

Данные группы используют для улучшения биологических характеристик антитела, например, для увеличения времени полужизни сыворотки или для повышения тканевого связывания.

Фармацевтические композиции и наборы.

Настоящее изобретение относится также к композициям, содержащим агонист антитела против CD40 для лечения пациентов, нуждающихся в иммунной стимуляции. Такие композиции используют для лечения, предупреждения, снижения частоты или тяжести инфицированности, включая вирусную и бактериальную инфицированность, для лечения гиперпролиферативного нарушения, включая злокачественное и предраковое состояния, для лечения генетических иммунодефицитных состояний у животных, в том числе и у людей, таких как синдром гиперсекреции IgM и для лечения первичных или комбинированных иммунодефицитных состояний, включая состояния, характеризующиеся нейтропенией. Пациенты, подвергающиеся лечению с помощью терапии агонистом антитела против CD40, включают пациента, нуждающегося в усилении иммунитета, включают, не ограничиваясь ими, людей пожилого возраста и индивидов, у которых иммунитет подавлен, например из-за химиотерапии.

Гиперпролиферативные нарушения, которые можно подвергнуть лечению с помощью агониста антитела против CD40 согласно изобретению, могут затрагивать любую ткань или орган и включают в себя, не ограничиваясь этим, злокачественные опухоли головного мозга, легких, сквамозных клеток, мочевого пузыря, желудка, поджелудочной железы, молочной железы, головы, шеи, печени, почки, яичника, предстательной железы, прямой кишки, пищевода, гинекологические, носоглотки, или злокачественные опухоли щитовидной железы, меланомы, лимфомы, лейкозные или множественные миеломы. В частности, агонисты антител человека против CD40 согласно изобретению пригодны для лечения карцином молочной железы, предстательной железы, ободочной кишки и легкого.

Лечение может включать в себя введение одного или нескольких агонистов моноклональных антител против CD40 согласно изобретению или их антигенсвязывающих фрагментов, отдельно или вместе с фармацевтически приемлемым носителем. Используемый здесь "фармацевтически приемлемый носитель" означает любой или все растворители, диспергирующие среды, сенсibilизаторы, антибактериальные и противогрибковые агенты, изотонические и задерживающие адсорбцию агенты и им подобные, которые физиологически совместимы. Некоторые примеры фармацевтически приемлемых носителей представляют собой воду, физиологический раствор, фосфатно-солевой буферный раствор, декстрозу, глицерин, этанол и им подобные, а также их сочетания. Во многих случаях в данную композицию предпочтительно включать изотонические растворы, например, сахара, полиспирты, такие как маннит, сорбит, либо хлорид натрия. Дополнительные примеры фармацевтически совместимых веществ представляют собой увлажняющие агенты, или минорные количества вспомогательных веществ, таких как увлажняющие или эмульгирующие агенты, консерванты или буферы, которые повышают срок годности при хранении или эффективность данного антитела.

Агонисты антител против CD40 согласно изобретению и композицию, включающие их, можно вводить в сочетании с одним или несколькими другими терапевтическими, диагностическими или профилактическими агентами. Дополнительные терапевтические агенты включают в себя другие антибластные, противораковые, антиангиогенные или химиотерапевтические агенты. Такие дополнительные агенты могут быть включены в одну композицию или могут быть введены отдельно. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения один или несколько агонистов антител против CD40 согласно изобретению могут использоваться в качестве вакцины или в качестве адъювантов к вакцине.

Композиции согласно изобретению могут быть разнообразными по форме, например, жидкими, полужидкими и твердыми дозированными формами, такими как жидкие растворы (например, инъекционные и инфузионные растворы), дисперсии или суспензии, таблетки, пилюли, порошки, липосомы или свечи. Предпочтительная форма зависит от предполагаемого режима введения и терапевтического применения. Типичные предпочтительные композиции представлены в форме инъекционных или инфузионных растворов, таких как композиции, аналогичные композициям для пассивной иммунизации человека. Предпочтительным режимом введения является парентеральный (например, внутривенный, подкожный, внутривентрикулярный, внутримышечный). В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения данное антитело вводят путем внутривенного вливания или внутривенной инъекции. В другом предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения данное антитело вводят путем внутримышечной или подкожной инъекции.

Как правило, терапевтические композиции должны быть стерильными и стабильными в условиях

изготовления и хранения. Данную композицию можно создать в виде раствора, микроэмульсии, дисперсии, липосомы или иной упорядоченной структуры, пригодной для высококонцентрированного лекарственного средства. Стерильные инъекционные растворы можно получить путем включения антител к CD40 в требуемом количестве в соответствующий растворитель с одним или, при необходимости, с сочетанием вышеперечисленных ингредиентов с последующей стерилизацией фильтрованием. В основном, дисперсии готовят путем включения данного активного соединения в стерильный наполнитель, который содержит щелочную дисперсионную среду и требуемые другие ингредиенты из вышеперечисленных ингредиентов. Что касается стерильных порошков для приготовления стерильных инъекционных растворов, предпочтительные способы их получения представлены вакуумной сушкой и замораживанием-оттаиванием, что дает не только активный порошкообразный ингредиент, но и любой необходимый дополнительный ингредиент из его ранее стерилизованного фильтрованием раствора. Надлежащую текучесть раствора можно сохранить, например, путем нанесения слоя, такого как лецитин, путем поддержания размера частиц, что касается дисперсии, и путем использования поверхностно-активных соединений. Поглощение инъекционных композиций можно пролонгировать путем включения в данную композицию агента, задерживающего поглощение, например, солей моностеарата и желатинизаторов.

Антитела настоящего изобретения можно вводить разнообразными способами, известными в данной области, хотя для многих терапевтических применений предпочтительным путем/способом введения является подкожное, внутримышечное или внутривенное вливание. Квалифицированным младшим специалистам следует иметь в виду, что путь и/или способ введения варьирует в зависимости от желаемых результатов.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, композиции антител активного соединения можно приготовить с носителем, который защищает данное антитело от быстрого высвобождения, таким носителем, который контролирует высвобождение композиции, в том числе, имплантаты, чрескожные пэтки, и микроинкапсулируемые системы доставки. Можно использовать рассасывающиеся, биосовместимые полимеры, такие как этиленвинилацетат, полиангидриды, полигликолевую кислоту, коллаген, эфиры жирных ортокислот и многоатомных спиртов, и полимолочную кислоту. Многие способы получения таких композиций запатентованы и, как правило, известны специалистам в данной области. См., например, *Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems* (Продолжительное и контролируемое высвобождение систем доставки лекарственных средств) (J.R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978).

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело против CD40 согласно изобретению можно вводить перорально, например, вместе с инертным разбавителем или усвояемым пищевым носителем. Данное соединение (и, при необходимости, другие ингредиенты) можно также заключить в капсулу из твердой или мягкой желатиновой оболочки, запрессовать в таблетки, или включить непосредственно в диету пациента. Для перорального терапевтического введения антитела к CD40 можно включить вместе с наполнителями и использовать в форме проглатываемых таблеток, защитных таблеток, пастилок, капсул, эликсиров, суспензий, сиропов, облаток и тому подобное. Для введения соединения настоящего изобретения непарентеральным путем введения может возникнуть потребность покрыть данное соединение или ввести данное соединение совместно с веществом, защищающим его от инактивации.

В данные композиции можно также включить дополнительные активные соединения. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело к CD40 настоящего изобретения составляют совместно и/или вводят совместно с одним или несколькими дополнительными терапевтическими агентами. Данные агенты включают, без ограничения, антитела, которые связывают другие мишени (например, антитела, такие как антитела к CTL4, которые связывают один или несколько ростовых факторов или цитокинов с их рецепторами на клеточной поверхности), антибластомные средства, противоопухолевые агенты, химиотерапевтические агенты, пептидные аналоги, которые активируют CD40, растворимый CD40L, один или несколько химических агентов, которые активируют CD40, и/или иные агенты, известные в данной области, которые усиливают иммунный ответ против клеток злокачественной опухоли, например, IFN- $\beta$ 1, IL-2, IL-8, IL-12, IL-15, IL-18, IL-23, IFN- $\gamma$  и GM-CSF. При таком комбинированном лечении могут понадобиться более низкие дозы антитела к CD40, а также совместно вводимых агентов, с тем, чтобы исключить возможные токсикозы или осложнения, связанные с той или иной монотерапией.

Агонисты антитела против CD40 согласно изобретению и композиции, включающие их, также можно вводить в сочетании с другими лечебными режимами, в частности, в сочетании с радиационным лечением.

Композиции согласно изобретению могут включать в себя "терапевтически эффективное количество" или "профилактически эффективное количество" антитела или его антигенсвязывающей части согласно изобретению. "Терапевтически эффективное количество" относится к эффективному количеству для достижения требуемого терапевтического результата в необходимых дозах и в течение необходимых интервалов времени. Терапевтически эффективное количество данного антитела или части антитела может изменяться в соответствии с такими факторами, как состояние больного, возраст, пол и масса тела

Не ограничивающий диапазон для терапевтически или профилактически эффективного количества антитела или части антитела настоящего изобретения составляет, примерно, 0,025-50 мг/кг, более предпочтительно 0,1-50 мг/кг, еще более предпочтительно 0,1-25, 0,1-10 или 0,1-3 мг/кг. Следует отметить, что величины доз могут изменяться от вида и тяжести состояния, которое пытаются облегчить. Кроме того, следует иметь в виду, что в отношении любого конкретного пациента необходимо длительное время осуществлять индивидуальный режим дозирования в соответствии с потребностью в нем, а также в соответствии с профессиональным усмотрением специалиста, вводящего или контролирующего введение данных композиций, и что изложенные здесь диапазоны дозирования являются лишь иллюстративными и не предназначены для ограничения объема или применения заявленной композиции.

Настоящее изобретение относится также к композициям для ингибирования у млекопитающего роста аномальной клетки, включающих в себя любое количество любого агента согласно изобретению в сочетании с любым количеством химиотерапевтического агента, в которых определенные количества соединения, соли, сольвата или пролекарства и химиотерапевтического агента совместно являются эффективными для ингибирования роста аномальной клетки. В настоящее время в данной области известно множество химиотерапевтических агентов. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения химиотерапевтический агент выбран из группы, состоящей из ингибиторов митоза, алкилирующих агентов, антиметаболитов, интеркалирующих антибиотиков, ингибиторов фактора роста, ингибиторов клеточного цикла, ферментов, ингибиторов топоизомеразы, модификаторов биологической реакции, антигормонов, например, антиандрогенов, и антиангиогенных агентов.

- 31 -

ной 21 октября 1999 г.), WO 99/52889 (опубликованной 21 октября 1999 г.), WO 99/29667 (опубликованной 17 июня 1999 г.), международной заявке РСТ №РСТ/1В98/01113 (поданной 21 июля 1998 г.), в Европейской патентной заявке № 99302232.1 (поданной 25 марта 1999 г.), в патентной заявке Великобритании за номером 9912961.1 (поданной 3 июня 1999 г.), в Предварительной Заявке США № 60/148464 (поданной 12 августа 1999 г.), патенте США № 5863949 (изданном 26 января 1999 г.), патенте США № 5861510 (опубликованном 19 января 1999 г.), и в Европейской патентной публикации 780386 (опубликованной 25 июня 1997 г.), которые все включены здесь в их полноте путем ссылки. Предпочтительные ММР-ингибиторы представляют собой ингибиторы, которые не вызывают артралгии. Более предпочтительными являются ингибиторы, которые избирательно ингибируют ММР-2 и/или ММР-9, по сравнению с другими матриксными металлопротеиназами (т.е. ММР-1, ММР-3, ММР-4, ММР-5, ММР-6, ММР-7, ММР-8, ММР-10, ММР-11, ММР-12 и ММР-13). Некоторые конкретные примеры ММР-ингибиторов, используемых в настоящем изобретении, представляют собой AG-3340, R0 32-3555, RS 13-0830, а данные соединения повторно перечислены в нижеследующем списке:

- 3-[[4-(4-фторфенокси)бензолсульфонил]-(1-гидроксикарбамоилциклопентил)амино]пропионовая кислота;
- 3-экзо-3-[4-(4-фторфенокси)бензолсульфониламино]-8-оксабицикло[3.2.1]октан-3-карбоновой кислоты гидроксиамид;
- (2R, 3R) 1-[4-(2-хлор-4-фторбензилокси)бензолсульфонил]-3-гидрокси-3-метилпиперидин-2-карбоновой кислоты гидроксиамид;
- 4-[4-(4-фторфенокси)бензолсульфониламино]тетрагидропиран-4-карбоновой кислоты гидроксиамид;
- 3-[[4-(4-фторфенокси)бензолсульфонил]-(1-гидроксикарбамоилциклобутил)амино]пропионовая кислота;
- 4-[4-(4-хлорфенокси)бензолсульфониламино]тетрагидропиран-4-карбоновой кислоты гидроксиамид;
- (R) 3-[4-(4-(хлорфенокси))бензолсульфониламино]тетрагидропиран-3-карбоновой кислоты гидроксиамид;
- (2R, 3R) 1-[4-(4-фторо-2-метилбензилокси)бензолсульфонил]-3-гидрокси-3-метилпиперидин-2-карбоновой кислоты гидроксиамид;
- 3-[[4-(4-фторфенокси)бензолсульфонил]-(1-гидроксикарбамоил-1-метилэтил)амино]пропионовая кислота;
- 3-[[4-(4-фторфенокси)бензолсульфонил]-(4-гидроксикарбамоилтетрагидропиран-4-ил)амино]-пропионовая кислота;
- 3-экзо-3-[4-(4-хлорфенокси)бензолсульфониламино]-8-оксабицикло[3.2.1]октан-3-карбоновой кислоты гидроксиамид;
- 3-эндо-3-[4-(4-фторфенокси)бензолсульфониламино]-8-оксабицикло[3.2.1]октан-3-карбоновой кислоты гидроксиамид; и
- (R) 3-[4-(4-фторфенокси)бензолсульфониламино]тетрагидрофуран-3-карбоновой кислоты гидроксиамид;

а также фармацевтически приемлемые соли и сольваты указанных соединений.

Соединение согласно изобретению можно также использовать совместно с ингибиторами трансдукции сигнала, такими как агенты, ингибирующие EGF-R (рецептор эпидермального фактора роста), такими как EGF-R-антитела, EGF-антитела, и молекулы, которые являются EGF-R-ингибиторами, VEGF-ингибиторами (фактора роста сосудистого эндотелия), такими как VEGF-рецепторы, и молекулы, которые могут ингибировать VEGF; и ингибиторами рецептора erbB2, такими как органические молекулы или антитела, которые связываются с рецептором erbB2, например, HERCEPTINTM (Genentech, Inc.). EGF-R-ингибиторы описаны, например, в WO 95/19970 (опубликованной 27 июля 1995 г.), WO 98/14451 (опубликованной 9 апреля 1998 г.), WO 98/02434 (опубликованной 22 января 1998 г.), и в патенте США № 5747498 (выпущенного 5 мая 1998 г.), и такие вещества могут использоваться в настоящем изобретении, которое описывается здесь. EGFR-ингибирующие агенты включают в себя, но не ограничиваясь этим, моноклональные антитела C225 и анти-EGFR 22МонАТ (ImClone Systems Incorporated), ABX-EGF (Abgenix/Cell Genesys), EMD-7200 (Merck KgaA), EMD-5590 (Merck KgaA), MDX-447/H-477 (Medarex Inc. and Merck KgaA), и соединения ZD-1834, ZD-1838 и ZD-1839 (AstraZeneca), PKI-166 (Novartis), PKI-166/CGP-75166 (Novartis), PTK 787 (Novartis), CP 701 (Cephalon), leflunomide (Pharmacia/Sugen), CI-1033 (Warner Lambert Parke Davis), CI-1033/PD 183805 (Warner Lambert Parke Davis), CL-387785 (Wyeth-Ayerst), BBR-1611 (Boehringer Mannheim GmbH/Roche), Naamidine A (Bristol Myers Squibb), RC-3940-II (Pharmacia), BIBX-1382 (Boehringer Ingelheim), OLX-103 (Merck & Co.), VRCTC-310 (Ventech Research), EGF-слитый токсин (Seragen Inc.), DAB-389 (Seragen/Lilgand), ZM-252808 (Imperial Cancer Research Fund), RG-50864 (INSERM), LFM-A12 (Parker Hughes Cancer Center), WHI-P97 (Parker Hughes Cancer Center), GW-282974 (Glaxo), KT-8391 (Kyowa Hakko) и EGF-R-вакцина (York Medical/Centro de Immunologia Molecular (CIM)). Эти и другие EGF-R-ингибирующие агенты могут использоваться в настоящем изобретении.



VEGF-ингибиторы, например, SU-5416 и SU-6668 (Sugen Inc.), SH-268 (Schering) и NX-1838 (NeXstar) можно также сочетать с соединением согласно изобретению. VEGF-ингибиторы описаны, например, в WO 99/24440 (опубликованной 20 мая 1999 г.), международной заявке PCT PCT/IB99/00797 (поданной 3 мая 1999 г.), в WO 95/21613 (опубликованной 17 августа 1995 г.), WO 99/61422 (опубликованной 2 декабря 1999 г.), патенте США № 5834504 (опубликованном 10 ноября 1998 г.), WO 98/50356 (опубликованной 12 ноября 1998 г.), патенте США № 5883113 (опубликованном 16 марта 1999 г.), патенте США № 5886020 (опубликованном 23 марта 1999 г.), патенте США № 5792783 (опубликованном 11 августа 1998 г.), WO 99/10349 (опубликованной 4 марта 1999 г.), WO 97/32856 (опубликованной 12 сентября 1997 г.), WO 97/22596 (опубликованной 26 июня 1997 г.), WO 98/54093 (опубликованной 3 декабря 1998 г.), WO 98/02438 (опубликованной 22 января 1998 г.), WO 99/16755 (опубликованной 8 апреля 1999 г.), и WO 98/02437 (опубликованной 22 января 1998 г.), которые все включены здесь в их полноте путем ссылки. Другие примеры некоторых специфичных VEGF-ингибиторов, используемых в настоящем изобретении, представляют собой IM862 (Cytran Inc.); моноклональное антитело к VEGF от Genentech Inc.; и ангиозим, синтетический рибозим от Ribozyme and Chiron. Эти и другие VEGF-ингибиторы можно использовать в настоящем изобретении, как здесь описано. Ингибиторы рецептора ErbB2, такие как GW-282971 (Glaxo Wellcome plc), и моноклональные антитела AR-209 (Aronex Pharmaceuticals Inc.) и 2B-1 (Chiron), можно, кроме того, объединить с соединением настоящего изобретения, и которые, например, рассматриваются в WO 98/02434 (опубликованной 22 января 1998 г.), WO 99/35146 (опубликованной 15 июля 1999 г.), WO 99/35132 (опубликованной 15 июля 1999 г.), WO 98/02437 (опубликованной 22 января 1998 г.), WO 97/13760 (опубликованной 17 апреля 1997 г.), WO 95/19970 (опубликованной 27 июля 1995 г.), патенте США № 5587458 (опубликованном 24 декабря 1996 г.) и патенте США № 5877305 (опубликованном 2 марта 1999 г.), которые настоящим все включены здесь в их полноте путем ссылки. Ингибиторы рецептора ErbB2 описаны также в предварительной заявке США № 60/117341, поданной 27 января 1999 г., и в предварительной заявке США № 60/117346, поданной 27 января 1999 г., обе из которых включены здесь в их полноте путем ссылки. В соответствии с настоящим изобретением соединения, ингибирующие рецептор erbB2, и вещество, описанное в вышеупомянутых PCT заявках, патентах США и предварительных заявках США, а также другие соединения и вещества, которые ингибируют рецептор erbB2, можно использовать совместно с соединением согласно изобретению.

Агенты, связанные с выживаемостью, включают в себя анти-IGF-IR-антитела и антиинтегриновые агенты, такие как антиинтегриновые антитела.

Применение диагностических способов.

Кроме того, в настоящем изобретении разработаны диагностические способы. Антитела к CD40 можно использовать для обнаружения CD40 в биологическом образце *in vitro* или *in vivo*. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения разработан способ диагностирования присутствия или местонахождения у пациента, нуждающегося в диагностировании, опухоли, экспрессирующей CD40, включающий в себя стадии инъектирования данного антитела данному пациенту, определения экспрессии у данного пациента CD40 путем локализации места обнаружения антитела, экспрессии у данного пациента с экспрессией у нормального контрольного индивида или с эталонной экспрессией, и диагностирования присутствия или местоположения опухоли.

Антитела к CD40 можно использовать в традиционном иммунологическом анализе, включая, без ограничения, ИФА, РИА, FACS, тканевую иммуногистохимию, Вестерн-блот или иммунопреципитацию. Антитела к CD40 согласно изобретению можно использовать для обнаружения CD40 у человека. В другом варианте осуществления настоящего изобретения антитела к CD40 можно использовать для обнаружения CD40 у обезьян Старого Света, таких как *synomolgus* и резус-макак, шимпанзе и человекообразных обезьян. В настоящем изобретении разработан способ детекции CD40 в биологическом образце, включающий в себя контактирование биологического образца с антителом к CD40 согласно изобретению и детектирование связавшегося антитела. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения антитело к CD40 непосредственно метят детектируемой меткой. В другом варианте осуществления настоящего изобретения антитело к CD40 (первое антитело) является немеченым, а второе антитело или другую молекулу, которая может связаться с анти-CD40-антителом, метят. Специалистам в данной области хорошо известно, что второе антитело выбирают таким образом, чтобы оно было способно специфически связать конкретные виды и класс первого антитела. Например, если антитело к CD40 представляет собой IgG человека, то вторичное антитело может представлять собой антитело к IgG человека. Другие молекулы, которые могут связываться с антителами, включают в себя, без ограничения, белок А и белок G, оба из которых коммерчески доступны, например, от Pierce Chemical Co.

Подходящие метки для данного антитела или вторичного антитела раскрыты выше и включают в себя различные ферменты, простетические группы, флуоресцентные вещества, люминесцентные вещества и радиоактивные вещества. Примеры подходящих ферментов включают в себя пероксидазу хрена, щелочную фосфатазу,  $\beta$ -галактозидазу или ацетилхолинэстеразу; примеры подходящих сложных простетических групп включают в себя стрептавидин/биотин и авидин/биотин; примеры подходящих флуоресцентных веществ включают умбеллиферон, флуоресцеин, флуоресцеинизотиоцианат, родамин, дихлортриазиниламинфлуоресцеин, дансилхлорид или фикоэретрин; пример люминесцентного вещества вклю-

чает в себя люминол; а примеры подходящих радиоактивных веществ включают в себя  $^{125}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ ,  $^{35}\text{S}$  или  $^3\text{H}$ .

В других вариантах осуществления настоящего изобретения присутствие CD40 в биологическом образце можно установить с помощью конкурентного иммуноанализа, использующего CD40-стандарты, помеченные детектируемым веществом, и немеченое антитело к CD40. В данном анализе биологический образец, меченный CD40-стандартами и антителом к CD40, объединяют и определяют количество меченого CD40-стандарта, связавшегося с данным немеченым антителом. Количество CD40 в данном биологическом образце обратно пропорционально количеству меченого CD40-стандарта, связавшегося с антителом к CD40.

Вышеописанный анализ можно использовать для ряда целей. Например, антитела к CD40 можно использовать для обнаружения CD40 в клетках культуры клеток. В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения антитела к CD40 используют, чтобы определить количество CD40 на поверхности клеток, которые обрабатывают различными соединениями. Данный способ можно применить при идентификации соединений, которые используют для активирования или ингибирования CD40. В соответствии с данным способом один образец клеток обрабатывают тест-соединением в течение какого-то периода времени, а другой образец оставляют необработанным. При измерении общего уровня CD40 эти клетки лизируют, и общий уровень CD40 измеряют с использованием одного из вышеописанных иммуноанализов. Для определения эффекта данного тест-соединения сравнивают общий уровень CD40 в обработанных и необработанных клетках.

Предпочтительным иммуноанализом для измерения общего уровня CD40 является ИФА или Вестерн-блот. При измерении уровня CD40 на поверхности клетки анализируемые клетки не лизируют и уровень CD40 на поверхности данных клеток измеряют с использованием одного из вышеописанных иммуноанализов. Предпочтительный иммуноанализ для определения уровня CD40 на поверхности клеток включает в себя стадии мечения белков на поверхности клетки с помощью детектируемой метки, такой как биотин или  $^{125}\text{I}$ , иммунопреципитации CD40 с антителом к CD40 и последующего детектирования меченого CD40. Другой предпочтительный иммуноанализ для определения локализации уровня CD40, например, на клеточной поверхности, осуществляют с использованием иммуногистохимии. Способы, такие как ИФА, РИА, Вестерн-блоттинг, иммуногистохимические способы, способы мечения интегральных мембранных белков клеточной поверхности и иммунопреципитация, хорошо известны в данной области. См., например, Harlow and Lane, выше. Кроме того, перечисленные иммуноанализы можно масштабировать для высокопроизводительного скринирования с целью тестировать большое число соединений в отношении активации или ингибирования CD40.

Антитела к CD40 согласно изобретению можно также использовать для определения уровня CD40 в ткани или в клетках, полученных из данной ткани. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения ткань представляет собой большую ткань. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения ткань представляет собой опухоль или ее биоптат. В некоторых вариантах осуществления данного способа ткань или ее биоптат вырезают у пациента. Затем большую ткань или биоптат используют в иммуноанализе для определения, например, общего уровня CD40, уровня CD40 на поверхности клетки, или для локализации CD40 вышеописанными способами.

Вышеописанный диагностический способ можно использовать для определения того, экспрессирует ли опухоль высокие уровни CD40, что могло бы свидетельствовать о том, что опухоль представляет собой мишень для обработки антителами к CD40. Далее, этот же способ можно также использовать, чтобы проследить эффект лечения антителом к CD40, детектируя гибель клеток в опухоли. Этот диагностический способ можно также использовать, чтобы определить, экспрессирует ли ткань или клетка недостаточный уровень CD40 или активированного CD40 и, следовательно, является ли кандидатом для лечения активирующими антителами к CD40, CD40L и/или иными терапевтическими агентами в целях повышения уровня CD40 или его активности.

Антитела согласно изобретению можно также использовать *in vivo* для идентификации тканей и органов, которые экспрессируют CD40. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитела к CD40 используют для идентификации опухолей, экспрессирующих CD40. Одним из преимуществ использования антител человека к CD40 согласно изобретению заключается в том, что их можно, не опасаясь, использовать *in vivo*, не вызывая иммунную реакцию на данное антитело после его введения, в отличие от антител, производимых не человеческим организмом, или гуманизированных антител.

Данный способ включает в себя стадии введения детектируемых меченых антител к CD40 или композиции, включающей их, пациенту, нуждающемуся в таком диагностическом тесте, и анализ изображения для определения у пациента местоположения тканей, экспрессирующих CD40. Анализ изображения хорошо известен в медицинской области и включает в себя, без ограничения перечисленным, рентгенографический анализ, магнитно-резонансную томографию (МРТ) или компьютерную томографию (СЕ). Данное антитело можно пометить с помощью любого агента, подходящего для *in vivo*-изображения, например, контрастного агента, такого как барий, который может использоваться в рентгенографическом анализе, или магнитного контрастного вещества, такого как хелат гадолиния, который можно использовать в МРТ или СЕ. Другие вещества-метки включают в себя, не ограничиваясь этим, радиоизотопы, та-

кие как  $^{99}\text{Tc}$ . В другом варианте осуществления настоящего изобретения антитело к CD40 должно быть немеченым и должно визуализироваться после введения второго антитела или иной молекулы, которая детектируема и которая может связать данное антитело к CD40. В варианте осуществления настоящего изобретения биоптат получают от пациента, чтобы определить, экспрессирует ли представляющая интерес ткань CD40.

Применение терапевтических способов.

Кроме того, в настоящем изобретении разработаны терапевтические способы, использующие антитело против CD40 согласно изобретению.

Агонист антитела человека против CD40 согласно изобретению можно ввести человеку или млекопитающему, не принадлежащему человеческому роду, которые экспрессируют перекрестно реагирующий CD40. Данное антитело можно ввести такому не принадлежащему человеческому роду млекопитающему (т.е. примату, сунопомолгус или резус-макаке) с ветеринарными целями или же в качестве изучения его действия на животной модели заболевания человека. Такие модельные животные полезны для оценки терапевтической эффективности антител настоящего изобретения.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения данное антитело к CD40 вводят пациенту, который страдает от первичного и/или комбинированного иммунодефицита, в том числе, CD40-зависимого иммунодефицита с синдромом гиперсекреции IgM, общего вариабельного иммунодефицита, агаммаглобулинемии Брутона (Bruton), дефицитов субкласса IgG и X-сцепленного SCID (общие мутации гамма-цепи). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело к CD40 вводят для лечения пациента, который иммуносупрессивен, например, из-за химиотерапии, или обладает иммуноослабляющим заболеванием, в том числе, заболеванием приобретенного иммунодефицита, таким как ВИЧ. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело к CD40 вводят, чтобы повысить иммунитет пожилого пациента. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело к CD40 вводят для лечения пациента, который обладает бактериальной, вирусной, грибковой или паразитарной инфекцией. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения агонист антитела человека против CD40 согласно изобретению можно профилактически вводить пациенту, который, вследствие возраста, нездоровья или общего слабого здоровья подвержен инфицированию, чтобы предупредить или уменьшить число или тяжесть инфекций.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело к CD40 вводят пациенту, который обладает гиперпролиферативным нарушением.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело к CD40 вводят для лечения пациента, который обладает опухолью. В других вариантах осуществления настоящего изобретения опухоль является CD40-позитивной. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения опухоль является CD40-негативной. Опухоль может представлять собой солидную или несолитарную опухоль, такую как лимфома. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело к CD40 вводят пациенту, который обладает опухолью, являющейся раковой. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения данное антитело ингибирует пролиферацию раковой клетки, подавляет или предотвращает увеличение массы опухоли или ее объема, и/или вызывает уменьшение массы опухоли или ее объема.

Пациенты, которых можно лечить с помощью антител к CD40 или участками антитела настоящего изобретения, включают, но не ограничиваются, пациентов, у которых диагностируют наличие злокачественной опухоли головного мозга, злокачественной опухоли легкого, злокачественной опухоли кости, злокачественной опухоли поджелудочной железы, рака кожи, злокачественной опухоли головы и шеи, меланомы кожи или внутриглазной меланомы, злокачественной опухоли матки, злокачественной опухоли яичника, злокачественной опухоли прямой кишки, злокачественной опухоли анальной области, злокачественной опухоли желудка, желудочной злокачественной опухоли, колоректальной злокачественной опухоли, злокачественной опухоли ободочной кишки, злокачественной опухоли молочной железы, гинекологической злокачественной опухоли (например, маточные саркомы, карцинома фаллопиевой трубы, карцинома эндометрия, карцинома шейки матки, карцинома влагалища или карцинома вульвы), злокачественной опухоли пищевода, злокачественной опухоли тонкого кишечника, злокачественной опухоли эндокринной системы (например, злокачественная опухоль щитовидной, паращитовидной или надпочечной железы), сарком мягких тканей, лейкоза, миеломы, множественной миеломы, злокачественной опухоли уретры, злокачественной опухоли пениса, злокачественной опухоли предстательной железы, хронического или острого лейкоза, детских злокачественных опухолей, болезни Ходжкина, лимфоцитарных лимфом, лимфомы не Ходжкина, злокачественной опухоли мочевого пузыря, злокачественной опухоли печени, почечной злокачественной опухоли, злокачественной опухоли почки или мочеточника (например, гипернефроидный рак, злокачественная опухоль почечной лоханки), или новообразований центральной нервной системы (например, первичная лимфома ЦНС, злокачественные опухоли позвоночного столба, глиомы ствола мозга или аденома гипофиза), глиомы или фибросаркомы.

Данное антитело можно вводить от трех раз ежедневно до одного раза каждые шесть месяцев и, предпочтительно, можно вводить через рот, слизистую, защечно, интраназально, вдыханием, внутривенно, подкожно, внутримышечно, парентерально, внутриопухолево, чрескожно или местно. Данное анти-

тело можно также вводить непрерывно с помощью микронасоса. Как правило, данное антитело следует вводить до тех пор, пока данная опухоль присутствует, и при условии, что данное антитело приводит к остановке роста опухоли или рака или к уменьшению ее (его) массы или объема. Как правило, дозировка антитела колеблется в диапазоне от 0,025 до 50 мг/кг, более предпочтительно 0,1-50 мг/кг, более предпочтительно 0,1-20, 0,1-10, 0,1-5 мг/кг или еще более предпочтительно 0,1-2 мг/кг. Данное антитело можно также вводить профилактически.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения данное антитело к CD40 вводят в виде элемента лечебной схемы, которая включает введение пациенту, который обладает гиперпролиферативным нарушением, таким как рак или опухоль, одного или нескольких дополнительных противоопухолевых лекарственных средств или молекул. Типичные противоопухолевые агенты включают, но не ограничиваются, ингибиторы митоза, алкилирующие агенты, антиметаболиты, интеркалирующие агенты, ингибиторы фактора роста, ингибиторы клеточного цикла, ферменты, ингибиторы топоизомеразы, модификаторы биологического ответа, антигормоны, киназные ингибиторы, ингибиторы матриксной металлопротеиназы, генетические терапевтические агенты и антиандрогены. В более предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения антитело к CD40 вводят вместе с противоопухолевым агентом, таким как адриамицин или таксол. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения терапию против CD40 осуществляют вместе с радиотерапией, химиотерапией, фототерапией, хирургией или иной иммунотерапией. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело к CD40 вводят вместе с одним или несколькими дополнительными антителами. Например, антитело к CD40 можно вводить вместе с антителами, о которых известно, что они ингибируют клеточную пролиферацию опухоли или рака. Такие антитела включают, но не ограничиваются, антитело, которое ингибирует CTLA4, рецептор erbB2, EGF-R, IGF-1R, CD20 или VEGF.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело к CD40 метят с помощью радиоактивной метки, иммунотоксина или токсина, или слитым белком, содержащим токсичный пептид. Антитело к CD40 или антитело к CD40-слитый белок направляет радиоактивную метку, иммунотоксин, токсин или токсичный пептид к клетке опухоли или к раковой клетке. В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения данная радиоактивная метка, иммунотоксин, токсин или токсичный пептид интернализуются клеткой опухоли или раковой клеткой после связывания антитела к CD40 с CD40 на поверхности искомой клетки.

Кроме того, антитело к CD40 можно использовать терапевтически для индукции у пациента апоптоза конкретных клеток. Во многих случаях клетки, мишеневые для апоптоза, представляют собой раковые клетки или клетки опухоли. Таким образом, в настоящем изобретении разработан способ индукции апоптоза путем введения пациенту антитела к CD40, нуждающегося в нем.

Кроме того, в настоящем изобретении разработан способ введения пациенту активирующего антитела к CD40 для увеличения CD40-активности. Антитело к CD40 вводят вместе с одним или несколькими другими факторами, которые увеличивают CD40-активность. Такие факторы включают CD40L и/или аналоги CD40L, которые активируют CD40.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело к CD40 вводят вместе с одним или несколькими дополнительными иммунными усиливающими агентами, в том числе, без ограничения, IFN- $\beta$ 1, IL-2, IL-8, IL-12, IL-15, IL-18, IL-23, IFN- $\gamma$  и GM-CSF.

В некоторых вариантах осуществления согласно изобретению агонист антитела человека против CD40 используют в качестве адъюванта для повышения эффективности вакцины. При использовании данным образом, антитело против антитела к CD40 активирует CD40 в антигенпрезентирующих клетках, в том числе, в В-клетках, дендритных клетках и в моноцитах, а также усиливает образование иммуномодуляторных молекул, таких как цитокины и хемокины. Иммуностимуляторное действие данного антитела усиливает иммунную реакцию вакцинированного пациента к вакцинному антигену.

Кроме того, в настоящем изобретении разработан способ получения дендритно-клеточной вакцины для раковых клеток или для иммунотерапии дендритных клеток. В соответствии с данным способом дендритные клетки ракового больного культивируют в течение 1-5 дней с лизатом или гомогенатом опухоли, с клетками опухоли, убитыми облучением или с помощью других средств, или с помощью опухолеспецифичных антигенов (например, пептидов, идиотипов), а также с помощью 1-10 мкг/мл антитела к CD40. Обученные антигеном дендритные клетки реинъецируют данному пациенту, чтобы стимулировать противоопухолевые иммунные ответы, в частности противоопухолевые CTL-ответы. Для использования в данном способе моноцитные дендритные клетки можно получить из образца периферической крови путем культивирования в IL4 и GM-CSF. Дендритные клетки можно также получить из костного мозга пациента путем выделения очисткой с помощью магнита или сортировкой CD34-позитивных клеток, с последующим культивированием в IL-4 и GM-CSF.

Генная терапия.

Молекулы нуклеиновой кислоты настоящего изобретения можно вводить пациенту, нуждающемуся в этом, с помощью генной терапии. Генную терапию можно осуществлять либо *in vivo*, либо *ex vivo*. В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения пациенту вводят молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие и тяжелую цепь, и легкую цепь. В более предпочтительном варианте осу-

ществления настоящего изобретения молекулы нуклеиновой кислоты вводят таким образом, чтобы они стабильно интегрировались в хромосомы В-клеток, так как эти клетки специализированы для образования антител. В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения предшественники В-клеток трансфицируют или инфицируют *ex vivo* и ретрансплантируют нуждающемуся в этом пациенту. В другом варианте осуществления настоящего изобретения предшественники В-клеток или других клеток инфицируют *in vivo*, используя известный вирус для заражения представляющих интерес клеток определенного типа. Обычные векторы, используемые для генной терапии, включают липосомы, плазмиды и вирусные векторы. Типичные вирусные векторы представляют собой ретровирусы, аденовирусы и аденоассоциированные вирусы. После инфицирования *in vivo* либо *ex vivo*, отслеживают уровень экспрессии антитела в образце, взятом у подвергающегося лечению пациента, и используют любой иммуноанализ, известный в данной области или рассматриваемый здесь.

В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения предлагаемый способ генной терапии включает стадии введения выделенной молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующей тяжелую цепь или ее антигенсвязывающую часть антитела к CD40, и экспрессирования молекулы нуклеиновой кислоты. В другом варианте осуществления настоящего изобретения предлагаемый способ генной терапии включает стадии введения выделенной молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующей легкую цепь или ее антигенсвязывающую часть антитела к CD40 и экспрессирования молекулы нуклеиновой кислоты. В более предпочтительном способе данный способ генной терапии включает стадии введения выделенной молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующей тяжелую цепь или ее антигенсвязывающую часть, и выделенной молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующей легкую цепь или ее антигенсвязывающую часть антитела к CD40 настоящего изобретения, и экспрессирования молекул нуклеиновой кислоты. Данный способ генной терапии может также включать стадию введения другого противоопухолевого агента, такого как таксол или адриамицин.

Для того чтобы лучше понять данное изобретение, ниже изложены примеры. Эти примеры преследуют лишь иллюстративные цели и не рассматриваются в качестве какого-либо ограничения смысла настоящего изобретения.

#### Пример I.

Создание гибридом, продуцирующих антитело к CD40.

Антитела настоящего изобретения получают, селективируют и анализируют следующим образом.

Иммунизация и создание гибридомы.

Мышей XenoMice™ в возрасте восемь-десять недель иммунизируют внутрибрюшинно или в подушечку задней лапы либо слитым белком CD40-IgG (10 мкг/дозу/мышь) либо клетками 300.19-CD40, которые представляют собой линию трансфицирующих клеток, которые экспрессируют CD40 человека на своей плазматической мембране ( $10 \times 10^6$  клеток/дозу/мышь). Введение данной дозы повторяют пять-семь раз на протяжении трех-восьми недель. За четыре дня до слияния мышам делают заключительную инъекцию внеклеточного домена CD40 человека в PBS. Осуществляют слияние лимфоцитов селезенки и лимфатического узла из иммунизированных мышей с несекретирующей клеточной линией миеломы P3-X63-Ag8.653, и подвергают слитые клетки НАТ-селекции, как описано раньше (Galfre and Milstein, *methods Enzymol.* 73:3-46, 1981). Выделяют панель гибридом, которые все секретируют CD40-специфичные антитела человека IgG2κ. Отбирают одиннадцать гибридом для дальнейшего исследования и обозначают их 3.1.1, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 23.5.1, 23.25.1, 23.29.1 и 24.2.1.

В соответствии с Будапештским Договором, гибридомы 3.1.1, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1 и 21.4.1 депонируют в Американской Коллекции Типовых Культур (ATCC), 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, 6 августа 2001 г. Гибридомы 21.2.1, 22.1.1, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.29.1 и 24.2.1 депонируют в ATCC 16 июля 2002 г. Данным гибриdomам присвоены следующие регистрационные номера:

<u>Гибридома</u>	<u>№ регистрации</u>
3.1.1 (LN 15848)	РТА-3600
7.1.2 (LN 15849)	РТА-3601
10.8.3 (LN 15850)	РТА-3602
15.1.1 (LN 15851)	РТА-3603
21.4.1 (LN 15853)	РТА-3605
21.2.1 (LN 15874)	РТА-4549
22.1.1 (LN 15875)	РТА-4550
23.5.1 (LN 15855)	РТА-4548
23.25.1 (LN 15876)	РТА-4551
23.28.1 (LN 15877)	РТА-4552
23.29.1 (LN 15878)	РТА-4553
24.2.1 (LN 15879)	РТА-4554

Пример II.

Последовательности антител к CD40, полученные в соответствии с настоящим изобретением.

Для анализа структуры антител, полученных в соответствии с настоящим изобретением, клонируют нуклеиновые кислоты, кодирующие фрагменты тяжелой и легкой цепи гибридом, продуцирующих моноклональные антитела к CD40. Клонирование и секвенирование осуществляют следующим образом.

С помощью набора Fast-Track (Invitrogen) выделяют Poly(A)<sup>+</sup> мРНК, примерно из  $2 \times 10^5$  гибридомных клеток, полученных от мышей XenoMouse<sup>TM</sup>, иммунизированных CD40 человека, как описано в примере I. После чего с помощью ПЦР получают случайным образом примированную кДНК. Используют праймеры из специфичных вариабельных областей V<sub>H</sub> человека или семейства V<sub>k</sub> (Marks et al., "Oligonucleotide primers for polymerase chain reaction amplification of human immunoglobulin variable genes and design of family-specific oligonucleotide probes" (Олигонуклеотидные праймеры для амплификации иммуноглобулиновых вариабельных генов человека и создание специфичного семейства олигонуклеотидных зондов с помощью полимеразной цепной реакции), Eur. J. Immunol. 21:985-991 (1991)) или универсальный праймер V<sub>H</sub> человека, MG-30, CAGGTGCAGCTGGAGCAGTCIGG (SEQ ID NO: 118), в сочетании с праймерами, специфичными для константной области Cj2 человека, MG-40d, 5'-GCTGAGGGAGTAGAGTCCTGAGGA-3' (SEQ ID NO: 119), или для константной области С<sub>k</sub> (hкP2; как описано раньше у Green et al., 1994). Путем прямого секвенирования ПЦР-продуктов, образованных из poly(A<sup>+</sup>)-РНК с использованием вышеописанных праймеров, получают молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие транскрипты тяжелой цепи и легкой каппа-цепи человека из гибридом, продуцирующих антитела к CD40. ПЦР-продукты клонируют в pCRII, используя ТА-набор для клонирования (Invitrogen), и секвенируют обе цепи с использованием Prism dye-наборов для терминирующего секвенирования и секвенатора ABI 377. Анализируют все последовательности путем выравнивания по "V BASE sequence directory" (Tomlinson et al., MRC Centre for Protein Engineering, Cambridge, Великобритания) с использованием программного обеспечения MacVector и Geneworks.

Далее, подвергают клонированию и секвенированию полноразмерную ДНК моноклональных антител 3.1.1, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 23.5.1, 23.28.1, 23.29.1 и 24.2.1. Для такого секвенирования выделяют РНК, примерно, из  $4 \times 10^6$  гибридомных клеток с использованием набора для выделения РНК QIAGEN RNeasy (QIAGEN). мРНК подвергают обратному транскрибированию с использованием oligo-dT(18) и набора Advantage RT/PCR (Clontech). Используется V Base для создания прямых амплификационных праймеров, которые включают сайты рестрикции, оптимальную последовательность Козака, стартовый ATG-сайт и часть сигнальной последовательности данной тяжелой цепи. В табл. 1 приведен список прямых амплификационных праймеров, применяемых к последовательностям клонов данного антитела.

Таблица 1

Клон	Прямой праймер тяжелой цепи
3.1.1	5'-TATCTAAGCTTCTAGACTCGACCGCCACCATGGAGTTTGGGCTGAGCTG-3' (SEQ ID NO:120)
7.1.2	5'-TATCTAAGCTTCTAGACTCGACCGCCACCATGGAGTTTGGGCTGAGCTG-3' (SEQ ID NO:121)
10.8.3	5'-TATCTAAGCTTCTAGACTCGAGCGCCACCATGAAACACCTGTGGTTCTTCC-3' (SEQ ID NO:122)
15.1.1	5'-TATCTAAGCTTCTAGACTCGAGCGCCACCATGAAACATCTGTGGTTCTTCC-3' (SEQ ID NO:123)
21.4.1	5'-TATCTAAGCTTCTAGACTCGAGCGCCACCATGGACTGGACCTGGAGGATCC-3' (SEQ ID NO:124)
21.2.1	5'-TATCTAAGCTTCTAGACTCGACCGCCACCATGGAGTTTGGGCTGAGCTG-3' (SEQ ID NO:128)
22.1.1	5'-TATCTAAGCTTCTAGACTCGACCGCCACCATGGAGTTTGGGCTGAGCTG-3' (SEQ ID NO:129)
23.5.1	5'-TATCTAAGCTTCTAGACTCGACCGCCACCATGGAGTTTGGGCTGAGCTG-3' (SEQ ID NO:130)
23.28.1	5'-TATCTAAGCTTCTAGACTCGAGCGCCACCATGAAACATCTGTGGTTCTTCC-3' (SEQ ID NO:131)
23.29.1	5'-TATCTAAGCTTCTAGACTCGACCGCCACCATGGAGTTTGGGCTGAGCTG-3' (SEQ ID NO:132)
24.2.1	5'-TATCTAAGCTTCTAGACTCGAGCGCCACCATGAAACATCTGTGGTTCTTCC-3' (SEQ ID NO:133)

Этот же способ используют для создания праймера, который включает 3'-кодирующие последовательности, стоп-кодон константной области JgG2, (5'-TTCTCTGATCAGAATTCTATCATTTACCCGGAGACAGGGAGAG-3')(SEQ ID NO: 125) и сайты рестрикции.

Этот же способ используют также для создания праймера, расположенного около стартового ATG-сайта каппа-цепи, (5'-CTTCAAGCTTACCCGGGCCACCATGAGGCTCCCTGCTCAGC-3') (SEQ ID NO: 126). Оптимальную последовательность Козака добавляют по 5'-концу к стартовому ATG-сайту. Данный праймер используют для ПЦР-клонирования легких цепей следующих клонов антител: 3.1.1, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 23.5.1 и 23.29.1. Для клонирования легких цепей из клонов 23.28.1 и 24.2.1 используется второй прямой праймер

5'-TCTTCAAGCTTGCCCGGGCCCGCCACCATGGAAACCCAGCGCAG-3' (SEQ ID NO: 134). Этот же способ используется для создания праймера, расположенного около стоп-кодона константной каппа-области (5'-TTCTTTGATCAGAATTCTCACTAACAACCTCTCCCTGTTGAAGC-3') (SEQ ID NO: 127). Используются пара праймеров для амплификации кДНК с использованием ПЦР-набора Advantage High Fidelity (Clontech). Последовательность указанного ПЦР-продукта получают путем прямого секвенирования с использованием стандартных методов (например, с использованием случайной затравки), используя наборы для секвенирования с терминирующим красителем и ABI-секвенатор. В экспрессирующий вектор млекопитающего клонируют полученный ПЦР-продукт и секвенируют клоны для подтверждения соматических мутаций. Для каждого клона проверяют последовательности обеих цепей по меньшей мере в трех реакциях.

Анализ утилизации гена.

В соответствии с настоящим изобретением в табл. 2 показана утилизация гена с помощью селективных гибридных клонов.

Таблица 2

Утилизация генов тяжелой и легкой цепи

Клон	Тяжелая цепь			Легкая каппа-цепь	
	VH	D	JH	VK	JK
3.1.1	(3-30+) DP-49	D4+ DIR3	JH6	A3/A19 (DPK-15)	JK1
7.1.2	(3-30+) DP-49	DIR5+ D1-26	JH6	A3/A19 (DPK-15)	JK1
10.8.3	(4.35) VIV-4	DIR3	JH6	L5 (DP5)	JK4
15.1.1	(4-59) DP-71	D4-23	JH4	A3/A19 (DPK-15)	JK2
21.4.1	(1-02) DP-75	DLR1	JH4	L5 (DP5)	JK4
21.2.1	(3-30+) DP-49	DIR-3+ D6-19	JH4	A3/A19 (DPK-15)	JK1
22.1.1	(3-30+) DP-49	D1-1	JH6	A3/A19 (DPK-15)	JK1
23.5.1	(3-30+) DP-49	D4-17	JH6	A3/A19 (DPK-15)	JK1
23.28.1	(4-59) DP-71	DIR1+ D4-17	JH5	A27 (DPK-22)	JK3
23.29.1	(3-30.3) DP46	D4-17	JH6	A3/A19 (DPK-15)	JK1
24.2.1	(4-59) DP-71	DIR1+ D4-17	JH5	A27 (DPK-22)	JK3

Анализ последовательности и мутационный анализ.

Следует иметь в виду, что анализ утилизации гена создает лишь общее представление о структуре антитела. Поскольку В-клетки животных XenoMouse™ стохастически производят транскрипты тяжелой V-D-J или легкой V-J-каппа-цепи, происходит ряд вторичных процессов, включающих, без ограничения, соматическую гипермутацию, делеции, N-добавки и CDR3-удлинения. См., например, Mendez et al., Nature Genetics 15:146-156 (1997) и международную патентную публикацию WO 98/24893. В соответствии с этим для дальнейшего изучения структуры антитела, на основании последовательности кДНК, полученных из данных клонов, предсказаны аминокислотные последовательности антител. В табл. А представлены идентификаторы последовательностей для каждой нуклеотидной и предсказанной из нее аминокислотной последовательности секвенированных антител.

В табл. 3-7 представлены нуклеотидные и предсказанные из них аминокислотные последовательности тяжелой и легкой каппа-цепи антител 3.1.1 (табл. 3), 7.1.2 (табл. 4), 10.8.3 (табл. 5), 15.1.1 (табл. 6), 21.4.1 (табл. 7).

В табл. 8-13 представлены нуклеотидные и предсказанные аминокислотные последовательности варибельного домена тяжелой цепи и легкой каппа-цепи антител 21.2.1 (табл. 8), 22.1.1 (табл. 9), 23.5.1 (табл. 10), 23.28.1 (табл. 11), 23.29.1 (табл. 12) и 24.2.1 (табл. 13).

ДНК-последовательность из полноразмерного секвенированного моноклонального антитела 23.28.1 отличается от ДНК-последовательностей, полученных из секвенирования V<sub>H</sub>-области начального ПЦР-продукта, по одной паре оснований (С на G), что приводит к изменению остатка 16 с D на E в природной тяжелой цепи.

В табл. 14-19 представлены нуклеотидные и предсказанные аминокислотные последовательности тяжелой и легкой каппа-цепи антител 21.2.1 (табл. 14), 22.1.1 (табл. 15), 23.5.1 (табл. 16), 23.25.1 (табл. 17), 23.29.1 (табл. 18) и 24.2.1 (табл. 19). В данных таблицах сигнальная пептидная последовательность (или основания, кодирующие ее) подчеркнуты.

Созданы два мутантных антитела, 22.1.1 и 23.28.1. Тяжелая цепь антитела 22.1.1 смутировала, заменив цистеиновый остаток в положении 109 на аланиновый остаток. Мутантный клон обозначен 22.1.1H-C019A. Легкая цепь антитела 23.28.1 в положении 92 также смутировала, заменив цистеиновый остаток на аланиновый остаток. Мутантный клон обозначен 23.28.1L-C92A.

Мутагенез специфических остатков осуществляют с помощью сконструированных праймеров и с использованием набора для сайт-направленного мутагенеза QuickChange от Stratagene, в соответствии с



рекомендациями производителя. Мутации подтверждены автоматизированным секвенированием, а мутационные вставки субклонируют в экспрессирующие векторы.

В табл. 20 представлены нуклеотидная и аминокислотная последовательности мутантной тяжелой цепи антитела 22.1.1Н-С019А. В табл. 21 представлены нуклеотидная и аминокислотная последовательности мутантной легкой цепи антитела 23.28.1. Мутантные ДНК-кодоны изображены курсивом. Мутантный аминокислотный остаток выделен шрифтом.

Таблица 3

Последовательности ДНК и белковые последовательности антитела 3.1.1

ОПИСАНИЕ	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ (сигнальная последовательность подчеркнута)
ДНК-последовательность тяжелой цепи	<u>ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGGTTCCTCGTTGC</u> <u>TCTTTTAAGAGGTGTCCAGTGTCAAGTGCAGCTG</u> GTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGG AGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGAT TCACCTTCAGTAGTTATGGCATGCACTGGGTCCG CCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGC AGTTATATCAAAGGATGGAGGTAATAAATACCAT GCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCA GAGACAATTCCAAGAATGCGCTGTATCTGCAAAT GAATAGCCTGAGAGTTGAAGACACGGCTGTGTAT TACTGTGTGAGAAGAGGGCATCAGCTGGTTCCTGG GATACTACTACTACAACGGTCTGGACGTCTGGGG CCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAGCCTCC ACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCCT GCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCGGCCCT GGGCTGCTGGTCAAGGACTACTTCCCGAACC GTGACGGTGTCTGTGGAAGTCAAGGCGCTCTGACCA GCGGCGTGCACACCTTCCCAGCTGTCTACAGTC CTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACC GTGCCCTCCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACA CCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAA GGTGGACAAGACAGTTGAGCGCAAATGTTGTGTC GAGTGGCCACCGTGCCAGCACCACTGTGGCAG GACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAA GGACACCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTC ACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGAC CCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCG TGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCACGGG AGGAGCAGTTCAACAGCACGTTCCTGTGGTTCAG CGTCCTCACCGTTGTGCACCAGGACTGGCTGAAC GGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA GGCCTCCAGCCOCCATCGAGAAAACCATCTCCA AAACCAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGT ACACCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAA GAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGC TTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGA GCAATGGGCAGCCGGAGAACAACATAAGACCA CACCTCCCATGCTGGACTCCGACGGCTCTTCTTC CTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGT GGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGAT GCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAG AGCCTCTCCCTGTCTCCGGTAAATGA

Белковая последовательность тяжелой цепи	<p>MEFGLSWVFLVALLRGVQCQVQLVESGGGVVQPG          RSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA          VISKDGGNKYHADSVKGRFTISRDN SKNALYLQMN          SLRVEDTAVYYCVRRGHQLVLGYYYNGLDVWG          QGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCL          VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY          SLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTV          ERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT          PEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTK          PREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVS          NKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSRBEMTK          NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP          PMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHE          ALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
ДНК- последовательность легкой цепи	<p>ATGAGGCTCCCTGCTCAGCTCCTGGGGCTGCTAA          TGCTCTGGGTCTCTGGATCCAGTGGGGATATTGT          GCTGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCC          CTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAG          TCAGAGCCTCTTGTATAGTAATGGATACTTTT          TGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTCC          ACAGCTCCTGATCTATTGGGTCTAATCGGGCCT          CCGGGGTCCCTGACAGGTTTCACTGGCAGTGGATC          AGGCACAGATTTTACACTGAAAATCAGCAGATTG          GAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCATGC          AAGCTCTACAACTCCTCGGACGTTCCGCCAAGG          GACCAAGGTGGAAATCAAACGAACTGTGGCTGC          ACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGC          AGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCT          GCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTA          CAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTA          ACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCA          AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGAC          GCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGT          CTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGC          TCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGT          GTTAG</p>
Белковая последовательность легкой цепи	<p>MRLPAOLLGLLMLWVSGSSGDIVLTQSPLSLPVTGP          EPASISCRSSQSLLYSNGYNFLDWYLQKPGQSPQLLI          YLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRLEAEDVG          VYYCMQALQTPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP          SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL          QSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEHK          VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</p>

ДНК-последовательность зрелого переменного домена тяжелой цепи	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTG GTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTACACCTTCAGTAGTTATGGCAT GCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTG GAGTGGGTGGCAGTTATATCAAAGGATGGAGGT AATAAATACCATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAATGCGCT GTATCTGCAAATGAATAGCCTGAGAGTTGAAGAC ACGGCTGTGTATTACTGTGTGAGAAGAGGGCATC AGCTGGTTCTGGGATACTACTACTACAACGGTCT GGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTC TCCTCA
Белковая последовательность зрелого переменного домена тяжелой цепи	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMH WVRQAPGKGLEWVA VISKDGGNKYHADSVKGRFT ISRDN SKNALY LQMNSLRVEDTAVYYCVRRGHQL VLGYYYNGLDVWGQGTTVTVSS
ДНК-последовательность зрелого переменного домена легкой цепи	GATATTGTGCTGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCC CGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGC AGGTCTAGTCAGAGCCTCTTGTATAGTAATGGAT ACAACTTTTGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGG GCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTA ATCGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTTCAAGTGG CAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAAATC AGCAGATTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATT ACTGCATGCAAGCTCTACAACTCCTCGGACGTT CGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAA
Белковая последовательность зрелого переменного домена легкой цепи	DIVLTQSPLSLPVTGPGEASISCRSSQSLLYSNGYNFL DWY LQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGSGT DFTLKISRLEAEDVGVYYCMQALQTPRTFGQGTKV EIK
ДНК тяжелой цепи (переменный домен) (3.1.H-A78T) SEQ ID NO:89	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTG GTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTACACCTTCAGTAGTTATGGCAT GCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTG GAGTGGGTGGCAGTTATATCAAAGGATGGAGGT AATAAATACCATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAATACGCT GTATCTGCAAATGAATAGCCTGAGAGTTGAAGAC ACGGCTGTGTATTACTGTGTGAGAAGAGGGCATC AGCTGGTTCTGGGATACTACTACTACAACGGTCT GGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTC TCCTCA

Белок тяжелой цепи (вариабельный домен) (3.1.1H-A78T) SEQ ID NO:90	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMH WVRQAPGKGLEWVA VISKDGGNKYHADSVKGRFT ISRDN SKN7LYLQMNSLRVEDTAVYYCVRRGHQLV LGYYYYNGLDVWGQGTTVTVSS
ДНК тяжелой цепи (вариабельный домен) (3.1.1H-A78T-V88A-V97A) SEQ ID NO:91	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTG GTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTACCTTCAGTAGTTATGGCAT GCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTG GAGTGGGTGGCAGTTATATCAAAGGATGGAGGT AATAAATACCATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAATaCGCT GTATCTGCAAATGAATAGCCTGAGAGcTGAAGAC ACGGCTGTGTATTACTGTGcGAGAAGAGGGCATC AGCTGGTCTGGGATACTACTACTACAACGGTCT GGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTC TCCTCA
Белок тяжелой цепи (вариабельный домен) (3.1.1H-A78T-V88A-V97A) SEQ ID NO:92	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMH WVRQAPGKGLEWVA VISKDGGNKYHADSVKGRFT ISRDN SKN7LYLQMNSLRaEDTAVYYCARRGHQLV LGYYYYNGLDVWGQGTTVTVSS
ДНК легкой цепи (вариабельный домен) (3.1.1L-L4M-L83V) SEQ ID NO:93	GATATTGTGaTGA CTCA GTCTCCACTCTCCCTGCC CGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGC AGGTCTAGTCAGAGCCTCTTGTATAGTAATGGAT ACAACTTTTTGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGG GCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTA ATCGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTTCA GTGG CAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAAATC AGCAGAgTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATT ACTGCATGCAAGCTCTACAAACTCCTCGGACGTT CGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAA
Белок легкой цепи (вариабельный домен) (3.1.1L-L4M-L83V) SEQ ID NO:94	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLYSNGYNF LDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGV PDRFSGSGSG TDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPRTFGQGTK VEIK

Последовательности ДНК и белковые последовательности антитела 7.1.2

ОПИСАНИЕ	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ (сигнальная последовательность подчеркнута)
ДНК-последовательность тяжелой цепи	<u>ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGGTTTTCTCGTTGC</u> <u>TCTTTTAAGAGGTGTCCAGTGTCAAGGTGCAGCTG</u> GTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGG AGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGAT TCACCTTCAGTAGCTATGGCATGCACTGGGTCCG CCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGC AGTTATATCAAATGATGGAGATAATAAATACCAT GCAGACTCCGTGTGGGGCCGATTACCATCTCCA GAGACAATTCCAGGAGCACGCTTTATCTGCAAAT GAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTATAT TACTGTGCGAGAAGAGGCATGGGGTCTAGTGGG AGCCGTGGGGATTACTACTACTACTACGGTTTGG ACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTC CTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCC CTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCA CAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTT CCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAAGTCAAGGC GCTCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCAGCTG TCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAG CGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAACTTCGGGACC CAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGACAGTTGAGCGCA AATGTTGTGTCGAGTGCCACCGTGCCAGCACC ACCTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCC CAAAACCCAAGGACACCTCATGATCTCCCGGAC CCCTGAGGTCACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGC CACGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACG TGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAA AGCCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTTCC GTGTGGTCAGCGTCCTCACC GTTGTGCACCAGGA CTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGT CTCCAACAAGGCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAA ACCATCTCCAAAACCAAAGGGCAGCCCCGAGAA CCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGG AGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCT GGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTG GAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAAC TACAAGACCACCTCCCATGCTGGACTCCGACG GCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGAC AAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCAT GCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTA CACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTA TGA

Белковая последовательность тяжелой цепи	<p>MEFGLSWVFLVALLRGVOCQVQLVESGGGVVQPG          RSLRLSCAASGFTFSYGMHWVRQAPGKGLEWVA          VISNDGDNKYHADSVWGRFTISRDNRSRSTLYLQMN          SLRAEDTAVYYCARRGMGSSGSRGDYYYYYGLDV          WGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAAL          GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS          GLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDPHKPSNTKVD          KTVRKCCVECPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLM          ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNA          KTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKC          KVSNGKLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEM          TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT          TTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVM          HEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
ДНК- последовательность легкой цепи	<p>ATGAGGCTCCCTGCTCAGCTCCTGGGGCTGCTAA          TGCTCTGGGTCTCTGGATCCAGTGGGGATATTGT          GATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCCTCACCC          CTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAG          TCAGAGCCTCTTGTATAGTAATGGATACAACTTTT          TGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTCC          ACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTAATCGGGCCT          CCGGGGTCCCTGACAGGTTCAAGTGGCAGTGGATC          AGGCACAGATTTTACACTGAAAATCAGCAGAGTG          GAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCATGC          AAGCTCTACAACTCCTCGGACGTTTCGGCCAAGG          GACCAAGGTGGAAATCAAACGAACTGTGGCTGC          ACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGC          AGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCT          GCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTA          CAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTA          ACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCA          AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGAC          GCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGT          CTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGC          TCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGT          GTTAG</p>
Белковая последовательность легкой цепи	<p>MRLPAOLLGLMLWVSGSSGDIVMTQSPLSLPVT          GEPASISCRSSQSLLYSNGYNFLDWYLQKPGQSPQL          LIYLGSRASGVPRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDV          GVYYCMQALQTPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFP          PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA          LQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKH          KVVACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</p>

ДНК-последовательность зрелого вариабельного домена тяжелой цепи	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTG GTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTACCTTCAGTAGCTATGGCAT GCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTG GAGTGGGTGGCAGTTATATCAAATGATGGAGATA ATAAATACCATGCAGACTCCGTGTGGGGCCGATT CACCATCTCCAGAGACAATTCCAGGAGCACGCTT TATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACA CGGCTGTATATTACTGTGCGAGAAGAGGCATGGG GTCTAGTGGGAGCCGTGGGGATTACTACTACTAC TACGGTTTGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGG TCACCGTCTCCTCA
Белковая последовательность зрелого вариабельного домена тяжелой цепи	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMH WVRQAPGKGLEWVAVISNDGDNKYHADSVWGRF TISRDNRSRTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRGMGS SGSRGDYYYYYGLDVWGQGTTVTVSS
ДНК-последовательность зрелого вариабельного домена легкой цепи	GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCC CGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGC AGGTCTAGTCAGAGCCTCTTGTATAGTAATGGAT ACAACTTTTTGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGG GCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTA ATCGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTTCACTGG CAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAAATC AGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATT ACTGCATGCAAGCTCTACAAACTCCTCGGACGTT CGGCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAA
Белковая последовательность зрелого вариабельного домена легкой цепи	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLYSNGYNF LDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSG TDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPRTFGQGTK VEIK

Таблица 5

Последовательности ДНК и белковые последовательности антитела 10.8.3

ОПИСАНИЕ	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ (сигнальная последовательность подчеркнута)
ДНК-последовательность тяжелой цепи	<p> <u>ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGC</u>  <u>AGCTCCCAGATGGGTCCTGTCCCAGGTGCAGCTG</u>  CAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGG  AGACCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGC  TCCATCAGTAGTTACTACTGGATCTGGATCCGGC  AGCCCGCCGGGAAGGGACTGGAATGGATTGGGC  GTGTCTATACCAGTGGGAGCACC AACTACAACCC  CTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATGTCAGTAGAC  ACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCT  CTGTGACCGCCGCGGACACGGCCGTGTATTACTG  TGCGAGAGATGGTCTTTACAGGGGGTACGGTATG  GACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCT  CCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCC  CCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGC  ACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACT  TCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGG  CGCTCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCAGCT  GTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCA  GCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAACTTCGGCAC  CCAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCC  AGCAACACCAAGGTGGACAAGACAGTTGAGCGC  AAATGTTGTGTCGAGTGCCCAACCGTGCCACGAC  CACCTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCC  CCAAAACCAAGGACACCTCATGATCTCCCGGA  CCCCTGAGGTCACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAG  CCACGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTAC  GTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACA  AAGCCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACCGTTC  CGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTTGTGCACCAAG  ACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGG  TCTCCAACAAAGGCCTCCCAGCCCCATCGAGAA  AACCATCTCCAAAACCAAGGGCAGCCCCGAGA  ACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAG  GAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCC  TGGTCAAAGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGT  GGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAA  CTACAAGACCACACCTCCCATGCTGGACTCCGAC  GGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGG  ACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCT  CATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCA  CTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGT  AAATGA </p>



Белковая последовательность тяжелой цепи	<p><u>MKHLWFFLLLVAAPRWVLSQVQLQESGPGLVKPS</u>  <u>ETLSLTCTVSGGSISSYYWIWIRQPAGKGLEWIGRVY</u>  TSGSTNYPNPSLKSRTMSVDTSKNQFSLKLSSVTA  DTAVYYCARDGLYRGYGMVWGQGTITVTVSSAS  TKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV  VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS  NFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTKVERKCCVECP  PAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD  SHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFR  VVSVELTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTI  SKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG  FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLY  SKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSL  SLSPGK</p>
ДНК-последовательность легкой цепи	<p><u>ATGAGGCTCCCTGCTCAGCTCCTGGGGCTCCTGC</u>  <u>TGCTCTGGTTCCAGGTTCCAGATGCGACATCCA</u>  GATGACCCAGTCTCCATCTTCCGTGTCTGCATCTG  TAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGTCCGGCGAG  TCAGCCTATTAGCAGCTGGTTAGCCTGGTATCAG  CAGAAACCAGGGAAAGCCCCCTAAACTCCTGATTT  ATTCTGCCTCCGGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATC  AAGGTTCAAGCGGCAAGTGGATCTGGGACAGATTTC  ACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATT  TTGCAACTTACTATTGTCAACAGACTGACAGTTTC  CCGCTCACTTTCGGCGGGCGGGACCAAGGTGGAGA  TCAAACGAAGTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCAT  CTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGA  ACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTA  TCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGAAGGTGGA  TAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCAGGAGAGT  GTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTAC  AGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCA  GACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAA  GTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAA  AGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG</p>
Белковая последовательность легкой цепи	<p><u>MRLPAOLLGLLLLWFPGSRCDIQMTQSPSSVSASV</u>  <u>GRVTTTCRASQPISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYSAS</u>  GLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQ  QIDSFPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK  SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ  ESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACE  VTHQGLSPVTKSFNRGEC</p>

ДНК-последовательность зрелого вариабельного домена тяжелой цепи	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTG GTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGCA CTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGTAGTTACTACTGG ATCTGGATCCGGCAGCCCGCCGGGAAGGGACTG GAATGGATTGGGCGTGTCTATACCAGTGGGAGCA CCAAC TACAACCCCTCCCTCAAGAGTCGAGTCAC CATGTCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCC CTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGCGGACACGG CCGTGTATTACTGTGCGAGAGATGGTCTTTACAG GGGGTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGAC CACGGTCACCGTCTCCTCA
Белковая последовательность зрелого вариабельного домена тяжелой цепи	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSYYWTWI RQPAGKGLEWIGRVYTSNSTNYPNPSLKSRVTMSVD TSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDGLYRGYGM DVWGQGTTVTVSS
ДНК-последовательность зрелого вариабельного домена легкой цепи	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGTGT CTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTG TCGGGCGAGTCAGCCTATTAGCAGCTGGTTAGCC TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAA CTCCTGATTTATTCTGCCTCCGGTTTGCAAAGTGG GGTCCCATCAAGGTTCAAGCGGAGTGGATCTGGG ACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGC CTGAAGATTTTGCAACTTACTATTGTCAACAGAC TGACAGTTTCCCGCTCACTTTCGGCGGCGGGACC AAGGTGGAGATCAAA
Белковая последовательность зрелого вариабельного домена легкой цепи	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITTCRASQPISSWLAWY QQKPGKAPKLLIYSASGLQSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISLQPEDFATYYCQQTDSFPLTFGGGTKVEIK

Последовательности ДНК и белковые последовательности антитела 15.1.1

ОПИСАНИЕ	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ (сигнальная последовательность подчеркнута)
ДНК-последовательность тяжелой цепи	<u>ATGAAACATCTGTGGTTCTTCCTTCTCCTGGTGGC</u> <u>AGCTCCCAGATGGGTCTGTCCCAGGTGCAGCTG</u> CAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGG AGACCCTGTCCCTCACCTGCACGTGTCTGTGGTGGC TCCATCAGAAGTTACTACTGGACCTGGATCCGGC AGCCCCCAGGGAAGGGACTGGAGTGGATTGGAT ATATCTATTACAGTGGGAGCACCAACTACAATCC CTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTAGAC ATGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGTT CTGTGACCGCTGCGGACACGGCCGTTTACTG TGCGAGAAAGGGTGACTACGGTGGTAATTTAAC TACTTTCACCAGTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCA CCGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCC GAGAGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAG GACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGA ACTCAGGCGCTCTGACCAGCGGCGTGCACACCTT CCCAGCTGTCTACAGTCTTCAGGACTCTACTCCC TCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAACTT CGGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTAGATCAC AAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGACAGTT GAGCGCAAATGTTGTGTGAGTGCCACCGTGCC CAGCACCACTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTCCT CTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCTCATGATC TCCCGGACCCCTGAGGTACGTGCGTGGTGGTGG ACGTGAGTCACGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCC AAGACAAAGCCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGC ACGTTCCTGTGGTACGCGTCTCACCGTTGTGC ACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGT GCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCAGCCCCCAT CGAGAAAACCATCTCCAAAACCAAGGGCAGCC CCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCCATCC CGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTACGCCTG ACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACA TCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGG AGAACAATAACAAGACCACACCTCCCATGCTGGA CTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCA CCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACG TCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCAC AACCCTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTC CGGGTAAATGA

Белковая последовательность тяжелой цепи	<p> <u>MKHLWFFLLVAAPRWVLSQVQLQESGPGLVKPS</u>  <u>TL</u>SLTCTVSGGSIRSYYWTWIRQPPGKGLEWIGYIY  YSGSTNYNPSLKSRTISVDMSKNQFSLKLSSVTAA  DTAVYYCARKGDYGGNFNYFHQWGQGTLVTVSS  ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV  TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS  SNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKCCVECPP  CPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD  VSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTF  RVVSVLTVQHVDWLNQKEYKCKVSNKGLPAPIEK  TISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK  GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSGSSFL  YSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKS  LSLSPGK </p>
ДНК-последовательность легкой цепи	<p> <u>ATGAGGGCTCCCTGCTCAGCTCCTGGGGCTGCTAA</u>  <u>TGCTCTGGGTCTCTGGATCCAGTGGGGATATTGT</u>  GATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCC  CTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAG  TCAGAGCCTCCTACATACTAATGGATACAACTAT  TTCGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTC  CACAACCTCTGATCTATTTGGGTTCTAATCGGGCC  TCCGGGGTCCCTGACAGGTTCAAGTGGCAGTGGAT  CAGGCACAGATTTTACACTGAAAATCAGCAGAGT  GGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCATG  CAAGCTCTACAACTCCGTACAGTTTGGCCAGG  GGACCAAGCTGGAGATCAAACGAACTGTGGCTG  CACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAG  CAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCT  GCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTA  CAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTA  ACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCA  AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGAC  GCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGT  CTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGC  TCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGT  GTTAG </p>
Белковая последовательность легкой цепи	<p> <u>MRLPAOLLGLLMLWVSGSSGDIVMTQSPLSLPVT</u>  <u>GE</u>PASISCRSSQSLLHTNGYNYFDWYLOKPGQSPQL  LIYLGSNRASGVPRFRSGSGSDFTLKISRVEADV  GVYYCMQALQTPYSFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFP  PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA  LQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSTLTLSKADYEKH  KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC </p>

ДНК-последовательность зрелого вариабельного домена тяжелой цепи	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTG GTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGCA CTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGAAGTTACTACTG GACCTGGATCCGGCAGCCCCCAGGGAAGGGACT GGAGTGGATTGGATATATCTATTACAGTGGGAGC ACCAACTACAATCCCTCCCTCAAGAGTCGAGTCA CCATATCAGTAGACATGTCCAAGAACCAGTTCTC CCTGAAGCTGAGTTCTGTGACCGCTGCGGACACG GCCGTTTATTACTGTGCGAGAAAGGGTGACTACG GTGGTAATTTTAACTACTTTCACCAGTGGGGCCA GGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
Белковая последовательность зрелого вариабельного домена тяжелой цепи	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSIRSYWYW IRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTNYNPSLKSRVTISVD MSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARKGDYGGNFN YFHQWGQGTLVTVSS
ДНК-последовательность зрелого вариабельного домена легкой цепи	GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCC CGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGC AGGTCTAGTCAGAGCCTCCTACATACTAATGGAT ACAACATATTCGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGG GCAGTCTCCACAACCTCCTGATCTATTTGGGTCTA ATCGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTTCACTGG CAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAAATC AGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATT ACTGCATGCAAGCTCTACAACTCCGTACAGTTT TGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA
Белковая последовательность зрелого вариабельного домена легкой цепи	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLHTNGYNY FDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGS TDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPYSFGQGTK LEIK

Таблица 7

Последовательности ДНК и белковые последовательности антитела 21.4.1

ОПИСАНИЕ	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ (сигнальная последовательность подчеркнута)
ДНК-последовательность тяжелой цепи	<p> <u>ATGGA</u>CTGGACCTGGAGGATCCTCTTCTTGGTGG  CAGCAGCCACAGGAGCCCACTCCAGGTGCAGCT  GGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGG  GGCCTCAGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGA  TACACCTTCACCGGCTACTATATGCACTGGGTGC  GACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGG  GATGGATCAACCCTGACAGTGGTGGCACAACCTA  TGCACAGAAGTTTCAGGGCAGGGTCACCATGACC  AGGGACACGTCCATCAGCACAGCCTACATGGAGC  TGAACAGGCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTA  TACTGTGCGAGAGATCAGCCCCTAGGATATTGT  ACTAATGGTGTATGCTCCTACTTTGACTACTGGG  GCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCCTC  CACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCC  TGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCGGCC  TGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACC  GGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCTCTGACC  AGCGGCGTGCACACCTTCCCAGCTGTCCTACAGT  CCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGAC  CGTGCCCTCCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTAC  ACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCA  AGGTGGACAAGACAGTTGAGCGCAAATGTTGTGT  CGAGTGCCACCGTGCCAGCACCACTGTGGCA  GGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCA  AGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGT  CACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGA  CCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGC  GTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCACGG  GAGGAGCAGTTCAACAGCACGTTCCTGTGGTCA  GCGTCCTCACCGTTGTGCACCAGGACTGGCTGAA  CGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAA  AGGCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCC  AAAACCAAAGGGCAGCCCCGAGAACACAGGTG  TACACCCTGCCCCCATCCCGGAGGAGATGACCA  AGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCTGGTCAAAGG  CTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAG  AGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACC  ACACCTCCCATGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTT  CCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGG  TGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA  TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAA  GAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA </p>

Белковая последовательность тяжелой цепи	<p>MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLVQSGAEVKKPG  ASVKVSCKASGYTFTGYMHVVRQAPGQGLEWM  GWINPDSSGNTYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMEL  NRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWG  QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCL  VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY  SLSSVTVTPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTV  ERKCCVECPAPPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT  PEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTK  PREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVS  NKGLPAIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTK  NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT  PMLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHE  ALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
ДНК-последовательность легкой цепи	<p>ATGAGGCTCCCTGCTCAGCTCCTGGGGCTCCTGC  TGCTCTGGTTCCAGGTTCCAGATGCGACATCCA  GATGACCCAGTCTCCATCTTCCGTGTCTGCATCTG  TAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGTCTGGGCGAG  TCAGGGTATTTACAGCTGGTTAGCCTGGTATCAG  CAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAACCTCCTGATCT  ATACTGCATCCACTTTACAAAGTGGGGTCCCATC  AAGGTTACGCGCAGTGGATCTGGGACAGATTTC  ACTCTACCATCAGCAGCCTGCAACCTGAAGATT  TTGCAACTTACTATTGTCAACAGGCTAACATTTTC  CCGCTCACTTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGA  TCAAACGAAGTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCAT  CTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGA  ACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTA  TCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGA  TAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCAGGAGAGT  GTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTAC  AGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCA  GACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAA  GTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCCGTCACAA  AGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG</p>
Белковая последовательность легкой цепи	<p>MRLPAOLLGLLLWFPGRCDIQMTQSPSSVSASVG  DRVITTCRASQGIYSWLAWYQQKPGKAPNLLIYTA  STLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC  QQANIFPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL  KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS  QESVTEQDSKDSYSLSSLTLSKADYEKHKVYAC  EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</p>

ДНК-последовательность зрелого вариабельного домена тяжелой цепи	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGA AGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCTGCAA GGCTTCTGGATACACCTTCACCGGCTACTATATG CACTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTG AGTGGATGGGATGGATCAACCCTGACAGTGGTGG CACAACTATGCACAGAAGTTTCAGGGCAGGGTC ACCATGACCAGGGACACGTCCATCAGCACAGCCT ACATGGAGCTGAACAGGCTGAGATETGACGACA CGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCAGCCCCT AGGATATTGTACTAATGGTGTATGCTCCTACTTTG ACTACTGGGGCCAGGGAACCTGGTCACCGTCTC CTCA
Белковая последовательность зрелого вариабельного домена тяжелой цепи	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYM HWVRQAPGQGLEWMGWINPDSGGTNYAQKFQGR VTMTRDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARDQPL GYCTNGVCSYFDYWGQGLTVTVSS
ДНК-последовательность зрелого вариабельного домена легкой цепи	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGTGT CTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTG TCGGGCGAGTCAGGGTATTTACAGCTGGTTAGCC TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAC CTCCTGATCTATACTGCATCCACTTTACAAAGTGG GGTCCCATCAAGGTTCAAGCGGCAGTGGATCTGGG ACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAAC CTGAAGATTTTGCAACTTACTATTGTCAACAGGC TAACATTTTCCCGCTCACTTTCGGCGGAGGGACC AAGGTGGAGATCAAA
Белковая последовательность зрелого вариабельного домена легкой цепи	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITTCRASQGIYSWLAWY QQKPGKAPNLLIYTAFTLQSGVPSRFSGSGSDFT LTISSLQPEDFATYYCQQANIFPLTFGGGTKVEIK



Последовательности ДНК и белковые последовательности зрелых  
вариабельных доменов антитела 21.2.1

ОПИСАНИЕ	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ
ДНК тяжелой цепи	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTG GTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTACCTTCAGTAGCTATGTCATG CACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGG AGTGGGTGGCAGTTATGTCATATGATGGAAGTAG TAAATACTATGCAAACTCCGTGAAGGGCCGATTTC ACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGT ATCTGCAAATAAACAGCCTGAGAGCTGAGGACA CGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATGGGGGTAA AGCAGTGCCTGGTCTGACTACTGGGGCCAGGGA ATCCTGGTCACCGTCTCCTCAG
Белок тяжелой цепи	QVQLVESGGGVVQPGRLRLSCAASGFTFSSYVMH WVRQAPGKLEWVAVMSYDGSSKYYANSVKGRF TISRDNKNTLYLQINSLRAEDTAVYYCARDGGKA VPGPDYWGQILVTVSS
ДНК легкой цепи	GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCC CGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGC AGGTCTAGTCAGAGTGTTCTGTATAGTAATGGAT ACAACTATTTGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGG GCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTA ATCGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTTCACTGG CAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAAATC AGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATT ACTGCATGCAAGTTTTACAACTCCATTCACCTTC GGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAAC
Белок легкой цепи	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSVLYSNGYNY LDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGSG TDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQVLQTPFTFGPGTK VDIK

Таблица 9

Последовательности ДНК и белковые последовательности зрелых  
вариабельных доменов антитела 22.1.1

ОПИСАНИЕ	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ
ДНК тяжелой цепи	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTG GTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTACCTTCAGTCGCTATGGCAT GCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTG GAGTGGGTGGCAGTTATATCATCTGATGGAGGTA ATAAATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATT CACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG TATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACA CGGCTGTGTATTACTGTACGAGAAGAGGGACTGG AAAGACTTACTACCACTACTGTGGTATGGACGTC TGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAG
Белок тяжелой цепи	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSRYGMH WVRQAPGKGLEWVAISSDGGNKYYADSVKGRFT ISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRGTGKT YYHYCGMDVWGQGTITVTVSS
ДНК легкой цепи	GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCC CGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGC AGGTCTAGTCAGAGCCTCCTGTATAGTAATGGAT ATAACTATTTGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGG GCAGTCTCCACACCTCCTGATCTATTTGGGTTCTA ATCGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTTCAAGTGG CAGTGGTTCAGGCACTGATTTTACACTGAAAATC AGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATT ACTGCATGCAAGCTCTACAAACTCCTCGGACGTT CGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAAC
Белок легкой цепи	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLYSNGYNY LDWYLQKPGQSPHLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSG TDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPRTFGQGTK VEIK

Последовательности ДНК и белковые последовательности  
зрелых переменных доменов антитела 23.5.1

ОПИСАНИЕ	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ
ДНК тяжелой цепи	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTG GTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG TAGCCTCTGGATTACCTTCAGTAACTATGGCAT GCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTG GAGTGGGTGGCAATTATATCATATGATGGAAGTA ATAAATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATT CACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG TATGTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGAC ACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGACGCGGTCACT ACGGGAGGGATTACTACTCCTACTACGGTTTGGA CGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCC TCAG
Белок тяжелой цепи	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCVASGFTFSNYGMH WVRQAPGKGLEWVAISYDGSNKYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYVQMNSLRAEDTAVYYCARRGHYGR DYYSYYGLDVWGQGTTVTVSS
ДНК легкой цепи	GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCC CGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGC AGGTCTAGTCAGAGCCTCCTGCCTGGTAATGGAT ACAACTATTTGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGG GCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTA ATCGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTTCAAGTGG CAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAAATC AGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATT ACTGCATGCAAGCTCTACAAACTCCTCGGACGTT CGGCCAAGGGACCAAGGTGGAATCAAAC
Белок легкой цепи	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLPQNGYNY LDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSG TDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPRTFGQGTK VEIK

Последовательности ДНК и белковые последовательности  
зрелых вариабельных доменов антитела 23.28.1

ОПИСАНИЕ	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ
ДНК тяжелой цепи	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTG GTGAAGCCTTCGGACACCCTGTCCCTCACCTGCA CTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGAGGTTACTACTG GAGCTGGATCCGGCAGCCCCCTGGGAAGGGACT GGAGTGGATTGGGTATATCTATTACAGTGGGAGC ACCAACTACAACCCCTCCCTCAAGAGTCGAGTCA CCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTC CCTGAAGCTGAACTCTGTGACCGCTGCGGACACG GCCGTGTATTATTGTGCGAGAAAGGGGGGCCTCT ACGGTGACTACGGCTGGTTCGCCCCCTGGGGCCA GGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAG
Белок тяжелой цепи	QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCTVSGGSIRGYYS WIRQPPGKGLEWIGYIYSGSTNYPNPSLKSRVTISV DTSKNQFSLKLNSTAAADTAVYYCARKGGLYGDY GWFAPWGQGLTVTVSS
ДНК легкой цепи	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCCTGT CTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCGACTTA GCCTGGCACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCA GACTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCAC TGGCATCCAGACAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCT GGGACAGACTTCACTCTACCATCAGCAGACTGG AGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTGAGCA CTGTCGTAGCTTATTCATTTTCGGCCCTGGGACCA AAGTGGATATCAAAC
Белок легкой цепи	EIVLTQSPGTLSTLSPGERATLSCRASQSVSSDLAWH QQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTL TISRLEPEDFAVYYCQHCRSLFTFGPGTKVDIK
ДНК тяжелой цепи (вариабельный домен) (23.28.1H-D16E) (SEQ ID NO:97)	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTG GTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGCA CTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGAGGTTACTACTG GAGCTGGATCCGGCAGCCCCCTGGGAAGGGACT GGAGTGGATTGGGTATATCTATTACAGTGGGAGC ACCAACTACAACCCCTCCCTCAAGAGTCGAGTCA CCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTC CCTGAAGCTGAACTCTGTGACCGCTGCGGACACG GCCGTGTATTATTGTGCGAGAAAGGGGGGCCTCT ACGGTGACTACGGCTGGTTCGCCCCCTGGGGCCA GGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAG
ОПИСАНИЕ	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ
Белок тяжелой цепи (вариабельный домен) (23.28.1H-D16E) (SEQ ID NO:98)	QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCTVSGGSIRGYYS WIRQPPGKGLEWIGYIYSGSTNYPNPSLKSRVTISV DTSKNQFSLKLNSTAAADTAVYYCARKGGLYGDY GWFAPWGQGLTVTVSS

Таблица 12

Последовательности ДНК и белковые последовательности  
зрелых вариабельных доменов антитела 23.29.1

ОПИСАНИЕ	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ
ДНК тяжелой цепи	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTG GTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTACCTTCAGTAGCTATGCCAT GCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTG GAGTGGGTGGCAGTTATATCATATGATGGAAGTA ATAAATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATT CACCATCTACAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG TATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACA CGGCTGTGTATTACTGTGCGAGACGCGGTCACTA CGGGAATAATTACTACTCCTATTACGGTTTGGAC GTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCT CAG
Белок тяжелой цепи	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMH WVRQAPGKLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFT IYRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRGHYG NNYYSYYGLDVWGQGTITVTVSS
ДНК легкой цепи	GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCC CGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGC AGGTCTAGTCAGAGCCTCCTGCCTGGTAATGGAT ACAAC TATTGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGG GCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTA ATCGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTTCAAGTGG CAGTGGCTCAGGCACAGATTTTACACTGAAAATC AGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGATTTATT ACTGCATGCAAGCTCTACAAACTCCTCGGACGTT CGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAAC
Белок легкой цепи	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLPNGYNY LDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSG TDFTLKISRVEAEDVGIYYCMQALQTPRTFGQGTK VEIK

Последовательности ДНК и белковые последовательности  
зрелых переменных доменов антитела 24.2.1

ОПИСАНИЕ	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ
ДНК тяжелой цепи	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTG GTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGCA CTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGAGGTTACTACTG GAGCTGGATCCGGCAGCCCCCAGGGAAGGGACT GGAGTGGATTGGGTATATCTATTACAGTGGGAGC ACCAACTACAACCCCTCCCTCAAGAGTCGAGTCA CCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTC CCTGAAGCTGAGTTCTGTGACCGCTGCGGACACG GCCGTGTATTACTGTGCGAGAAGGGGGGGCCTCT ACGGTGACTACGGCTGGTTCGCCCCCTGGGGCCA GGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAG
Белок тяжелой цепи	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSIRGYYS WIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTNYPNPSLKSRVTISV DTSKNQFSKLSSVTAADTAVYYCARRGGGLYGDY GWFAPWGQGLTVTVSS
ДНК легкой цепи	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCACCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCA GGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCAC TGGCATCCCAGACAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCT GGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGG AGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCA GTATAGTAGCTTATTCACCTTCGGCCCTGGGACC AAAGTGGATATCAAAC
Белок легкой цепи	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSTYLAWY QQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSTDFTL TISRLEPEDFAVYYCQQYSSLFTFGPGTKVDIK

Последовательности ДНК и белковые последовательности антитела 21.2.1

ОПИСАНИЕ	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ (сигнальная последовательность подчеркнута)
ДНК тяжелой цепи	<p> <u>ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGGTTTTCTCGTTGC</u>  <u>TCTTTTAAGAGGTGTCCAGTGT</u>CAGGTGCAGCTG  GTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGG  AGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGAT  TCACCTTCAGTAGCTATGTCATGCACTGGGTCCG  CCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGC  AGTTATGTCATATGATGGAAGTAGTAAATACTAT  GCAAACCTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCA  GAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAAT  AAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTGTAT  TACTGTGCGAGAGATGGGGGTAAAGCAGTGCCTG  GTCCTGACTACTGGGGCCAGGGAATCCTGGTCAC  CGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTC  TTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCG  AGAGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGG  ACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAA  CTCAGGCGCTCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTC  CCAGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCT  CAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAACTTC  GGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACA  AGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGACAGTTG  AGCGCAAATGTTGTGTCGAGTGCCACCGTGCCC  AGCACACCTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTCCTC  TTCCCCCAAAACCAAGGACACCCTCATGATCT  CCCGGACCCCTGAGGTACGTGCGTGGTGGTGA  CGTGAGCCACGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAAC  TGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCA  AGACAAAGCCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGCA  CGTTCCGTGTGGTCAGCGTCTCACC GTTGTGCAC  CAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGC  AAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCAGCCCCCATCG  AGAAAACCATCTCCAAAACCAAGGGCAGCCCC  GAGAACACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCG  GGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGAC  CTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCAGCGACATC  GCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAG  AACAACTACAAGACCACACCTCCCATGCTGGACT  CCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACC  GTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTC  TTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACA  ACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCC  GGGTAAATGA </p>

Белок тяжелой цепи	<p>MEFGLSWVFLVALLRGVOCQVQLVESGGGVVQPG  RSLRLSCAASGFTFSSYVMHWVRQAPGKGLEWVA  VMSYDGSSKYYANSVKGRFTISRDN SKNTLYLQINS  LRAEDTAVYYCARDGGKAVPGPDYWGQGILVTVS  SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP  VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP  SSNFGTQTYTCNV D HKPSNTKVDK TVERKCCVECP  PCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD  VSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTF  RVVSVLTVVHQD WLN GKEYKCKVSNKGLPAPIEK  TISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK  GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFL  YSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKS  LSLSPGK</p>
ДНК легкой цепи	<p><u>ATGAGGCTCCCTGCTCAGCTCCTGGGGCTGCTAA</u>  <u>TGCTCTGGGTCTCTGGATCCAGTGGGGATATTGT</u>  GATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCGTCACCC  CTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAG  TCAGAGTGTTCTGTATAGTAATGGATACAACTAT  TTGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTC  CACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTAATCGGGCC  TCCGGGGTCCCTGACAGGTTCA GTGGCAGTGGAT  CAGGCACAGATTTTCACTGAAAATCAGCAGAGT  GGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCATG  CAAGTTTTACAACTCCATTCACTTTCGGCCCTGG  GACCAAAGTGGATATCAAACGAACTGTGGCTGCA  CCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCA  GTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGC  TGAATAACTTCTATCCAGAGAGGCCAAAGTACA  GTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAAC  TCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAG  GACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGC  TGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCT  ACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTC  GCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTG  TTAG</p>
Белок легкой цепи	<p><u>MRLPAOLLGLMLWVSGSSGDIVMTQSPLSLPVT</u>  <u>GEPAISCRSSQSVLYSNGYNYLDWYLQKPGQSPQL</u>  LIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEADV  GVYYCMQVLQTPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFP  PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA  LQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSLTLSKADYEKH  KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</p>



Последовательности ДНК и белковые последовательности антитела 22.1.1

ОПИСАНИЕ	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ (сигнальная последовательность подчеркнута)
ДНК тяжелой цепи	<p> <u>ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGGTTTTCTCGTTGC</u>  <u>TCTTTTAAGAGGTGTCCAGTGTCAAGTGCAACTG</u>  GTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGG  AGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGAT  TCACCTTCAGTCGCTATGGCATGCACTGGGTCCG  CCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGC  AGTTATATCATCTGATGGAGGTAATAAAATACTAT  GCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCA  GAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAAT  GAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTGTAT  TACTGTACGAGAAGAGGGACTGGAAAGACTTACT  ACCACTACTGTGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGG  GACCACGGTCACCGTCTCCTCAGCCTCCACCAAG  GGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCA  GGAGCACCTCCGAGAGCACAGCGGCCCTGGGCT  GCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGAC  GGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCTCTGACCAGCGGC  GTGCACACCTTCCCAGCTGTCTACAGTCTCAG  GACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCC  CTCCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACCTGC  AACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTG  GACAAGACAGTTGAGCGCAAATGTTGTGTGAGT  GCCCACCGTGCCCAGCACCACTGTGGCAGGACC  GTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAGGAC  ACCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACCGT  GCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCG  AGGTCCAGTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGA  GGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCACGGGAGGA  GCAGTTCAACAGCACGTTCCGTGTGGTCAGCGTC  CTCACCGTTGTGCACCAAGGACTGGCTGAACGGCA  AGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCC  TCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAAC  CAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACAC  CCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAAC  CAGGTACGCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCT  ACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCA  ATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACAC  CTCCCATGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTCTC  TACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGG  CAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGC  ATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGA  GCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA </p>

Белок тяжелой цепи	<p>MEFGLSWVFLVALLRGVOCQVQLVESGGGVVQPG  RSLRLSCAASGFTFSRYGMHWVRQAPGKLEWVA  VISSDGGNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN  SLRAEDTAVYYCTRRGTGKTYHYCGMDVWGQG  TTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVK  DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS  SVVTVPSSNFGTQTYTCNV D HKPSNTKVDKTV ERK  CCVECP PCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV  TCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPRE  EQFNSTFRVVS VLT V VHQDWLNGKEYCKVSNKG  LPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS  LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLD  SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHN  HYTQKSLSLSPGK</p>
ДНК легкой цепи	<p>ATGAGGCTCCCTGCTCAGCTCCTGGGGCTGCTAA  TGCTCTGGGTCTCTGGATCCAGTGGGGATATTGT  GATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCC  CTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAG  TCAGAGCCTCCTGTATAGTAATGGATATAACTAT  TTGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTC  CACACCTCCTGATCTATTTGGGTTCTAATCGGGCC  TCCGGGGTCCCTGACAGGTTCA GTGGCAGTGGTT  CAGGCACTGATTTTACACTGAAAATCAGCAGAGT  GGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCATG  CAAGCTCTACAACTCTCGGACGTT CGGCCAAG  GGACCAAGGTGGAATCAAACGAACTGTGGCTG  CACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAG  CAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCT  GCTGAATAACTTCTATCCAGAGAGGCCAAAAGTA  CAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTA  ACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCA  AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTTGAC  GCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGT  CTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGC  TCGCCCGTCAAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGT  GTTAG</p>
Белок легкой цепи	<p>MRLPAQLGLLMLWVSGSSGDIVMTQSPISLPVTP  GEPASISCRSSQSLLYSNGYNYLDWYLQKPGQSPHL  LIYLGSNRASGV PDRFSGSGGTDFTLKISRVEADV  GVYYCMQALQTPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFP  PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYFPREAKVQWKVDNA  LQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKH  KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</p>

Последовательности ДНК и белковые последовательности антитела 23.5.1

ОПИСАНИЕ	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ (сигнальная последовательность подчеркнута)
ДНК тяжелой цепи	<p> <u>ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGGTTTTCTCGTTGC</u>  <u>TCTTTTAAGAGGTGTCCAGTGCAGGTGCAGCTG</u>  GTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGG  AGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGTAGCCTCTGGATT  CACCTTCAGTAACTATGGCATGCACTGGGTCCGC  CAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCA  ATTATATCATATGATGGAAGTAATAAATACTATG  CAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCAACCATCTCCAG  AGACAATTCCAAGAACACGCTGTATGTGCAAATG  AACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTGTATT  ACTGTGCGAGACGCGGTCACTACGGGAGGGATT  CTACTCCTACTACGGTTTGGACGTCTGGGGCCAA  GGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAGCCTCCACCA  AGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTC  CAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCGGCCCTGGG  CTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTG  ACGGTGTGCTGGAAGTCAAGGCGCTCTGACCAGCG  GCGTGCACACCTTCCCAGCTGTCTACAGTCTCT  AGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTG  CCCTCCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACCT  GCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGG  TGGACAAGACAGTTGAGCGCAAATGTTGTGTGCA  GTGCCCACCGTGCCCAGCACCACTGTGGCAGGA  CCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAGG  ACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCAC  GTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCC  GAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGG  AGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCACGGGAGG  AGCAGTTCAACAGCACGTTCCGTGTGGTCAGCGT  CCTCACCGTTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGC  AAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGC  CTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAA  CCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACA  CCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAA  CCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTC  TACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGC  AATGGGCAGCCGGAGAACAATAACAAGACCACA  CCTCCCATGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCT  CTACAGCAAGCTACCGTGGACAAGAGCAGGTG  GCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATG  CATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGA  GCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA </p>

Белок тяжелой цепи	MEFGLSWVFLVALLRGVOCQVQLVESGGGVVQPG RSLRLSCVASGFTFSNYGMHWVRQAPGKLEWVA IISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYVQMNS LRAEDTAVYYCARRGHYGRDYYSYYGLDVWGQG TTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSNFGTQTYTCNVDPHKPSNTKVDKTVRK CCVECPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYCKCKVSNKG LPAPIEKTI SKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHN HYTQKSLSLSPGK
ДНК легкой цепи	ATGAGGCTCCCTGCTCAGCTCCTGGGGCTGCTAA TGCTCTGGGTCTCTGGATCCAGTGGGGATATTGT GATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCC CTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAG TCAGAGCCTCCTGCTGCTGTAATGGATAACAATAT TTGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTC CACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTAATCGGGCC TCCGGGGTCCCTGACAGGTTCACTGGCAGTGGAT CAGGCACAGATTTTACACTGAAAATCAGCAGAGT GGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCATG CAAGCTCTACAAACTCCTCGGACGTTCCGGCCAAG GGACCAAGGTGGAATCAAACGAAGTGTGGCTG CACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAG CAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTSTGTTGTGTGCCT GCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTA CAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTA ACTCCCAGGAGAGTGTACACAGAGCAGGACAGCA AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTTGAC GCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGT CTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGC TCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGT GTAA
Белок легкой цепи	MRLPAOLLGLMLWVSGSSGDIVMTQSPLSLPVTP GEPASISCRSSQSLPQNGYNYLDWYLOKPGQSPQL LIYLGSNRASGVPRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDV GVYYCMQALQTPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTAXVVCLLNNFYPRKAVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Последовательности ДНК и белковые последовательности антитела 23.28.1

ОПИСАНИЕ	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ (сигнальная последовательность подчеркнута)
ДНК тяжелой цепи	<u>ATGAAACATCTGTGGTTCTTCCTTCTCCTGGTGGC</u> <u>AGCTCCCAGATGGGTCTGTCCCAGGTGCAGCTG</u> CAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGG AGACCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGC TCCATCAGAGGTTACTACTGGAGCTGGATCCGGC AGCCCCCTGGGAAGGGACTGGAGTGGATTGGGT ATATCTATTACAGTGGGAGCACCAACTACAACCC CTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTAGAC ACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAACT CTGTGACCGCTGCGGACACGGCCGTGTATTATTG TGCGAGAAAGGGGGGCCTCTACGGTGAACACGG CTGGTTCGCCCCCTGGGGCCAGGGAACCTGGTC ACCGTCTCCTCAGCCTCCAACAAGGGCCCATCGG TCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCC GAGAGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAG GACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGA ACTCAGGCGCTCTGACCAGCGGCGTGCACACCTT CCCAGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCC TCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAACTT CGGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTAGATCAC AAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGACAGTT GAGCGCAAATGTTGTGTGAGTGCCACCGTGCC CAGCACCACTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTCCT CTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATC TCCCGGACCCCTGAGGTACGTGCGTGGTGGTGG ACGTGAGCCACGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCC AAGACAAAGCCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGC ACGTTCCGTGTGGTCAGCGTCTCACC GTTGTGC ACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGT GCAAGGTCTCCAACAAGGCCTCCAGCCCCCAT CGAGAAAACCATCTCCAAAACCAAAGGGCAGCC CCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCC CGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAACCTG ACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCAGCGACA TCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGG AGAACAAC TACAAGACCACACCTCCCATGCTGGA CTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCA CCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACG TCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCAC AACCCTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTC CGGGTAAATGA

Белок тяжелой цепи	<p> <u>MKHLWFFLLLVAAPRWVLSQVQLQESGPGLVKPS</u>            TSLTCTVSGGSIRGYYSWIRQPPGKLEWIGYTY            YSGSTNYPNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAA            DTAVYYCARKGGLYGDYGFAPWGQGTLVTVSS            ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV            TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS            SNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPP            CPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD            VSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTF            RVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEK            TISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK            GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPMLDSDGSFFL            YSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKS            LSLSPGK         </p>
ДНК легкой цепи	<p> <u>ATGGAAACCCAGCGCAGCTTCTCTCCTCCTGCT</u>  <u>ACTCTGGCTCCCAGAATCCACCGGAGAAATTGTG</u>            TTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCC            AGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGT            CAGAGTGTTAGCAGCAGCGACTTAGCCTGGCACC            AGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGACTCCTCAT            CTATGGTGCAATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCA            GACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACT            TCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGA            TTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCACTGTCGTAGCT            TATTCACCTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATAT            CAAACGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATC            TTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAA            CTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTAT            CCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGAT            AACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTG            TCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACA            GCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAG            ACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGT            CACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAG            AGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG         </p>
Белок легкой цепи	<p> <u>METPAOLLFLLLWLPESTGEIVLTQSPGTLSPGE</u>            RATLSCRASQSVSSDLAWHQKPGQAPRLLIYGA            SSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC            QHCRSLFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK            SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ            ESVTEQDSKSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACE            VTHQGLSPVTKSFNRGEC         </p>

Последовательности ДНК и белковые последовательности антитела 23.29.1

ОПИСАНИЕ	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ (сигнальная последовательность подчеркнута)
ДНК тяжелой цепи	<u>ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGGTTTTCTCGTTGC</u> <u>TCTTTTAAGAGGTGTCCAGTGT</u> CAGGTGCAACTG GTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGG AGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGAT TCACCTTCAGTAGCTATGCCATGCACTGGGTCCG CCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGC AGTTATATCATATGATGGAAGTAATAAATACTAT GCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTACA GAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAAT GAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTGTAT TACTGTGCGAGACGCGGTCACTACGGGAATAATT ACTACTCCTATTACGGTTTGGACGTCTGGGGCCA AGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAGCCTCCACC AAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCT CCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCGGCCCTGG GCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGT GACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCTCTGACCAGC GGCGTGACACCTTCCCAGCTGTCCTACAGTCCT CAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGT GCCCTCCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACC TGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAG GTGGACAAGACAGTTGAGCGCAAATGTTGTGTCTG AGTGCCCAACCGTGCCAGCACCACTGTGGCAGG ACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAG GACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCA CGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCC CGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTG GAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCACGGGAG GAGCAGTTCAACAGCACGTTCCTGTGGTCAAGC TCCTCACCGTTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGG CAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGG CCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAA ACCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTAC ACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGA ACCAGGTACGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTT CTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGC AATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACA CCTCCCATGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCT CTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTG GCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATG CATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGA GCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA

Белок тяжелой цепи	MEFGLSWVFLVALLRGVQCQVQLVESGGGVVQPG RSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKLEWVA VISYDGSNKYYADSVKGRFTIYRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARRGHYGNYYSSYYGLDVWGQ GTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVR KCCVECPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNK GLPAIEKTIKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPM LSDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFPSCSVMEAL HNHYTQKSLSLSPGK
ДНК легкой цепи	ATGAGGCTCCCTGCTCAGCTCCTGGGGCTGCTAA TGCTCTGGGTCTCTGGATCCAGTGGGGATATGT GATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCC CTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAG TCAGAGCCTCCTGCCTGGTAATGGATACTAAT TTGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTC CACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTAATCGGGCC TCCGGGGTCCCTGACAGGTTCACTGGCAGTGGCT CAGGCACAGATTTTAACTGAAAATCAGCAGAGT GGAGGCTGAGGATGTTGGGATTTATTACTGCATG CAAGCTCTACAACTCCTCGGACGTTCCGCCAAG GGACCAAGGTGGAAATCAAACGAACTGTGGCTG CACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAG CAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCT GCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTT CAGTGGAGGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTA ACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCA AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGAC GCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGT CTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGC TCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGT GTTAG
Белок легкой цепи	MRLPAQLLGLLMLWVSGSSGDIVMTQSPLSLPVT GEPASISCRSSQSLP GNGYNYLDWYLQKPGQSPQL LIYLGSNRASGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDV GIYYCMQALQTPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWRVDNA LQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC



ДНК легкой цепи (23.29.1LR174K) (SEQ ID NO:101)	ATGAGGCTCCCTGCTCAGCTCCTGGGGCTGCTAA TGCTCTGGGTCTCTGGATCCAAGTGGGGATATTGT GATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCCTCACCC CTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAG TCAGAGCCTCCTGCCTGGTAATGGATACAACTAT TTGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTC CACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTAATCGGGCC TCCGGGGTCCCTGACAGGTTCAAGTGGCAGTGGCT CAGGCACAGATTTTACACTGAAAATCAGCAGAGT GGAGGCTGAGGATGTTGGGATTTATTACTGCATG CAAGCTCTACAACTCCTCGGACGTTCCGGCCAAG GGACCAAGGTGGAAATCAAACGAACTGTGGCTG CACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAG CAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCT GCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTT CAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTA ACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCA AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGAC GCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGT CTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGC TCGCCCCTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGT GTTAG
Белок легкой цепи (23.29.1LR174K) (SEQ ID NO:101)	MRLPAQLLGLMLWVSGSSGDIVMTQSPLSLPVT GEPASISCRSSQSLLPGNGYNYLDWYLQKPGQSPQL LIYLGSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEADV GIYYCMQALQTPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Таблица 19

Последовательности ДНК и белковые последовательности антитела 24.2.1

ОПИСАНИЕ	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ (сигнальная последовательность подчеркнута)
ДНК тяжелой цепи	<u>ATGAAACATCTGTGGTTCTTCCTTCTCCTGGTGGC</u> <u>AGCTCCCAGATGGGTCCTGTCCCAGGTGCAGCTG</u> CAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGG AGACCCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGC TCCATCAGAGGTTACTACTGGAGCTGGATCCGGC AGCCCCCAGGGAAGGGACTGGAGTGGATTGGGT ATATCTATTACAGTGGGAGCACCAACTACAACCC CTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTAGAC ACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGTT CTGTGACCGCTGCGGACACGGCCGTGTATTACTG TGCGAGAAGGGGGGGCCTCTACGGTGACTACGG CTGGTTCGCCCCCTGGGGCCAGGGAACCCTGGTC ACCGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGG TCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCC GAGAGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAG GACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGGA ACTCAGGCGCTCTGACCAGCGGCGTGACACCTT CCCAGCTGTCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCC TCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAACTT CGGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTAGATCAC AAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGACAGTT GAGCGCAAATGTTGTGTGAGTGCCACCGTGCC CAGCACCACTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTCCT CTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATC TCCCGGACCCCTGAGGTCACGTGCGTGGTGGTGG ACGTGAGCCACGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCC AAGACAAAGCCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGC ACGTTCCGTGTGGTCAGCGTCCTACCGTTGTGC ACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGT GCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCAGCCCCAT CGAGAAAACCATCTCCAAAACCAAAGGGCAGCC CCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCCATCC CGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTG ACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCAGCGACA TCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGG AGAACAACCTACAAGACCACACCTCCCATGCTGGA CTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCA CCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACG TCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCAC AACCCTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTC CGGGTAAATGA

Белок тяжелой цепи	<p> <u>MKHLWFLLLVAA</u>PRWVLSQVQLOESGPGLVKPSE          TSLTCTVSGGSIRGYYSWIRQPPGKGLEWIGYTY          YSGSTNYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSNVTA          DTAVERYCARKGGLYGDYGWFAPWGQGLTVTVSS          ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV          TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS          SNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECP          CPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD          VSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTF          RVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEK          TISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK          GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSGDSFLL          YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKS          LSLSPGK       </p>
ДНК легкой цепи	<p> <u>ATGGAAACCC</u>CAGCGCAGCTTCTCTCTCTCTGCT          ACTCTGGCTCCCAGAATCCACCGGAGAAATTGTG          TTGACGCAGTCTCCAGGCACCTGTCTTTGTCTCC          AGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGT          CAGAGTGTTAGCAGCAGCGACTTAGCCTGGCACC          AGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGACTCCTCAT          CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCA          GACAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACT          TCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGA          TTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCACTGTCTGAGCT          TATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATAT          CAAACGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATC          TTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAA          CTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTAT          CCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGAT          AACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTG          TCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACA          GCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAG          ACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGT          CACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAG          AGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG       </p>
Белок легкой цепи	<p> <u>METPAOLLFL</u>LLLWLPESTGEIVLTQSPGTLISLSPGE          RATLSCRASQSVSSDLAWHQKPGQAPRLLIYGA          SSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC          QHCRSLFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK          SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ          ESVTEQDSKSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACE          VTHQGLSPVTKSFNRGEC       </p>

Таблица 20

Последовательности ДНК и белковые последовательности  
зрелых вариабельных доменов антитела 22.1.1H-C109A

ОПИСАНИЕ	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ (сигнальная последовательность подчеркнута)
ДНК тяжелой цепи (SEQ ID NO:95)	CAGGTGCAACTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTG GTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTACCTTCAGTCGCTATGGCAT GCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTG GAGTGGGTGGCAGTTATATCATCTGATGGAGGTA ATAAATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATT CACCATCTCCAGAGACAATCCAAGAACACGCTG TATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACA CGGCTGTGTATTACTGTACGAGAAGAGGGGCTGG AAAGACTTACTACCACTACGCCGGTATGGACGTC TGGGGCCAAGGGACCACGGTACCGTCTCCTCAG
Белок тяжелой цепи (SEQ ID NO:96)	QVQLVESGGGVVQPGRLRLSCAASGFTFSRYGMH WVRQAPGKGLEWVAVISSDGGNKYYADSVKGRFT ISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRGTGKT YYHYAGMDVWVGQGT TVVSS

Таблица 21

Последовательности ДНК и белковые последовательности  
зрелых вариабельных доменов антитела 23.28.1L-C92A

ОПИСАНИЕ	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ (сигнальная последовательность подчеркнута)
ДНК легкой цепи (SEQ ID NO:99)	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCGACTTA GCCTGGCACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCA GACTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCAC TGGCATCCAGACAGGTTCACTGGCAGTGGGTCT GGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGG AGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCA CGCCCGTAGCTTATTCACCTTCGGCCCTGGGACC AAAGTGGATATCAAAC
Белок легкой цепи (SEQ ID NO:100)	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSDLAWH QQKPGQAPRLLYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTL TISRLEPEDFAVYYCQHARSLFTFGPGTKVDIK

### Пример III.

Анализ аминокислотных замен тяжелой и легкой цепи.

На фиг. 1D-1H и 2D-2H представлено выравнивание последовательностей между предсказанными аминокислотными последовательностями вариабельного домена тяжелой цепи моноклональных антител 3.1.1, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 22.1.1H-C109A, 23.5.1, 23.28.1, 23.28.1H-D16E, 23.29.1 и 24.2.1-антитела, и аминокислотными последовательностями их соответствующих генов клеток зародышевой линии. Большинство CDR3-участков тяжелой цепи содержат аминокислотные вставки.

Ген DLR1, используемый для V<sub>H</sub>-домена антитела 21.4.1, кодирует два цистеиновых (Cys) остатка. Масс-спектрометрический анализ и моделирование гомологии демонстрируют, что два Cys-остатка связаны дисульфидной связью, и что данная дисульфидная связь не нарушает структуру данного антитела.

На фиг. 1A-1C и 2A-2C представлено выравнивание последовательностей между предсказанными аминокислотными последовательностями вариабельного домена легкой цепи моноклональных антител 3.1.1, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 23.5.1, 23.28.1, 23.28.1L-C92A, 23.29.1 и 24.2.1-клонов, и аминокислотными последовательностями их соответствующих генов клеток зародышевой линии. Легкие цепи этих антител получены из трех разных V<sub>k</sub>-генов. Семь из одиннадцати антител используют V<sub>k</sub>-ген A3/A19, шесть из которых обладает двумя мутациями на участке CDR1. Кроме того, пять из семи антител, которые используют V<sub>k</sub>-ген A3/A19, также используют V<sub>k</sub>-ген; у всех этих антител первая аминокислота, производимая J<sub>k</sub>1-геном, последовательно заменена с W на R.

Следует иметь в виду, что многие из вышеидентифицированных аминокислотных замен или вставок существуют в непосредственной близости или в пределах CDR. По-видимому, такие замены оказы-

вают некоторое влияние на связывание данного антитела с CD40-молекулой. Кроме того, такие замены могли бы оказывать существенное влияние на сродство данных антител.

#### Пример IV.

Перекрестная реактивность видов антител настоящего изобретения.

Осуществляют FACS-анализ для определения связывания и сродства антител настоящего изобретения с CD40 разных видов животных, в частности, некоторых видов обезьян Старого Света. Аликвоты цельной крови человека и обезьяны инкубируют в течение 1 ч на льду с увеличивающимися концентрациями проиллюстрированных здесь антител настоящего изобретения к CD40, или с антителом к гемоглобину запирающейся улитки-блюдечка (KLH) в качестве негативного контроля. Затем данные образцы инкубируют в течение 30 мин на льду с антителами человека к IgG2, конъюгированными с RPE (фикоэритрином). Проточной цитометрией измеряют CD19/CD20-позитивные В-клетки и с использованием программного обеспечения CellQuest анализируют гистограммы интенсивности флуоресценции (F12-H) в зависимости от числа клеток (Counts). По графикам средней интенсивности флуоресценции, в зависимости от концентрации антител, оценивают связывание ( $K_D$ ) для каждого антитела. Истощение антител контролируют путем измерения связывания в ряду клеточных концентраций.

Тестируют связывание антител 3.1.1, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1 и 21.4.1 с В-клетками человека, резуса-макаки и *суномолгус*. Тестируют также связывание антител 21.2.1, 22.1.1, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.29.1 и 24.2.1 с В-клетками человека и *суномолгус*.

Наблюдают, что максимальный сигнал и концентрация для половины максимального связывания антител с клетками обезьяны находятся в пределах коэффициента, изменяющего свое значение от двух единиц и до значения соответствующих параметров для В-клеток человека. Связывание не наблюдается в аналогичных экспериментах для крови мыши, крысы, кролика и собаки.

#### Пример V. Селективность антител по CD40.

Для определения селективности антител настоящего изобретения в отношении CD40 осуществляют другой *in vitro*-анализ.

ИФА-селективность по CD40. Материалы и методы.

96-луночный FluoroNUNC-планшет (Nunc Cat № 475515) покрывают четырьмя антигенами: CD40/Ig, CD44/Ig, RANK/Ig, 4-1BB/Ig, TNFR-1/Ig и TNFR-2/Ig (антигены собственного изготовления), в течение ночи при +4°C по 100 мкл/лунку, из расчета 1 мкг/мл в 0,1 М натрийбикарбонатном буфере, pH 9,6.

Затем этот планшет промывают три раза PBST (PBS + 0,1% Твин-20), и промытый планшет блокируют с помощью PBST+0,5%BSA в концентрации 150 мкл/лунку. Блокированный планшет инкубируют при комнатной температуре в течение 1 ч, после чего промывают трижды PBST. Далее, разбавляют полученные в примере I антитела против CD40 до концентрации 1 мкг/мл и приливают разбавленные антитела в этот планшет. Инкубируют данный планшет при комнатной температуре в течение 1 ч, затем трижды промывают PBST. После этого для блокирования обрабатывают данные лунки, которые содержат антитела, полученные в примере I, с помощью 100 мкл/лунку конъюгированных с HRP антител к IgG2 человека (Southern Biotech Cat № 9070-05) в разведении 1:4000. Кроме того, один ряд лунок обрабатывают антителом к IgG человека (Jackson Cat № 209-035-088), разведенного 1:5000 для блокирования и добавляемого в количестве 100 мкл/лунку для нормализации сенсibilизации планшета. Один ряд лунок обрабатывают также конъюгированным с HRP антителом человека к CD40 (Pharmingen Cat № 345815/Custora HRP conjugated) с разведением 0,05 мкг/мл в качестве позитивного контроля. Данный планшет инкубируют при комнатной температуре в течение 1 ч и затем трижды промывают PBST. К 100 мкл/лунку добавляют ТМВ-субстрат (K & P Labs) и этот планшет инкубируют в течение 5-10 мин. Затем прочитывают инкубированный планшет с использованием спектрофотометра Spectra-Max™. Полученные результаты свидетельствуют о том, что данные антитела обладают селективностью в отношении CD40 по меньшей мере в 100 раз выше, чем их селективность в отношении RANK, 4-1BB, TNFR-1 и TNFR-2, для которых специфичный сигнал CD40-- (CD40-сигнал минус фон) по меньшей мере 100X выше, чем соответствующий сигнал для других молекул.

#### Пример VI. Изучение классификации эпитопов.

Продemonстрировав, что антитела настоящего изобретения селективны в отношении CD40, осуществляют анализ конкурентного связывания с использованием BIAcore и FACS.

Изучение BIAcore-конкуренции.

Осуществляют BIAcore-конкурентное исследование, чтобы определить, связываются ли антитела настоящего изобретения к CD40 с одними и теми же или с разными участками на молекуле CD40.

В данных экспериментах используют прибор BIAcore 2000, следуя протоколам производителя. На поверхностях сенсорного чипа BIAcore иммобилизуют белок-A. CD40-Ig в насыщающей концентрации, который включает внеклеточный домен CD40, связывают с сенсорным чипом. Затем связывают агонист первого антитела человека настоящего изобретения к CD40, коммерческое антитело к CD40 или CD40L с сенсорным чипом, содержащим связанный в насыщающих условиях CD40. После этого измеряют способность агониста второго антитела человека настоящего изобретения к CD40 конкурировать с указан-

ным первым антителом, коммерческим антителом или CD40L за связывание с CD40. Данный метод позволяет определить антитела с разными связывающими группами. Связывание с CD40 свидетельствует об узнавании независимого эпитопа. Отсутствие связывания может свидетельствовать об узнавании одного и того же эпитопа, или о перекрывании эпитопов.

FACS-исследования.

Осуществляют FACS-исследования, чтобы определить, связываются ли антитела человека настоящего изобретения к CD40 с одним и тем же или с разными участками на данной CD-молекуле, и связываются ли они с одним и тем же или отличающимся участком на CD-молекуле, как у коммерчески доступных антител к CD40 EA5 (Alexis Cat. № ANC-300-050), LOB7/6 (Serotec MCA/590PE) и 5C3 (Pharmin-gen # 555458 (немеченый) и 555460 (меченый PE для FACS)).

Контрастноокрашенные дендритные клетки, обработанные антителами к CD40 настоящего изобретения, метят на льду в течение 30 мин с помощью PE-меченого антитела EA5 или PE-меченого антитела LOB7/6. После промывки окрашенные клетки анализируют на В-D-калибровочном цитометре. Уменьшенное связывание коммерческих антител интерпретируют в качестве указания того, что данное тестируемое антитело связано с одним и тем же, или с перекрывающимся эпитопом.

Анализ конкурентного связывания с помощью BIAcore и FACS показывает, что эпитопы, распознаваемые моАТ 21.4.1-антителами, перекрываются с эпитопом, распознаваемым EA5-антителом, но не перекрываются с эпитопом, распознаваемым коммерчески доступным LOB7/6-антителом, и не перекрываются с сайтом, связывающим CD40L.

Эпитопы, распознаваемые остальными антителами перекрываются с сайтом, связывающим CD40L.

В табл. 22 суммированы результаты изучения классификации эпитопов.

Таблица 22

ВIAcore-конкурентная классификация эпитопов  
некоторых антител к CD40 настоящего изобретения

	EA5	5C3	LOB7/6	3.1.1, 21.2.1, 22.1.1, 23.5.1, 23.29.1	21.4.1	23.25.1, 23.28.1, 24.2.1	CD40L
EA5	X	X			X		X
5C3	X	X			X	X	X
LOB7/6			X	X		X	X
3.1.1, 21.2.1, 22.1.1, 23.5.1, 23.29.1,			X	X			X
21.4.1	X	X			X		
23.25.1, 23.28.1, 24.2.1		X	X			X	X
CD40L	X	X	X	X		X	X

Пример VII.

Регуляция поверхностных молекул антителами к CD40.

Осуществляют анализ цельной крови, чтобы выяснить регулируют ли антитела к CD40 настоящего изобретения экспрессию молекул на поверхности В-клеток.

Цельную кровь человека или обезьяны разбавляют 1:1 средой RPMI и инкубируют 24 ч с разными концентрациями агониста CD40-антител или контрольными антителами. Клетки окрашивают в течение 30 мин (на льду, в темноте) на HLA-DR, ICAM, B7-1, B7-2, CD19/CD20, CD40, CD23 и CD71 с использованием коммерчески доступных реагентов для флуорохромного мечения антител. Затем окрашенные клетки анализируют на FACS-калибраторе (Becton-Dickinson). В-клетки идентифицируют путем пропускания через CD19- или CD20-позитивные клетки, а активацию маркеров определяют по этому прохождению.

Максимальное кратное увеличение средней флуоресценции (при  $\leq 1$  мкг/мл антитела), и среднюю  $EC_{50}$ , получают с использованием одного из заявленных в настоящем изобретении антител к CD40 (21.4.1), которые представлены в табл. 23.

Таблица 23

Регуляция молекул на поверхности В-клеток с помощью антитела к CD40 настоящего изобретения

	Максимальная кратность увеличения	ЕС <sub>50</sub> (нг/мл)
	Средняя +/- ст.откл.	Средняя +/- ст.откл.
МНС II	4,50+/-0,52	3,85+/-0,35
CD71	2,30+/-0,77	0,73+/-0,28
ICAM	4,52+/-2,42	15,3+/-7,3
CD23	69,9+/-25,8	19,0+/-4,4
B7-2	2,74+/-0,14	16,0+/-21,9

Осуществляют также эксперименты по определению способности антител человека к CD40 настоящего изобретения регулировать экспрессию молекул на поверхности происходящей из моноцита дендритной клетки.

Получение моноцит-производных дендритных клеток.

Периферическую кровь собирают от здоровых людей-добровольцев. Выделяют моноядерные клетки с использованием пробирок Sigma Accuspin (St. Louis, MO), которые ополаскивают средой RPMI (Gibco BRL, Rockville, MD) и помещают их в колбы для тканевого культивирования с концентрацией клеток  $5 \times 10^6$ /мл в полной среде RPMI (содержащей 100 Ед./мл пенициллина/стрептомицина, 10 мМ буфера HEPES, 2 мМ глутамин, 0,1 мМ заменимых аминокислот; все от Gibco BRL); и 10% околплодной сыворотки теленка (Hyclone, Logan, Utah). После 3 ч инкубации при 37°C (5% CO<sub>2</sub>), удаляют не прилипшие клетки и выделяют Т-клетки с использованием селективных колонок (R&D systems, Minneapolis, MN). Прилипшие клетки промывают средой RPMI и инкубируют в течение 7 дней в полной среде RPMI с добавлением 10 нг/мл IL-4 (R&D systems) и 100 нг/мл GM-CSF (R&D systems). Затем выделяют не прилипшие клетки и применяют их во всех экспериментах в качестве моноцит-производных дендритных клеток (mDC). Оставшиеся прилипшие клетки удаляют с использованием трипсина/ЭДТА и применяют в экспериментах, использующих прилипшие моноциты.

Для определения способности антител к CD40 настоящего изобретения регулировать экспрессию маркеров клеточной поверхности, моноцит-производные дендритные клетки культивируют с разными концентрациями агонистов антител в течение 48-72 ч с последующим окрашиванием (30 мин на льду, в темноте) на наличие HLA-DR, ICAM, B7-1, B7-2, CD40 и CD83 с использованием коммерчески доступных меченных флуорохромом антительных реагентов. Затем окрашенные клетки анализируют на FACS-калибраторе (Becton-Dickinson).

Максимальная кратность увеличения средней флуоресценции (при  $\leq 1$  мкг/мл антитела) и среднее ЕС<sub>50</sub>, получаемые с использованием одного из заявленных в настоящем изобретении антител к CD40 (21.4.1), представлены в табл. 24.

Таблица 24

Регуляция молекул на поверхности дендритных клеток с помощью антитела настоящего изобретения к CD40

	Максимальная кратность увеличения	ЕС <sub>50</sub> (нг/мл)
	Среднее +/- ст.откл.	Среднее +/- ст.откл.
МНС II	7,7+/-5,6	252+/-353
CD83	36,3+/-42,2	233+/-262
ICAM	10,4+/-4,8	241+/-140
B7-2	21,9+/-9,4	71,4+/-44,4

Аналогичные эксперименты осуществляют с В-клетками и mDC с использованием разных антител настоящего изобретения к CD40 и дополнительных маркеров. Измеряют экспрессию молекул на поверхности В-клеток (МНС-II, ICAM, B7-1, B7-2 и CD23), как описано выше, но с использованием 1 мкг/мл антитела к CD40. Результаты данного эксперимента представлены в табл. 25. Экспрессию молекул на поверхности дендритных клеток (МНС-II, ICAM, B7-1, B7-2 и CD83) измеряют через 72 ч, как указано выше, но с использованием 1 мкг/мл антитела к CD40. Результаты данного эксперимента представлены в табл. 26. В табл. 25-26 представлены кратность увеличения средней интенсивности  $\pm$  стандартное отклонение.

Таблица 25

Регуляция молекул на поверхности В-клеток с помощью  
антител настоящего изобретения к CD40

	<b>МНС, Класс II</b>	<b>ICAM (CD54)</b>	<b>B7-1 (CD80)</b>	<b>B7-2 (CD86)</b>	<b>CD23</b>
	<b>В-клетка</b>	<b>В-клетка</b>	<b>В-клетка</b>	<b>В-клетка</b>	<b>В-клетка</b>
3.1.1	3,2+/-2,6	1,3+/-0,2	1,7+/-0,2	1,2+/-0,4	5,6+/-4,8
21.2.1	1,2+/-0,2	1,3+/-0,9	0,9+/-0,5	1,0+/-0,04	1,0+/-0,1
21.4.1	3,6+/-3,0	5,0+/-3,0	1,9+/-0,8	1,8+/-0,7	21,5+/-34,8
22.1.1	1,4+/-0,5	1,1+/-0,2	1,2+/-0,3	1,0+/-0,1	1,3+/-0,2
23.5.1	1,4+/-0,5	1,1+/-0,2	1,4+/-0,6	1,0+/-0,1	1,1+/-0,2
23.25.1	2,5+/-1,1	2,5+/-0,9	1,6+/-0,4	1,3+/-0,2	4,3+/-2,3
23.28.1	1,1+/-0,2	1,1+/-0,2	1,8+/-0,6	1,0+/-0,1	1,1+/-0,4
23.29.1	1,2+/-0,2	1,0+/-0,2	1,3+/-0,6	0,9+/-0,2	1,1+/-0,1
24.2.1	1,8+/-1,0	1,6+/-0,8	1,1+/-0,4	1,1+/-0,2	0,9+/-0,6

Таблица 26

Регуляция молекул на поверхности дендритных клеток  
с помощью антител настоящего изобретения к CD40

	<b>МНС, Класс II</b>	<b>ICAM (CD54)</b>	<b>B7-1 (CD80)</b>	<b>B7-2 (CD86)</b>	<b>CD23</b>
	<b>DC</b>	<b>DC</b>	<b>DC</b>	<b>DC</b>	<b>DC</b>
3.1.1	4,4+/-2,4	1,5+/-0,7	1,8+/-0,9	23,7+/-33,5	15,2+/-18,2
21.2.1	1,8+/-1,3	1,5+/-0,9	0,9+/-0,4	7,4+/-10,5	10,8+/-16,5
21.4.1	5,0+/-3,8	3,7+/-1,4	1,5+/-1,1	12,9+/-13,3	48,6+/-49,5
22.1.1	2,3+/-1,2	1,6+/-0,7	1,4+/-1,0	16,3+/-25,5	12,0+/-17,0
23.5.1	2,3+/-1,8	1,2+/-0,5	1,1+/-0,6	10,7+/-17,5	9,2+/-11,1
23.25.1	2,1+/-1,8	2,4+/-1,0	1,1+/-0,5	3,3+/-4,2	13,6+/-28,9
23.28.1	2,4+/-1,7	2,7+/-2,1	1,3+/-0,6	10,6+/-17,5	18,3+/-22,6
23.29.1	2,0+/-1,5	1,2+/-0,4	0,9+/-0,5	8,4+/-10,6	10,6+/-13,1
24.2.1	4,7+/-3,0	2,1+/-1,2	3,8+/-3,8	56,6+/-95,8	31,2+/-28,4

В табл. 27 сравнивают регуляцию молекул клеточной поверхности дендритных клеток относительно В-клеток по соотношению среднего кратного увеличения в дендритных клетках относительно среднего кратного увеличения в В-клетках.

Таблица 27

Регуляция молекул клеточной поверхности  
дендритных клеток относительно В-клеток

	<b>B7-1 (CD80)</b>	<b>B7-2 (CD86)</b>	<b>МНС, класс II</b>	<b>ICAM (CD54)</b>
3.1.1	1,08	19,40	1,38	1,15
21.2.1	1,01	7,37	1,49	1,12
21.4.1	0,77	7,04	1,37	0,74
22.1.1	1,18	16,36	1,61	1,44
23.5.1	0,83	10,54	1,59	1,06
23.25.1	0,66	2,57	0,85	0,98
23.28.1	0,71	10,81	2,16	2,57
23.29.1	0,73	9,07	1,66	1,23
24.2.1	3,48	52,30	2,64	1,35

Пример VIII.

Усиление секреции цитокинов.

Осуществляют анализ моноцит-производных дендритных клеток, чтобы выяснить, усиливают ли антитела человека к CD40 настоящего изобретения секрецию IL-12p40, IL-12p70 и IL-8.

Моноцит-производные дендритные клетки и адгезивные моноциты получают, как описано выше.



Клетки культивируют в присутствии антитела настоящего изобретения к CD40 (21.4.1) или с гемоцианином запирающейся улитки-блюдечка (KLN). Через 24 ч в супернатантах измеряют содержание данных цитокинов с помощью ИФА (R&D systems). В некоторых исследованиях (см. табл. 28) моноцит-производные дендритные клетки обрабатывают данным антителом, которое костимулируют либо 100 нг/мл LPS (Sigma), 1000 Ед./мл IFN $\gamma$  (R&D systems) или 25 нг/мл IL-1 $\beta$  (R&D systems).

Антитело к CD40 усиливает образование IL-12p40, IL-12p70 и IL-8 и в моноцит-производных дендритных клетках и в адгезивных моноцитах. Присутствие LPS дополнительно усиливает образование IL-12p40 и IL-12p70. И только в супернатантах дендритных клеток, инкубируемых с изотипом контрольного антитела к KLN, детектируются минимальные уровни цитокинов. Репрезентативные результаты представлены в табл. 28 и на фиг. 3 и 4. В табл. 28 суммируются данные по основным цитокинам, производимым дендритными клетками или адгезивными моноцитами, под воздействием 1 мкг/мл антитела настоящего изобретения к CD40 (21.4.1)  $\pm$  100 нг/мл LPS. Как показано на фиг. 3, антитело к CD40 усиливает образование IL-12p40, благодаря дендритным клеткам человека. Фиг. 4 иллюстрирует усиленное образование IL-12p70, благодаря дендритным клеткам человека в присутствии данного антитела и 100 нг/мл LPS.

Таблица 28  
Усиление секреции IL-12p40, IL-12p70 и IL-8 под воздействием антитела настоящего изобретения к CD40

Тип клетки	Обработка		Индуктируемый цитокин		
	Антитело 1 мкг/мл	LPS 100 нг/мл	IL- 12p40 пг/мл	IL-12p70 пг/мл	IL-8 пг/мл
Дендритные клетки	21.4.1	+	32252	1000	НО
	21.4.1	-	1200	76	1200
	анти-KLN	+	14280	352	НО
	анти-KLN	-	200	4	150
Адгезивный моноцит	21.4.1	-	НО	НО	7000
	21.4.1	+	НО	425	НО
	анти-KLN	-	НО	НО	400
	анти-KLN	+	НО	30	НО

НО = не определено

Аналогичные эксперименты осуществляют с использованием многих антител настоящего изобретения к CD40. Моноцит-производные дендритные клетки получают, как описано выше, и культивируют в присутствии разных концентраций антител к CD40 и костимулируют с помощью 100 нг/мл LPS (Sigma). Содержание IL-12p70 измеряют в супернатанте через 24 ч с помощью ИФА (R&D systems) и для каждого антитела определяют EC<sub>50</sub>. Результаты данных экспериментов представлены в табл. 29.

Таблица 29  
Усиление секреции IL-12p70 дендритными клетками

Клон антитела	ДС IL-12p70	
	EC <sub>50</sub> мкг/мл	Max пг/мл
21.4.1	0,3	1796-7004
22.1.1	0,1	720-1040
23.25.1	0,2	540-960
23.5.1	0,1	676-1112
24.2.1	0,2	754-3680
3.1.1	0,2	668-960
23.28.1	0,2	1332-1404
23.29.1	0,1	852-900
21.2.1	0,03	656-872

Протестирована также способность антител настоящего изобретения против CD40 усиливать секрецию гамма-IFN Т-клеток в анализе аллогенных Т-клеток/дендритных клеток. Для осуществления данного анализа из периферической крови здоровых добровольцев выделяют Т-клетки и моноциты. Моно-

циты дифференцируют на дендритные клетки с использованием вышеописанных способов.  $1 \times 10^5$  Т-клеток, полученных от индивида, культивируют с  $1 \times 10^5$  дендритными клетками, полученными от разных индивидов в присутствии антитела настоящего изобретения к CD40 или в присутствии контрольного антитела. После 4 дней культивирования, полученные супернатанты анализируют с помощью ИФА относительно секреции гамма-IFN. Результаты данного анализа представлены в табл. 30.

Таблица 30

Усиление секреции гамма-IFN с помощью антител  
настоящего изобретения к CD40

Клон антитела	Алло-DC/INF $\gamma$	
	EC <sub>50</sub> мкг/мл	Max пг/мл
21.4.1	0,3	212
22.1.1	0,3	110-180
23.25.1	0,3	180-232
23.5.1	0,2	150-240
24.2.1	0,2	111-194
3.1.1	0,1	100-195
23.28.1	0,2	120-190
23.29.1	0,3	134-150
21.2.1	0,03	230-256

Пример IX.

Индукция воспалительных цитокинов антителами настоящего изобретения к CD40.

Антитела 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1 и 3.1.1 тестируют в анализе по высвобождению цитокинов в цельной крови, описанном у Wing et al., Therapeutic. Immunol. 2:183-90 (1995), чтобы определить, индуцируются ли воспалительные цитокины под воздействием антител в концентрации 1, 10 и 100 мкг/мл. С данными антителами при указанных концентрациях в крови от 10 нормальных доноров существенного высвобождения TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$  или IL-6 не наблюдается.

Пример X.

Усиление иммуногенности клеточной линии Ю с помощью антител к CD40.

CD-позитивные JIYOYE-клетки (ATCC CCL 87) ("Ю-клетки") культивируют и поддерживают в RPMI-среде. JIYOYE-клетки инкубируют в течение 24 ч с антителом настоящего изобретения к CD40 (24.4.1), или с изотипом соответствующего антитела (против KLH), в полной RPMI-среде. Затем клетки промывают и обрабатывают 25 мг митомицин C (Sigma)/7 мл среды в течение 60 мин. Затем эти клетки инкубируют с выделенными Т-клетками человека в соотношении 1:100 в течение 6 дней при 37°C (5% CO<sub>2</sub>). После этого Т-клетки собирают, промывают и определяют уровень CTL-активности против JIYOYE-клеток, недавно помеченных <sup>51</sup>хромом (New England Nuclear, Boston, MA). Специфическую CTL-активность вычисляют в виде % специфического цитолиза=(цитолizu Ю (cpm) - спонтанный цитолиз (cpm))/(полный цитолиз (cpm) - спонтанный цитолиз (cpm)).

Как следует из иллюстрации на фиг. 5, антитело настоящего изобретения к CD40 (21.4.1) существенно повышает иммуногенность против Ю-клеток, обработанных с помощью данного антитела.

Пример XI.

Животная модель опухоли.

Для дальнейшего исследования противоопухолевой активности антител к CD40, сделанных в соответствии с настоящим изобретением, создают SCID-beige-мышиную модель для проверки in vivo влияния данного антитела на рост злокачественной опухоли.

Из Charles River получают SCID-beige-мышей и в течение недели акклимируют их перед использованием в опыт. Клетки опухоли Daudi-клетки (ATCC CCL 213), CD40(-), K562-клетки (ATCC CCL 243) и CD40(+) Raji-клетки (ATCC CCL 86), злокачественные клетки молочной железы BT474 (ATCC HTB 20) или PC-3-клетки предстательной железы (ATCC CRL 1435) инъецируют подкожно в концентрации  $1 \times 10^7$  клеток/животное. В некоторых случаях Т-клетки ( $5 \times 10^5$ ) и дендритные клетки ( $1 \times 10^5$ ) от одного и того же человека-донора инъецируют вместе с клетками опухоли. Инъецируют также антитело настоящего изобретения к CD40, или соответствующий контрольный изотип (против KLH), внутрибрюшинно, непосредственно перед инъекцией клеток опухоли (только одна инъекция). Затем измеряют рост опухоли. Конкретные эксперименты описываются ниже.

В одном из экспериментов инъецируют антитело настоящего изобретения к CD40 (21.4.1), или соответствующий контрольный изотип (против KLH), внутрибрюшинно, в дозе 10 мг/кг непосредственно

перед инъекцией клеток опухоли (только одна инъекция). Клетки опухоли (Daudi-клетки) инъекцируют подкожно в концентрации  $1 \times 10^7$  клеток/животное. Рост опухоли измеряют с помощью штангенциркуля на 17, 19, 20, 21, 25, 26, 27 и 28 дни после имплантации в присутствии Т-клеток человека и дендритных клеток. Как показано на фиг. 6, антитело к CD40 подавляет рост опухоли, примерно, на [60]%.

В другом эксперименте антитело настоящего изобретения к CD40 (21.4.1), или соответствующий контрольный изотип (против KLH), инъекцируют внутрибрюшинно в дозе 0,1 мг/кг или 10 мг/кг непосредственно перед инъекцией клеток опухоли (только одна инъекция). Клетки опухоли (K562-клетки) инъекцируют подкожно в концентрации  $1 \times 10^7$  клеток/животное. В данном эксперименте Т-клетки ( $5 \times 10^5$ ) и дендритные клетки ( $1 \times 10^5$ ) от одного и того же человека-донора инъекцируют вместе с клетками опухоли. Рост опухоли измеряют с помощью штангенциркуля на 17, 19, 20, 21, 25, 26, 27 и 28 день после имплантации. Как показано на фиг. 7, антитело к CD40 ингибирует рост опухоли на 60-85%.

В другом эксперименте антитело настоящего изобретения к CD40 (21.4.1, 23.29.1 или 3.1.1), или соответствующий контрольный изотип (против KLH), инъекцируют внутрибрюшинно непосредственно перед инъекцией клеток злокачественной опухоли (только одна инъекция). Соответствующий контрольный изотип данного антитела и антитело 21.4.1 инъекцируют в дозе 1 мг/мл. Антитела 23.29.1. и 3.1.1 инъекцируют в дозе 0,1, 0,01, 0,001 или 0,0001 мг/кг. Клетки злокачественной опухоли (K562-клетки) инъекцируют подкожно в концентрации  $1 \times 10^7$  клеток/животное. В данном эксперименте Т-клетки ( $5 \times 10^5$ ) и дендритные клетки ( $1 \times 10^5$ ) от одного и того же человека-донора инъекцируют вместе с данными клетками злокачественной опухоли. Затем с помощью штангенциркуля измеряют рост злокачественной опухоли на 28-й день после имплантации. Результаты данного эксперимента представлены на фиг. 8 и 9. Каждая точка на этих фигурах соответствует измерению на отдельном животном.

В другом эксперименте антитело настоящего изобретения к CD40 (21.4.1), или соответствующий контрольный изотип (против KLH), инъекцируют внутрибрюшинно непосредственно перед инъекцией клеток опухоли (только одна инъекция). Указанные антитела инъекцируют в дозе 0,1, 0,01, 0,001 или 0,0001 мг/кг. Клетки опухоли (Raji-клетки) инъекцируют подкожно в концентрации  $1 \times 10^7$  клеток/животное. Некоторым животным Т-клетки ( $5 \times 10^5$ ) и дендритные клетки ( $1 \times 10^5$ ) от одного и того же человека-донора инъекцируют вместе с данными клетками опухоли. Затем на 28-й день после имплантации измеряют рост опухоли с помощью штангенциркуля. Результаты данного эксперимента представлены на фиг. 10. Каждая точка на данной фигуре соответствует измерению на отдельном животном.

Еще в одном эксперименте антитело настоящего изобретения к CD40 (21.4.1, 23.28.1, 3.1.1 или 23.5.1), или соответствующий контрольный изотип (против KLH), инъекцируют внутрибрюшинно непосредственно перед инъекцией клеток опухоли (только одна инъекция). Указанные антитела инъекцируют в дозе 1 или 0,1 мг/кг. Клетки опухоли (Raji-клетки) инъекцируют подкожно в концентрации  $1 \times 10^7$  клеток/животное. Затем на 28-й день после имплантации измеряют рост опухоли с помощью штангенциркуля. Результаты данного эксперимента представлены на фиг. 11. Каждая точка на данной фигуре соответствует измерению на отдельном животном.

Еще в одном эксперименте антитело настоящего изобретения к CD40 (21.4.1, 23.29.1 или 3.1.1), или соответствующий контрольный изотип (против KLH), инъекцируют внутрибрюшинно непосредственно перед инъекцией клеток опухоли (только одна инъекция). Указанные антитела инъекцируют в дозе 1 мг/кг. Клетки опухоли (BT474-клетки злокачественной опухоли молочной железы) инъекцируют подкожно в концентрации  $1 \times 10^7$  клеток/животное. Т-клетки ( $5 \times 10^5$ ) и дендритные клетки ( $1 \times 10^5$ ) от одного и того же донора инъекцируют вместе с данными клетками опухоли. Затем с помощью штангенциркуля измеряют рост злокачественной опухоли на 39-й день после имплантации. Как показано на фиг. 12, все указанные антитела ингибируют рост злокачественной опухоли молочной железы. Каждая точка на данной фигуре соответствует измерению на отдельном животном.

Еще в одном эксперименте антитело настоящего изобретения к CD40 (3.1.1), или соответствующий контрольный изотип (против KLH), инъекцируют внутрибрюшинно непосредственно перед инъекцией клеток опухоли (только одна инъекция). Указанные антитела инъекцируют в дозе 1 мг/кг. Клетки опухоли (PC-3-клетки опухоли предстательной железы) инъекцируют подкожно в концентрации  $1 \times 10^7$  клеток/животное. Затем с помощью штангенциркуля измеряют рост опухоли на 41-й день после имплантации. Как показано на фиг. 13, антитело к CD40 ингибирует рост опухоли предстательной железы, примерно, на 60%. Каждая точка на данной фигуре соответствует измерению на отдельном животном.

#### Пример XII.

Выживаемость SCID-beige-мышей, инъекцированных Daudi-клетками опухоли и обработанных антителами настоящего изобретения к CD40.

В другом эксперименте мышей инъекцируют антителом настоящего изобретения к CD40, или соответствующим контрольным изотипом (одна инъекция), внутрибрюшинно, непосредственно перед инъекцией клетками опухоли. Данные антитела инъекцируют в дозе 1 или 0,1 мг/кг. Клетки опухоли (Daudi-клетки) инъекцируют внутривенно в дозе  $5 \times 10^6$  клеток/животное. Затем наблюдают за выживаемостью животного. Как показано на фиг. 14, все испытываемые антитела к CD40 пролонгируют выживаемость мышей, инъекцированных клетками опухоли по меньшей мере на шесть дней.

В табл. 31 представлены ED<sub>50</sub> антител к CD40 в разных моделях солидной опухоли, описанных в примере XI. В табл. 31 суммирована противоопухолевая активность in vivo некоторых антител настоящего изобретения к CD40 у SCID-мышей. Кроме того, в данной таблице приведены ED<sub>50</sub> антител к CD40 для модели системной злокачественной опухоли Daudi, описанной выше в примере XII.

Таблица 31

ED<sub>50</sub> антител настоящего изобретения к CD40 при использовании  
разных in vivo-моделей опухоли у SCID-мышей

Антитело	CD40 (-) K562 & T/DC подкожно (мг/кг)	CD40 (+) Raji & T/DC подкожно (мг/кг)	CD40 (+) Raji подкожно (мг/кг)	CD40 (+) Daudi внутривенно (мг/кг)
21.4.1	0,005	0,0008	0,016	0,1
22.1.1	0,01	НО	>1,0	0,1
23.25.1	≥1,0	НО	>1,0	НО
23.5.1	>1,0	НО	≥1,0	НО
24.2.1	>1,0	НО	>1,0	НО
3.1.1	0,02	НО	≥0,1	≤0,1
23.28.1	>1,0	НО	≥0,1	0,1
23.29.1	0,009	НО	>1,0	≤0,1
21.2.1	≤1,0	НО	НО	НО

НО = не определено

Пример XIII.

Определение констант (K<sub>D</sub>) сродства полноразмерных человеческих антител к CD40 с помощью BIAcore.

Осуществляют измерение сродства выделенных очисткой антител с использованием прибора BIAcore 3000, следуя протоколам производителя.

Прибор для анализа биосенсорного биоспецифического взаимодействия (BIAcore) использует поверхностный плазмонный резонанс для измерения молекулярных взаимодействий на сенсорном чипе CM5. Изменения в лучепреломляющих индексах между двумя средами, стеклом и карбоксиметилированным декстраном, вызываемое взаимодействием молекул на декстрановой стороне данного сенсорного чипа, измеряют и передают в виде изменений в произвольных единицах отражательной способности (RU), что детализируется в прилагаемых замечаниях производителя.

Карбоксиметилированная декстрановая поверхность проточной кюветы в сенсорном чипе активируется при образовании 0,05 М N-гидроксисукцинимид в присутствии 0,2 М N-этил-N'-(диметиламинопропил)карбодиимида в течение 7 мин. Слитый белок CD40-Ig (описанный в примере I) в концентрации 5 мкг/мл, в 10 mM Na-ацетате, pH 3,5, вручную вливают в проточную кювету со скоростью 5 мкл/мин и ковалентно иммобилизуют на поверхности данной проточной кюветы с требуемым количеством RU. Дезактивирование непрореагировавших сложных эфиров N-гидроксисукцинимид осуществляют с использованием 1 М этаноламингидрохлорида, pH 8,5. После иммобилизации данные проточные кюветы очищают от любого непрореагировавшего или неудачно связавшегося материала с помощью пяти восстанавливающих добавлений по 5 мкл 50 mM NaOH до стабильного базового состояния. Проточная кювета 2, с очень плотной поверхностью, измеряет, приблизительно, 300 RU после подготовки поверхности, а проточная кювета 3, с очень низкой плотностью, измеряет, приблизительно, 150 RU. В проточную кювету 1, с активируемой чистой поверхностью, во время иммобилизации вместо антигена вливают 35 мкл 10 mM Na-ацетатного буфера. Проточная кювета 4 содержит приблизительно 450 RU иммобилизованного CTLA4-Ig, постороннего контрольного антигена.

Последовательные разведения каждого антитела готовят в диапазоне концентраций от 100 до 0,1 мкг/мл. Скорость потока устанавливают 5 мкл/мин и 25 мкл данного образца каждой концентрации вводят в сенсорный чип вместе с регенерационным вливанием 5 мкл 50 mM NaOH между каждой концентрацией вводимого антитела. Полученные данные анализируют с использованием программного обеспечения BIAevaluation 3.0.

Для обратноориентированных кинетических экспериментов антитело 21.4.1 иммобилизуют на поверхности данного сенсорного чипа с использованием вышеописанного протокола. Антитело против KLN используют в качестве контрольной антительной поверхности. Антиген, слитый белок CD40-Ig, вводят в диапазоне концентраций от 100 до 0,1 мкг/мл.

В табл. 32 представлены результаты измерения сродства для соответствующих антител настоящего изобретения к CD40.

Таблица 32

Измерение сродства для антител настоящего изобретения к CD40

Антитело	$K_{on}$ (1/Мс)	$K_{off}$ (1/с)	$K_D$ (М)
3.1.1	$1,12 \times 10^6$	$3,31 \times 10^{-5}$	$3,95 \times 10^{-11}$
10.8.3	$2,22 \times 10^5$	$4,48 \times 10^{-7}$	$2,23 \times 10^{-12}$
15.1.1	$8,30 \times 10^4$	$2,83 \times 10^{-7}$	$4,05 \times 10^{-12}$
21.4.1	$8,26 \times 10^4$	$2,23 \times 10^{-5}$	$3,48 \times 10^{-10}$
22.1.1	$9,55 \times 10^5$	$1,55 \times 10^{-4}$	$2,79 \times 10^{-10}$
23.25.1	$3,83 \times 10^5$	$1,65 \times 10^{-7}$	$7,78 \times 10^{-12}$
23.28.1	$7,30 \times 10^5$	$8,11 \times 10^{-5}$	$1,61 \times 10^{-10}$
23.29.1	$3,54 \times 10^5$	$3,90 \times 10^{-5}$	$7,04 \times 10^{-11}$

Пример XIV.

Картирование эпитопа антител к CD40.

Анализ связывания осуществляют с использованием выделенного очисткой белком А слитого антигена CD40-FC IgG1 человека. Слитый белок CD40-Fc IgG1 человека клонируют в Pfizer. Слитый белок CD40-IgG1 человека экспрессируют в клеточной линии млекопитающего и выделяют очисткой на колонке с белком А. Степень очистки полученного слитого антигена оценивают с помощью SDS/ПААГ.

CD40 обладает структурой обычного трансмембранного белка типа I. Его зрелая молекула состоит из 277 аминокислот. Внеклеточный домен CD40 состоит из четырех TNFR-подобных богатых цистеином доменов. См., например, Neismith and Sprang, TIBS 23:74-79 (1998); van Kooten and Banchereau, J. Leukocyte Biol. 67:2-17 (2000); Stamenkovic et al., EMBO J. 8:1403-1410 (1989).

Связывание антител к CD40 с восстановленным и невосстановленным CD40 человека.

Так как внеклеточный домен CD40 состоит из четырех богатых цистеином доменов, разрыв внутримолекулярных связей с помощью восстанавливающего агента может изменить реактивность антитела. Чтобы определить, происходит ли разрыв внутримолекулярных связей с помощью восстанавливающего агента, изменяется ли реактивность отобранных антител настоящего изобретения к CD40, выделенный очисткой CD40-hIgG вносят в SDS/ПААГ (4-20%-й гель) в невосстанавливающих (NR) или в восстанавливающих (R) условиях. SDS/ПААГ осуществляют по методу Laemmli с использованием мини-гелевой системы. Разделенные белки переносят на нитроцеллюлозную мембрану. Мембраны блокируют с использованием PBS, содержащим 5% (мас./об.) обезжиренного молока по меньшей мере в течение 1 ч до проявления, и зондируют в течение 1 ч с помощью каждого антитела. Антитела к CD40 детектируют с использованием конъюгированных с HRP антител козы против иммуноглобулинов человека (разведение 1:8000; № по каталогу A-8667 Sigma). Мембраны проявляют с использованием усиленной хемилюминесценции (ECL®; Amersham Bioscience) в соответствии с инструкциями производителя.

Затем полученный вестерн-блот зондируют четырьмя антителами настоящего изобретения к CD40: 21.4.1, 23.25.1, 23.29.1 и 24.2.1 (1 мкг/мл) и затем конъюгированными с HRP антителами козы против IgG человека (разведение 1:8000). Результаты данного эксперимента представлены на фиг. 15. Полученные результаты свидетельствуют, что 21.4.1, 23.25.1, 23.29.1 и 24.2.1 связывают невосстановленный CD40 и не связывают восстановленный CD40, таким образом, данные антитела распознают конформационный эпитоп.

Связывание антител к CD40 с белками человека с удаленным CD40-доменом.

Внеклеточная область CD40 включает четыре TNFR-подобных повторяющихся домена (именуемых D1-D4). См., например, Neismith and Sprang, TIBS 23:74-79 (1998); van Kooten and Banchereau, J. Leukocyte Biol. 67:2-17 (2000); Stamenkovic et al., EMBO J. 8:1403-1410 (1989). На фиг. 16 представлены аминокислотные последовательности CD40-доменов D1-D4 мыши и человека. Чтобы исследовать вклад разных участков CD40-молекулы в представляемый эпитоп, сконструировали ряд мутантов с удаленным доменом.

Для создания конструкций с элюминированным CD40 человека полный внеклеточный домен CD40 человека (аминокислоты 1-193) с помощью ПЦР амплифицируют из кДНК (CD19+) В-клеток человека (кДНК-панели многих тканей, № по каталогу K1428-1, от Clontech) с использованием праймер-специфичных последовательностей, а на С-конец прикрепляют 6XHis-метку. 5'-праймер CD40 человека 5'-GCAAGCTTCAACCAATGGTTCGTCTGCCTCTGCAGTG-3' (SEQ ID NO: 135) используют в разных сочетаниях с 3'-праймерами для клонирования полноразмерной и укороченной молекулы CD40.

3'-праймер для клонирования полноразмерного внеклеточного домена CD40 человека представляет собой 5'-TCAGTGATGGTGATGGTGATGTCTCAGCCGATCCTGGGGACCA-3' (SEQ ID NO: 136).

3'-праймер, используемый для клонирования D1-D3-доменов CD40 человека, представляет собой 5'-TCAGTGATGGTGATGGTGATGTGGGCAGGGCTCGCGATGGTAT-3' (SEQ ID NO: 137).

3'-праймер, используемый для клонирования D1-D2-доменов CD40, представляет собой 5'-TCAGTGATGGTGTGATGGTGTGACAGGTGCAGATGGTGTCTGTT-3' (SEQ ID NO: 138).

После того, как из кДНК укороченного CD40 были созданы данные конструкции, их экспрессируют в клетках линии 293F с использованием вектора pCR3.1 (Invitrogen). Слитые белки CD40-6XHis выделяют очисткой путем элюирования на колонке с никелем.

Аминокислотные последовательности этих четырех делеционных мутантов представлены в табл. 33.

Таблица 33

Слитые белки CD40-His-метка

Делеционный мутант	Аминокислотная последовательность (лидерная последовательность подчеркнута)
CD40-6XHis человека (полноразмерный внеклеточный домен)-	<u>MVRLPLOCVLWGCLLTAVHPEPPTACREKQYLINS</u> QCCSLCQPGQKLVS DCTEFTETEC LPC GESEFLDTWNRETHCHQH KYCDPNLGLRVQ QKGT SETDTICTCEEGWHCTSEACESC VLHRS CSPGFGVKQLATGVSDTICEPCPV GFFSNVSSAFEK CHPWTSCETKDLVVQ QAGTNKTDVVC GPQDRHHHHHH (SEQ ID NO: 139)
CD40 (D1-D3)-6XHis человека	<u>MVRLPLOCVLWGCLLTAVHPEPPTACREKQYLINS</u> QCCSLCQPGQKLVS DCTEFTETEC LPC GESEFLDTWNRETHCHQH KYCDPNLGLRVQ QKGT SETDTICTCEEGWHCTSEACESC VLHRS CSPGFGVKQLATGVSDTICEPCPHHHHHHH (SEQ ID NO: 140)
Делеционный мутант	Аминокислотная последовательность (лидерная последовательность подчеркнута)
CD40 (D1-D2)-6XHis человека	<u>MVRLPLOCVLWGCLLTAVHPEPPTACREKQYLINS</u> QCCSLCQPGQKLVS DCTEFTETEC LPC GESEFLDTWNRETHCHQH KYCDPNLGLRVQ QKGT SETDTICTCHHHHHHH (SEQ ID NO: 141)

Для экспрессии этих делеционных конструкций CD40 человека данные конструкции клонируют в вектор pCR3.1 (Invitrogen) и экспрессию оценивают в различных стабильных и кратковременно трансфицированных линиях 293F-клеток. Супернатанты кратковременно трансфицированных 293F-клеток анализируют с помощью ИФА и Вестерн-блота на связывание с антителами 21.4.1, 23.25.1, 23.29.1 и 24.2.1.

ИФА-анализ осуществляют с использованием супернатанта из клеток 293F, трансфицированных различными CD40-конструкциями. ИФА-планшеты покрывают козьими поликлональными антителами к CD40 человека (R&D catalog № AF 632) или козьими поликлональными антителами к CD40 мыши (R&D catalog № AF 440), разбавленными до 1 мкг/мл ИФА-буфером для сенсibilизации поверхности планшета. Экспрессирование CD-конструкций в 293F-клетках подтверждают путем детектирования биотинилированных козьих антител к CD40 человека (R&D № по каталогу AF 632), козьих антител к CD40 мыши (R&D catalog № AF 440), или HRP-конъюгированным антителом против His (С-концевая) (Invitrogen, Catalog № 46-0707). Связывание антител человека к CD40 детектируют с помощью HRP-конъюгированных козьих антител против IgG человека (Fc specific Caltag H10507), разбавленных 1:2000. Полученные результаты, представленные в табл. 34, указывают, что большинство, если не все, эпитопов, распознаваемых с помощью монАТ 21.4.1, 23.28.1 и 23.29.1, локализируются в D1-D2-области CD40, а эпитоп для монАТ 24.2.1 локализуется, по меньшей мере, отчасти в домене D3-D4. Слитый белок CD40 человека-Fc кролика используют в качестве контроля для подтверждения специфичности связывания антител.

Таблица 34

ИФА: связывание антител с CD40-делеционными мутантами

	<b>CD40 (D1-D2) человека-6XHis</b>	<b>CD40 (D1-D3) человека-6XHis</b>	<b>CD40 человека- 6XHis</b>
21.4.1	+	+	+
23.25.1	+	+	+
23.29.1	+	+	+
24.2.1	-	+	+
Антитело против His	+	+	+
Антитело против RbIg	НО	НО	НО

CD40-делеционные конструкции анализируют также в Вестерн-блот-анализе. Полученные результаты представлены в табл. 35. Результаты ИФА показывают, что в сайте связывания антител 21.4.1, 23.25.1, 23.29.1 и 24.2.1 участвуют домены D1-D3. Данные результаты показывают также, что сайт связывания антител 21.4.1, 23.25.1 и 23.29.1 содержит домены D1-D2, и что сайт связывания антитела 24.2.1 содержит домен D3.

Таблица 35

Вестерн-блот: связывание антитела с CD40-делеционным мутантом

	<b>CD40 (D1-D3) человека-6XHis</b>	<b>CD40 человека-6XHis</b>
21.4.1	+	+
23.25.1	+	+
23.29.1	+	+
24.2.1	+	+
Антитело против His	+	+
Антитело против RbIg	НО	НО

Связывание антител к CD40 с CD40 мыши.

Определим способность антител 21.4.1, 23.25.1, 23.29.1 и 24.2.1 связывать CD40 мыши.

Для данного эксперимента CD40 мыши амплифицируют из кДНК В-клеток мыши. Слитый белок CD40(D1-D3) мыши-6xHis клонируют в pCR3.1, в котором используют для запуска транскрипции CMV-промотор.

5'-праймер, используемый для клонирования внеклеточного домена CD40 мыши, представляет собой 5'-TGCAAGCTTCACCATGGTGTCTTTGCCTCGGCTGTG-3'.

3'-праймер, используемый для клонирования D1-D3-доменов CD40 мыши, представляет собой 5'-GTCCTCGAGTCAGTGATGGTGTGATGGTGTGTTGGCAGGGATGACAGAC-3'.

кДНК-конструкции мыши и человека временно трансфицируют в 293Р-клетки. Экспрессию рекомбинантного CD40 детектируют с помощью ИФА с использованием поликлональных антител против CD40 мыши и человека, антител против His и антителами к CD40 21.4.1, 23.25.1, 23.29.1 и 24.2.1. Результаты этих экспериментов представлены в табл. 36. Данный эксперимент показывает, что все антитела специфичны по CD40 человека и не реагируют перекрестно с CD40 мыши.

Таблица 36

Перекрестная реактивность CD40 мыши и человека

	<b>CD40 (D1-D3) мыши-6Xhis</b>	<b>CD40 (D1-D3) человека-6XHis</b>
21.4.1	Нет	Да
23.25.1	Нет	Да
23.29.1	Нет	Да
24.2.1	Нет	Да
Козыи антитела против CD40 человека	Нет	Да
Козыи антитела против CD40 мыши	Да	Нет
Антитела против His	Да	Да

Связывание антител к CD40 с химерным человек/мышь CD40.

Так как антитела 21.4.1, 23.25.1, 23.29.1 и 24.2.1 не связывают CD40 мыши, конструируют химерные белки человек/мышь CD40 для более определенных картированных эпитопов таких антител.

Для создания внутрирамочных слияний химерных белков из CD40 человека и мыши используют уникальные сайты рестрикции на границах CD40-доменов в идентичных позициях кДНК CD40 человека и мыши. Создают различные кДНК-овые конструкции CD40 с использованием сайта рестрикции EcoRI на конце домена 1 (нуклеотид 244, аминокислота 64) и сайта рестрикции BanI на конце домена 2 (нуклеотид 330, аминокислота 94 (фиг. 17)).

Различные CD40-домены амплифицируют с помощью ПЦР и лигируют. Данный подход позволяет заменить всевозможные домены мышинового CD40 гомологичными доменами CD40 человека. Полученные конструкции представлены на фиг. 18.

Затем определяют, способны ли антитела 21.4.1, 23.25.1, 23.29.1 и 24.2.1 связать химерные мышь/человек CD40-белки в ИФА. Результаты данного эксперимента представлены в табл. 37. Как показано в табл. 37, монАТ 21.4.1 и 23.25.1 распознают эпитоп, который локализован частично в D1 и частично в D2; монАТ 23.29.1 распознает эпитоп, локализованный по большей части, если не полностью, в D2; а монАТ 24.2.1 распознает эпитоп, локализованный в D2 и D3.

Таблица 37

Связывание антител с химерными CD40-белками

<b>Антитело</b>	<b>ЧелD1</b>	<b>ЧелD2</b>	<b>ЧелD3</b>	<b>ЧелD1, D2</b>	<b>ЧелD2, D3</b>	<b>ЧелD1, D3</b>
21.4.1	Нет	Нет	Нет	Да	Нет	Нет
23.25.1	Нет	Нет	Нет	Да	Нет	Нет
23.29.1	Нет	Да	Нет	Да	Да	Нет
24.2.1	Нет	Нет	Нет	Нет	Да	Нет

Все публикации и патентные заявки, цитируемые в настоящем описании, включены здесь путем ссылки, как если бы каждая индивидуальная публикация или патентная заявка были конкретно и индивидуально указаны для включения путем ссылки. Несмотря на то что вышеизложенное изобретение описано в некотором отношении подробно в виде иллюстраций и примеров, в целях внесения ясности в его понимание рядовым специалистам в данной области должно быть очевидным в свете указаний настоящего изобретения, что в нем могут быть сделаны определенные изменения и модификации, не выходящие за рамки существа или содержания настоящего изобретения.



## Список последовательностей

<110> ABGENIX, INC.  
PFIZER PRODUCTS INC.

<120> АНТИТЕЛА К CD40

<130> ABX-PF/3 PCT

<140> PCT/US02/36107

<141> 2002-11-08

<150> 60/348,980

<151> 2001-11-09

<160> 147

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 378

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 1

```

cagggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccctcagt agttatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcaaagg atggaggtaa taaataccat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa tgcgctgtat 240
ctgcaaatga atagcctgag agttgaagac acggctgtgt attactgtgt gagaagaggg 300
catcagctgg ttctgggata ctactactac aacggctctgg acgtctgggg ccaagggacc 360
acggtcaccg tctctca                                     378

```

<210> 2

<211> 126

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

```

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

```

Val Arg Arg Gly His Gln Leu Val Leu Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Asn Gly  
 100 105 110

Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115 120 125

<210> 3  
 <211> 336  
 <212> ДНК  
 <213> Homo sapiens

<400> 3  
 gatattgtgc tgactcagtc tccactctcc ctgcccgta cccctggaga gccggcctcc 60  
 atctctcgca ggtctagtc gacctcttg tatagtaatg gatacaactt ttgggattgg 120  
 tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctctgatct atttgggttc taatcgggcc 180  
 tccggggctc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaac 240  
 agcagattgg aggctgagga tggtggggtt tattactgca tgcaagctct acaaacctct 300  
 cggacgttcg gcccaaggac caaggtggaa atcaaa 336

<210> 4  
 <211> 112  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 4  
 Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser  
 20 25 30  
 Asn Gly Tyr Asn Phe Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
 35 40 45  
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro  
 50 55 60  
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
 65 70 75 80  
 Ser Arg Leu Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala  
 85 90 95  
 Leu Gln Thr Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105 110

<210> 5  
 <211> 1416  
 <212> ДНК  
 <213> Homo sapiens

<400> 5  
 atggagtttg ggtgagctg ggttttctc gttgctctt taagaggtgt ccagtgtcag 60  
 gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcgtg gtccagcctg ggaggtccct gagactctcc 120  
 tgtgcagcct ctggattcac cttcagtagt tatggcatgc actgggtccg ccaggctcca 180

```

ggcaaggggc tggagtgggt ggcagttata tcaaaggatg gaggtaataa ataccatgca 240
gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaatgc gctgtatctg 300
caaatgaata gcctgagagt tgaagacacg gctgtgtatt actgtgtgag aagagggcat 360
cagctggttc tgggatacta ctactacaac ggtctggacg tctggggcca agggaccacg 420
gtcaccgtct cctcagcctc caccaagggc ccatcggtct tccccctggc gccctgctcc 480
aggagacact ccgagagcac agcgccctg ggcctgctgg tcaaggacta ctccccgaa 540
ccggtgacgg tgcgtggaa ctcaggcgct ctgaccagcg gcgtgcacac ctcccagct 600
gtcctacagt cctcaggact ctactccctc agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcaac 660
ttcggcacc cagacctacac ctgcaacgta gatcacaagc ccagcaacac caaggtggac 720
aagacagttg agcgcaaatg ttgtgtcgag tgcccaccgt gccagcacc acctgtggca 780
ggaccgtcag tcttctctct cccccaaaa cccaaggaca cctcatgat ctccgggacc 840
cctgaggtca cgtgcgtggt ggtggacgtg agccacgaag accccgaggt ccagttcaac 900
tggtagctgg acggcgtgga ggtgcataat gccaaagcaa agccacggga ggagcagttc 960
aacagcacgt tccgtgtggt cagcgtcttc accgttgtgc accaggactg gctgaacggc 1020
aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa ggctctccag ccccatcga gaaaaccatc 1080
tccaaaacca aagggcagcc ccgagaacca caggtgtaca cctgcccc atccggggag 1140
gagatgacca agaaccaggt cagcctgacc tgccctgtca aaggcttcta cccagcgac 1200
atgcctgtgg agtgggagag caatgggcag ccggagaaca actacaagac cacacctccc 1260
atgctggact ccgacggctc cttctctctc tacagcaagc tcaccgtgga caagagcagg 1320
tggcagcagg ggaacgtctt ctcctgctcc gtgatgcatg aggctctgca caaccactac 1380
acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt aatga 1416

```

<210> 6

<211> 471

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

```

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

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
      20              25             30

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

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

Glu Trp Val Ala Val Ile Ser Lys Asp Gly Gly Asn Lys Tyr His Ala
      65              70             75             80

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

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

Tyr Tyr Cys Val Arg Arg Gly His Gln Leu Val Leu Gly Tyr Tyr Tyr
      115             120            125

Tyr Asn Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
      130             135            140

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

```

Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp  
 165 170 175  
 Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr  
 180 185 190  
 Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr  
 195 200 205  
 Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln  
 210 215 220  
 Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp  
 225 230 235 240  
 Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala  
 245 250 255  
 Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys  
 260 265 270  
 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val  
 275 280 285  
 Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp  
 290 295 300  
 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe  
 305 310 315 320  
 Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp  
 325 330 335  
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu  
 340 345 350  
 Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg  
 355 360 365  
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys  
 370 375 380  
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp  
 385 390 395 400  
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys  
 405 410 415  
 Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser  
 420 425 430  
 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser  
 435 440 445  
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser  
 450 455 460

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
465 470

<210> 7  
<211> 720  
<212> DHK  
<213> Homo sapiens

<400> 7  
atgaggctcc ctgctcagct cctggggctg ctaatgctct gggctctctgg atccagtggg 60  
gatattgtgc tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 120  
abctcctgca ggtctagtca gaggctcttg tatagtaatg gatacaactt tttggattgg 180  
tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctccctgatct atttgggttc taatcggggc 240  
tccgggggtcc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagatittac actgaaaac 300  
agcagattgg aggctgagga tgttgggggtt tattactgca tgcaagctct acaaaactcc 360  
cggacgttcg gccaaaggac caagggtggaa atcaaacgaa ctgtggctgc accatctgtc 420  
ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcttg 480  
ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtggg aggtggataa cgccctccaa 540  
tcgggtaact cccaggagag tgctcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc 600  
agcagcacc tgacgtgag caaagcagac tacgagaaac acaaagleta cgctgcgaa 660  
gtcaccctac agggcctgag ctgcccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgttag 720

<210> 8  
<211> 239  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 8  
Met Arg Leu Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Met Leu Trp Val Ser  
1 5 10 15  
Gly Ser Ser Gly Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro  
20 25 30  
Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser  
35 40 45  
Leu Leu Tyr Ser Asn Gly Tyr Asn Phe Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys  
50 55 60  
Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala  
65 70 75 80  
Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe  
85 90 95  
Thr Leu Lys Ile Ser Arg Leu Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr  
100 105 110  
Cys Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys  
115 120 125  
Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro  
130 135 140

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

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

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

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

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

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

<210> 9

<211> 387

<212> DHK

<213> Homo sapiens

<400> 9

caggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtggtccagc ctggggaggtc cctgagactc 60  
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120  
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcaaatg atggagataa taaataccat 180  
gcagactccg tgtggggccg attcaccatc tccagagaca attccaggag cagcctttat 240  
ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtat attactgtgc gagaagagggc 300  
atgggggtcta gtggggagccg tggggattac tactactact acggtttggg cgtctggggc 360  
caagggaacca cggtcaccgt ctctctca 387

<210> 10

<211> 129

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 10

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

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

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

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

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

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

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

Tyr Tyr Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser  
 115 120 125

Ser

<210> 11  
 <211> 336  
 <212> DHK  
 <213> Homo sapiens

<400> 11  
 gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60  
 atctctctgca ggtctagtca gagcctcttg tatagtaatg gatacaactt tttggattgg 120  
 tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctctctgatct atttgggttc taatcggggc 180  
 tccgggggtcc ctgacagggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 240  
 agcagagtgg aggctgagga tgttgggggtt tattactgca tgcaagctct acaaactcct 300  
 cggacgttcg gccaaaggac caaggtggaa atcaaa 336

<210> 12  
 <211> 112  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 12  
 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 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser  
 20 25 30  
 Asn Gly Tyr Asn Phe Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
 35 40 45  
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro  
 50 55 60  
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
 65 70 75 80  
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala  
 85 90 95  
 Leu Gln Thr Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105 110

<210> 13  
 <211> 1425  
 <212> DHK  
 <213> Homo sapiens

<400> 13  
 atggagtttg ggctgagctg ggttttcctc gttgctcttt taagaggtgt ccagtgtcag 60

```

gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcgtg gtccagcctg ggagggtccct gagactctcc 120
tgtgcagcct ctggattcac cttcagtagc tatggcatgc actgggtccg ccagggtcca 180
ggcaaggggc tggagtgggt ggcagttata tcaaatgatg gagataataa ataccatgca 240
gactccgtgt ggggcccgtt caccatctcc agagacaatt ccaggagcac gctttatctg 300
caaatgaaca gcctgagagc tgaggacacg gctgtatatt actgtgctgag aagaggcatg 360
gggtctagtg ggagccgtgg ggattactac tactactacg gtttggacgt ctggggccaa 420
gggaccacgg tcaccgtctc ctcagcctcc accaagggcc catcgggtctt ccccctggcg 480
ccctgctcca ggagcacctc cgagagcaca gcgccctctg gctgcctggt caaggactac 540
ttccccgaac cggtagcggg gtctgtggaac tcaggcgctc tgaccagcgg cgtgcacacc 600
ttcccagctg tctacagtc ctcaggactc tactccctca gcagcgtggt gaccgtgccc 660
tccagcaact tcggcaccca gacctacacc tgcaacgtag atcacaagcc cagcaacacc 720
aagggtggaca agacagttga gcgcaaatgt tgtgtcagat gccaccctg cccagcacca 780
cctgtggcag gaccgtcagt cttctctctt ccccaaaaac ccaaggacac cctcatgatc 840
tcccggaccc ctgaggtcac gtgcgtggtg gtggacgtga gccacgaaga ccccgaggte 900
cagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag gtgcataatg ccaagacaaa gccacgggag 960
gagcagttca acagcacgtt ccgtgtggtc agcgtctctc ccgttgtgca ccaggactgg 1020
ctgaacggca aggagtacaa gtgcaaggtc tccaacaaag gcctcccagc ccccatcgag 1080
aaaaccatct ccaaaaccaa agggcagccc cgagaaccac aggtgtacac cctgccccca 1140
tccccggagg agatgacca gaaccaggtc agcctgacct gcctggtcaa aggcttctac 1200
cccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc 1260
acacctccca tgctggactc cgacggctcc ttcttctctt acagcaagct caccgtggac 1320
aagagcaggt ggcagcaggg gaacgtcttc tcatgctccg tgatgcatga ggctctgcac 1380
aaccactaca cgcagaagag cctctccctg tctccgggta aatga 1425

```

<210> 14  
 <211> 474  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

```

<400> 14
Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly
 1             5             10             15

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
      20             25             30

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

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

Glu Trp Val Ala Val Ile Ser Asn Asp Gly Asp Asn Lys Tyr His Ala
      65             70             75             80

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

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

Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Gly Met Gly Ser Ser Gly Ser Arg Gly Asp
      115            120            125

Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val
      130            135            140

```



Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
 145 150 155 160  
 Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
 165 170 175  
 Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
 180 185 190  
 Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
 195 200 205  
 Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe  
 210 215 220  
 Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr  
 225 230 235 240  
 Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro  
 245 250 255  
 Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro  
 260 265 270  
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys  
 275 280 285  
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp  
 290 295 300  
 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu  
 305 310 315 320  
 Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val  
 325 330 335  
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn  
 340 345 350  
 Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly  
 355 360 365  
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu  
 370 375 380  
 Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr  
 385 390 395 400  
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn  
 405 410 415  
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe  
 420 425 430  
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn  
 435 440 445

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr  
 450 455 460

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 465 470

<210> 15  
 <211> 720  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<400> 15  
 atgaggctcc ctgctcagct cctggggctg ctaatgctct gggctctctgg atccagtggg 60  
 gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 120  
 atctcctgca ggtctagtca gagcctcttg tatagtaatg gatacaactt tttggattgg 180  
 tacttgca gaagcaggga gtctccacag ctcttgatct atttgggttc taatcgggac 240  
 tccgggggtcc ctgacagggt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 300  
 agcagagtgg aggtcaggga tgttgggggt tattactgca tgcaagctct acaaaactct 360  
 cggacgttcg gccaaggga caaggtggaa atcaaacgaa ctgtggctgc accatctgtc 420  
 ttcattctcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcttg 480  
 ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtga aggtggataa cgcctccaa 540  
 tcgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc 600  
 agcagcaccc tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa 660  
 gtcaccatc agggcctgag ctgcccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgttag 720

<210> 16  
 <211> 239  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 16  
 Met Arg Leu Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Met Leu Trp Val Ser  
 1 5 10 15  
 Gly Ser Ser Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro  
 20 25 30  
 Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser  
 35 40 45  
 Leu Leu Tyr Ser Asn Gly Tyr Asn Phe Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys  
 50 55 60  
 Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala  
 65 70 75 80  
 Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe  
 85 90 95  
 Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr  
 100 105 110  
 Cys Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys  
 115 120 125

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

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

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

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

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

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

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

<210> 17  
 <211> 357  
 <212> DHK  
 <213> Homo sapiens

<400> 17  
 cagggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc ctccggagac cctgtccctc 60  
 acctgcactg tctctggtgg ctccatcagt agttactact ggatctggat ccggcagccc 120  
 gccgggaagg gactggaatg gattgggcgt gtctatacca gtgggagcac caactacaac 180  
 cctccctca agagtcgagt caccatgtca gtagacacgt ccaagaacca gttctccctg 240  
 aagctgagct ctgtgaccgc cgcggacacg gccgtgtatt actgtgagag agatgggtctt 300  
 tacaggggggt acggtatgga cgtctggggc caagggacca cggtcaccgt ctctca 357

<210> 18  
 <211> 119  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 18  
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu  
 1 5 10 15

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

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

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

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

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

Arg Asp Gly Leu Tyr Arg Gly Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly  
100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 19

<211> 321

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 19

gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60  
atcacttgtc gggcgagtc gccatttagc agctgggttag cctgggtatca gcagaaacca 120  
gggaaagccc ctaaactcct gatttattct gccctcgggtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180  
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240  
gaagattttg caacttacta ttgtcaacag actgacagtt tcccgcctac ttccggcggc 300  
gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 20

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 20

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

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

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

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

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

<210> 21

<211> 1395

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

&lt;400&gt; 21

```

atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt cctgtcccag 60
gtgcagctgc aggagtcggg cccaggactg gtgaagcctt cggagaccct gtccctcacc 120
tgcactgtct ctgggtggctc catcagtagt tactactgga tctggatccg gcagcccggc 180
gggaaggggac tggaatggat tgggcgtgtc tataccagtg ggagcaccaa ctacaacccc 240
tccctcaaga gtcgagtcac catgtcagta gacacgtcca agaaccagtt ctccctgaag 300
ctgagctctg tgaccgcccg ggacacggcc gtgtattact gtgcgagaga tggctctttac 360
aggggggtacg gtatggacgt ctggggccaa gggaccacgg tcaccgtctc ctcagcctcc 420
accaagggcc catcgggtctt cccctggcg cctgtctcca ggagcacctc cgagagcaca 480
gcggccctgg gctgcctggg caaggactac ttcccgaac cggtgacggg gtctgtggaac 540
tcaggcgctc tgaccagcgg cgtgcacacc ttcccagctg tctacagtc ctcaggactc 600
tactccctca gcagcgtggg gaccgtgccc tccagcaact tcggcaccca gacctacacc 660
tgcaacgtag atcacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agacagttga gcgcaaatgt 720
tgtgtcagat gccaccctg cccagcacca cctgtggcag gaccgtcagt ctctctcttc 780
cccccaaac ccaaggacac cctcatgac tcccggacc ctgaggtcac gtgcgtgggtg 840
gtggacgtga gccacgaaga ccccgaggtc cagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag 900
gtgcataatg ccaagacaaa gccacgggag gagcagttca acagcacgtt ccgtgtggtc 960
agcgtctctc ccgttgtgca ccaggactgg ctgaacggca aggagtacaa gtgcaaggtc 1020
tccaacaaag gctcccagc ccccatcgag aaaaaccatc caaaaaccaa agggcagccc 1080
cgagaaccac aggtgtacac cctgcccga tcccggagg agatgaccaa gaaccaggtc 1140
agcctgacct gcctgggtcaa aggcctctac cccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc 1200
aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc acacctccca tgcgtggactc cgacggctcc 1260
ttcttctctc acagcaagct caccgtggac aagagcaggt ggcagcaggg gaacgtcttc 1320
tcattgctcg tgatgcata ggcctctgcac aaccactaca cgcagaagag cctctcctcg 1380
tctccgggta aatga                                     1395

```

&lt;210&gt; 22

&lt;211&gt; 464

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 22

```

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1             5             10            15

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

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile
 35             40            45

Ser Ser Tyr Tyr Trp Ile Trp Ile Arg Gln Pro Ala Gly Lys Gly Leu
 50             55            60

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

Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Met Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln
 85             90            95

Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr
100            105            110

Tyr Cys Ala Arg Asp Gly Leu Tyr Arg Gly Tyr Gly Met Asp Val Trp
115            120            125

```

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro  
 130 135 140  
 Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr  
 145 150 155 160  
 Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr  
 165 170 175  
 Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro  
 180 185 190  
 Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr  
 195 200 205  
 Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp  
 210 215 220  
 His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys  
 225 230 235 240  
 Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser  
 245 250 255  
 Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg  
 260 265 270  
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro  
 275 280 285  
 Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala  
 290 295 300  
 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val  
 305 310 315 320  
 Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr  
 325 330 335  
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr  
 340 345 350  
 Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu  
 355 360 365  
 Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys  
 370 375 380  
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser  
 385 390 395 400  
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp  
 405 410 415  
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser  
 420 425 430

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala  
435 440 445

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
450 455 460

<210> 23  
<211> 705  
<212> DHK  
<213> Homo sapiens

<400> 23  
atgaggctcc ctgctcagct cctggggctc ctgctgctct ggttcccagg ttccagatgc 60  
gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 120  
atcacttgctc gggcgagtca gcctattagc agctggtag cctgggtatca gcagaaacca 180  
gggaaagccc ctaaactcct gatttattct gcctccggtt tgcaaagtgg ggtcccacatca 240  
agggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 300  
gaagattttg caacttacta ttgtcaacag actgacagtt tcccgctcac ttccggcggc 360  
gggaccaagg tggagatcaa acgaactgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcga 420  
tctgatgagc agttgaaatc tggaaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 480  
cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 540  
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 600  
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 660  
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gtttag 705

<210> 24  
<211> 234  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 24  
Met Arg Leu Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Trp Phe Pro  
1 5 10 15  
Gly Ser Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser  
20 25 30  
Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Pro  
35 40 45  
Ile Ser Ser Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro  
50 55 60  
Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Gly Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser  
65 70 75 80  
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser  
85 90 95  
Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Asp  
100 105 110  
Ser Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg  
115 120 125

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln  
130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr  
145 150 155 160

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

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr  
180 185 190

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

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro  
210 215 220

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

<210> 25

<211> 363

<212> DHK

<213> Homo sapiens

<400> 25

cagggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60  
acctgcactg tctctggtgg ctccatcaga agttactact ggacctggat ccggcagccc 120  
ccagggaagg gactggagtg gattggatat atctattaca gtgggagcac caactacaat 180  
ccctccctca agagtcgagt caccatatca gtagacatgt ccaagaacca gttctccctg 240  
aagctgagtt ctgtgaccgc tgcggacacg gccgtttatt actgtgagag aaagggtgac 300  
tacgggtggtg attttaacta ctttcaccag tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360  
tca 363

<210> 26

<211> 121

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 26

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Arg Ser Tyr  
20 25 30

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

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

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



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

Arg Lys Gly Asp Tyr Gly Gly Asn Phe Asn Tyr Phe His Gln Trp Gly  
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
115 120

<210> 27

<211> 336

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 27

gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgta cccctggaga gccggcctcc 60  
atctcttgca ggtctagtca gagcctccta cataactaatg gatacaacta ttctgattgg 120  
tacctgcaga agccagggca gtctccacaa ctctgatct atttgggttc taatcggggc 180  
tccgggggtcc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 240  
agcagagtgg aggctgagga tgttgggggtt tattactgca tgcaagctct acaaactccg 300  
tacagttttg gccaggggac caagctggag atcaaa 336

<210> 28

<211> 112

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 28

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 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Thr  
20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Phe Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
35 40 45

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

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

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

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

<210> 29

<211> 1401

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

&lt;400&gt; 29

```

atgaacatc tgtggttctt ccttctcctg gtggcagctc ccagatgggt cctgtcccag 60
gtgcagctgc aggagtcggg cccaggactg gtgaagcctt cggagaccct gtccctcacc 120
tgcaactgtc ctggtggctc catcagaagt tactactgga cctggatccg gcagcccca 180
gggaagggac tggagtggat tggatatac tattacagtg ggagcaccaa ctacaatccc 240
tccctcaaga gtcgagtcac catatcagta gacatgtcca agaaccagtt ctccctgaag 300
ctgagttctg tgaccgctgc ggacacggcc gtttattact gtgcgagaaa ggggtgactac 360
gggtgtaatt ttaactactt tcaccagtgg ggccaggga ccctggtcac cgtctcctca 420
gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcgccct gctccaggag cactccgag 480
agcacagcgg ccttgggctg cctgggtcag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 540
tggaaactcag gcgctctgac cagcggcgtg cacaccttcc cagctgtcct acagtectca 600
ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgcccctca gcaacttcgg caccagacc 660
tacactgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagac agttgagcgc 720
aatgtttgtg tcgagtgcgc accgtgccc aacaccactg tggcaggacc gtcagtcttc 780
ctcttcccc caaaacccaa ggacacctc atgatctccc ggacctctga ggtcacgtgc 840
gtggtggtgg acgtgagtc cgaagacccc gaggtccagt tcaactggta cgtggacggc 900
gtggaggtgc ataattgcaa gataaagcca cgggaggagc agttcaacag cacgttccgt 960
gtggtcagcg tcctcaccgt tgtgcaccag gactggctga acggcaagga gtacaagtgc 1020
aaggtctcca acaaaggcct cccagccccc atcgagaaaa ccactctcaa aaccaagggg 1080
cagccccgag aaccacaggt gtacacctg ccccatccc gggaggagat gaccaagaac 1140
caggtcagcc tgacctgctt ggtcaaaggc ttctaccca gcgacatcgc cgtggagtgg 1200
gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacac ctcccatgct ggactccgac 1260
ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcagggtggc gcaggggaac 1320
gtcttctcat gtcctgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagctc 1380
tccctgtctc cgggtaaatg a                                     1401

```

&lt;210&gt; 30

&lt;211&gt; 466

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 30

```

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
  1                      5                      10          15

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

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile
      35                      40                      45

Arg Ser Tyr Tyr Trp Thr Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu
      50                      55                      60

Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro
      65                      70                      75                      80

Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Met Ser Lys Asn Gln
      85                      90                      95

Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr
      100                     105                     110

Tyr Cys Ala Arg Lys Gly Asp Tyr Gly Gly Asn Phe Asn Tyr Phe His
      115                     120                     125

```

Gln Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys  
 130 135 140  
 Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu  
 145 150 155 160  
 Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro  
 165 170 175  
 Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr  
 180 185 190  
 Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val  
 195 200 205  
 Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn  
 210 215 220  
 Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg  
 225 230 235 240  
 Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly  
 245 250 255  
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile  
 260 265 270  
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu  
 275 280 285  
 Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His  
 290 295 300  
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg  
 305 310 315 320  
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys  
 325 330 335  
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu  
 340 345 350  
 Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr  
 355 360 365  
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu  
 370 375 380  
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp  
 385 390 395 400  
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met  
 405 410 415  
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp  
 420 425 430

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His  
435 440 445

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro  
450 455 460

Gly Lys  
465

<210> 31  
<211> 720  
<212> ДНК  
<213> Homo sapiens

<400> 31  
atgaggctcc ctgctcagct cctgggggctg ctaatgctct ggggtctctgg atccagtgagg 60  
gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 120  
atctcctgca ggtctagtc gagcctccta cataactaatg gatacaacta ttctgattgg 180  
tacctgcaga agccagggca gtctccacaa ctctgatct atttgggttc taatcgggcc 240  
tccggggctc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 300  
agcagagtgg aggctgagga tgttgggggtt tattactgca tgcaagctct acaaactccg 360  
tacagttttg gccaggggac caagctggag atcaaacgaa ctgtgggtgc accatctgtc 420  
ttcatcttcc cgcctctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgctg 480  
ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtggg aggtgggataa cgccctccaa 540  
tcgggtaact ccagggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagctc 600  
agcagcacc tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa 660  
gtcaccatc agggcctgag ctgcccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgttag 720

<210> 32  
<211> 239  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 32  
Met Arg Leu Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Met Leu Trp Val Ser  
1 5 10 15  
Gly Ser Ser Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro  
20 25 30  
Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser  
35 40 45  
Leu Leu His Thr Asn Gly Tyr Asn Tyr Phe Asp Trp Tyr Leu Gln Lys  
50 55 60  
Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala  
65 70 75 80  
Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe  
85 90 95  
Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr  
100 105 110

Cys Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Tyr Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys  
 115 120 125  
 Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro  
 130 135 140  
 Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu  
 145 150 155 160  
 Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp  
 165 170 175  
 Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp  
 180 185 190  
 Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys  
 195 200 205  
 Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln  
 210 215 220  
 Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 225 230 235

<210> 33  
 <211> 361  
 <212> DHK  
 <213> Homo sapiens

<400> 33  
 caggtgcagc tggaggagtc tgggggaggc gtgggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60  
 tctgtgcag cctctggatt cacccttcagt agctatgtca tgcactgggt ccgccaggct 120  
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atgtcatatg atggaagtag taaatactat 180  
 gcaaaactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
 ctgcaaataa acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagatggg 300  
 ggtaaagcag tgcctgggtcc tgactactgg ggccaggga tcttggtcac cgtctcctca 361  
 g

<210> 34  
 <211> 120  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 34  
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ala Val Met Ser Tyr Asp Gly Ser Ser Lys Tyr Tyr Ala Asn Ser Val  
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Ile Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Asp Gly Gly Lys Ala Val Pro Gly Pro Asp Tyr Trp Gly Gln  
 100 105 110  
 Gly Ile Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 35  
 <211> 337  
 <212> ДНК  
 <213> Homo sapiens

<400> 35  
 gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgta cccctggaga gccggcctcc 60  
 atctcctgca ggtctagta gagtggtctg tatagtaatg gatacaacta tttggattgg 120  
 tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctctgatct atttgggttc taatcgggcc 180  
 tccgggggtcc ctgacagggt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 240  
 agcagagtgg aggctgagga tgttgggggt tattactgca tgcaagtttt acaaactcca 300  
 ttcactttcg gccctgggac caaagtggat atcaaac 337

<210> 36  
 <211> 112  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 36  
 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 Arg Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser  
 20 25 30  
 Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
 35 40 45  
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro  
 50 55 60  
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
 65 70 75 80  
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Val  
 85 90 95  
 Leu Gln Thr Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys  
 100 105 110

<210> 37  
 <211> 1398

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 37

```

atggagtttg ggctgagctg ggttttcctc gttgctcttt taagaggtgt ccagtgtcag 60
gtgcagctgg tggagtcctg gggaggcgtg gtccagcctg ggaggccct gagactctcc 120
tgtgcagcct ctggattcac cttcagtagc tatgtcatgc actgggtccg ccaggctcca 180
ggcaaggggc tggagtggtt ggcagttatg tcatatgatg gaagtagtaa atactatgca 240
aactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatctg 300
caaataaaca gcctgagagc tgaggacacg gctgtgtatt actgtgcgag agatgggggt 360
aaagcagtgc ctggtcctga ctactggggc cagggaatcc tggtcaccgt ctctcagcc 420
tccaccaagg gcccatcggt ctccccctg gcgcctgct ccaggagcac ctccgagagc 480
acagcggcc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccgggtgac ggtgtcgtgg 540
aactcaggcg ctctgaccag cggcgtgcac accttcccag ctgtctaca gtctcagga 600
ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg cctccagca acttcggcac ccagacctac 660
acctgcaacg tagatcacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagacagt tgagcgcaaa 720
tgttgtgtcg agtgcaccac gtgcccagca ccacctgtgg caggaccgtc agtcttcttc 780
ttcccccaa aacccaagga caccctcatg atctccccga cccctgaggt cacgtgcgtg 840
gtggtggacg tgagccaaga agaccccagc gtccagttca actggtacgt ggacggcgtg 900
gaggtgcata atgccaagac aaagccacgg gaggagcagt tcaacagcac gttccgtgtg 960
gtcagcgtcc tcaccgttgt gcaccaggac tggctgaacg gcaaggagta caagtgcaag 1020
gtctccaaca aaggcctccc agcccccatc gagaaaacca tctccaaaac caaagggcag 1080
ccccgagaac cacaggtgta caccctgcc ccatccccgg aggagatgac caagaaccag 1140
gtcagcctga cctgcctggt caaaggcttc taccacagcg acatcgccgt ggagtgggag 1200
agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacacctc ccattgctga ctccgacggc 1260
tcttcttcc tctacagcaa gctcaccgtg gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc 1320
ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc 1380
ctgtctccgg gtaaataa 1398

```

&lt;210&gt; 38

&lt;211&gt; 465

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 38

```

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

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
      20             25             30

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

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

Glu Trp Val Ala Val Met Ser Tyr Asp Gly Ser Ser Lys Tyr Tyr Ala
      65             70             75             80

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

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

```

Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Gly Gly Lys Ala Val Pro Gly Pro Asp Tyr  
 115 120 125  
 Trp Gly Gln Gly Ile Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly  
 130 135 140  
 Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser  
 145 150 155 160  
 Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val  
 165 170 175  
 Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe  
 180 185 190  
 Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val  
 195 200 205  
 Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val  
 210 215 220  
 Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys  
 225 230 235 240  
 Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro  
 245 250 255  
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser  
 260 265 270  
 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp  
 275 280 285  
 Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn  
 290 295 300  
 Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val  
 305 310 315 320  
 Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu  
 325 330 335  
 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys  
 340 345 350  
 Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr  
 355 360 365  
 Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr  
 370 375 380  
 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu  
 385 390 395 400  
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu  
 405 410 415



Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys  
 420 425 430

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu  
 435 440 445

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 450 455 460

Lys  
 465

<210> 39  
 <211> 720  
 <212> DHK  
 <213> Homo sapiens

<400> 39  
 atgaggctcc ctgctcagct cctggggctg ctaatgctct gggctctctgg atccagtgagg 60  
 gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 120  
 atctcctgca ggtctagtca gagtgttctg tatagtaatg gatacaacta ttgggattgg 180  
 tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctctgactct atttgggttc taatcggggc 240  
 tccggggctcc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 300  
 agcagagtgg aggctgagga tgttgggggtt tattactgca tgcaagtttt acaaactcca 360  
 ttcactttcg gccctgggac caaagtggat atcaaacgaa ctgtggctgc accatctgtc 420  
 ttcactttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgctg 480  
 ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtggg aggtggataa cgccctccaa 540  
 tggggttaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc 600  
 agcagcaccg tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa 660  
 gtcacccatc agggcctgag ctgcccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgttag 720

<210> 40  
 <211> 239  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

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

Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr  
 100 105 110  
 Cys Met Gln Val Leu Gln Thr Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys  
 115 120 125  
 Val Asp Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro  
 130 135 140  
 Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu  
 145 150 155 160  
 Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp  
 165 170 175  
 Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp  
 180 185 190  
 Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys  
 195 200 205  
 Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln  
 210 215 220  
 Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 225 230 235

<210> 41  
 <211> 378  
 <212> ДНК  
 <213> Homo sapiens

<400> 41  
 caggtgcagc tgggtgcagtc tgggggctgag gtgaagaagc ctgggggcctc agtgaaggtc 60  
 tcttgcaagg cttctggata caccttcacc ggctactata tgcactgggt gcgacaggcc 120  
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcaaccctg acagtgggtg cacaactat 180  
 gcacagaagt ttcagggcag ggtcaccatg accagggaca cgtccatcag cacagcctac 240  
 atggagctga acaggctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagagatcag 300  
 cccctaggat attgtactaa tgggtgtatgc tctactttg actactgggg ccaggggaacc 360  
 ctggtcaccg tctctca 378

<210> 42  
 <211> 126  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 42  
 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 Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr  
 20 25 30  
 Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45

Gly Trp Ile Asn Pro Asp Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80

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

Ala Arg Asp Gln Pro Leu Gly Tyr Cys Thr Asn Gly Val Cys Ser Tyr  
 100 105 110

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

<210> 43  
 <211> 321  
 <212> DHK  
 <213> Homo sapiens

<400> 43  
 gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60  
 atcacttgct gggcgagtca gggatattac agctgggttag cctgggtatca gcagaaacca 120  
 gggaaagccc ctaacctct gatctatact gcatccactt tacaagtggt ggtcccatca 180  
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcaacct 240  
 gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacattt tcccgcctcac ttccggcgga 300  
 gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 44  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 44  
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15

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

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

Tyr Thr Ala Ser Thr Leu Gln 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 Ala Asn Ile Phe Pro Leu  
 85 90 95

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

<210> 45  
 <211> 1416  
 <212> ДНК  
 <213> Homo sapiens

<400> 45  
 atggactgga cctggaggat cctcttcttg gtggcagcag ccacaggagc ccactcccag 60  
 gtgcagctgg tgcagtctgg ggctgaggtg aagaagcctg gggcctcagt gaaggctctc 120  
 tgcaaggctt ctggatacac cttcaccggc tactatatgc actgggtgcg acaggcccct 180  
 ggacaagggc ttgagtggat gggatggatc aaccctgaca gtgggtggcac aaactatgca 240  
 cagaagtttc agggcagggg caccatgacc agggacacgt ccatcagcac agcctacatg 300  
 gagctgaaca ggctgagatc tgacgacacg gccgtgtatt actgtgagag agatcagccc 360  
 ctaggatatt gtactaatgg tgtatgctcc tactttgact actggggcca ggggaaccctg 420  
 gtcaccgtct cctcagcctc caccaagggc ccatcggtct tccccctggc gccctgctcc 480  
 aggagcacct ccgagagcac agcggccctg ggctgectgg tcaaggacta cttccccgaa 540  
 ccggtgacgg tgtcgtggaa ctcaggcgct ctgaccagcg gcgtgcacac cttcccagct 600  
 gtcctacagt cctcaggact ctactccctc ageagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcaac 660  
 ttccggaccc agacctacac ctgcaacgta gatcacaagc ccagcaacac caagggtggac 720  
 aagacagtgg agcgcaaatg ttgtgtcgag tgcccaccgt gccagcacc acctgtggca 780  
 ggaccgtcag tcttctctt ccccccaaaa cccaaggaca cctcatgat ctcccggaac 840  
 cctgaggtca cgtgcgtggg ggtggacgtg agccacgaag accccgaagt ccagttcaac 900  
 tggtagctgg accggcgtga ggtgcataat gccaaagaca agccacggga ggagcagttc 960  
 aacagcacgt tccgtgtggt cagcgtcctc accgttgtgc accaggactg gctgaacggc 1020  
 aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa ggccctccag cccccatcga gaaaaccatc 1080  
 tccaaaacca aagggcagcc ccgagaacca caggtgtaca ccttgcccc atccccggag 1140  
 gagatgacca agaaccaggt cagcctgacc tggctgttca aaggettcta cccagcgac 1200  
 atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag ccggagaaca actacaagac cacacctccc 1260  
 atgctggact ccgacggctc cttcttctc tacagcaagc tcaccgtgga caagagcagg 1320  
 tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc gtgatgcatg aggtctctgca caaccactac 1380  
 acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt aaatga 1416

<210> 46  
 <211> 471  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 46  
 Met Asp Trp Thr Trp Arg Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Gly  
 1 5 10 15  
 Ala His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys  
 20 25 30  
 Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe  
 35 40 45  
 Thr Gly Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu  
 50 55 60  
 Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Pro Asp Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala  
 65 70 75 80  
 Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser  
 85 90 95  
 Thr Ala Tyr Met Glu Leu Asn Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val  
 100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Gln Pro Leu Gly Tyr Cys Thr Asn Gly Val  
 115 120 125  
 Cys Ser Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser  
 130 135 140  
 Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser  
 145 150 155 160  
 Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp  
 165 170 175  
 Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr  
 180 185 190  
 Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr  
 195 200 205  
 Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln  
 210 215 220  
 Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp  
 225 230 235 240  
 Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala  
 245 250 255  
 Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys  
 260 265 270  
 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val  
 275 280 285  
 Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp  
 290 295 300  
 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe  
 305 310 315 320  
 Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp  
 325 330 335  
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu  
 340 345 350  
 Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg  
 355 360 365  
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys  
 370 375 380  
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp  
 385 390 395 400  
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys  
 405 410 415

Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser  
420 425 430

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser  
435 440 445

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser  
450 455 460

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
465 470

<210> 47

<211> 705

<212> DHK

<213> Homo sapiens

<400> 47

```
atgaggctcc ctgctcagct cctggggctc ctgctgctct gggtccacagg ttccagatgc 60
gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 120
atcacttgtc gggcgagtc ggggtattac agctgggttag cctgggtatca gcagaaacca 180
gggaaagccc ctaacctctt gatctatact gcatccactt tacaaagtgg ggtcccatca 240
aggttcagcg gcagtgatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcaacct 300
gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacattt tcccgtcac ttccggcgga 360
gggaccaagg tggagatcaa acgaactgtg gctgcacat ctgtcttcat cttcccgcca 420
tctgatgagc agttgaaatc tgggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 480
cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 540
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 600
ctgagcaaa gagactacga gaaacacaaa gtctacgctt gcgaagtcac ccatcagggc 660
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gtag 705
```

<210> 48

<211> 234

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 48

```
Met Arg Leu Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Trp Phe Pro
  1           5           10          15

Gly Ser Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser
          20          25          30

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

Ile Tyr Ser Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
  50          55          60

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

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
          85          90          95
```

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn  
 100 105 110  
 Ile Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg  
 115 120 125  
 Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln  
 130 135 140  
 Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr  
 145 150 155 160  
 Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser  
 165 170 175  
 Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr  
 180 185 190  
 Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys  
 195 200 205  
 His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro  
 210 215 220  
 Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 225 230

<210> 49  
 <211> 373  
 <212> ДНК  
 <213> Homo sapiens

<400> 49  
 cagggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtgggtccagc ctgggagggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt cgctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120  
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcatctg atggaggtaa taaatactat 180  
 gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa caccgtgtat 240  
 ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtac gagaagaggg 300  
 actggaaaaga cttactacca ctactgtggt atggacgtct ggggccaagg gaccacggtc 360  
 accgtctcct cag 373

<210> 50  
 <211> 124  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

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

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

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

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

Thr Arg Arg Gly Thr Gly Lys Thr Tyr Tyr His Tyr Cys Gly Met Asp  
 100 105 110

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

<210> 51  
 <211> 337  
 <212> DHK  
 <213> Homo sapiens

<400> 51  
 gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccggtca cccctggaga gccggcctcc 60  
 atctctctgca ggtctagtca gagctctctg tatagtaatg gatataacta tttggattgg 120  
 tacctgcaga agccagggca gtctccacac ctctctgatct atttgggttc taatcgggcc 180  
 tccgggggtcc ctgacaggtt cagtggcagt gggttcaggca ctgattttac actgaaaatc 240  
 agcagagtgg aggctgagga tgttgggggtt tattactgca tgcaagctct acaaaactct 300  
 cggacgttcg gccaaaggac caaggtggaa atcaaac 337

<210> 52  
 <211> 112  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 52  
 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 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser  
 20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
 35 40 45

Pro His Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro  
 50 55 60

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

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

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



<210> 53  
 <211> 1410  
 <212> ДНК  
 <213> Homo sapiens

<400> 53  
 atggagtttg ggctgagctg ggttttcttc gttgctcttt taagaggtgt ccagtgtcag 60  
 gtgcaactgg tggagtctgg gggaggcgtg gtccagcctg ggaggtccct gagactctcc 120  
 tgtgcagcct ctggattcac cttcagtcgc tatggcatgc actgggtccg ccagggtcca 180  
 ggcaaggggc tggagtgggt ggcagttata tcatctgatg gaggtaataa atactatgca 240  
 gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatctg 300  
 caaatgaaca gcctgagagc tgaggacacg gctgtgtatt actgtacgag aagaggggact 360  
 ggaaagactt actaccacta ctgtggtatg gacgtctggg gccaaaggac cagggtcacc 420  
 gtctcctcag cctccaccaa gggcccatcg gtcttcccc tggcgccctg ctccaggagc 480  
 acctccgaga gcacagcggc cctgggctgc ctgggtcaagg actacttccc cgaaccgggtg 540  
 acggtgtcgt ggaactcagg cgctctgacc agcggcgtgc acaccttccc agctgtccta 600  
 cagtcctcag gactctactc cctcagcagc gtgggtgacc tgccctccag caacttcggc 660  
 acccagacct acacctgcaa cgtagatcac aagcccagca acaccaaggt ggacaagaca 720  
 gttgagcgca aatgttgtgt cgagtgtcca ccgtgcccag caccacctgt ggcaggaccg 780  
 tcagttcttc tcttcccccc aaaaccaag gacacctca tgatctccc gacctctgag 840  
 gtcacgtgcg tgggtgtgga cgtgagccac gaagaccccg aggtccagtt caactggtag 900  
 gtggacggcg tggaggtgca taatgccaa acaaagccac gggaggagca gttcaacagc 960  
 acgttcctg tggtcagcgt cctcaccgtt gtgcaccagg actggctgaa cggcaaggag 1020  
 tacaagtgca aggtctccaa caaaggcctc ccagccccca tcgagaaaac catctccaaa 1080  
 accaaagggc agccccgaga accacaggtg tacacctgc ccccatcccc ggaggagatg 1140  
 accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctaccccag cgacatcgcc 1200  
 gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacacc tcccatgctg 1260  
 gactccgacg gctccttctt cctctacagc aagctcaccg tggacaagag cagggtggcag 1320  
 caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag 1380  
 aagagcctct cctgtctcc gggtaaatga 1410

<210> 54  
 <211> 469  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 54  
 Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly  
 1 5 10 15  
 Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln  
 20 25 30  
 Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe  
 35 40 45  
 Ser Arg Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu  
 50 55 60  
 Glu Trp Val Ala Val Ile Ser Ser Asp Gly Gly Asn Lys Tyr Tyr Ala  
 65 70 75 80  
 Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn  
 85 90 95  
 Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val  
 100 105 110

Tyr Tyr Cys Thr Arg Arg Gly Thr Gly Lys Thr Tyr Tyr His Tyr Cys  
 115 120 125  
 Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala  
 130 135 140  
 Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser  
 145 150 155 160  
 Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe  
 165 170 175  
 Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly  
 180 185 190  
 Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu  
 195 200 205  
 Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr  
 210 215 220  
 Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr  
 225 230 235 240  
 Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro  
 245 250 255  
 Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr  
 260 265 270  
 Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val  
 275 280 285  
 Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val  
 290 295 300  
 Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser  
 305 310 315 320  
 Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu  
 325 330 335  
 Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala  
 340 345 350  
 Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro  
 355 360 365  
 Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln  
 370 375 380  
 Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala  
 385 390 395 400  
 Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr  
 405 410 415

Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu  
420 425 430

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser  
435 440 445

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser  
450 455 460

Leu Ser Pro Gly Lys  
465

<210> 55  
<211> 720  
<212> DHK  
<213> Homo sapiens

<400> 55  
atgaggctcc ctgctcagct cctggggctg ctaatgctct gggctctctgg atccagtggg 60  
gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgta cccctggaga gccggcctcc 120  
atctcctgca ggtctagtca gagcctcctg tatagtaatg gatataacta tttggattgg 180  
tacctgcaga agccagggca gtctccacac ctctgatct atttgggttc taatcgggcc 240  
tccggggctcc ctgacaggtt cagtggcagt ggttcaggca ctgattttac actgaaaatc 300  
agcagagtgg aggctgagga tgttgggggtt tattactgca tgcaagctct acaaactcct 360  
cggacgttcg gccaaaggac caaggtggaa atcaaacgaa ctgtggctgc accatctgtc 420  
ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg 480  
ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtggg aggtggataa cgcctccaa 540  
tcgggtaact ccagagagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc 600  
agcagcaccy tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa 660  
gtcaccatc agggcctgag ctgcccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgttag 720

<210> 56  
<211> 239  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 56  
Met Arg Leu Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Met Leu Trp Val Ser  
1 5 10 15  
Gly Ser Ser Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro  
20 25 30  
Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser  
35 40 45  
Leu Leu Tyr Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys  
50 55 60  
Pro Gly Gln Ser Pro His Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala  
65 70 75 80  
Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe  
85 90 95

Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr  
 100 105 110  
 Cys Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys  
 115 120 125  
 Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro  
 130 135 140  
 Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu  
 145 150 155 160  
 Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp  
 165 170 175  
 Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp  
 180 185 190  
 Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys  
 195 200 205  
 Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln  
 210 215 220  
 Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 225 230 235

<210> 57  
 <211> 376  
 <212> DHK  
 <213> Homo sapiens

<400> 57  
 cagggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtgggtccagc ctggggaggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgtag cctctggatt cacccttcagt aactatggca tgcactgggt ccgccaggct 120  
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcaatt atatcatatg atggaagtaa taaatactat 180  
 gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
 gtgcaaatac acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gagacgcggt 300  
 cactacggga gggattacta ctctactac gggttggacg tctggggcca agggaccacg 360  
 gtcaccgtct cctcag 376

<210> 58  
 <211> 125  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 58  
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr  
 20 25 30  
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45

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

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

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

Ala Arg Arg Gly His Tyr Gly Arg Asp Tyr Tyr Ser Tyr Tyr Gly Leu  
 100 105 110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115 120 125

<210> 59  
 <211> 337  
 <212> DHK  
 <213> Homo sapiens

<400> 59  
 gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60  
 atctcctgca ggtctagtca gagctcctg cctggtaatg gatacaacta ttggattgg 120  
 tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctctgatct atttgggttc taatcgggc 180  
 tccgggtccc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaac 240  
 agcagagtgg aggctgagga tgttggggtt tattactgca tgcaagctct acaaactcct 300  
 cggacgttcg gccaaaggac caaggtggaa atcaaac 337

<210> 60  
 <211> 112  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 60  
 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 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Pro Gly  
 20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
 35 40 45

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

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

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

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

<210> 61  
 <211> 1413  
 <212> ДНК  
 <213> Homo sapiens

<400> 61  
 atggagtttg ggctgagctg ggttttcttc gttgctcttt taagaggtgt ccagtgtcag 60  
 gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcgtg gtccagcctg ggaggtccct gagactctcc 120  
 tgtgtagcct ctggattcac cttcagtaac tatggcatgc actgggtccg ccaggetcca 180  
 ggcaaggggc tggagtgggt ggcaattata tcatatgatg gaagtaataa atactatgca 240  
 gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatgtg 300  
 caaatgaaca gcctgagagc tgaggacacg gctgtgtatt actgtgcgag acgcggtcac 360  
 tacgggaggg attactactc ctactacggt ttggacgtct ggggccaagg gaccacggtc 420  
 accgtctcct cagcctccac caagggccca tcggctcttc ccctggcgcc ctgctccagg 480  
 agcacctccg agagcacagc ggccctgggc tgccctggta aggactactt ccccgaaccg 540  
 gtgacgggtgt cgtggaactc aggcgtctct accagcggcg tgcacacctt cccagctgtc 600  
 ctacagtcct caggactcta ctccctcagc agcgtgggtg ccgtgccctc cagcaacttc 660  
 ggcacccaga cctacacctg caacgtatg cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag 720  
 acagttgagc gcaaatgttg tgtcgagtgc ccaccgtgcc cagcaccacc tgtggcagga 780  
 ccgtcagctc tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc cgggacccct 840  
 gaggtcacgt gcgtgggtgg ggacgtgagc cacgaagacc ccgaggtcca gttcaactgg 900  
 tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cacgggagga gcagttcaac 960  
 agcacgttcc gtgtgggtcag cgtcctcacc gttgtgcacc aggactggct gaacggcaag 1020  
 gagtacaagt gcaaggtctc caacaaaggc ctcccagccc ccacgagaa aaccatctcc 1080  
 aaaaccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggaggag 1140  
 atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctaccc cagcgacatc 1200  
 gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac acctcccatg 1260  
 ctggactccg acggctcctt ctctctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1320  
 cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 1380  
 cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa tga 1413

<210> 62  
 <211> 470  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 62  
 Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly  
 1 5 10 15  
 Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln  
 20 25 30  
 Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe  
 35 40 45  
 Ser Asn Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu  
 50 55 60  
 Glu Trp Val Ala Ile Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala  
 65 70 75 80  
 Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn  
 85 90 95  
 Thr Leu Tyr Val Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val  
 100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Gly His Tyr Gly Arg Asp Tyr Tyr Ser Tyr  
 115 120 125  
 Tyr Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 130 135 140  
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg  
 145 150 155 160  
 Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr  
 165 170 175  
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
 180 185 190  
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser  
 195 200 205  
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr  
 210 215 220  
 Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
 225 230 235 240  
 Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro  
 245 250 255  
 Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp  
 260 265 270  
 Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp  
 275 280 285  
 Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly  
 290 295 300  
 Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn  
 305 310 315 320  
 Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp  
 325 330 335  
 Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro  
 340 345 350  
 Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu  
 355 360 365  
 Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn  
 370 375 380  
 Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile  
 385 390 395 400  
 Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr  
 405 410 415

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys  
420 425 430

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys  
435 440 445

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu  
450 455 460

Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
465 470

<210> 63

<211> 720

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 63

atgaggctcc ctgctcagct cctggggctg ctaatgctct gggctctctgg atccagtggg 60  
gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgta cccctggaga gccggcctcc 120  
atctctgca ggtctagtca gagcctctg cctggtaatg gatacaacta tttggattgg 180  
tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctcctgatct atttgggttc taatcgggcc 240  
tccggggctcc ctgacagggt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 300  
agcagagtgg aggctgagga tgttgggggt tattactgca tgcaagctct acaaactcct 360  
cggacgttcg gccaaaggac caagggtgaa atcaaacgaa ctgtggctgc accatctgtc 420  
ttcatcttcc gccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctstgt tgtgtgctg 480  
ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtggg aggtggataa cgccctccaa 540  
tcgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc 600  
agcagcaccy tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa 660  
gtcacccatc agggcctgag ctgcccgctc acaaagagct tcaacagggg agagtgttaa 720

<210> 64

<211> 239

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (156)

<223> Вариабельная аминокислота

<400> 64

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

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

Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser  
35 40 45

Leu Leu Pro Gly Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys  
50 55 60

Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala  
65 70 75 80



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

<210> 65  
 <211> 364  
 <212> DHK  
 <213> Homo sapiens

<400> 65  
 caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc ctccggacac cctgtccctc 60  
 acctgcactg tctctggtgg ctccatcaga ggttactact ggagctggat ccggcagccc 120  
 cctgggaagg gactggagtg gattgggtat atctattaca gtgggagcac caactacaac 180  
 ccctccctca agagtcgagt caccatatca gtagacacgt ccaagaacca gtctccctg 240  
 aaagtgaaact ctgtgaccgc tgcggacacg gccgtgtatt attgtgcgag aaaggggggc 300  
 ctctacggtg actacggctg gtccgcccc tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360  
 tcag 364

<210> 66  
 <211> 121  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 66  
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Asp  
                             1                            5                            10                            15  
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Arg Gly Tyr  
                             20                            25                            30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
           35                          40                          45  
 Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys  
           50                          55                          60  
 Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu  
           65                          70                          75                          80  
 Lys Leu Asn Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
                           85                          90                          95  
 Arg Lys Gly Gly Leu Tyr Gly Asp Tyr Gly Trp Phe Ala Pro Trp Gly  
                   100                          105                          110  
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
           115                          120

<210> 67  
 <211> 322  
 <212> DHK  
 <213> Homo sapiens

<400> 67  
 gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agcagcgact tagcctggca ccagcagaaa 120  
 cctggccagg ctcccagact cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 180  
 gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240  
 cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag cactgtcgta gcttattcac ttctggccct 300  
 gggaccaaaag tggatatcaa ac 322

<210> 68  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 68  
 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 Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser  
           20                          25                          30  
 Asp Leu Ala Trp His Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
           35                          40                          45  
 Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser  
           50                          55                          60  
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu  
           65                          70                          75                          80  
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Cys Arg Ser Leu Phe  
                   85                          90                          95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys  
100 105

<210> 69  
<211> 1401  
<212> JHK  
<213> Homo sapiens

<400> 69  
atgaaacatc tgtggttctt ccttctcctg gtggcagctc ccagatgggt cctgtcccag 60  
gtgcagctgc aggagtcggg cccaggactg gtgaagcctt cggagaccct gtccttcacc 120  
tgcaactgtc ctggttggtc catcagaggt tactactgga gctggatccg gcagccccct 180  
gggaagggac tggagtggat tgggtatatc tattacagtg ggagcaccaa ctacaacccc 240  
tccctcaaga gtcgagtcac catatcagta gacacgtcca agaaccagtt ctcctgaag 300  
ctgaactctg tgaccgctgc ggacacggcc gtgtattatt gtgcgagaaa ggggggctc 360  
tacggtgact acggctggtt cgtccctcctg ggccaggga ccttggtcac cgtctcctca 420  
gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcgccct gctccaggag cacctccgag 480  
agcacagcgg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 540  
tggaaactcag gcgtctgac cagcggcgtg cacaccttcc cagctgtcct acagtcctca 600  
ggactctact cctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcaactccgg caccagacc 660  
tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagac agttgagcgc 720  
aaatgttgtg tcgagtgcct accgtgccc gcaccacctg tggcaggacc gtcagtcttc 780  
ctcttcccco caaaaaccaa ggacacctc atgatctccc ggacccctga ggtcacgtgc 840  
gtggtggttg acgtgagcca cgaagacccc gaggtccagt tcaactggta cgtggacggc 900  
gtggagggtg ataatgccaa gacaaagcca cgggaggagc agttcaacag caggttccgt 960  
gtggctcagc tctcaccgt tgtgcaccag cactggctga acggcaagga gtacaagtgc 1020  
aagggtctcca acaaaggcct cctcagcccc atcgagaaaa ccatctcca aaccaaagg 1080  
cagccccgag aaccacaggt gtacacctg ccccatccc gggaggagat gaccaagaac 1140  
caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctaccca gcgacatcgc cgtggagtgg 1200  
gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacac ctcccatgct ggactccgac 1260  
ggctccttct tctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac 1320  
gtcttctcat gctccgtgat gcacagacc ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc 1380  
tccctgtctc cgggtaaatg a 1401

<210> 70  
<211> 466  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

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

Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln  
                                   85                                  90                                  95  
 Phe Ser Leu Lys Leu Asn Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr  
                                   100                                  105                                  110  
 Tyr Cys Ala Arg Lys Gly Gly Leu Tyr Gly Asp Tyr Gly Trp Phe Ala  
                                   115                                  120                                  125  
 Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys  
                                   130                                  135                                  140  
 Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu  
                                   145                                  150                                  155                                  160  
 Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro  
                                   165                                  170                                  175  
 Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr  
                                   180                                  185                                  190  
 Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val  
                                   195                                  200                                  205  
 Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn  
                                   210                                  215                                  220  
 Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg  
                                   225                                  230                                  235                                  240  
 Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly  
                                   245                                  250                                  255  
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile  
                                   260                                  265                                  270  
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu  
                                   275                                  280                                  285  
 Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His  
                                   290                                  295                                  300  
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg  
                                   305                                  310                                  315                                  320  
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys  
                                   325                                  330                                  335  
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu  
                                   340                                  345                                  350  
 Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr  
                                   355                                  360                                  365  
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu  
                                   370                                  375                                  380

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp  
385 390 395 400

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met  
405 410 415

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp  
420 425 430

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His  
435 440 445

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro  
450 455 460

Gly Lys  
465

<210> 71  
<211> 705  
<212> DHK  
<213> Homo sapiens

<400> 71  
atggaacccc cagcgagct tctcttctc ctgtactct ggctcccaga atccaccgga 60  
gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 120  
ctctctctgca gggccagtc gagtgtagc agcagcgact tagcctggca ccagcagaaa 180  
cctggccagg ctcccagact cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatcca 240  
gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 300  
cctgaagatt ttgcagtgt ttactgtcag cactgtcgta gcttattcac ttctggccct 360  
gggaccaaag tggatatcaa acgaactgtg gctgcacat ctgtcttcat ctcccggca 420  
tctgatgagc agttgaaatc tggaaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 480  
cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggtg gataacgccc tccaatcggg taactccag 540  
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 600  
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccacagggc 660  
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttag 705

<210> 72  
<211> 234  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 72  
Met Glu Thr Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro  
1 5 10 15  
Glu Ser Thr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser  
20 25 30  
Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser  
35 40 45  
Val Ser Ser Ser Asp Leu Ala Trp His Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala  
50 55 60

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

<210> 73  
 <211> 376  
 <212> ДНК  
 <213> Homo sapiens

<400> 73  
 cagggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agctatgccca tgcactgggt ccgccaggct 120  
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcatatg atggaagtaa taaatactat 180  
 gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tacagagaca attocaagaa cagcgtgtat 240  
 ctgcaaataga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gagacgcggt 300  
 cactacggga ataattacta ctctattac ggtttggacg tctggggcca agggaccacg 360  
 gtcaccgtct cctcag 376

<210> 74  
 <211> 125  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 74  
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg  
 1 5 10 15

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

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

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

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

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

Ala Arg Arg Gly His Tyr Gly Asn Asn Tyr Tyr Ser Tyr Tyr Gly Leu  
                   100                  105                  110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
                   115                  120                  125

<210> 75  
 <211> 337  
 <212> DNK  
 <213> Homo sapiens

<400> 75  
 gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60  
 atctcttgca ggtctagtc gagcctcctg cctggtaatg gatacaacta tttggattgg 120  
 tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctctgatct atttgggttc taatcgggcc 180  
 tccgggggtcc ctgacaggtt cagtggcagt ggctcaggca cagattttac actgaaaatc 240  
 agcagagtgg aggctgagga tgttgggatt tattactgca tgcaagctct acaaaactct 300  
 cggacgttcg gccaaaggac caaggtggaa atcaaac 337

<210> 76  
 <211> 112  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 76  
 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 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Pro Gly  
                   20                  25                  30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
                   35                  40                  45

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

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Ile Tyr Tyr Cys Met Gln Ala  
                             85                            90                            95

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

<210> 77  
 <211> 1413  
 <212> DHK  
 <213> Homo sapiens

<400> 77  
 atggagtttg ggctgagctg gggttttctc gttgctcttt taagaggtgt ccagtgtcag 60  
 gtgcaactgg tggagtctgg gggaggcctg gtccagcctg ggaggtccct gagactctcc 120  
 tgtgcagcct ctggattcac cttcagtagc tatgccatgc actgggtccg ccagggtcca 180  
 ggcaaggggc tggagtgggt ggcagttata tcatatgatg gaagtaataa atactatgca 240  
 gactccgtga agggccgatt caccatctac agagacaatt ccaagaacac gctgtatctg 300  
 caaatgaaca gectgagagc tgaggacacg gctgtgtatt actgtgcgag acgcgggtcac 360  
 tacgggaata attactactc ctattacggt ttggacgtct ggggccaagg gaccacggtc 420  
 accgtctcct cagcctccac caagggccca tcggtcttcc ccttggcgcc ctgctccagg 480  
 agcacctccg agagcacagc ggccctgggc tgcctgggtca aggactactt ccccgaaaccg 540  
 gtgacggtgt cgtggaactc aggcgctctg accagcggcg tgcacacctt cccagctgtc 600  
 ctacagtctc caggactcta ctccctcagc agcgtgggtga ccgtgccctc cagcaacttc 660  
 ggcacccaga cctacacctg caacgtagat cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag 720  
 acagttgagc gcaaattgtg tgtcgagtgc ccaccgtgcc cagcaccacc tgtggcagga 780  
 ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggacccct 840  
 gaggtcacgt gcgtgggtgt ggacgtgagc caggaagacc ccgaggtcca gttcaactgg 900  
 tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cccgggagga gcagttcaac 960  
 agcacgttcc gtgtgggtcag cgtcctcacc gttgtgcacc aggactggct gaacggcaag 1020  
 gagtacaagt gcaaggtctc caacaaaggc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1080  
 aaaaccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgccccctc ccgggaggag 1140  
 atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctgggtcaaag gcttctaccc cagcgacatc 1200  
 gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac acctcccatg 1260  
 ctggactccg accgctcctt ctctctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1320  
 cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 1380  
 cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa tga 1413

<210> 78  
 <211> 470  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 78  
 Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly  
   1                            5                            10                            15

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln  
                             20                            25                            30

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

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



Glu Trp Val Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala  
 65 70 75 80  
 Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Tyr Arg Asp Asn Ser Lys Asn  
 85 90 95  
 Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val  
 100 105 110  
 Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Gly His Tyr Gly Asn Asn Tyr Tyr Ser Tyr  
 115 120 125  
 Tyr Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 130 135 140  
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg  
 145 150 155 160  
 Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr  
 165 170 175  
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
 180 185 190  
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser  
 195 200 205  
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr  
 210 215 220  
 Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
 225 230 235 240  
 Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro  
 245 250 255  
 Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp  
 260 265 270  
 Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp  
 275 280 285  
 Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly  
 290 295 300  
 Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn  
 305 310 315 320  
 Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp  
 325 330 335  
 Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro  
 340 345 350  
 Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu  
 355 360 365

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn  
 370 375 380

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile  
 385 390 395 400

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr  
 405 410 415

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys  
 420 425 430

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys  
 435 440 445

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu  
 450 455 460

Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 465 470

<210> 79  
 <211> 720  
 <212> DHK  
 <213> Homo sapiens

<400> 79  
 atgaggctcc ctgctcagct cctggggctg ctaatgctct gggctctctgg atccagtgagg 60  
 gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 120  
 atctectgca ggtctagtca gagcctcctg cctgggtaatg gatacaacta ttgggattgg 180  
 tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctctgatct atttgggttc taatcggggc 240  
 tccggggctcc ctgacagggt cagtggcagt ggctcaggca cagattttac actgaaaatc 300  
 agcagagtgg aggcctgagga tgttgggatt tattactgca tgcaagctct acaaactcct 360  
 cggacgttcg gccaaaggac caaggtggaa atcaaacgaa ctgtggctgc accatctgtc 420  
 ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgctg 480  
 ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gttcagtgga ggggtggataa cgccctccaa 540  
 tcgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc 600  
 agcagcaccg tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa 660  
 gtcacccatc agggcctgag ctgcccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgttag 720

<210> 80  
 <211> 239  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 80  
 Met Arg Leu Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Met Leu Trp Val Ser  
 1 5 10 15

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

Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser  
 35 40 45

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

<210> 81  
 <211> 364  
 <212> DKK  
 <213> Homo sapiens

<400> 81  
 cagggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60  
 acctgcactg tctctggtgg ctccatcaga ggttactact ggagctggat ccggcagccc 120  
 ccaggaagg gactggagtg gattgggtat atctattaca gtgggagcac caactacaac 180  
 cctccctca agagtcgagt caccatatca gtagacacgt ccaagaacca gttctccctg 240  
 aagctgagtt ctgtgaccgc tgcggacacg gccgtgtatt actgtgcgag aagggggggc 300  
 ctctacgggtg actacggctg gttcgcccc tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360  
 tcag 364

<210> 82  
 <211> 121  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

&lt;400&gt; 82

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

&lt;210&gt; 83

&lt;211&gt; 322

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 83

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcctgca gggccagtc gagtgtagc agcacctact tagcctggta ccagcagaaa 120  
 cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 180  
 gacaggttca gtggcagtg gtcctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240  
 cctgaagatt ttgcagtga ttactgtcag cagtatagta gcttattcac ttctggccct 300  
 gggaccaaaag tggatatcaa ac 322

&lt;210&gt; 84

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 84

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 Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Thr  
 20 25 30  
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45  
 Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser  
 50 55 60

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

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

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys  
100 105

<210> 85  
<211> 1401  
<212> ДНК  
<213> Homo sapiens

<400> 85  
atgaaacatc tgtggttctt ccttctcctg gtggcagctc ccagatgggt cctgtcccag 60  
gtgcagctgc aggagtcggg cccaggactg gtgaagcctt cggagaccct gtccctcacc 120  
tgcaactgtc ctggtggctc catcagaggt tactactgga gctggatccg gcagccccc 180  
gggaaggagc tggagtggat tgggtatata tattacagt ggagcaccac ctacaacccc 240  
tccctcaaga gtcgagtcac catatcagta gacacgtcca agaaactagt ctccctgaag 300  
ctgagttctg tgaccgctgc ggacacggcc gtgtattact gtgcgagaag ggggggcctc 360  
tacgggtgact acggctgggt cggccctcgg ggccaggga ccctgggtac cgtctcctca 420  
gcctccacca' agggcccatc ggtcttcccc ctggcgccct gctccaggag caccctccag 480  
agcacagcgg ccttgggctg cctgggtcaag gactacttcc ccgaaccggg gacgggtgtc 540  
tggaactcag gcgctctgac cagcggcgctg cacaccttcc cagctgtcct acagtctca 600  
ggactctact cctcagcag cgtgggtgacc gtgccctcca gcaacttcgg caccagacc 660  
tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagac agttgagcgc 720  
aaatgttgtg tcgagtgcac accgtgcca gcaccacctg tggcaggacc gtcagtcttc 780  
ctcttcccc caaaaaccaa ggacacctc atgatctccc ggaccctga ggtcacgtgc 840  
gtggtggtgg acgtgagcca cgaagacccc gaggtccagt tcaactggta cgtggacggc 900  
gtggaggtgc ataagtcca gacaaagcca cgggaggagc agttcaacag caggttccgt 960  
gtggtcagcg tctcaccgt tgtgcaccag gactggctga acggcaagga gtacaagtgc 1020  
aagggtctca acaaggcct cccagccccc atcgagaaaa ccatctcaa aaccaaggg 1080  
cagccccgag aaccacaggt gtacacctg ccccatccc gggaggagat gaccaagaac 1140  
caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctaccca gcgacatcgc cgtggagtgg 1200  
gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacac ctcccatgct ggactccgac 1260  
ggctcttct tctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac 1320  
gtcttctcat gctcgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc 1380  
tccctgtctc cgggtaaatg a 1401

<210> 86  
<211> 466  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 86  
Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp  
1 5 10 15

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

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile  
35 40 45

Arg Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu  
 50 55 60  
 Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro  
 65 70 75 80  
 Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln  
 85 90 95  
 Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr  
 100 105 110  
 Tyr Cys Ala Arg Arg Gly Gly Leu Tyr Gly Asp Tyr Gly Trp Phe Ala  
 115 120 125  
 Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys  
 130 135 140  
 Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu  
 145 150 155 160  
 Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro  
 165 170 175  
 Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr  
 180 185 190  
 Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val  
 195 200 205  
 Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn  
 210 215 220  
 Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg  
 225 230 235 240  
 Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly  
 245 250 255  
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile  
 260 265 270  
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu  
 275 280 285  
 Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His  
 290 295 300  
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg  
 305 310 315 320  
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys  
 325 330 335  
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu  
 340 345 350

Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr  
 355 360 365  
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu  
 370 375 380  
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp  
 385 390 395 400  
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met  
 405 410 415  
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp  
 420 425 430  
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His  
 435 440 445  
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro  
 450 455 460  
 Gly Lys  
 465

<210> 87  
 <211> 705  
 <212> DHK  
 <213> Homo sapiens

<400> 87  
 atggaaaccc cagcgagct tctcttctc ctgctactct ggctcccaga taccaccgga 60  
 gaaatttgtt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 120  
 ctctctctga gggccagtc gagtggttagc agcacctact tagcctggta ccagcagaaa 180  
 cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 240  
 gacaggttca gtggcagtg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 300  
 cctgaagatt ttgcagtgt ttactgtcag cagtatagta gcttattcac ttccggccct 360  
 gggaccaaag tggatatcaa acgaactgtg gctgcacccat ctgtcttcat ctccccgcca 420  
 tctgatgagc agttgaaatc tggaaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 480  
 cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 540  
 gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 600  
 ctgagcaaa cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccacacgggc 660  
 ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gtttag 705

<210> 88  
 <211> 234  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 88  
 Met Glu Thr Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro  
 1 5 10 15  
 Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser  
 20 25 30

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

<210> 89  
 <211> 378  
 <212> DHK  
 <213> Homo sapiens

<400> 89  
 caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60  
 tctgtgcag cctctggatt caccttcagt agttatggca tgcactgggt ccgccaggct 120  
 ccaggcaagg ggtctggagt ggtggcagtt atatcaaagg atggaggtaa taaataccat 180  
 gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa tacgctgtat 240  
 ctgcaaatga atagcctgag agttgaagac acggctgtgt attactgtgt gagaagaggg 300  
 catcagctgg ttctgggata ctactactac aacggctctgg acgtctgggg ocaagggacc 360  
 acggtcaccg tctcctca 378

<210> 90  
 <211> 126



&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 90

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

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

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

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

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

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

Val Arg Arg Gly His Gln Leu Val Leu Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Asn Gly  
 100 105 110

Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115 120 125

&lt;210&gt; 91

&lt;211&gt; 378

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 91

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggagggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctctggatt cacccttcagt agttatggca tgcactgggt ccgccaggct 120  
 ccaggcaagg ggcctggagtg ggtggcagtt atatcaaagg atggaggtaa taaataccat 180  
 gcagactccg tgaaggggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa tacgctgtat 240  
 ctgcaaatga atagcctgag agctgaagac acggctgtgt attactgtgc gagaagaggg 300  
 catcagctgg ttctgggata ctactactac aacggtctgg acgtctgggg ccaagggacc 360  
 acggtcaccg tctctca 378

&lt;210&gt; 92

&lt;211&gt; 126

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 92

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Arg Gly His Gln Leu Val Leu Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Asn Gly  
 100 105 110

Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115 120 125

<210> 93  
 <211> 336  
 <212> ДНК  
 <213> Homo sapiens

<400> 93  
 gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgta cccctggaga gccggcctcc 60  
 atctcctgca ggtctagta gagcctcttg tatagtaatg gatacaactt tttggattgg 120  
 tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctccctgatct atttgggttc taatcgggcc 180  
 tccgggggtcc ctgacagggt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 240  
 agcagagtgg aggctgagga tgttgggggt tattactgca tgcaagctct acaaactcct 300  
 cggacgttcg gccaaaggac caagggtgaa atcaaa 336

<210> 94  
 <211> 112  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 94  
 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 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser  
 20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Phe Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
 35 40 45

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

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

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

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

<210> 95  
 <211> 373  
 <212> ДНК  
 <213> Homo sapiens

<400> 95  
 caggtgcaac tgggtggagtc tgggggagggc gtggtccagc ctggggaggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt cgctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120  
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcatctg atggaggtaa taaatactat 180  
 gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
 ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtac gagaagaggg 300  
 actggaaaaga cttactacca ctacgccggc atggacgtct ggggccaagg gaccacggtc 360  
 accgtctcct cag 373

<210> 96  
 <211> 124  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 96  
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr  
 20 25 30  
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ala Val Ile Ser Ser Asp Gly Gly Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Thr Arg Arg Gly Thr Gly Lys Thr Tyr Tyr His Tyr Ala Gly Met Asp  
 100 105 110  
 Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 97  
 <211> 364  
 <212> ДНК  
 <213> Homo sapiens

<400> 97  
 caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60  
 acctgcactg tctctgggtg ctccatcaga gggtactact ggagctggat ccggcagccc 120  
 cctgggaagg gactggagtg gattgggtat atctattaca gtgggagcac caactacaac 180  
 cctccctca agagtcgagt caccatatca gtagacacgt ccaagaacca gttctccctg 240  
 aagctgaact ctgtgaccgc tgcggacacg gccgtgtatt attgtgagag aaaggggggc 300

ctctacgggtg actacggctg gttcgcccc tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360  
tcag 364

<210> 98  
<211> 121  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 98  
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu  
1 5 10 15  
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Arg Gly Tyr  
20 25 30  
Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
35 40 45  
Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys  
50 55 60  
Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu  
65 70 75 80  
Lys Leu Asn Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
85 90 95  
Arg Lys Gly Gly Leu Tyr Gly Asp Tyr Gly Trp Phe Ala Pro Trp Gly  
100 105 110  
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
115 120

<210> 99  
<211> 322  
<212> DHK  
<213> Homo sapiens

<400> 99  
gaaatttgtg tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
ctctcctgca gggccagtca gagggttagc agcagcgact tagcctggca ccagcagaaa 120  
cctggccagg ctcccagact cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 180  
gacagggtca gtggcagtg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240  
cctgaagatt ttgcagtgt ttactgtcag cagccccgta gcttattcac tttcggccct 300  
gggaccaaag tggatatcaa ac 322

<210> 100  
<211> 107  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

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

<210> 101  
 <211> 720  
 <212> ДНК  
 <213> Homo sapiens

<400> 101  
 atgaggctcc ctgctcagct cctggggctg ctaatgctct gggctctctg atccagtggg 60  
 gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 120  
 atctcctgca ggtctagtca gaggctcctg cctgggtaatg gatacaacta tttggattgg 180  
 tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctctgatct atttgggttc taatcggggc 240  
 tccggggctcc ctgacaggtt cagtggcagt ggctcaggca cagattttac actgaaaatc 300  
 agcagagtgg aggctgagga tgttgggatt tattactgca tgcaagctct acaactcct 360  
 cggacgttcg gccaaaggac caaggtggaa atcaaacgaa ctgtggctgc accatctgtc 420  
 ttcattcttc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg 480  
 ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gttcagtgga aggtggataa cgccctccaa 540  
 tccggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagctc 600  
 agcagcacc tgacgtgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa 660  
 gtcacccatc agggcctgag ctgcccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgttag 720

<210> 102  
 <211> 239  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 102  
 Met Arg Leu Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Met Leu Trp Val Ser  
                   1                  5                  10                  15  
 Gly Ser Ser Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro  
                   20                  25                  30  
 Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser  
                   35                  40                  45  
 Leu Leu Pro Gly Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys  
                   50                  55                  60

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

<210> 103  
 <211> 112  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 103  
 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 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser  
 20 25 30  
 Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
 35 40 45  
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro  
 50 55 60  
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
 65 70 75 80  
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala  
 85 90 95

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

<210> 104  
 <211> 112  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 104  
 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 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser  
                   20                  25                  30  
 Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
                   35                  40                  45  
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro  
                   50                  55                  60  
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
   65                  70                  75                  80  
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala  
                   85                  90                  95  
 Leu Gln Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
                   100                  105                  110

<210> 105  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

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

<210> 106  
 <211> 124  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 106  
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg  
   1                  5                  10                  15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
           20                  25                  30  
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
           35                  40                  45  
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
           50                  55                  60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
   65                  70                  75                  80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
                   85                  90                  95  
 Ala Arg Gly His Gln Leu Leu Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp  
           100                  105                  110  
 Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
           115                  120

<210> 107  
 <211> 125  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 107  
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg  
   1                  5                  10                  15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
           20                  25                  30  
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
           35                  40                  45  
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
           50                  55                  60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
   65                  70                  75                  80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
                   85                  90                  95



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

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115 120 125

<210> 108

<211> 120

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 108

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

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

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

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

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

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

Arg Tyr Cys Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln  
 100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 109

<211> 118

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 109

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

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

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

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

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

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

Arg Asp Tyr Gly Gly Asn Ser Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
                             100                            105                            110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
                             115

<210> 110

<211> 122

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 110

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 Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr  
                             20                            25                            30

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

Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
                             50                            55                            60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr  
                             65                            70                            75                            80

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

Ala Arg Gly Tyr Cys Thr Asn Gly Val Cys Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp  
                             100                            105                            110

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

<210> 111

<211> 112

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 111

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 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser  
                             20                            25                            30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
                             35                            40                            45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro  
 50 55 60  
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
 65 70 75 80  
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala  
 85 90 95  
 Leu Gln Thr Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105 110

<210> 112  
 <211> 112  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 112  
 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 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser  
 20 25 30  
 Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
 35 40 45  
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro  
 50 55 60  
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
 65 70 75 80  
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala  
 85 90 95  
 Leu Gln Thr Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys  
 100 105 110

<210> 113  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 113  
 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 Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser  
 20 25 30  
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45  
 Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser  
 50 55 60

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

<210> 114  
 <211> 122  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 114  
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Tyr Cys Gly Gly Asp Cys Tyr Gly Ile Ala Val Ala Gly Trp  
 100 105 110  
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 115  
 <211> 123  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 115  
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Gly Thr Thr Gly Thr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val  
 100 105 110  
 Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 116  
 <211> 123  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 116  
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Asp Tyr Gly Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val  
 100 105 110  
 Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 117  
 <211> 123  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 117  
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30

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

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

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

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

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

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

&lt;210&gt; 118

&lt;211&gt; 23

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Синтетическая последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Описание синтетической последовательности: Праймер

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; модифицированное основание

&lt;222&gt; (21)

&lt;223&gt; i

&lt;400&gt; 118

caggtgcagc tggagcagtc ngg

23

&lt;210&gt; 119

&lt;211&gt; 24

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Синтетическая последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Описание синтетической последовательности: Праймер

&lt;400&gt; 119

gctgagggag tagagtcctg agga

24

&lt;210&gt; 120

&lt;211&gt; 49

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Синтетическая последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Описание синтетической последовательности: Праймер

<400> 120  
 tatctaagct tctagactcg accgccacca tggagtttgg gctgagctg 49

<210> 121  
 <211> 49  
 <212> ДНК  
 <213> Синтетическая последовательность

<220>  
 <223> Описание синтетической последовательности: Праймер

<400> 121  
 tatctaagct tctagactcg accgccacca tggagtttgg gctgagctg 49

<210> 122  
 <211> 51  
 <212> ДНК  
 <213> Синтетическая последовательность

<220>  
 <223> Описание синтетической последовательности: Праймер

<400> 122  
 tatctaagct tctagactcg accgccacca tgaaacacct gtggttcttc c 51

<210> 123  
 <211> 51  
 <212> ДНК  
 <213> Синтетическая последовательность

<220>  
 <223> Описание синтетической последовательности: Праймер

<400> 123  
 tatctaagct tctagactcg accgccacca tgaaacatct gtggttcttc c 51

<210> 124  
 <211> 51  
 <212> ДНК  
 <213> Синтетическая последовательность

<220>  
 <223> Описание синтетической последовательности: Праймер

<400> 124  
 tatctaagct tctagactcg accgccacca tggactggac ctggaggatc c 51

<210> 125  
 <211> 44  
 <212> ДНК  
 <213> Синтетическая последовательность

<220>  
 <223> Описание синтетической последовательности: Праймер  
  
 <400> 125  
 ttctctgatc agaattccta tcatttaccc ggagacaggg agag 44  
  
 <210> 126  
 <211> 41  
 <212> ДНК  
 <213> Синтетическая последовательность  
  
 <220>  
 <223> Описание синтетической последовательности: Праймер  
  
 <400> 126  
 cttcaagctt acccgggcca ccatgaggct cctgctcag c 41  
  
 <210> 127  
 <211> 43  
 <212> ДНК  
 <213> Синтетическая последовательность  
  
 <220>  
 <223> Описание синтетической последовательности: Праймер  
  
 <400> 127  
 ttctttgatc agaattctca ctaacactct cccctgttga agc 43  
  
 <210> 128  
 <211> 49  
 <212> ДНК  
 <213> Синтетическая последовательность  
  
 <220>  
 <223> Описание синтетической последовательности: Праймер  
  
 <400> 128  
 tatctaagct tctagactcg accgccacca tggagtttgg gctgagctg 49  
  
 <210> 129  
 <211> 49  
 <212> ДНК  
 <213> Синтетическая последовательность  
  
 <220>  
 <223> Описание синтетической последовательности: Праймер  
  
 <400> 129  
 tatctaagct tctagactcg accgccacca tggagtttgg gctgagctg 49  
  
 <210> 130  
 <211> 49



<212> ДНК  
 <213> Синтетическая последовательность  
  
 <220>  
 <223> Описание синтетической последовательности: Праймер  
  
 <400> 130  
 tatctaagct tctagactcg accgccacca tggagtttgg gctgagctg 49  
  
 <210> 131  
 <211> 51  
 <212> ДНК  
 <213> Синтетическая последовательность  
  
 <220>  
 <223> Описание синтетической последовательности: Праймер  
  
 <400> 131  
 tatctaagct tctagactcg agcgccacca tgaacatct gtggttcttc c 51  
  
 <210> 132  
 <211> 49  
 <212> ДНК  
 <213> Синтетическая последовательность  
  
 <220>  
 <223> Описание синтетической последовательности: Праймер  
  
 <400> 132  
 tatctaagct tctagactcg accgccacca tggagtttgg gctgagctg 49  
  
 <210> 133  
 <211> 51  
 <212> ДНК  
 <213> Синтетическая последовательность  
  
 <220>  
 <223> Описание синтетической последовательности: Праймер  
  
 <400> 133  
 tatctaagct tctagactcg agcgccacca tgaacatct gtggttcttc c 51  
  
 <210> 134  
 <211> 45  
 <212> ДНК  
 <213> Синтетическая последовательность  
  
 <220>  
 <223> Описание синтетической последовательности: Праймер  
  
 <400> 134  
 tcttcaagct tgcccgggcc cgccaccatg gaaacccag cgcag 45

<210> 135  
 <211> 36  
 <212> ДНК  
 <213> Синтетическая последовательность  
  
 <220>  
 <223> Описание синтетической последовательности: Праймер  
  
 <400> 135  
 gcaagcttca ccaatggttc gtctgcctct gcagtg 36  
  
 <210> 136  
 <211> 43  
 <212> ДНК  
 <213> Синтетическая последовательность  
  
 <220>  
 <223> Описание синтетической последовательности: Праймер  
  
 <400> 136  
 tcagtgatgg tgatggtgat gtctcagccg atcctgggga cca 43  
  
 <210> 137  
 <211> 43  
 <212> ДНК  
 <213> Синтетическая последовательность  
  
 <220>  
 <223> Описание синтетической последовательности: Праймер  
  
 <400> 137  
 tcagtgatgg tgatggtgat gtgggcaggc ctgcgatgg tat 43  
  
 <210> 138  
 <211> 43  
 <212> ДНК  
 <213> Синтетическая последовательность  
  
 <220>  
 <223> Описание синтетической последовательности: Праймер  
  
 <400> 138  
 tcagtgatgg tgatggtgat gacaggtgca gatggtgtct gtt 43  
  
 <210> 139  
 <211> 197  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
  
 <400> 139  
 Met Val Arg Leu Pro Leu Gln Cys Val Leu Trp Gly Cys Leu Leu Thr  
 1 5 10 15

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

<210> 140  
 <211> 153  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 140  
 Met Val Arg Leu Pro Leu Gln Cys Val Leu Trp Gly Cys Leu Leu Thr  
                   1                  5                  10                  15  
 Ala Val His Pro Glu Pro Pro Thr Ala Cys Arg Glu Lys Gln Tyr Leu  
                   20                  25                  30  
 Ile Asn Ser Gln Cys Cys Ser Leu Cys Gln Pro Gly Gln Lys Leu Val  
                   35                  40                  45  
 Ser Asp Cys Thr Glu Phe Thr Glu Thr Glu Cys Leu Pro Cys Gly Glu  
                   50                  55                  60  
 Ser Glu Phe Leu Asp Thr Trp Asn Arg Glu Thr His Cys His Gln His  
                   65                  70                  75                  80

Lys Tyr Cys Asp Pro Asn Leu Gly Leu Arg Val Gln Gln Lys Gly Thr  
                             85                            90                            95  
 Ser Glu Thr Asp Thr Ile Cys Thr Cys Glu Glu Gly Trp His Cys Thr  
                             100                            105                            110  
 Ser Glu Ala Cys Glu Ser Cys Val Leu His Arg Ser Cys Ser Pro Gly  
                             115                            120                            125  
 Phe Gly Val Lys Gln Ile Ala Thr Gly Val Ser Asp Thr Ile Cys Glu  
                             130                            135                            140  
 Pro Cys Pro His His His His His His  
 145                            150

<210> 141  
 <211> 111  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 141  
 Met Val Arg Leu Pro Leu Gln Cys Val Leu Trp Gly Cys Leu Leu Thr  
                             1                            5                            10                            15  
 Ala Val His Pro Glu Pro Pro Thr Ala Cys Arg Glu Lys Gln Tyr Leu  
                             20                            25                            30  
 Ile Asn Ser Gln Cys Cys Ser Leu Cys Gln Pro Gly Gln Lys Leu Val  
                             35                            40                            45  
 Ser Asp Cys Thr Glu Phe Thr Glu Thr Glu Cys Leu Pro Cys Gly Glu  
                             50                            55                            60  
 Ser Glu Phe Leu Asp Thr Trp Asn Arg Glu Thr His Cys His Gln His  
                             65                            70                            75                            80  
 Lys Tyr Cys Asp Pro Asn Leu Gly Leu Arg Val Gln Gln Lys Gly Thr  
                             85                            90                            95  
 Ser Glu Thr Asp Thr Ile Cys Thr Cys His His His His His His  
                             100                            105                            110

<210> 142  
 <211> 118  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 142  
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu  
                             1                            5                            10                            15  
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr  
                             20                            25                            30  
 Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
                             35                            40                            45

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

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

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

Arg Asp Tyr Gly Asp Tyr Asn Trp Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 143  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Синтетическая последовательность

<220>  
 <223> Описание синтетической последовательности: Линкерный пептид

<400> 143  
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
 1 5 10 15

<210> 144  
 <211> 18  
 <212> ДНК  
 <213> Синтетическая последовательность

<220>  
 <223> Описание синтетической последовательности: Синтетический олигонуклеотид

<400> 144  
 tttttttttt tttttttt 18

<210> 145  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Синтетическая последовательность

<220>  
 <223> Описание синтетической последовательности: 6-His-метка

<400> 145  
 His His His His His His  
 1 5

<210> 146  
 <211> 36  
 <212> ДНК  
 <213> Синтетическая последовательность

<220>  
 <223> Описание синтетической последовательности: Праймер

<400> 146  
 tgcaagcttc accatggtgt ctttgccctcg gctgtg 36

<210> 147  
 <211> 48  
 <212> ДНК  
 <213> Синтетическая последовательность

<220>  
 <223> Описание синтетической последовательности: Праймер

<400> 147  
 gtccctcgagt cagtgatggt gatggtgatg tgggcaggga tgacagac 48

(s) аминокислотных последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 переменного домена тяжелой це-

пи с последовательностью SEQ ID NO: 74 и аминокислотных последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 варибельного домена легкой цепи с последовательностью SEQ ID NO: 76 соответственно и

(t) аминокислотных последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 варибельного домена тяжелой цепи с последовательностью SEQ ID NO: 82 и аминокислотных последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 варибельного домена легкой цепи с последовательностью SEQ ID NO: 84 соответственно.

2. Моноклональное антитело или его антигенсвязывающий участок по п.1, которые обладают по меньшей мере одним из следующих свойств:

- (a) не связываются с мышиными, крысиными, собачьими и/или кроличьими В-клетками;
- (b) связываются с В-клетками человека, макаков-резус и/или обезьян циномоглус;
- (c) обладают селективностью в отношении CD40, которая по меньшей мере в 100 раз выше, чем их селективность в отношении рецепторного активатора ядерного фактора каппа-цепи В-клеток (RANK), 4-1BB (CD137), рецептора 1 фактора некроза опухоли (TNFR-1) и рецептора 2 фактора некроза опухоли (TNFR-2);
- (d) связываются с CD40 с  $K_D$   $4 \times 10^{-10}$  М или менее;
- (e) имеют показатель для CD40  $K_{off}$ , составляющий  $2 \times 10^{-4}$  или менее;
- (f) ингибируют рост опухоли *in vivo* в присутствии Т-клеток человека и/или дендритных клеток человека;
- (g) ингибируют рост CD40-положительных опухолей в отсутствие иммунных клеток человека;
- (h) повышают экспрессию ICAM, МНС-II, В7-2, CD71, CD23 и/или CD71 на поверхности В-клеток человека;
- (i) увеличивают секрецию IL-12p40, IL-12p70 и/или IL-8 дендритными клетками человека;
- (j) увеличивают экспрессию ICAM, МНС-II, В7-2 и/или CD83 на поверхности дендритных клеток человека;
- (k) повышают экспрессию гамма-интерферона Т-клетками человека во время их аллогенной стимуляции;
- (l) связывают человеческий CD40 в присутствии человеческого CD40L;
- (m) связываются с эпитопом CD40 человека, который находится в пределах домена 1 или домена 2 внеклеточного домена CD40; и
- (n) связываются с эпитопом CD40 человека, который находится в пределах домена 2 или домена 3 внеклеточного домена CD40.

3. Моноклональное антитело по п.1, в котором аминокислотные последовательности тяжелой цепи и легкой цепи выбраны из группы, состоящей из:

- (a) аминокислотной последовательности тяжелой цепи и аминокислотной последовательности легкой цепи моноклонального антитела 3.1.1, причем в обоих указанных аминокислотных последовательностях отсутствует сигнальная последовательность;
- (b) аминокислотной последовательности тяжелой цепи и аминокислотной последовательности легкой цепи моноклонального антитела 7.1.2, причем в обоих указанных аминокислотных последовательностях отсутствует сигнальная последовательность;
- (c) аминокислотной последовательности тяжелой цепи и аминокислотной последовательности легкой цепи моноклонального антитела 10.8.3, причем в обоих указанных аминокислотных последовательностях отсутствует сигнальная последовательность;
- (d) аминокислотной последовательности тяжелой цепи и аминокислотной последовательности легкой цепи моноклонального антитела 15.1.1, причем в обоих указанных аминокислотных последовательностях отсутствует сигнальная последовательность;
- (e) аминокислотной последовательности тяжелой цепи и аминокислотной последовательности легкой цепи моноклонального антитела 21.4.1, причем в обоих указанных аминокислотных последовательностях отсутствует сигнальная последовательность;
- (f) аминокислотной последовательности тяжелой цепи и аминокислотной последовательности легкой цепи моноклонального антитела 21.2.1, причем в обоих указанных аминокислотных последовательностях отсутствует сигнальная последовательность;
- (g) аминокислотной последовательности тяжелой цепи и аминокислотной последовательности легкой цепи моноклонального антитела 22.1.1, причем в обоих указанных аминокислотных последовательностях отсутствует сигнальная последовательность;
- (h) аминокислотной последовательности тяжелой цепи и аминокислотной последовательности легкой цепи моноклонального антитела 22.1.1H-C109A, причем в обоих указанных аминокислотных последовательностях отсутствует сигнальная последовательность;
- (i) аминокислотной последовательности тяжелой цепи и аминокислотной последовательности легкой цепи моноклонального антитела 23.5.1, причем в обоих указанных аминокислотных последовательностях отсутствует сигнальная последовательность;
- (j) аминокислотной последовательности тяжелой цепи и аминокислотной последовательности легкой цепи моноклонального антитела 23.25.1, причем в обоих указанных аминокислотных последователь-





SEQ ID NO: 52 соответственно:

(n) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 58 и аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 60 соответственно;

(o) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 66 и аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 68 соответственно;

(p) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 66 и аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 100 соответственно;

(q) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 98 и аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 68 соответственно;

(г) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 98 и аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 100 соответственно;

(с) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 74 и аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 76 соответственно и

(t) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 82 и аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 84 соответственно.

5. Моноклональное антитело по п.1, в котором аминокислотные последовательности тяжелой цепи и легкой цепи выбраны из группы, состоящей из:

(а) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 6 и аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 8 соответственно, причем в обеих указанных аминокислотных последовательностях отсутствует сигнальная последовательность;

(b) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 14 и аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 16 соответственно, причем в обоих указанных аминокислотных последовательностях отсутствует сигнальная последовательность;

(с) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 22 и аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 24 соответственно, причем обе аминокислотные последовательности без сигнальной последовательности;

(d) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 30 и аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 32 соответственно, причем в обоих указанных аминокислотных последовательностях отсутствует сигнальная последовательность;

(е) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 38 и аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 40 соответственно, причем обе аминокислотные последовательности без сигнальной последовательности;

(f) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 46 и аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 48 соответственно, причем в обоих указанных аминокислотных последовательностях отсутствует сигнальная последовательность;

(г) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 54 и аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 56 соответственно, причем в обоих указанных аминокислотных последовательностях отсутствует сигнальная последовательность;

(h) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 62 и аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 64 соответственно, причем в обоих указанных аминокислотных последовательностях отсутствует сигнальная последовательность;

(i) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 70 и аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 72 соответственно, причем в обоих указанных аминокислотных последовательностях отсутствует сигнальная последовательность;

(j) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 78 и аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 80 соответственно, причем в обоих указанных аминокислотных последовательностях отсутствует сигнальная последовательность;

(к) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86 и аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 88 соответственно, причем в обоих указанных аминокислотных последовательностях отсутствует сигнальная последовательность.

6. Моноклональное антитело по п.5, содержащее:

(а) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6 без сигнальной последовательности, в которой остаток 78 зрелой последовательности изменен с аланина на треонин, остаток 88 зрелой последовательности изменен с валина на аланин и остаток 97 зрелой последовательности изменен с валина на аланин, и

(b) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8 без сигнальной последовательности, в которой остаток 4 зрелой последовательности изменен с лейцина на метионин, а остаток 83 зрелой последовательности изменен с лейцина на валин.

7. Моноклональное антитело по п.5, содержащее:

(a) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 46 без сигнальной последовательности и

(b) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 48 без сигнальной последовательности.

8. Фармацевтическая композиция, содержащая антитело или его антигенсвязывающий участок по

любому из пп.1-7 и фармацевтически приемлемый носитель.

9. Применение антитела или его антигенсвязывающего участка по любому из пп.1-7 для производства лекарственного средства для лечения злокачественной опухоли у человека.

10. Применение антитела или антигенсвязывающего участка по любому из пп.1-7 для производства лекарственного средства для усиления иммунного ответа у человека.

11. Выделенная клеточная линия, которая продуцирует антитело или его антигенсвязывающий участок по любому из пп.1-7 либо тяжелую цепь или легкую цепь указанного антитела или его антигенсвязывающий участок.

12. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты, которая содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую тяжелую цепь или ее антигенсвязывающий участок или легкую цепь или ее антигенсвязывающий участок антитела или его антигенсвязывающий участок по любому из пп.1-7.

13. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по п.12, содержащая нуклеотидную последовательность, выбранную из группы, состоящей из:

(а) нуклеотидной последовательности, кодирующей аминокислотную последовательность тяжелой цепи (или ее антигенсвязывающего участка) антитела, выбранного из группы, состоящей из 3.1.1, 3.1.1H-A78T, 3.1.1H-A78T-V88A-V97A, 3.1.1L-L4M-L83V, 3.1.1H-A78T-V88A-V97A/3.1.1L-L4M-L83V, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 22.1.1H-C109A, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1L-C92A, 23.28.1H-D16E, 23.28H-D16E/23.28.1L-C92A, 23.28.1L-C92A, 23.29.1, 23.29.1L-R174K и 24.2.1, или указанную аминокислотную последовательность, не содержащую сигнальную последовательность;

(b) нуклеотидной последовательности, кодирующей аминокислотную последовательность легкой цепи (или ее антигенсвязывающего участка) антитела, выбранного из группы, состоящей из 3.1.1, 3.1.1H-A78T, 3.1.1H-A78T-V88A-V97A, 3.1.1L-L4M-L83V, 3.1.1H-A78T-V88A-V97A/3.1.1L-L4M-L83V, 7.1.2, 10.8.3, 15.1.1, 21.4.1, 21.2.1, 22.1.1, 22.1.1H-C109A, 23.5.1, 23.25.1, 23.28.1, 23.28.1L-C92A, 23.28.1H-D16E, 23.28H-D16E/23.28.1L-C92A, 23.28.1L-C92A, 23.29.1, 23.29.1L-R174K и 24.2.1, или указанную аминокислотную последовательность, не содержащую сигнальную последовательность;

(с) нуклеотидной последовательности, кодирующей аминокислотную последовательность тяжелой цепи или ее варибельный домен, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 6, 10, 14, 18, 22, 26, 30, 34, 38, 42, 46, 50, 54, 58, 62, 66, 70, 74, 78, 82, 86, 90, 92, 96 и 98, или указанные аминокислотные последовательности, не содержащие сигнальной последовательности, если она присутствует;

д) нуклеотидной последовательности, кодирующей тяжелую цепь или ее варибельный домен, причем указанная нуклеотидная последовательность выбрана из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, 5, 9, 13, 17, 21, 25, 29, 33, 37, 41, 45, 49, 53, 57, 61, 65, 69, 73, 77, 81, 85, 89, 91, 95 и 97, или указанная последовательность не содержит сигнальной последовательности, если она присутствует;

(е) нуклеотидной последовательности, кодирующей аминокислотную последовательность легкой цепи или ее варибельный домен, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36, 40, 44, 48, 52, 56, 60, 64, 68, 72, 76, 80, 84, 88, 94, 100 и 102, или указанную аминокислотную последовательность, не содержащую сигнальной последовательности; и

ф) нуклеотидной последовательности, кодирующей легкую цепь или ее варибельный домен, причем указанная нуклеотидная последовательность выбрана из группы, состоящей из SEQ ID NO: 3, 7, 11, 15, 19, 23, 27, 31, 35, 39, 43, 47, 51, 55, 59, 63, 67, 71, 75, 79, 83, 87, 93, 99 и 101, или указанная последовательность не содержит сигнальной последовательности, если она присутствует.

14. Вектор, содержащий молекулу нуклеиновой кислоты по п.12 или 13, где указанный вектор обязательно содержит контролируемую экспрессию последовательности, оперативно связанную с молекулой нуклеиновой кислоты.

15. Клетка-хозяин, содержащая вектор по п.14 или молекулу нуклеиновой кислоты по п.13.

16. Способ получения анти-CD40-антитела или его антигенсвязывающего участка, предусматривающий культивирование клетки-хозяина по п.15 или клеточной линии по п.11 в соответствующих условиях и выделение указанного антитела или его антигенсвязывающего участка.

17. Применение антитела по п.1 для производства лекарственного средства для лечения CD40-отрицательной опухоли у человека.

Выравнивание белковых последовательностей вариабельного домена антитела с (GL) последовательно-  
стями клеток зародышевой линии (CDR подчеркнуты, мутации из клеток зародышевой линии выделены  
жирным шрифтом/оттенены)

**A**  
Зародышевая линия V=A3/A19, J=JK1  
3.1.1 DIVLTQSP<sup>LS</sup>LPVTFGE<sup>PAS</sup>ISCRSSQ<sup>SL</sup>LSNGY<sup>N</sup>FLDWY<sup>L</sup>LQKPGQ<sup>SP</sup>QLLIY<sup>L</sup>GSNRA<sup>S</sup>GV<sup>P</sup>DRF<sup>SG</sup>SGSD<sup>T</sup>DTLKI<sup>S</sup>SRVEA<sup>ED</sup>VG<sup>V</sup>Y<sup>Y</sup>CHQALQ<sup>T</sup>PTFGQ<sup>Q</sup>TKVEIK  
7.1.2 DIVMTQSP<sup>LS</sup>LPVTFGE<sup>PAS</sup>ISCRSSQ<sup>SL</sup>LSNGY<sup>N</sup>FLDWY<sup>L</sup>LQKPGQ<sup>SP</sup>QLLIY<sup>L</sup>GSNRA<sup>S</sup>GV<sup>P</sup>DRF<sup>SG</sup>SGSD<sup>T</sup>DTLKI<sup>S</sup>SRVEA<sup>ED</sup>VG<sup>V</sup>Y<sup>Y</sup>CHQALQ<sup>T</sup>PTFGQ<sup>Q</sup>TKVEIK  
GL DIVMTQSP<sup>LS</sup>LPVTFGE<sup>PAS</sup>ISCRSSQ<sup>SL</sup>LSNGY<sup>N</sup>FLDWY<sup>L</sup>LQKPGQ<sup>SP</sup>QLLIY<sup>L</sup>GSNRA<sup>S</sup>GV<sup>P</sup>DRF<sup>SG</sup>SGSD<sup>T</sup>DTLKI<sup>S</sup>SRVEA<sup>ED</sup>VG<sup>V</sup>Y<sup>Y</sup>CHQALQ<sup>T</sup>PTFGQ<sup>Q</sup>TKVEIK

**B**  
Зародышевая линия V=A3/A19, J=JK2  
15.1.1 DIVMTQSP<sup>LS</sup>LPVTFGE<sup>PAS</sup>ISCRSSQ<sup>SL</sup>LSNGY<sup>N</sup>FLDWY<sup>L</sup>LQKPGQ<sup>SP</sup>QLLIY<sup>L</sup>GSNRA<sup>S</sup>GV<sup>P</sup>DRF<sup>SG</sup>SGSD<sup>T</sup>DTLKI<sup>S</sup>SRVEA<sup>ED</sup>VG<sup>V</sup>Y<sup>Y</sup>CHQALQ<sup>T</sup>PTFGQ<sup>Q</sup>TKLEIK  
GL DIVMTQSP<sup>LS</sup>LPVTFGE<sup>PAS</sup>ISCRSSQ<sup>SL</sup>LSNGY<sup>N</sup>FLDWY<sup>L</sup>LQKPGQ<sup>SP</sup>QLLIY<sup>L</sup>GSNRA<sup>S</sup>GV<sup>P</sup>DRF<sup>SG</sup>SGSD<sup>T</sup>DTLKI<sup>S</sup>SRVEA<sup>ED</sup>VG<sup>V</sup>Y<sup>Y</sup>CHQALQ<sup>T</sup>PTFGQ<sup>Q</sup>TKLEIK

**C**  
Зародышевая линия V=LS, J=JK4  
10.8.3 DIQMTQSP<sup>SS</sup>VSASVGD<sup>RV</sup>ITCRASQ<sup>IS</sup>SWLAWYQ<sup>Q</sup>KPKAP<sup>LL</sup>IYASLQSGV<sup>PS</sup>RFSGSG<sup>SD</sup>TFLT<sup>IS</sup>SLQ<sup>E</sup>EDFAT<sup>YC</sup>Q<sup>Q</sup>TDSF<sup>PL</sup>TFGG<sup>E</sup>GTKVEIK  
21.4.1 DIQMTQSP<sup>SS</sup>VSASVGD<sup>RV</sup>ITCRASQ<sup>IS</sup>SWLAWYQ<sup>Q</sup>KPKAP<sup>LL</sup>IYASLQSGV<sup>PS</sup>RFSGSG<sup>SD</sup>TFLT<sup>IS</sup>SLQ<sup>E</sup>EDFAT<sup>YC</sup>Q<sup>Q</sup>ANIF<sup>PL</sup>TFGG<sup>E</sup>GTKVEIK  
GL DIQMTQSP<sup>SS</sup>VSASVGD<sup>RV</sup>ITCRASQ<sup>IS</sup>SWLAWYQ<sup>Q</sup>KPKAP<sup>LL</sup>IYASLQSGV<sup>PS</sup>RFSGSG<sup>SD</sup>TFLT<sup>IS</sup>SLQ<sup>E</sup>EDFAT<sup>YC</sup>Q<sup>Q</sup>ANIF<sup>PL</sup>TFGG<sup>E</sup>GTKVEIK

**D**  
Зародышевая линия V=3-30+, D=D4+DIR3, J=JH6  
3.1.1 QVQLVESGGG<sup>V</sup>VQPGSR<sup>LR</sup>LSCAASG<sup>FTFS</sup>SYGNHW<sup>RQA</sup>PGKLEW<sup>VAV</sup>ISDGN<sup>KY</sup>ADSVK<sup>GRFTI</sup>SRD<sup>NS</sup>KNLYLQ<sup>NS</sup>SLRAED<sup>TAV</sup>YTCAR<sup>GG</sup>HQLV<sup>GY</sup>Y<sup>Y</sup>NGLDV<sup>WG</sup>Q<sup>Q</sup>TTVT<sup>VSS</sup>  
GL QVQLVESGGG<sup>V</sup>VQPGSR<sup>LR</sup>LSCAASG<sup>FTFS</sup>SYGNHW<sup>RQA</sup>PGKLEW<sup>VAV</sup>ISDGN<sup>KY</sup>ADSVK<sup>GRFTI</sup>SRD<sup>NS</sup>KNLYLQ<sup>NS</sup>SLRAED<sup>TAV</sup>YTCAR<sup>GG</sup>HQLV<sup>GY</sup>Y<sup>Y</sup>NGLDV<sup>WG</sup>Q<sup>Q</sup>TTVT<sup>VSS</sup>

**E**  
Зародышевая линия V=3-30+, D=DIR5+D1-26, J=JH6  
7.1.2 QVQLVESGGG<sup>V</sup>VQPGSR<sup>LR</sup>LSCAASG<sup>FTFS</sup>SYGNHW<sup>RQA</sup>PGKLEW<sup>VAV</sup>ISDGN<sup>KY</sup>ADSVK<sup>GRFTI</sup>SRD<sup>NS</sup>KNLYLQ<sup>NS</sup>SLRAED<sup>TAV</sup>YTCAR<sup>GG</sup>HQLV<sup>GY</sup>Y<sup>Y</sup>NGLDV<sup>WG</sup>Q<sup>Q</sup>TTVT<sup>VSS</sup>  
GL QVQLVESGGG<sup>V</sup>VQPGSR<sup>LR</sup>LSCAASG<sup>FTFS</sup>SYGNHW<sup>RQA</sup>PGKLEW<sup>VAV</sup>ISDGN<sup>KY</sup>ADSVK<sup>GRFTI</sup>SRD<sup>NS</sup>KNLYLQ<sup>NS</sup>SLRAED<sup>TAV</sup>YTCAR<sup>GG</sup>HQLV<sup>GY</sup>Y<sup>Y</sup>NGLDV<sup>WG</sup>Q<sup>Q</sup>TTVT<sup>VSS</sup>

**F**  
Зародышевая линия V=4.35, D=DIR3, J=JH6  
10.8.3 QVQLQESGP<sup>G</sup>LKVPSET<sup>LSL</sup>TCTVSGG<sup>SIS</sup>SYW<sup>MI</sup>RQ<sup>P</sup>AGKLEW<sup>IGR</sup>VYTS<sup>GS</sup>TNYN<sup>P</sup>SLKSR<sup>VTMS</sup>VDTSK<sup>NQ</sup>FSLK<sup>SS</sup>VTAA<sup>DT</sup>AVYTCAR<sup>DGL</sup>Y<sup>NG</sup>----Y<sup>GM</sup>DVWGQ<sup>TT</sup>VT<sup>VSS</sup>  
GL QVQLQESGP<sup>G</sup>LKVPSET<sup>LSL</sup>TCTVSGG<sup>SIS</sup>SYW<sup>MI</sup>RQ<sup>P</sup>AGKLEW<sup>IGR</sup>VYTS<sup>GS</sup>TNYN<sup>P</sup>SLKSR<sup>VTMS</sup>VDTSK<sup>NQ</sup>FSLK<sup>SS</sup>VTAA<sup>DT</sup>AVYTCAR<sup>DGL</sup>Y<sup>NG</sup>----Y<sup>GM</sup>DVWGQ<sup>TT</sup>VT<sup>VSS</sup>

**G**  
Зародышевая линия V=4-59, D=D4-23, J=JH4  
15.1.1 QVQLQESGP<sup>G</sup>LKVPSET<sup>LSL</sup>TCTVSGG<sup>SIS</sup>SYW<sup>MI</sup>RQ<sup>P</sup>AGKLEW<sup>IGR</sup>VYTS<sup>GS</sup>TNYN<sup>P</sup>SLKSR<sup>VTIS</sup>VDTSK<sup>NQ</sup>FSLK<sup>SS</sup>VTAA<sup>DT</sup>AVYTCAR<sup>DGL</sup>Y<sup>NG</sup>----Y<sup>GM</sup>DVWGQ<sup>TT</sup>VT<sup>VSS</sup>  
GL QVQLQESGP<sup>G</sup>LKVPSET<sup>LSL</sup>TCTVSGG<sup>SIS</sup>SYW<sup>MI</sup>RQ<sup>P</sup>AGKLEW<sup>IGR</sup>VYTS<sup>GS</sup>TNYN<sup>P</sup>SLKSR<sup>VTIS</sup>VDTSK<sup>NQ</sup>FSLK<sup>SS</sup>VTAA<sup>DT</sup>AVYTCAR<sup>DGL</sup>Y<sup>NG</sup>----Y<sup>GM</sup>DVWGQ<sup>TT</sup>VT<sup>VSS</sup>

**H**  
Зародышевая линия V=1-02, D=DIR1, J=JH4  
21.4.1 QVQLVSGGAE<sup>V</sup>VKPGASV<sup>KV</sup>SCKASG<sup>YITFT</sup>GY<sup>HN</sup>HW<sup>RQA</sup>PGQLEW<sup>MGW</sup>INFD<sup>SG</sup>GTNY<sup>AQ</sup>KPG<sup>RV</sup>MTTADTS<sup>ISTAY</sup>HEL<sup>NRL</sup>RSDD<sup>TAV</sup>YTCAR<sup>DQ</sup>FLGY<sup>CT</sup>NGVC<sup>SY</sup>F<sup>Y</sup>FDV<sup>WG</sup>Q<sup>Q</sup>TTVT<sup>VSS</sup>  
GL QVQLVSGGAE<sup>V</sup>VKPGASV<sup>KV</sup>SCKASG<sup>YITFT</sup>GY<sup>HN</sup>HW<sup>RQA</sup>PGQLEW<sup>MGW</sup>INFD<sup>SG</sup>GTNY<sup>AQ</sup>KPG<sup>RV</sup>MTTADTS<sup>ISTAY</sup>HEL<sup>NRL</sup>RSDD<sup>TAV</sup>YTCAR<sup>DQ</sup>FLGY<sup>CT</sup>NGVC<sup>SY</sup>F<sup>Y</sup>FDV<sup>WG</sup>Q<sup>Q</sup>TTVT<sup>VSS</sup>

Фиг. 1

Выравнивание белковых последовательностей вариабельного домена антитела с (GL) последовательно-  
стями клеток зародышевой линии (CDR подчеркнуты, мутации из клеток зародышевой линии выделены  
жирным шрифтом/оттенены)

**A**  
Зародышевая линия V=A3/A19, J=JK1  
22.1.1 DIVMTQSP<sup>LS</sup>LPVTFGE<sup>PAS</sup>ISCRSSQ<sup>SL</sup>LSNGY<sup>N</sup>FLDWY<sup>L</sup>LQKPGQ<sup>SP</sup>QLLIY<sup>L</sup>GSNRA<sup>S</sup>GV<sup>P</sup>DRF<sup>SG</sup>SGSD<sup>T</sup>DTLKI<sup>S</sup>SRVEA<sup>ED</sup>VG<sup>V</sup>Y<sup>Y</sup>CHQALQ<sup>T</sup>PTFGQ<sup>Q</sup>TKVEIK  
23.5.1 DIVMTQSP<sup>LS</sup>LPVTFGE<sup>PAS</sup>ISCRSSQ<sup>SL</sup>LSNGY<sup>N</sup>FLDWY<sup>L</sup>LQKPGQ<sup>SP</sup>QLLIY<sup>L</sup>GSNRA<sup>S</sup>GV<sup>P</sup>DRF<sup>SG</sup>SGSD<sup>T</sup>DTLKI<sup>S</sup>SRVEA<sup>ED</sup>VG<sup>V</sup>Y<sup>Y</sup>CHQALQ<sup>T</sup>PTFGQ<sup>Q</sup>TKVEIK  
23.29.1 DIVMTQSP<sup>LS</sup>LPVTFGE<sup>PAS</sup>ISCRSSQ<sup>SL</sup>LSNGY<sup>N</sup>FLDWY<sup>L</sup>LQKPGQ<sup>SP</sup>QLLIY<sup>L</sup>GSNRA<sup>S</sup>GV<sup>P</sup>DRF<sup>SG</sup>SGSD<sup>T</sup>DTLKI<sup>S</sup>SRVEA<sup>ED</sup>VG<sup>V</sup>Y<sup>Y</sup>CHQALQ<sup>T</sup>PTFGQ<sup>Q</sup>TKVEIK  
Зародышевая клетка DIVMTQSP<sup>LS</sup>LPVTFGE<sup>PAS</sup>ISCRSSQ<sup>SL</sup>LSNGY<sup>N</sup>FLDWY<sup>L</sup>LQKPGQ<sup>SP</sup>QLLIY<sup>L</sup>GSNRA<sup>S</sup>GV<sup>P</sup>DRF<sup>SG</sup>SGSD<sup>T</sup>DTLKI<sup>S</sup>SRVEA<sup>ED</sup>VG<sup>V</sup>Y<sup>Y</sup>CHQALQ<sup>T</sup>PTFGQ<sup>Q</sup>TKVEIK

**B**  
Зародышевая линия V=A3/A19, J=JK3  
21.2.1 DIVMTQSP<sup>LS</sup>LPVTFGE<sup>PAS</sup>ISCRSSQ<sup>SL</sup>LSNGY<sup>N</sup>FLDWY<sup>L</sup>LQKPGQ<sup>SP</sup>QLLIY<sup>L</sup>GSNRA<sup>S</sup>GV<sup>P</sup>DRF<sup>SG</sup>SGSD<sup>T</sup>DTLKI<sup>S</sup>SRVEA<sup>ED</sup>VG<sup>V</sup>Y<sup>Y</sup>CHQALQ<sup>T</sup>PTFGQ<sup>Q</sup>TKVDIK  
Зародышевая клетка DIVMTQSP<sup>LS</sup>LPVTFGE<sup>PAS</sup>ISCRSSQ<sup>SL</sup>LSNGY<sup>N</sup>FLDWY<sup>L</sup>LQKPGQ<sup>SP</sup>QLLIY<sup>L</sup>GSNRA<sup>S</sup>GV<sup>P</sup>DRF<sup>SG</sup>SGSD<sup>T</sup>DTLKI<sup>S</sup>SRVEA<sup>ED</sup>VG<sup>V</sup>Y<sup>Y</sup>CHQALQ<sup>T</sup>PTFGQ<sup>Q</sup>TKVDIK

**C**  
Зародышевая линия V=A27, J=JK3  
23.28.1 EIVLTQSPG<sup>TL</sup>SLSPGERAT<sup>LS</sup>CRASQ<sup>VSS</sup>SLAWYQ<sup>Q</sup>KPKAP<sup>RL</sup>IYASLQSGV<sup>PS</sup>RFSGSG<sup>SD</sup>TFLT<sup>IS</sup>SLQ<sup>E</sup>EDFAT<sup>YC</sup>Q<sup>Q</sup>NCAS<sup>-LFT</sup>FGP<sup>Q</sup>TKVDIK  
23.28.1L-C92A EIVLTQSPG<sup>TL</sup>SLSPGERAT<sup>LS</sup>CRASQ<sup>VSS</sup>SLAWYQ<sup>Q</sup>KPKAP<sup>RL</sup>IYASLQSGV<sup>PS</sup>RFSGSG<sup>SD</sup>TFLT<sup>IS</sup>SLQ<sup>E</sup>EDFAT<sup>YC</sup>Q<sup>Q</sup>NCAS<sup>-LFT</sup>FGP<sup>Q</sup>TKVDIK  
24.2.1 EIVLTQSPG<sup>TL</sup>SLSPGERAT<sup>LS</sup>CRASQ<sup>VSS</sup>SLAWYQ<sup>Q</sup>KPKAP<sup>RL</sup>IYASLQSGV<sup>PS</sup>RFSGSG<sup>SD</sup>TFLT<sup>IS</sup>SLQ<sup>E</sup>EDFAT<sup>YC</sup>Q<sup>Q</sup>NCAS<sup>-LFT</sup>FGP<sup>Q</sup>TKVDIK  
Зародышевая клетка EIVLTQSPG<sup>TL</sup>SLSPGERAT<sup>LS</sup>CRASQ<sup>VSS</sup>SLAWYQ<sup>Q</sup>KPKAP<sup>RL</sup>IYASLQSGV<sup>PS</sup>RFSGSG<sup>SD</sup>TFLT<sup>IS</sup>SLQ<sup>E</sup>EDFAT<sup>YC</sup>Q<sup>Q</sup>NCAS<sup>-LFT</sup>FGP<sup>Q</sup>TKVDIK

**D**  
Зародышевая линия V=3-30+, D=DIR3+D6-19, J=JH4  
21.2.1 QVQLVESGGG<sup>V</sup>VQPGSR<sup>LR</sup>LSCAASG<sup>FTFS</sup>SYGNHW<sup>RQA</sup>PGKLEW<sup>VAV</sup>ISDGN<sup>KY</sup>ADSVK<sup>GRFTI</sup>SRD<sup>NS</sup>KNLYLQ<sup>NS</sup>SLRAED<sup>TAV</sup>YTCAR<sup>DGK</sup>----AVP<sup>GD</sup>Y<sup>WG</sup>Q<sup>Q</sup>TTVT<sup>VSS</sup>  
Зародышевая клетка QVQLVESGGG<sup>V</sup>VQPGSR<sup>LR</sup>LSCAASG<sup>FTFS</sup>SYGNHW<sup>RQA</sup>PGKLEW<sup>VAV</sup>ISDGN<sup>KY</sup>ADSVK<sup>GRFTI</sup>SRD<sup>NS</sup>KNLYLQ<sup>NS</sup>SLRAED<sup>TAV</sup>YTCAR<sup>DGK</sup>----AVP<sup>GD</sup>Y<sup>WG</sup>Q<sup>Q</sup>TTVT<sup>VSS</sup>

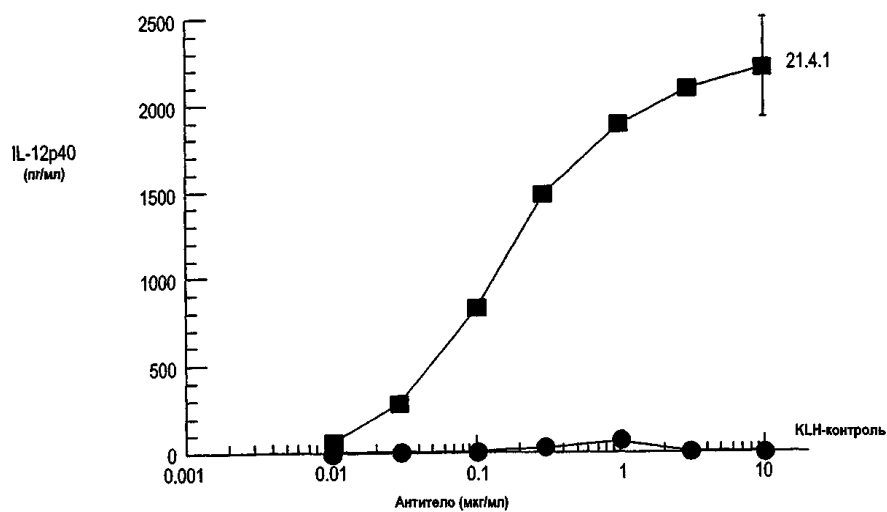
**E**  
Зародышевая линия V=3-30+, D=D1-1, J=JH6  
22.1.1 QVQLVESGGG<sup>V</sup>VQPGSR<sup>LR</sup>LSCAASG<sup>FTFS</sup>SYGNHW<sup>RQA</sup>PGKLEW<sup>VAV</sup>ISDGN<sup>KY</sup>ADSVK<sup>GRFTI</sup>SRD<sup>NS</sup>KNLYLQ<sup>NS</sup>SLRAED<sup>TAV</sup>YTCAR<sup>DGK</sup>----AVP<sup>GD</sup>Y<sup>WG</sup>Q<sup>Q</sup>TTVT<sup>VSS</sup>  
22.1.1H-C109A QVQLVESGGG<sup>V</sup>VQPGSR<sup>LR</sup>LSCAASG<sup>FTFS</sup>SYGNHW<sup>RQA</sup>PGKLEW<sup>VAV</sup>ISDGN<sup>KY</sup>ADSVK<sup>GRFTI</sup>SRD<sup>NS</sup>KNLYLQ<sup>NS</sup>SLRAED<sup>TAV</sup>YTCAR<sup>DGK</sup>----AVP<sup>GD</sup>Y<sup>WG</sup>Q<sup>Q</sup>TTVT<sup>VSS</sup>  
Зародышевая клетка QVQLVESGGG<sup>V</sup>VQPGSR<sup>LR</sup>LSCAASG<sup>FTFS</sup>SYGNHW<sup>RQA</sup>PGKLEW<sup>VAV</sup>ISDGN<sup>KY</sup>ADSVK<sup>GRFTI</sup>SRD<sup>NS</sup>KNLYLQ<sup>NS</sup>SLRAED<sup>TAV</sup>YTCAR<sup>DGK</sup>----AVP<sup>GD</sup>Y<sup>WG</sup>Q<sup>Q</sup>TTVT<sup>VSS</sup>

**F**  
Зародышевая линия V=3-30+, D=D4-17, J=JH6  
23.5.1 QVQLVESGGG<sup>V</sup>VQPGSR<sup>LR</sup>LSCAASG<sup>FTFS</sup>SYGNHW<sup>RQA</sup>PGKLEW<sup>VAV</sup>ISDGN<sup>KY</sup>ADSVK<sup>GRFTI</sup>SRD<sup>NS</sup>KNLYLQ<sup>NS</sup>SLRAED<sup>TAV</sup>YTCAR<sup>DGK</sup>----AVP<sup>GD</sup>Y<sup>WG</sup>Q<sup>Q</sup>TTVT<sup>VSS</sup>  
Зародышевая клетка QVQLVESGGG<sup>V</sup>VQPGSR<sup>LR</sup>LSCAASG<sup>FTFS</sup>SYGNHW<sup>RQA</sup>PGKLEW<sup>VAV</sup>ISDGN<sup>KY</sup>ADSVK<sup>GRFTI</sup>SRD<sup>NS</sup>KNLYLQ<sup>NS</sup>SLRAED<sup>TAV</sup>YTCAR<sup>DGK</sup>----AVP<sup>GD</sup>Y<sup>WG</sup>Q<sup>Q</sup>TTVT<sup>VSS</sup>

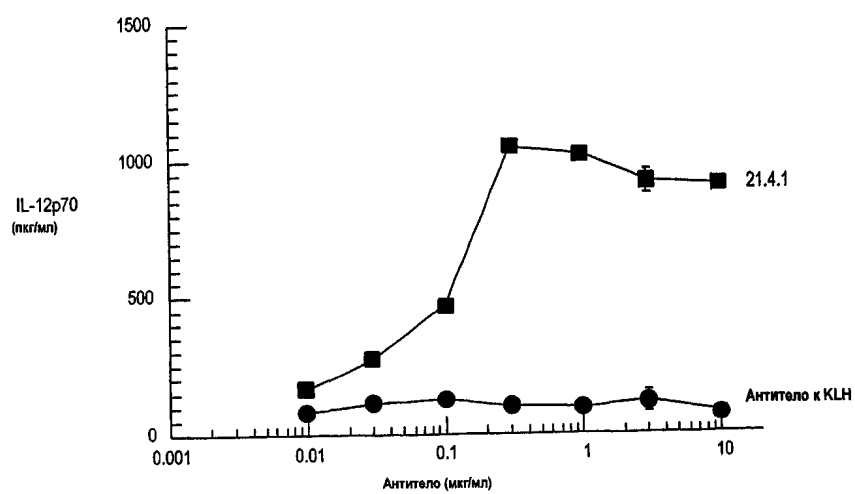
**G**  
Зародышевая линия V=3-30.3, D=D4-17, J=JH6  
23.29.1 QVQLVESGGG<sup>V</sup>VQPGSR<sup>LR</sup>LSCAASG<sup>FTFS</sup>SYGNHW<sup>RQA</sup>PGKLEW<sup>VAV</sup>ISDGN<sup>KY</sup>ADSVK<sup>GRFTI</sup>SRD<sup>NS</sup>KNLYLQ<sup>NS</sup>SLRAED<sup>TAV</sup>YTCAR<sup>DGK</sup>----AVP<sup>GD</sup>Y<sup>WG</sup>Q<sup>Q</sup>TTVT<sup>VSS</sup>  
Зародышевая клетка QVQLVESGGG<sup>V</sup>VQPGSR<sup>LR</sup>LSCAASG<sup>FTFS</sup>SYGNHW<sup>RQA</sup>PGKLEW<sup>VAV</sup>ISDGN<sup>KY</sup>ADSVK<sup>GRFTI</sup>SRD<sup>NS</sup>KNLYLQ<sup>NS</sup>SLRAED<sup>TAV</sup>YTCAR<sup>DGK</sup>----AVP<sup>GD</sup>Y<sup>WG</sup>Q<sup>Q</sup>TTVT<sup>VSS</sup>

**H**  
Зародышевая линия V=4-16, D=DIR1+D4-17, J=JH5  
23.28.1 QVQLQESG<sup>PL</sup>GLVKPSET<sup>LSL</sup>TCTVSGG<sup>SIS</sup>Y<sup>W</sup>MI<sup>RQ</sup>PAGKLEW<sup>IGR</sup>VYTS<sup>GS</sup>TNYN<sup>P</sup>SLKSR<sup>VTIS</sup>VDTSK<sup>NQ</sup>FSLK<sup>SS</sup>VTAA<sup>DT</sup>AVYTCAR<sup>DGL</sup>Y<sup>NG</sup>----Y<sup>GM</sup>DVWGQ<sup>TT</sup>VT<sup>VSS</sup>  
23.28.1H-D16E QVQLQESG<sup>PL</sup>GLVKPSET<sup>LSL</sup>TCTVSGG<sup>SIS</sup>Y<sup>W</sup>MI<sup>RQ</sup>PAGKLEW<sup>IGR</sup>VYTS<sup>GS</sup>TNYN<sup>P</sup>SLKSR<sup>VTIS</sup>VDTSK<sup>NQ</sup>FSLK<sup>SS</sup>VTAA<sup>DT</sup>AVYTCAR<sup>DGL</sup>Y<sup>NG</sup>----Y<sup>GM</sup>DVWGQ<sup>TT</sup>VT<sup>VSS</sup>  
24.2.1 QVQLQESG<sup>PL</sup>GLVKPSET<sup>LSL</sup>TCTVSGG<sup>SIS</sup>Y<sup>W</sup>MI<sup>RQ</sup>PAGKLEW<sup>IGR</sup>VYTS<sup>GS</sup>TNYN<sup>P</sup>SLKSR<sup>VTIS</sup>VDTSK<sup>NQ</sup>FSLK<sup>SS</sup>VTAA<sup>DT</sup>AVYTCAR<sup>DGL</sup>Y<sup>NG</sup>----Y<sup>GM</sup>DVWGQ<sup>TT</sup>VT<sup>VSS</sup>  
Зародышевая клетка QVQLQESG<sup>PL</sup>GLVKPSET<sup>LSL</sup>TCTVSGG<sup>SIS</sup>Y<sup>W</sup>MI<sup>RQ</sup>PAGKLEW<sup>IGR</sup>VYTS<sup>GS</sup>TNYN<sup>P</sup>SLKSR<sup>VTIS</sup>VDTSK<sup>NQ</sup>FSLK<sup>SS</sup>VTAA<sup>DT</sup>AVYTCAR<sup>DGL</sup>Y<sup>NG</sup>----Y<sup>GM</sup>DVWGQ<sup>TT</sup>VT<sup>VSS</sup>

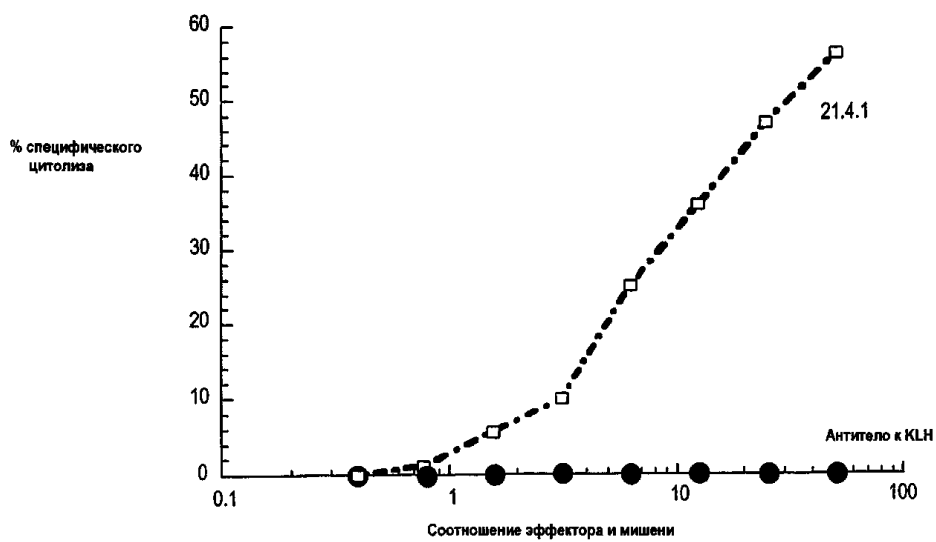
Фиг. 2



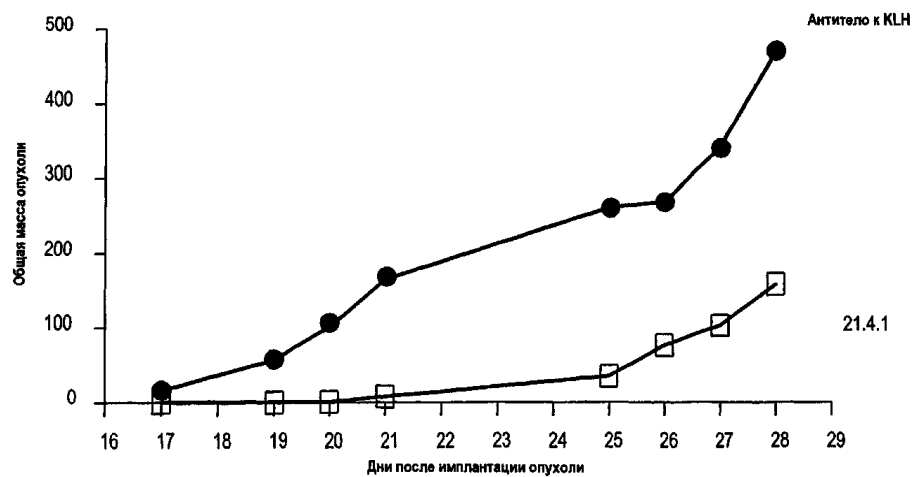
Фиг. 3



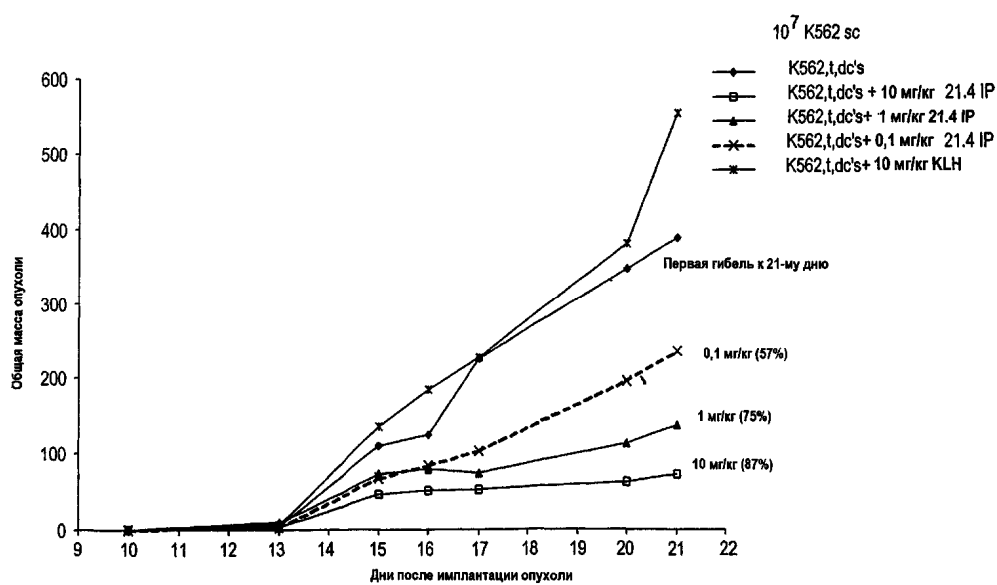
Фиг. 4



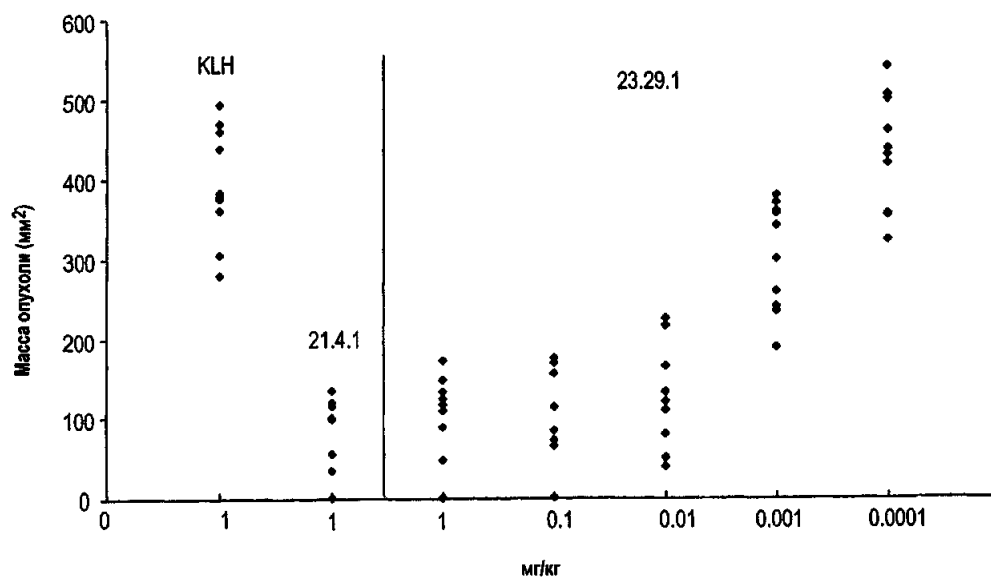
Фиг. 5



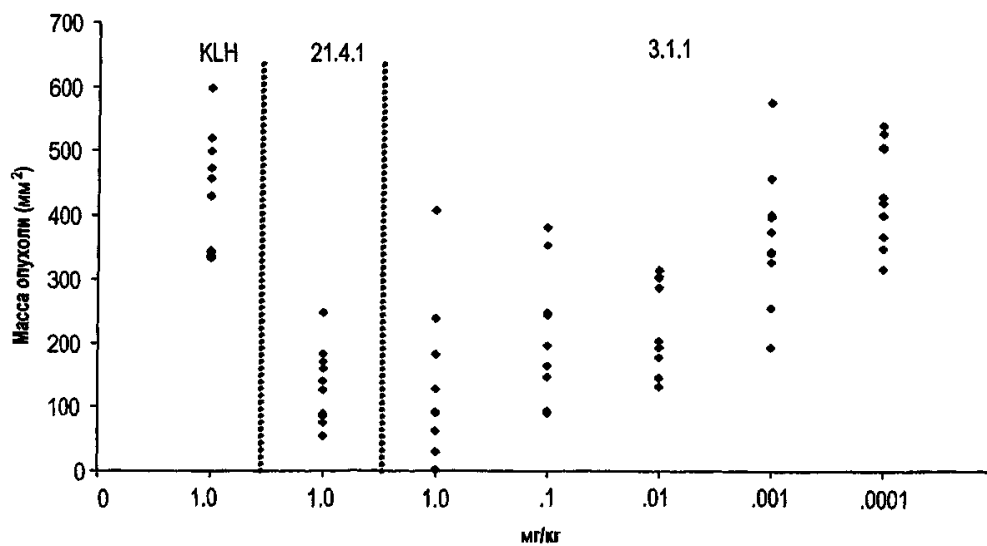
Фиг. 6



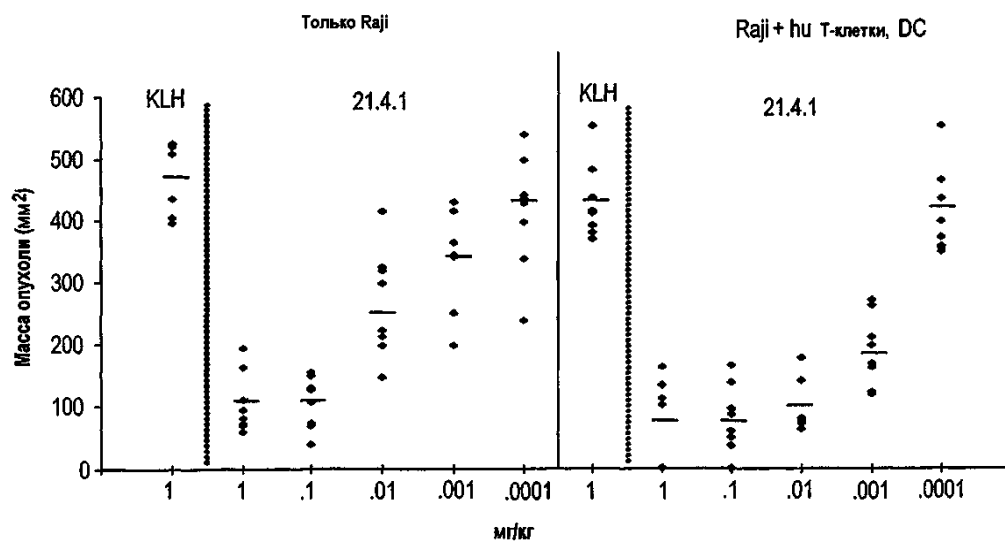
Фиг. 7



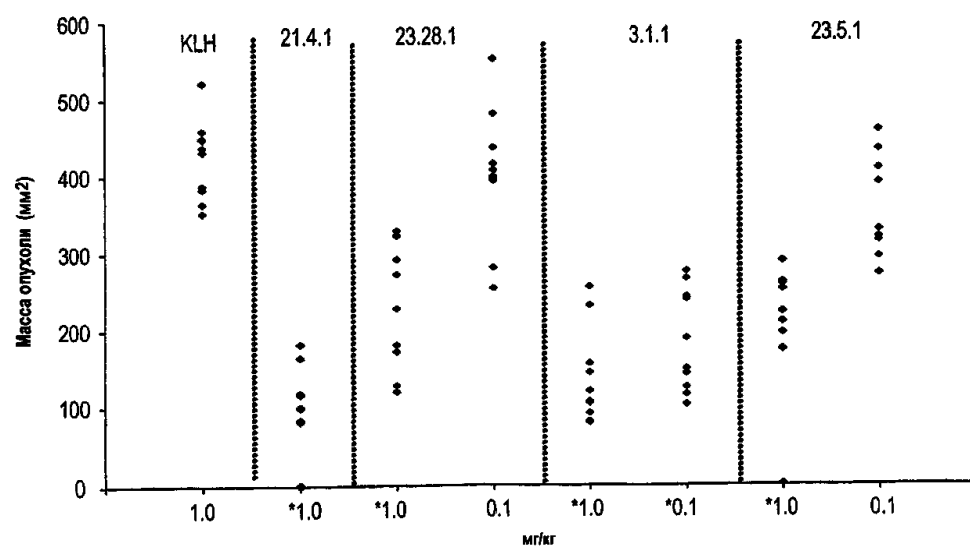
Фиг. 8



Фиг. 9

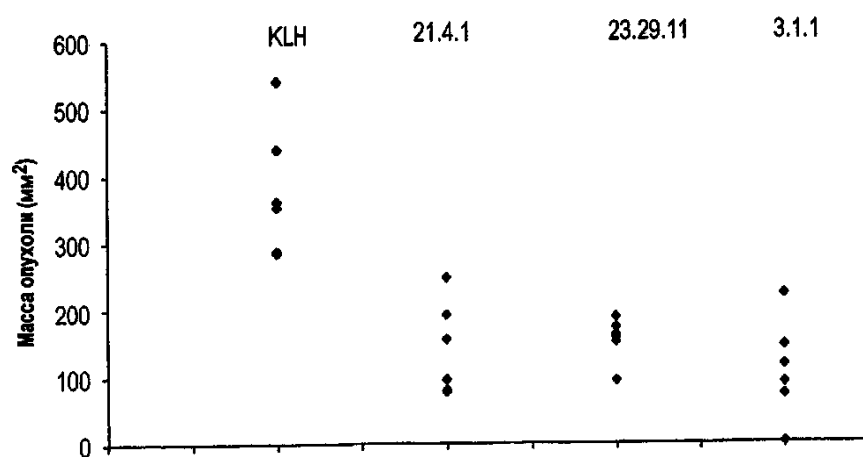


Фиг. 10

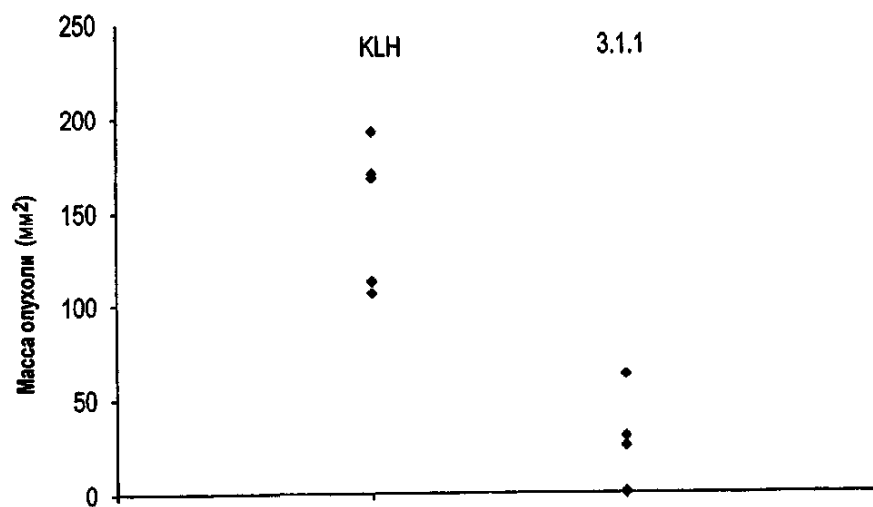


\* p &lt; .0001

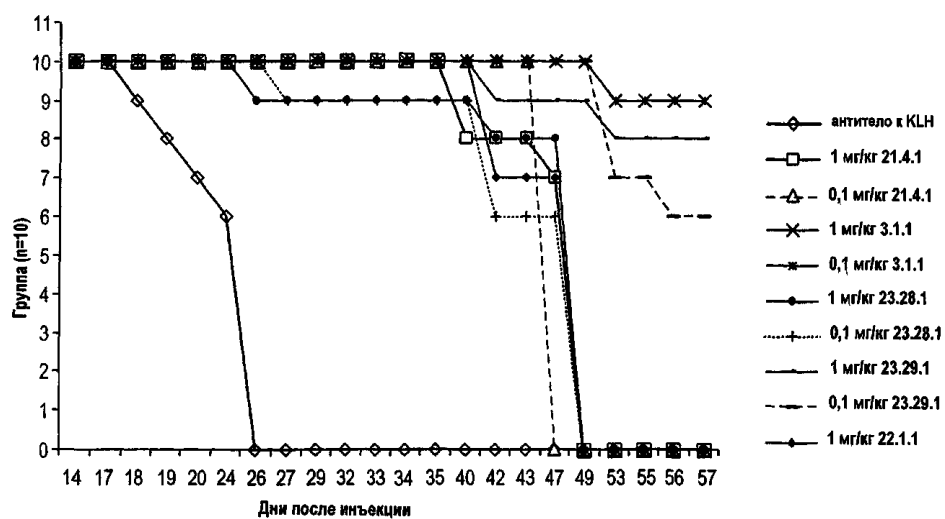
Фиг. 11



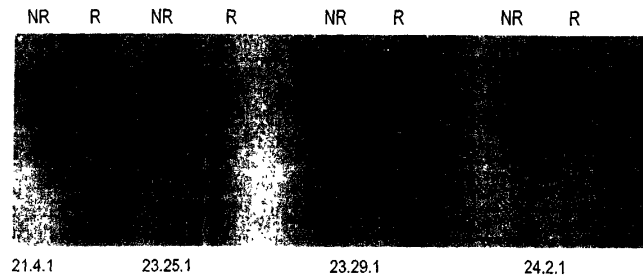
Фиг. 12



Фиг. 13



Фиг. 14



Фиг. 15

## D1

Мышь VTCSDKQYLHDGQCCDLCQPGSRLTSHCTALEKTQCH  
 Человек TACREKQYLINSQCCSLCQPGQKLVSDCTEFTETECL

## D2

Мышь PCDSGEFSAQWNREIRCHQHRHCEPNQGLRVKKEGTAESDTVCT  
 Человек PCGESEFLDTWNRETHCHQHKYCDPNLGLRVQQKGTSETDTICT

## D3

Мышь CKEGQHCTSKDCEACAQHTPCIPGFGVMEATETTTDVTCHP  
 Человек CEEGWHCTSEACESCVLHRSCSPGFGVKQIATGVSDTICEP

## D4

Мышь CPVGFFSNQSSLFKCYPWTSCEDKNLEVLQKGTSTQNVICG  
 Человек CPVGFFSNVSSAFEKCHPWTSCETKDLVVQQAGTNKTDVVCG

Фиг. 16

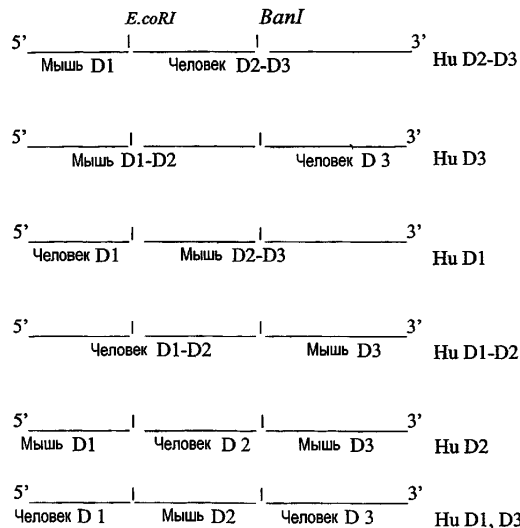
Мышь MVSLPRLCALWGCLLTAVHLGQCVTCSKDQYLHDGQCCDLCQPGSRLTSH  
 Человек MVRPLQCVLWGCLLTAVHPEPPTACREKQYLINSQCCSLCQPGQKLVS

Мышь ALEKTQCHPCDSGEIFSAQWNREIRCHQHRHCEPNQGLRVKKEGTAESD  
 Человек EFTETECLPCGESEIFLDTWNRETHCHQHKYCDPNLGLRVQQKGTSETD

**EcoRI****BanI**

Мышь TVCTCKEGQHCTSKDCEACAQHTPCIPGFGVMEATETTTDVTCHPCPHNNH  
 Человек TICTCEEHWHCTSEACESCVLHRSCSPGFGVKQIATGVSDTICEPCPHNNH

Фиг. 17



Фиг. 18



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2