


 ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2010129558/10, 19.12.2008

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
19.12.2008

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
21.12.2007 US 61/015,869

(43) Дата публикации заявки: 27.01.2012 Бюл. № 3

(45) Опубликовано: 20.08.2013 Бюл. № 23

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: WO 01/92340 A, 06.12.2001. GOEBELER M et al. Interleukin-13 selectively induces monocyte chemoattractant protein-1 synthesis and secretion by human endothelial cells. Involvement of IL-4R alpha and Stat6 phosphorylation. Immunology. 1997 Jul;91(3):450-7. ABI35623 10.01.2007
 Найдено в Интернет по адресу <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi> (см. прод.)

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на национальной фазе: 21.07.2010

(86) Заявка РСТ:
GB 2008/051212 (19.12.2008)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2009/081201 (02.07.2009)

Адрес для переписки:

 129090, Москва, ул. Б.Спасская, 25, стр.3,
 ООО "Юридическая фирма Городисский и
 Партнеры", пат.пов. Е.Е.Назиной

(72) Автор(ы):

 Сузанне КОЭН (GB),
 Клэр Луис ДОБСОН (GB),
 Пер-Улаф Фредерик ЭРИКССОН (SE),
 Дебора Луис ЛЕЙН (GB),
 Карин ФОН-ВАХЕНФЕЛЬДТ (SE)

(73) Патентообладатель(и):

МЕДИММУН ЛИМИТЕД (GB)

(54) ЭЛЕМЕНТ, СВЯЗЫВАЮЩИЙСЯ С α -РЕЦЕПТОРОМ ИНТЕРЛЕЙКИНА-4 (IL-4R α)-173

(57) Реферат:

Изобретение относится к биохимии и представляет собой изолированное антитело, которое специфически связывает α -рецептор интерлейкина-4 (hIL-4R α) человека. Антитело включает VH домен антитела, содержащий набор CDR: HCDR1, HCDR2, HCDR3 и каркасную область, и VL домен антитела, содержащий набор CDR: LCDR1, LCDR2 и LCDR3 и каркасную область, причем

набор CDR имеет 10 или менее замен аминокислот, выбранных из набора CDR, где: HCDR1 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:193; HCDR2 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:194; HCDR3 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:195; LCDR1 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:198; LCDR2

характеризуется аминокислотной
последовательностью SEQ ID NO:199; и LCDR3
характеризуется аминокислотной
последовательностью SEQ ID NO:200, и где
замены не приводят к потере способности

связывать hIL-4Ra. Изобретение позволяет
расширить ассортимент антител, специфически
связывающих α -рецептор интерлейкина-4. 3 н.
и 12 з.п.ф-лы, 17 ил., 7 табл., 5 пр.

(56) (продолжение):

[найдено 22.11.2012]. ВАН04841 05.10.2007 Найдено в Интернет по адресу <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi> [найдено 22.11.2012]. АВА61879 14.07.2006 Найдено в Интернет по адресу <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi> [найдено 22.11.2012]. RU 2162711 C2, 10.02.2001.

RU 2 4 9 0 2 7 8 C 2

RU 2 4 9 0 2 7 8 C 2



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21)(22) Application: **2010129558/10, 19.12.2008**

(24) Effective date for property rights:
19.12.2008

Priority:

(30) Convention priority:
21.12.2007 US 61/015,869

(43) Application published: **27.01.2012 Bull. 3**

(45) Date of publication: **20.08.2013 Bull. 23**

(85) Commencement of national phase: **21.07.2010**

(86) PCT application:
GB 2008/051212 (19.12.2008)

(87) PCT publication:
WO 2009/081201 (02.07.2009)

Mail address:

**129090, Moskva, ul. B.Spaskaja, 25, str.3, OOO
"Juridicheskaja firma Gorodisskij i Partnery",
pat.pov. E.E.Nazinoj**

(72) Inventor(s):

**Suzanne KOEhN (GB),
Klehr Luis DOBSON (GB),
Per-Ulaf Frederik EhRIKSSON (SE),
Debora Luis LEJN (GB),
Karin FON-VAKhENFEL'DT (SE)**

(73) Proprietor(s):

MEDIMMUN LIMITED (GB)

(54) **ELEMENT BOUND WITH INTERLEUKIN-4 RECEPTOR α (IL-4R α)-173**

(57) Abstract:

FIELD: chemistry.

SUBSTANCE: invention relates to biochemistry and discloses an isolated antibody which specifically binds a human interleukin-4 receptor α (hIL-4Ra). The antibody includes a VH antibody domain which contains a set of CDR: HCDR1, HCDR2, HCDR3 and a framework region, and a VL antibody domain containing a set of CDR: LCDR1, LCDR2 and LCDR3 and a framework region, wherein the set of CDR has 10 or less substitutions of amino acids selected from the set of CDR, where: HCDR1 is characterised by amino acid sequence SEQ ID NO:193; HCDR2 is

characterised by amino acid sequence SEQ ID NO:194; HCDR3 is characterised by amino acid sequence SEQ ID NO:195; LCDR1 is characterised by amino acid sequence SEQ ID NO:198; LCDR2 is characterised by amino acid sequence SEQ ID NO:199; and LCDR3 is characterised by amino acid sequence SEQ ID NO:200, and where the substitutions do not result in loss of the capability to bind hIL-4Ra.

EFFECT: invention broadens the range of antibodies that specifically bind interleukin-4 receptor α .

15 cl, 17 dwg, 7 tbl, 5 ex

Настоящее изобретение относится к элементам, связывающимся с α -рецептором интерлейкина-4 (IL-4R α , известным также как CD124), прежде всего к молекулам антител и к их терапевтическому применению, например, при лечении или профилактике нарушений, ассоциированных с IL-4R α , IL-4 и/или IL-13, примерами которых является астма и ХОЗЛ.

Субъединица IL-4R α человека (Swiss Prot, рег. №P24394) представляет собой мембранный белок типа I (ММ 140 кДа), который с высокой аффинностью связывается с IL-4 человека (Andrews и др., J. Biol. Chem., 277, 46073-46078 (2002)).

Комплекс IL-4/IL-4R α может димеризоваться с общей γ -цепью (γ -цепью CD132) или с субъединицей рецептора IL-13R α 1 (с участием доменов IL-4) с образованием двух различных сигнальных комплексов, обычно обозначаемых как рецепторы типа I и типа II, соответственно. В другом варианте IL-13 может связываться с IL-13R α 1 с образованием комплекса IL-13/IL-13R α 1, который связывается с субъединицей IL-4R α с образованием комплекса рецептора типа II. Таким образом, IL-4R α опосредует биологическую активность IL-4 и IL-13 (см. обзор Gessner и др., Immunobiology, 201, 285 (2000)). При проведении испытаний *in vitro* было установлено, что IL-4 и IL-13 активируют эффекторные функции в ряде клеток, например в Т клетках, В клетках, эозинофилах, тучных клетках, базофилах, клетках гладких мышц дыхательных путей, эпителиальных клетках дыхательных путей, фибробластах легких и эндотелиальных клетках (см. обзор Steinke и др., Resp.Res., 2, 66 (2001) и Willis-Karp, Immunol. Rev., 202, 175 (2004)).

В ограниченной степени IL-4R α экспрессируется (100-5000 молекул/клетке) на многих типах клеток (Lowenthal и др., J. Immunol., 140, 456 (1988)), например на Т клетках периферической крови, на моноцитах, на эпителиальных клетках дыхательных путей, на В клетках и на фибробластах легких. Рецептор типа I преобладает в кроветворных клетках, в то время как рецептор типа II экспрессируется на кроветворных клетках и некроветворных клетках.

В литературе описаны полиморфные формы IL-4R α в популяции человека (см. обзор Gessner и др., Immunobiology, 201, 285 (2000)) и сообщается об ассоциации с IgE или клинической атопии в некоторых популяциях. Например, V75R576 IL-4R α ассоциируется с аллергической астмой и повышенной функцией IL-4R α (Risma и др. J. Immunol., 169(3), 1604-1610 (2002)).

В литературе приводится ряд фактов, свидетельствующих о важной роли пути IL-4/IL-13 в патологии астмы (см. обзор Chatila, Trends in Molecular Med, 10, 493 (2004)), а также, как описано в тексте заявки, в развитии ряда других патологических состояний. Принято считать, что патологический процесс инициируется, и поддерживается благодаря повышенной секреции IL-4 и IL-13. Полагают, что IL-13 является основным партнером в запуске гиперреактивности дыхательных путей (ГРДП), гиперсекреции слизи и коррекции дыхательных путей, тогда как IL-4 является главным индуктором поляризации Th2 и продуцирования IgE (Wynn, Annu. Rev. Immunol., 21, 425 (2003)).

О роли IL-4R α в заболевании астмой свидетельствуют также результаты испытания на модели животных. Введение функционального антагониста мышинового IL-4R (мутант IL-4, делеция C118) во время аллергенной стимуляции овальбумином (ОВА, модельный аллерген) подавляло развитие аллергической эозинофилии дыхательных путей и АНР у мышей, предварительно сенсibilизированных ОВА (Tomkinson и др. J. Immunol., 166(9), 5792-5800 (2001)). Кроме того, в ряде испытаний *in vivo* получены положительные результаты при

блокировании IL-13 или IL-4 на модели животных с заболеванием астмой. Например, терапевтическое введение мА анти-IL-13 на модели ОВА-индуцированного хронического стойкого воспаления дыхательных путей подавляло АНР, останавливало развитие субэпителиального фиброза и воспалительного процесса и восстанавливало гиперплазию слизи до нормального уровня (Yang и др., J. Pharmacol. Exp. Ther., 313(1), 8-15 (2005)). На модели мышей, обработанных ОВА, было установлено, что ингибирование IL-4 антителами анти-IL-4 заметно снижало инфильтрацию эозинофилов при введении во время иммунизации (Coyle и др., Am. J. Resp. Cell Mol/ Biol/, 13, 54 (1995)). На аналогичной модели у мышей, дефицитных по IL-4, было установлено, что в бронхоальвеолярном смыве присутствует существенно меньше эозинофилов и наблюдается существенно более низкий уровень перибронхиального воспалительного процесса после воздействия ОВА (Brusselle и др., Clin. Exp. Allergy, 24, 73 (1994)).

При проведении клинических испытаний (фаза IIa) установлено, что антагонист IL-4R α (так называемый мутеин IL-4) понижает аллерген-индуцированную позднюю астматическую реакцию и ослабляет остаточный статус воспалительного процесса в легких у пациентов с астмой (Wenzel и др., Lancet, 370, 1422 (2007)). Указанные результаты являются дополнительным подтверждением того, что антагонист IL-4R α может найти клиническое применение при заболевании астмой.

Кроме астмы IL-4R α имеет отношение к ряду других патологических состояний, указанных ниже.

Хроническое обструктивное заболевание легких (ХОЗЛ) включает популяции пациентов с различным уровнем хронического бронхита, заболеванием тонких дыхательных путей и эмфиземой и характеризуется прогрессирующим необратимым ухудшением функции легких, которое практически резистентно к современным методам лечения астмы. Причины заболевания ХОЗЛ фактически не установлены. В "голландской гипотезе" предполагается, что существует общая предрасположенность к заболеванию ХОЗЛ и астмой и, следовательно, патогенез указанных нарушений развивается по аналогичным механизмам (Sluiter и др., Eur. Respir. J., 4(4), 479-489 (1991)). В работе других авторов (Zheng и др., J. Clin. Invest., 106(9), 1081-1093 (2000)) установлено, что повышенная экспрессия IL-13 в легких мыши вызывает эмфизему, повышенное образование слизи, и воспаление, т.е. наблюдаются все признаки ХОЗЛ, сопровождающие заболевание человека. Кроме того, установлено, что АНР, IL-13-зависимая ответная реакция на модели аллергического воспаления у мышей, является признаком ухудшения функции легких у курильщиков (Tashkin и др., Am. J. Respir. Crit. Care Med., 153 (6 Pt 1), 1802-1811 (1996)). Установлена также связь между промотором полиморфизма IL-13 и предрасположенностью к ХОЗЛ (Van Der Pouw Kraan и др., Genes Immun., 3(7), 436-439 (2002)). Все изложенное свидетельствует о том, что путь IL-4/IL-13, и прежде всего IL-13, играет важную роль в патогенезе ХОЗЛ.

IL-13 принимает участие в патогенезе воспалительного заболевания кишечника. В работе Heller и др. (Immunity, 17(5), 629-638 (2002)) сообщается, что нейтрализация IL-13 за счет введения растворимого IL-13R α 2 ослабляет симптомы воспаления ободочной кишки на модели язвенного колита человека у мышей. Соответственно, экспрессия IL-13 была выше в образцах, полученных ректальной биопсией у пациентов с язвенным колитом, по сравнению с контролем (Inoue и др., Am. J. Gastroenterol., 94(9), 2441-2446 (1999)).

Наряду с астмой путь IL-4/IL-13 связан с другими фиброзными состояниями,

такими как системный склероз (Hasegawa и др., J. Rheumatol., 24(2), 328-332 (1997)), фиброз легких (Hancock и др., Am. J. Respir. Cell Mol. Biol., 18(1), 60-65 (1998)), индуцированный паразитом фиброз печени (Fallen и др., J. Immunol., 164(5), 2585-2591 (2000), Chiaramonte и др., J. Clin. Invest., 104(6), 777-785 (1999), Chiaramonte и др.,
 5 Hepatology, 34(2), 273-282 (2001)) и муковисцидоз (Hauber и др., J. Cyst. Fibr., 2, 189 (2003)).

IL-4 и в некоторой степени IL-13 являются решающими факторами, опосредующими активность В клеток, такую как пролиферация В клеток, секреция
 10 иммуноглобулина и экспрессия 141FcεR. Клиническое применение ингибитора IL-4Rα включает, например, применение при терапии аллергии для подавления синтеза IgE (включая, например, атопический дерматит и пищевую аллергию), применение при трансплантационной терапии для предотвращения отторжения
 15 трансплантата, а также для подавления поздних реакций гиперчувствительности или контактной гиперчувствительности.

Антагонисты IL-4R могут также найти применение в качестве адъювантов для иммунотерапии аллергии и в качестве адъювантов в составе вакцин.

Описаны антитела против IL-4Rα. Двумя примерами являются нейтрализующие
 20 мышинные анти-IL-4Rα моноклональные антитела MAB230 (клон 25463) и 16146 (клон 25463.11), которые поставляются фирмами R&D (Minneapolis, MN) и Sigma (St Louis, MO), соответственно. Указанные антитела являются подтипом IgG2a и продуцируются в мышинных гибридах, полученных от мышей, иммунизированных
 25 очищенным рекомбинантным IL-4Rα человека (полученным из бакуловируса). Два других препарата нейтрализующих мышинных антител анти-IL-4Rα (M57 и X2/45-12) поставляются фирмой BD Biosciences (Franklin Lakes, NJ) и Bioscience (San Diego, CA), соответственно. Известны антитела IgG1, которые продуцируются в мышинных
 30 гибридах, полученных от мышей, иммунизированных рекомбинантным растворимым IL-4Rα.

Полноразмерные антитела человека, по-видимому, являются более пригодными для клинического применения по сравнению с мышинными или химерными
 35 антителами, поскольку антимышинные антитела человека (НАМА) против Fc фрагмента иммуноглобулина мыши часто продуцируются, приводя к быстрому клиренсу и возможно анафилактической реакции (Brochier и др., Int. J. Immunopharm., 17, 41-48 (1995)). Хотя химерные антитела (содержащие вариабельные области
 40 антител мыши и константные области антител человека) являются менее иммуногенными по сравнению с мышинными МА, сообщается об анти-химерных антителах человека (НАСА) (Bell и Kamm, Aliment. Pharmacol. Ther., 14, 501-514 (2000)).

В WO 01/92340 (фирма Immunex) описаны моноклональные антитела человека против рецептора IL-4, полученные по методикам, включающим иммунизацию
 45 трансгенной мыши растворимым пептидом IL-4R и получение линий гибридомных клеток, которые секретируют антитела против IL-4R, причем главные антитела 12B5 являются полноразмерными антителами IgG1 человека.

В WO 05/047331 (фирма Immunex) описаны другие антитела, полученные из 12B5 (обозначенные H1L1) с использованием мутагенеза олигонуклеотида, кодирующего
 50 область VH. Каждая мутированная цепь VH комплементарно связывалась с одной из 6 определенных цепей VL с образованием небольшого мотива антител.

В WO 07/082068 (фирма Aerovance) описан способ лечения астмы, включающий введение мутантного белка IL-4 человека, содержащего замены R121D и Y124D. В

описании заявки указано, что включение такого мутеина IL4 в состав фармацевтической композиции может подавлять связывание huIL-4 дикого типа и huIL-13 дикого типа с рецепторами.

В WO 08/054606 (фирма Regeneron) описаны конкретные антитела против IL-4R человека, которые получают в трансгенных мышах, способных продуцировать антитела человека.

Предпочтительно и необходимо разрабатывать и получать антитела против IL-4Rα человека, которые также способны давать перекрестную реакцию с ортологичным белком из других видов, например макак-крабоедов. Такие антитела облегчают характеризацию таких антител при оценке фармакологии и безопасности *in vivo*. Для такой оценки пригодны антитела, эффективность или аффинность которых в отношении белка других видов в 10 раз меньше по сравнению с активностью в отношении белка человека. Однако белок IL-4Rα человека относительно мало напоминает ортологичный белок IL-4Rα из других видов за исключением шимпанзе. Следовательно, необходима разработка антител с высокой аффинностью и эффективностью, пригодных для клинического применения, с перекрестной реактивностью с белками других видов, которые пригодны для оценки безопасности и токсикологии, необходимой для клинического применения.

Благодаря применению соответствующих методов селекции и анализа заявители разработали связывающие элементы семейства IL-4Rα, которые ингибируют биологическую активность IL-4Rα человека и макак-крабоедов.

Как подробно описано в разделе Примеры, на основе программы первоначальной идентификации заявители выбрали одно антитело против IL-4Rα человека, которое также слабо связывается и обеспечивает функциональную нейтрализацию IL-4Rα макак-крабоедов. После направленного и произвольного мутагенеза и отбора мутантов указанных исходных антител получали панель антител, обладающих существенно улучшенными свойствами. Области VH и VL, включающие участки комплементарности (CDR) исходных антител (антител 1), и оптимизированных антител, приводятся на фигурах 1, 2, 3 и 4. Указанные молекулы антител, VH, VL, CDR, и связывающие элементы, включающие один или более CDR, являются объектами настоящего изобретения.

Установлено, что кроме рецептора IL-4Rα дикого типа связывающие элементы по настоящему изобретению связываются с I75V IL-4Rα, обычным вариантом рецептора человека.

В заявке описаны связывающие элементы, которые эффективно нейтрализуют биологическое действие IL-4Rα, обладают высокой аффинностью к IL-4Rα и ингибируют передачу сигнала, индуцированного IL-4 и IL-13. Следует отметить, что связывающие элементы подавляют передачу сигнала от высоко аффинных комплексов, например, IL-4:IL-4Rα:γс, IL-4:IL-4Rα:IL-13Rα1, IL-13:IL-13Rα1:IL-4Rα. Такое действие предотвращает передачу сигналов IL-4 и IL-13. Кроме того, указанные результаты свидетельствуют о том, что связывающие элементы ингибируют взаимодействие и передачу сигнала комплексами IL-4Rα типа 1 и типа 2. Указанные и другие свойства и действие связывающих элементов более подробно описаны ниже.

Связывающие элементы можно использовать для лечения нарушений, при которых экспрессируются IL-4Rα, IL-4 или IL-13, например, одного или более IL-4Rα-, IL-4- или IL-13-ассоциированных нарушений, указанных в тексте заявки, таких как астма или ХОЗЛ.

Как описано в тексте заявки, связывание связывающего элемента с IL-4R α определяют с использованием поверхностного плазменного резонанса, например, BIAcore.

Данные поверхностного плазменного резонанса представляют в виде графика (модель связывания по Ленгмюру, 1:1, k_a и k_d одновременно) и рассчитывают константу аффинности K_D по соотношению констант скорости реакции k_{d1}/k_{a1} .

Связывающий элемент по изобретению может обладать одновалентной аффинностью при связывании с IL-4R α человека, которая составляет менее 20 нМ. В других вариантах одновалентная аффинность при связывании с IL-4R α человека составляет менее 10 нМ, например менее 8 нМ, менее 5 нМ. В других вариантах связывающий элемент также связывается с IL-4R α макака-крабоедов. В одном варианте связывающий элемент по настоящему изобретению обладает одновалентной аффинностью при связывании с IL-4R α человека в интервале от 0,05 до 12 нМ. В одном варианте связывающий элемент по настоящему изобретению обладает одновалентной аффинностью при связывании с IL-4R α человека в интервале от 0,1 до 5 нМ. В одном варианте связывающий элемент по настоящему изобретению обладает одновалентной аффинностью при связывании с IL-4R α человека в интервале от 0,1 до 2 нМ.

В одном варианте связывающий элемент по настоящему изобретению иммуноспецифично связывается с IL-4R α человека с аффинностью (K_D) менее 5000 пМ, менее 4000 пМ, менее 3000 пМ, менее 2500 пМ, менее 2000 пМ, менее 1500 пМ, менее 1000 пМ, менее 750 пМ, менее 500 пМ, менее 250 пМ, менее 200 пМ, менее 150 пМ, менее 100 пМ, менее 75 пМ, по данным анализа с использованием способа, описанного в тексте заявки или известного специалисту в данной области (например, анализа BIAcore, ИФА, фирма Biacore International AB, Uppsala, Швеция).

В конкретном варианте связывающий элемент по настоящему изобретению иммуноспецифично связывается с IL-4R α человека с аффинностью (K_D) от 25 до 5000 пМ, от 25 до 4000 пМ, от 25 до 3500 пМ, от 25 до 3000 пМ, от 25 до 2500 пМ, от 25 до 2000 пМ, от 25 до 1500 пМ, от 25 до 1000 пМ, от 25 до 750 пМ, от 25 до 500 пМ, от 25 до 250 пМ, от 25 до 100 пМ, от 25 до 75 пМ, от 25 до 50 пМ, по данным анализа, описанного в тексте заявки или известного специалисту в данной области (например, анализа BIAcore, ИФА). В другом варианте связывающий элемент (включая антитела анти-IL-4R α) по настоящему изобретению иммуноспецифично связывается с IL-4R α человека с аффинностью (K_D) 500 пМ, 100 пМ, 75 пМ или 50 пМ, по данным анализа, описанного в тексте заявки или известного специалисту в данной области (например, анализа BIAcore, ИФА).

Как более подробно описано в разделе Примеры, связывающие элементы по настоящему изобретению эффективно нейтрализуют IL-4R α . Нейтрализация обозначает ингибирование биологической активности, опосредованной IL-4R α . Связывающие элементы по изобретению могут нейтрализовать одну или более активностей, опосредованных IL-4R α . Ингибирование биологической активности вероятно опосредуется блокированием образования сигнального комплекса (IL-4R α) у цепи (или IL-13R α) и одного из ассоциированных растворимых лигандов, например, IL-4 или IL-13.

Нейтрализацию передачи сигнала IL-4 или IL-13 с участием комплекса, содержащего рецептор IL-4R α , оценивают по подавлению пролиферации TF-1 клеток, стимулированных IL-4 или IL-13.

Эпитоп IL4R α человека, с которым связываются антитела по изобретению,

локализовали с использованием комбинации мутагенеза и замены домена. Химеры с полной заменой домена позволяют локализовать эпитоп в домене 1 (D1) IL4Rα человека (остатки M1-E119). IL-4Rα человека содержит пять петлевых областей, которые в кристаллической структуре расположены вблизи IL4 (Hage и др., Cell. 97, 271-281 (1999)). Химеры с заменой петли позволяют локализовать эпитоп IL-4Rα человека в комплексе с антителами по изобретению в основном в петле 3 (остатки L89-N98) и частично в петле 2 (остатки V65-H72). Химеры, не содержащие петлю 3, неспособны ингибировать связывание IL-4Rα человека с антителами, а химеры, не содержащие петлю 2, характеризуются величиной IC₅₀, которая в 100 раз превышает IC₅₀ IL-4Rα человека (таблица 5). В соответствии с данными, полученными при замене домена, обе петли 2 и 3 локализованы в домене 1 (D1) (Hage и др., Cell, 97, 271-281 (1999)).

Эпитоп, узнаваемый антителами, представляет собой структурный эпитоп из 18 аминокислот, локализованных в двух петлевых областях IL-4Rα человека, V65-H72 и L89-N98. Эпитоп включает остатки L67 и L68 петли 2 и D92 и V93 петли 3 (относительно остатков 67, 68, 92 и 93 см. SEQ ID NO: 454 или 460). Наиболее существенными для связывания с анализируемыми антителами, которые еще способны связываться с химерным IL-4Rα, не содержащим остатков L67 и/или L68 в петле 2, являются D2, за которым следует V93. Возможно, что антитела по изобретению могут также связываться с белком IL-4Kα человека, содержащим наряду с одним из указанных остатков L67, L68, D92 и V93 другие аминокислоты.

Одним объектом изобретения является изолированный связывающий элемент, способный связываться с α-рецептором интерлейкина-4 (hIL-4Rα) человека по меньшей мере по одному аминокислотному остатку, выбранному из аминокислоты в положении 67, 68, 92 и 93 в SEQ ID NO: 460. Соответственно, одним объектом изобретения является изолированный связывающий элемент, способный связываться по меньшей мере по одному аминокислотному остатку 67, 68, 92 и 93 в SEQ ID NO: 460 нативного α-рецептора интерлейкина-4 человека (hIL-4Rα). В конкретном варианте изолированный связывающий элемент способен связываться с аминокислотой в положении 92 hIL-4Rα (SEQ ID NO:460). В другом варианте изолированный связывающий элемент способен связываться с D92 и по меньшей мере с другим аминокислотным остатком, выбранным из L67, L68 и V93. В другом варианте изолированный связывающий элемент способен связываться с D92 и V93. В другом варианте изолированный связывающий элемент способен связываться с D92, V93 и L67 или L68. В другом варианте антитела способны связываться с каждым из аминокислотных остатков L67, L68, D92 и V93. Каждый из указанных вариантов обозначает положения аминокислот в hIL-4Rα, которые определяются в соответствии с полной аминокислотной последовательностью hIL-4Rα (положения 1-229), представленной в SEQ ID NO:460. В одном варианте связывающий элемент способен связываться с указанными аминокислотными остатками в составе эпитопа (т.е. по меньшей мере по одному из положений 67, 68, 92 и 93) полноразмерного hIL-4Rα. В одном варианте связывающий элемент способен связываться с указанными аминокислотными остатками в составе эпитопа (т.е. по меньшей мере по одному из положений 67, 68, 92 и 93) нативного hIL-4Rα, экспрессированного на клеточной поверхности. В одном варианте связывающий элемент способен связываться с указанными аминокислотными остатками в составе эпитопа (т.е. по меньшей мере по одному из положений 67, 68, 92 и 93) рекомбинантно экспрессированного полноразмерного (включающего 229 аминокислот) hIL-4Rα.

Другим объектом изобретения является изолированный связывающий элемент, способный связываться с α -рецептором интерлейкина-4 (hIL-4R α) человека. В конкретном варианте изолированный связывающий элемент представляет собой антитела человека. В другом варианте изолированный связывающий элемент способен также связываться с α -рецептором интерлейкина-4 (суIL-4R α) макак-крабоедов.

В другом варианте изобретения предлагается изолированный элемент, способный связываться с α -рецептором интерлейкина-4 (hIL-4R α) человека, причем указанный элемент характеризуется величиной IC₅₀ (среднее геометрическое) менее 50 пМ при ингибировании пролиферации клеток, индуцированной IL-4 (hIL-4) человека, например, при анализе ингибирования пролиферации клеток TF-1 с использованием 18 пМ растворимого IL-4 человека, причем связывающий элемент способен также связываться с суIL-4R α .

В конкретных вариантах указанного объекта изобретения связывающий элемент характеризуется величиной IC₅₀ (среднее геометрическое) менее 50 пМ, менее 35 пМ, менее 25 пМ или менее 20 пМ при ингибировании пролиферации клеток, индуцированной IL-4 (hIL-4) человека, например, при анализе пролиферации клеток TF-1 с использованием 18 пМ растворимого IL-4 человека, В конкретных вариантах связывающий элемент по изобретению характеризуется величиной IC₅₀ (среднее геометрическое) от 1 до 50 пМ, от 1 до 35 пМ, от 2 до 30 пМ, от 2 до 25 пМ, от 2 до 12 пМ при анализе ингибирования пролиферации клеток, индуцированной IL-4 (hIL-4) человека, с использованием 18 пМ растворимого IL-4 человека, описанном в тексте заявки (например, пример 3.2.1), или методом, известным специалисту в данной области.

Связывание с суIL-4R α измеряют любым пригодным способом.

Аналогичным образом связывающий элемент по изобретению характеризуется величиной IC₅₀ (среднее геометрическое) менее 200 пМ при анализе ингибирования (за счет нейтрализации hIL-4R α) пролиферации клеток TF-1, опосредованной IL-13 (hIL-13) человека, с использованием 400 пМ растворимого IL-13 (hIL-13) человека. В конкретном варианте величина IC₅₀ составляет от 5 до 75 пМ или от 5 до 45 пМ (среднее геометрическое) при анализе ингибирования (за счет нейтрализации hIL-4R α) пролиферации клеток TF-1, опосредованной IL-13 (hIL-13) человека, с использованием 400 пМ растворимого IL-13 (hIL-13) человека.

В конкретных вариантах связывающий элемент по изобретению практически неспособен связываться с мышинным IL-4R α . Таким образом можно считать, что связывающий элемент по изобретению способен по меньшей мере в 500 раз (например, по меньшей мере в 500 раз, по меньшей мере в 1000 раз, по меньшей мере в 1500 раз, по меньшей мере в 2000 раз, по меньшей мере в 3000 раз, по меньшей мере в 4000 раз) более эффективно связываться с α -рецептором интерлейкина-4 человека по сравнению с мышинным IL-4R α (т.е. связывание с мышинным IL-4R α является по меньшей мере в 500 раз менее эффективным по сравнению с IL-4R α человека). Взаимодействие с рецептором оценивают методом конкурентного связывания с использованием ГФРВ, описанным в примере 5.1.2.

Термин «среднее геометрическое», используемый в описании заявки, обозначает среднее логарифмическое ($\log_{10}$) значение полученных данных. Для этого необходимо выполнить по меньшей мере два измерения, например по меньшей мере 2, предпочтительно по меньшей мере 5, более предпочтительно по меньшей мере 10 повторов. Для специалиста в данной области представляется очевидным, что

чем больше повторов, тем более достоверным является среднее геометрическое. Выбор числа повторов определяется специалистом в данной области.

Ингибирование биологической активности является частичным или полным. В конкретных вариантах изобретения предлагаются связывающие элементы, которые ингибируют биологическую активность IL-4R α по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 75%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 60% или по меньшей мере на 50% по сравнению с активностью в отсутствии связывающего элемента. Степень нейтрализации IL-4R α связывающим элементом обозначают как эффективность нейтрализации. Эффективность нейтрализации определяют или измеряют с использованием одного или более методов анализа, известных специалисту в данной области и/или описанных или упомянутых в тексте заявки. Например, эффективность оценивают с использованием следующих методов анализа:

- анализ связывания рецептор/лиганд при измерении флуоресценции (например, ГФРВ или DELFIA) или радиоактивности,
- анализ конкурентного связывания с эпитопом при измерении флуоресценции (ГФРВ или DELFIA),
- функциональные анализы на культуре клеток, включающие фосфорилирование STAT6 человека или МКПК макака-крабоедов, пролиферацию клеток TF-1, высвобождение эотаксина из линий клеток фибробластов человека или макака-крабоедов, регуляцию с повышением VCAM-1 на эндотелиальных клетках вены человека, или пролиферацию Т-клеток человека.

Некоторые из указанных методов анализа описаны в разделе Примеры.

Эффективность нейтрализации связывающего элемента, рассчитанную по данным анализа с использованием IL-4R α одних видов (например, человека), сравнивают с эффективностью нейтрализации связывающего элемента при аналогичном анализе с использованием IL-4R α других видов (например, макака-крабоедов) с целью оценки перекрестной реактивности связывающего элемента с IL-4R α двух видов. Таким образом, существует необходимость в разработке связывающего элемента, например, антител или фрагмента антител, которые связываются с мишенью в организме человека и в ортологичной мишени из других видов. При этом наиболее предпочтительно, чтобы связывающее элемента было пригодно для терапевтического применения, а испытания на безопасность (например, токсичность) можно было проводить на других видах животных. Для такой оценки пригодной является такая эффективность или аффинность в отношении других видов, которая, например, в 10 раз ниже по сравнению с активностью в организме человека.

Соотношение связывания связывающих элементов по настоящему изобретению с IL-4R α человека и "других видов" (например, макака-крабоедов) определяют с использованием ряда способов. Одним из таких способов является анализ связывания рецептор/лиганд, описанный в примере 4.3.

В конкретном варианте связывающих элементов по настоящему изобретению соотношение связывания связывающего элемента, такого как scFv, с hIL-4R α и с IL-4R α , измеренное анализом связывания рецептор/лиганд, составляет по меньшей мере 6:1. Термин "по меньшей мере" 6:1 включает 8:1, 10:1 и т.д., предпочтительно 2:1, 1:1.

Связывающие элементы по изобретению связываются с IL-4R α человека и IL-4R α макака-крабоедов, при этом эффективность нейтрализации IL-4R α человека в 250 раз

или менее, например в 150 раз или менее, в 100, 75, 50, 25, 20, 15, в 10 раз, превышает эффективность нейтрализации L-4R α макак-крабоедов по данным анализа связывания рецептор/лиганд, описанного в примере 4.3, где связывающим элементом является формат scFv,

5 Например, согласно приведенным данным антитела №2, 4-8, 12, 16, 19, 20, 22, 23, 24, 26, 28, 32, 33, 34, 37 и 37GL, например, характеризуются эффективностью нейтрализации L-4R α человека, которая в 25 раз или менее превышает эффективность нейтрализации L-4R α макак-крабоедов, соответственно, по данным
10 анализа связывания рецептор/лиганд в формате scFv, описанного в примере 4.3 (см. таблицу 1). Таким образом, в некоторых вариантах эффективность нейтрализации связывающих элементов по изобретению (в формате scFv) в отношении IL-4R α человека и макак-крабоедов, измеренная с использованием анализа связывания рецептор/лиганд, различается в 25 раз или менее. В заявке описаны конкретные
15 примеры антител, которые проявляют 10-кратную или менее эффективность нейтрализации IL-4R α человека по сравнению с нейтрализацией IL-4R α макак-крабоедов, включая антитела №2, 4, 5, 20 и 22. В одном варианте эффективность нейтрализации связывающих элементов по изобретению IL-4R α человека и макак-крабоедов различается в 210 раз или менее, т.е. связывание с IL-4R α человека IL-4R α
20 в 210 раз и не более превышает связывание с IL-4R α макак-крабоедов. В другом варианте указанная разница в эффективности нейтрализации составляет от 5:1 до 210:1, например от 5:1 до 100:1.

При функциональном анализе на культуре клеток эффективность нейтрализации
25 обычно представляют в виде величины IC₅₀ в нМ, если не указано иное. При функциональном анализе величина IC₅₀ представляет собой концентрацию связывающего элемента (в молях), при которой наблюдается снижение биологической (или биохимической) ответной реакции на 50% по сравнению с
30 максимальным значением. Величину IC₅₀ рассчитывают по графику зависимости биологической ответной реакции (%) от концентрации (log) связывающего элемента с использованием программы Prism (фирма GraphPad) или Origin (фирма Origin Labs) для сигмоидной функции данных для расчета значений IC₅₀.

При анализе связывания рецептор/лиганд эффективность нейтрализации обычно
35 представляют в виде величины K_i (константы ингибирования), концентрации связывающего элемента, при которой наблюдается блокирование 50% рецептора при отсутствии меченого лиганда. В то время как величина IC₅₀ может изменяться в зависимости от концентрации лиганда, константа K_i является абсолютной величиной,
40 рассчитанной по уравнению Ченга Пруссоффа. Связывающий элемент по изобретению может обладать эффективностью нейтрализации с константой K_i до и включительно 5 нМ при анализе связывания с IL-4R α человека ГФВР®, описанном в тексте заявки. Указанный анализ можно использовать для определения K_i
45 связывающего элемента в формате scFv. Константа K_i может, например, составлять 5,0, 4,0, 3,0, 2,0, 1,0, 0,5, 0,2, 0,1, 0,05 или 0,02 нМ. Примеры константы ингибирования K_i приводятся в примере 4.3 (см. таблицу 1), где при анализе связывания рецептор-лиганд ГФВР® используется конечная концентрация 0,125 нМ IL-4R α человека и 2 нМ IL-4 и подробно описана методика проведения анализа.

50 Кроме того, кинетику связывания и аффинность (в виде константы диссоциации K_D) элемента, связывающегося с IL-4R α , определяют, например, методом поверхностного плазменного резонанса, такого как BIAcore®, или K_D оценивают

при анализе pA2.

Поверхностный плазменный резонанс является известным способом определения аффинности связывающего элемента в отношении мишени. Анализ проводят в жидкой фазе в присутствии лиганда, иммобилизованного на подложке, и определяют связывание анализируемого элемента с лигандом. При этом поверхностный плазменный резонанс можно, например, проводить, пропуская рекомбинантный IL-4R α в жидкой фазе над связывающим элементом, иммобилизованным на подложке. Данные поверхностного плазменного резонанса могут соответствовать модели бивалентного анализируемого элемента или одновалентного анализируемого элемента. Как показано в разделе Примеры, установлено, что модель одновалентного анализируемого элемента прежде всего соответствует определению аффинности связывающего элемента в отношении IL-4R α . Константу аффинности K_D можно рассчитать по отношению констант скорости ассоциации и диссоциации k_{d1}/k_{a1} , которые определяют методом поверхностного плазменного резонанса на модели связывания 1:1 Ленгмюра.

Примеры оценки значений K_D для связывания с IL-4R α , рассчитанных с использованием поверхностного плазменного резонанса, приводятся в примере 4.7 (см. таблицу 4). Указанные данные свидетельствуют о высокой связывающей активности антител 37GL с рекомбинантно продуцируемыми IL-4R α человека и макака-крабоедов. Связывание с IL-4R α клеток НЕК-EBNA свидетельствует о том, что антитела связываются с нативным гликозилированным IL-4R α человека. Поскольку антитела 37GL связываются с нативным гликозилированным IL-4R α человека, можно предположить, что все антитела, описанные в заявке (например, антитела 1-42), также способны связываться с нативным гликозилированным IL-4R α человека, т.е. все указанные антитела получены из одного исходного антитела (антитела 1) и таким образом можно считать, что все они связываются с одним и тем же или подобным ему эпитопом IL-4R α .

Таким образом, согласно конкретным вариантам, связывающие элементы по изобретению способны связываться с гликозилированным hIL-4R α .

Как показано в примере 4.7 и таблице 4, высокую перекрестную реактивность при связывании с IL-4R α человека и макака-крабоедов определяют поверхностным плазменным резонансом на характерной панели антител, полученных из антитела 1.

Связывающие элементы по изобретению необязательно специфичны в отношении IL-4R α по сравнению с другими структурно подобными элементами (например, другими рецепторами интерлейкина) и таким образом связываются с IL-4R α селективно. Например, связывающие элементы по изобретению могут не давать перекрестную реакцию с любым из IL-13R α 1 или IL-13R α 2 и общей γ -цепью (γ c). Указанное свойство можно определить или демонстрировать, например, анализом конкурентного связывания с эпитопом DELFIA, описанном в примере 4.6.

Связывающие элементы по изобретению включают антитела, например антитела человека. Связывающие элементы включают домен VH и/или VL антител. VH домены связывающих элементов также являются объектом изобретения. Каждый из доменов VH и VL содержит участки комплементарности (CDR) и каркасные участки (FR). VH домен включает несколько HCDR, а VL домен включает несколько LCDR. Антитела содержат VH домен, включающий CDR1, CDR2 и CDR3 и каркасные участки. В другом варианте или одновременно антитела также содержат VL домен, включающий CDR1, CDR2 и CDR3 и каркасные участки. Каркасные участки VH или VL домена представляют собой четыре каркасных

области, FR1, FR2, FR3 и FR4, чередующиеся с CDR, как показано ниже:

FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4.

Примеры VH и VL доменов антител, FR и CDR по настоящему изобретению приводятся в прилагаемом перечне аминокислотных последовательностей, который также является частью настоящего изобретения. Все аминокислотные последовательности VH и VL, аминокислотные последовательности CDR, наборы CDR и наборы HCDR и наборы LCDR, приведенные в описании заявки, являются объектами и вариантами изобретения. Термин "набор CDR", используемый в описании заявки, включает CDR1, CDR2 и CDR3. Таким образом, набор HCDR обозначает HCDR1, HCDR2 и HCDR3, а набор LCDR обозначает LCDR1, LCDR2 и LCDR3. Если не указано иное, "полный набор CDR" включает HCDR и LCDR. Обычно связывающие элементы по изобретению являются моноклональными антителами.

Другим объектом изобретения являются антитела, включающие VH домен, у которого по меньшей мере 75, 80, 85, 90, 95, 98 или 99% аминокислотной последовательности идентичны аминокислотной последовательности VH домена любого из антитела 1-42, приведенных в прилагаемом перечне аминокислотных последовательностей, и/или включающие VL домен, у которого по меньшей мере 75, 80, 85, 90, 95, 98 или 99% аминокислотной последовательности идентичны аминокислотной последовательности VL домена любого из антитела 1-42, приведенных в прилагаемом перечне аминокислотных последовательностей. Для расчета идентичности двух аминокислотных последовательностей можно использовать программу "MacVector™" (фирма Accelrys).

Связывающие элементы по изобретению могут включать антиген-связывающий участок в составе другого белка, обычно в составе одного или более CDR, например HCDR3 и/или LCDR3, или в наборе CDR, например в составе каркасной белковой структуры, которая описана ниже.

Как подробно описано в разделе Примеры, заявители выделили исходные антитела (антитела 1), содержащие набор CDR, приведенный на фиг.1 (VH домен) и 2 (VL домен). В процессе оптимизации была получена панель клонов антител, включающая клоны 2-20, содержащие аминокислотные последовательности CDR3, полученные из исходного CDR3, и содержащие замены в положениях, указанных на фиг.1 (VH домен) и фиг.2 (VL домен). Таким образом, например, на фиг.1 (а и б) показано, что антитела 2 включают исходные участки HCDR1, HCDR2, LCDR1 и LCDR2 и исходный участок LCDR3, в которых аминокислотный остаток 95 (согласно Kabat) заменен на остаток Q, каждый из аминокислотных остатков 95A, 95B и 96 (согласно Kabat) заменен на остаток P, а аминокислотный остаток 97 заменен на остаток L, а также содержат исходный участок HCDR3, в котором аминокислотный остаток 101 (согласно Kabat) заменен на остаток Y, а аминокислотный остаток 102 (согласно Kabat) заменен на остаток N.

Описанные в заявке исходные антитела и антитела 2-20 обозначают соответственно антитела, содержащие CDR исходных антител, и антитела, содержащие CDR антител 2-20. Благодаря последующей оптимизации заявители получили панель клонов антител 21-42, содержащих дополнительные замены в VH и VL доменах. Таким образом, например, антитела 21 содержат LCDR1, LCDR2, LCDR3, HCDR1 и HCDR3 антител 20, а также HCDR2 антител 20, в котором аминокислотный остаток 57 заменен на остаток A, а остатки 85 и 87 (в LFW3) заменены на остатки V и F, соответственно.

В заявке описано контрольные связывающие элементы, включающее набор CDR антител 20, см. фиг.3 (VH) и 4 (VL), в котором HCDR1 обозначает SEQ ID NO:193 (остатки по Kabat 31-35), HCDR2 обозначает SEQ ID NO: 194 (остатки по Kabat 50-65), HCDR3 обозначает SEQ ID NO:195 (остатки по Kabat 95-102), LCDR1 обозначает SEQ ID NO: 198 (остатки по Kabat 24-34), LCDR2 обозначает SEQ ID NO:199 (остатки по Kabat 50-56) и LCDR3 обозначает SEQ ID NO: 200 (остатки по Kabat 89-97). В заявке описаны другие связывающие элементы со ссылкой на аминокислотную последовательность контрольного связывающего элемента.

Связывающий элемент по изобретению может включать один или более CDR (т.е. по меньшей мере один, по меньшей мере 2, по меньшей мере 3, по меньшей мере 4, по меньшей мере 5 и по меньшей мере 6), описанных в тексте заявки, например CDR3, и необязательно также CDR1 и CDR2 для формирования набора CDR. CDR или набор CDR может представлять собой исходные CDR или исходный набор CDR, или CDR или набор CDR любого из антител 2-42, или их вариант, описанный в тексте заявки.

Например, связывающий элемент или VL домен по изобретению может включать контрольный LCDR3, в котором один или более аминокислотных остатков 92-97

(по Kabat) заменены на другую аминокислоту. Типичные замены включают:

остаток 92 (по Kabat) заменен на Phe (F), Val (V) или Ala (A),

остаток 93 (по Kabat) заменен на Gly (G) или Ser (S),

остаток 94 (по Kabat) заменен на Thr (T),

остаток 95 (по Kabat) заменен на Leu (L), Gln (Q), Pro (P) или Ser (S),

остаток 95a (по Kabat) заменен на Ser (S), Prol (P), Ala (A), Thr (T), His (H) или Gly (G),

остаток 95b (по Kabat) заменен на Ala (A), Pro (P), Ser (S), Tyr (Y), Met (M), Leu (L), Thr (T), Arg (R) или Asp (D),

остаток 95c (по Kabat) заменен на Asn (N), Gln (Q), His (H), Tyr (Y), Thr (T), Ile (I), Lys (K), Arg (R) или Met (M),

остаток 96 (по Kabat) заменен на Tyr (Y) или Pro (P), остаток 97 (по Kabat) заменен на Val (V), Leu (L) или Ile (I). Связывающий элемент или VH домен могут включать контрольный HCDR3, в котором остатки 97-102 (по Kabat) заменены на другую аминокислоту. Типичные замены включают:

остаток 97 (по Kabat) заменен на Trp (W) или Leu (L), остаток 98 (по Kabat) заменен на Leu (L),

остаток 99 (по Kabat) заменен на Leu (L), Lys (K), Phe (F) или Trp (W), остаток 101

(по Kabat) заменен на Asp (D), Asn (N) или Gln (Q), остаток 102 (по Kabat) заменен на

Tyr (Y), Asn (N), Pro (P) или His (H). Связывающие элементы по изобретению могут включать HCDR1, HCDR2 и/или HCDR3 любого из антител 1-42 и/или LCDR1, LCDR2 и/или LCDR3 любого из антител 1-42, например набор CDR любого из антител 1-42, указанный на фиг.1 или 2. Связывающие элементы могут включать набор VH CDR

одного из указанных антител. Необязательно указанные элементы могут также

включать набор VL CDR одного из указанных антител, причем участки VL CDR могут представлять собой фрагменты одного или разных антител, а также VH CDR.

VH домен, включающий набор HCDR любого из антител 1-42, и/или VL домен,

включающий набор LCDR любого из антител 1-42, также являются

индивидуальными вариантами изобретения.

Обычно VH домен конъюгирует с VL доменом с образованием антиген-связывающего участка, хотя, как показано ниже, VH или VL домен могут

использоваться отдельно для связывания с антигеном. В одном варианте VH домен антитела 1 конъюгирован с VL доменом антитела 1 с образованием антиген-связывающего участка, включающего VH и VL домены антитела 1. Аналогичные варианты предлагаются для других VH и VL доменов, описанных в тексте заявки. В других вариантах VH антитела 1 конъюгирует с другим доменом, не идентичным VL домену антитела 1. В области техники установлено произвольное конъюгирование легких цепей. Аналогичные варианты предлагаются для других VH и VL доменов, описанных в тексте заявки. Таким образом, VH исходных антител (антитела 1) или любых антител 2-42 могут конъюгировать с VL исходного антитела или любых антител 2-42.

Одним объектом изобретения являются антитела, включающие VH и VL домен, где VH домен включает аминокислотную последовательность, приведенную на фиг.1 или 3.

Другим объектом изобретения являются антитела, включающие VH и VL домен, где VL домен включает аминокислотную последовательность, приведенную на фиг.2 или 4.

Другим объектом изобретения являются изолированные антитела, включающие VH домен, причем VH домен характеризуется аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 362, 442, 232, 422 или 432, и VL домен, причем VL домен характеризуется аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 367, 237, 447, 437 или 427

Связывающий элемент может включать набор H и/или L CDR исходного антитела или любых антител 2-42, где указанные H и/или

LCDR содержат 12, или 10, или 9, или менее замен, например одну, две, три, четыре или пять замен. Например, связывающий элемент по изобретению может включать набор H и/или LCDR антитела 16 или антитела 20, содержащий 12 или менее замен, например семь или менее замен, например, 0, один, два, три, четыре, пять или шесть замен. Замены могут производиться по любому аминокислотному остатку в наборе CDR, например в CDR1, CDR2 и/или CDR3.

Таким образом, в одном варианте изобретения предлагается изолированный связывающий элемент, специфичный в отношении α -рецептора интерлейкина-4 человека (hIL-4R α) и включающий набор CDR: HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, причем набор CDR содержит 12 или менее модификаций аминокислот по сравнению с исходным набором CDR, в котором:

HCDR1 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQIDNO: 153, HCDR2 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQIDNO: 154, HCDR3 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQIDNO: 155, LCDR1 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQIDNO: 158, LCDR2 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQIDNO: 159 и LCDR3 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQIDNO: 160.

В данном случае исходным антителом является антитело 16.

Изолированный связывающий элемент может содержать 10 или менее, 8 или менее, 7 или менее, например 6, 5, 4, 3, 2, 1 или 0 модификаций аминокислот в контрольном наборе CDR. Конкретными модификациями являются замены аминокислот.

В другом варианте изобретения предлагается изолированный связывающий элемент, специфичный в отношении α -рецептора интерлейкина-4 человека (hIL-4R α) и включающий набор CDR: HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, где

набор CDR содержит 12 или менее модификаций аминокислот в контрольном наборе CDR, где:

HCDR1 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 193,
HCDR2 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 194,
HCDR3 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 195,
LCDR1 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 198,
LCDR2 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 199 и
LCDR3 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 200.

В данном случае контрольным антителом является антитело 20.

Изолированный связывающий элемент может содержать 10 или менее, 8 или менее, 7 или менее, например 6, 5, 4, 3, 2, 1 или 0 модификаций аминокислот в контрольном наборе CDR. Конкретными модификациями являются замены аминокислот. В конкретном варианте изолированный связывающий элемент содержит 4 или менее замен аминокислот по сравнению с идентифицированным выше исходным набором CDR.

В другом варианте изобретения предлагается изолированный связывающий элемент, специфичный в отношении α -рецептора интерлейкина-4 человека (hIL-4R α) и включающий набор CDR: HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, где набор CDR содержит 6 или менее модификаций аминокислот по сравнению с исходным набором CDR, в котором:

HCDR1 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 363,
HCDR2 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 364,
HCDR3 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 365,
LCDR1 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 368,
LCDR2 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 369 и
LCDR3 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 370.

В данном случае исходным антителом является антитело 37.

Замены в CDR3, например положения замен в любом из антител 2-42, приводятся на фиг.1 или 3 (VH домен) и 2 или 4 (VL домен). Таким образом, одна или более замен включают замены одного или более следующих остатков:

аминокислотные остатки (по Kabat) 97, 98, 99, 101 или 102 в HCDR3, или
аминокислотные остатки (по Kabat) 92, 93, 94, 95, 95A, 95B, 95C, 96 или 97 в LCDR3.
Таким образом, CDR3 может представлять собой, например, контрольный LCDR3, содержащий одну или более замен остатков 92, 93, 94, 95, 95A, 95B, 95C, 96 или 97.

Примеры замен в контрольных CDR описаны в тексте заявки. Замены могут включать одну или более замен, представленных на фиг.1-4.

Связывающий элемент по изобретению может включать HCDR1, HCDR2 и/или HCDR3 контрольного антитела 20, или указанные участки, включающие одну или более следующих замен:

HCDR2, где аминокислотным остатком 53 является Arg (R),

HCDR2, где аминокислотным остатком 57 является Ala (A),

HCDR3, где аминокислотным остатком 97 является Trp (W) или Leu (L),
аминокислотным остатком 98 является Leu, аминокислотным остатком 99
является Leu (L), Lys (K) или Trp (W), аминокислотным остатком 101 является Asn (N)
или Gln (Q), и/или аминокислотным остатком 102 является Tyr (Y), Asn (N), Pro (P)
или His (H).

Связывающий элемент по изобретению может включать LCDR1, LCDR2 и/или LCDR3 контрольного антитела 20, или указанные участки, включающие одну

или более следующих замен:

LCDR1, где аминокислотным остатком 27 является Gly (G), аминокислотным остатком 27А является Thr (Т), аминокислотным остатком 27В является Ser (S), аминокислотным остатком 31 является Asn (N),

LCDR2, где аминокислотным остатком 56 является Pro (P),

LCDR3, где аминокислотным остатком 92 является Phe (F), Val (V) или Ala (A), аминокислотным остатком 93 является Gly (G) или Ser (S), аминокислотным остатком 94 является Thr (Т), аминокислотным остатком 95 является Leu (L), Gin (Q), Pro (P) или Ser (S), аминокислотным остатком 95А является Ser (S), Pro (P), Ala (A), Thr (Т), His (H) или Gly (G), аминокислотным остатком 95В является Ala (A), Pro (P), Ser (S), Tyr (Y), Met (M), Leu (L), Thr (Т), Asp (D) или Arg (R), аминокислотным остатком 95С является Asn (N), Gin (Q), His (H), Tyr (Y), Ile (I), Lys (K), Arg (R), Thr (Т) или Met (M), аминокислотным остатком 96 является Tyr (Y) или Pro (P), и/или аминокислотным остатком 97 является Val (V), Leu (L) или Ile (I).

В конкретном варианте в составе антитела 20 аминокислотный остаток 53 (по Kabat) в HCDR2 заменен на Arg (R) и/или аминокислотный остаток 57 в HCDR2 заменен на Ala (A) и/или аминокислотный остаток 27 в LCDR1 заменен на Gly (G) и/или аминокислотный остаток 27В в LCDR1 заменен на Ser (S) и/или аминокислотный остаток 95 в LCDR3 заменен на Pro (P).

В конкретном варианте изобретения предлагается изолированный связывающий элемент, специфичный в отношении рецептора α -интерлейкина-4 человека (hIL-4R α), где

HCDR1 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 363, HCDR2 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 364, HCDR3 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 365, LCDR1 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 368, LCDR2 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 369 и LCDR3 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 370.

В другом конкретном варианте изобретения предлагается изолированный связывающий элемент, специфичный в отношении рецептора α -интерлейкина-4 человека (hIL-4R α), где

HCDR1 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 233, HCDR2 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 234, HCDR3 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 235, LCDR1 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 238, LCDR2 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 239, и LCDR3 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 240.

В связывающем элементе по изобретению:

HCDR1 содержит 5 аминокислот, например остатки 31-35,

HCDR2 содержит 17 аминокислот, например остатки 50-65,

HCDR3 содержит 9 аминокислот, например остатки 95-102,

LCDR1 содержит 13 аминокислот, например остатки 24-34,

LCDR2 содержит 7 аминокислот, например остатки 50-56, и/или, LCDR3 содержит 9 аминокислот, например остатки 89-97.

Нумерация остатков в составе HCDR и LCDR указана по Kabat, причем HCDR1 включает остатки 31-35, HCDR2 включает остатки 50-65, HCDR3 включает остатки 95-102, приведенные на фиг.1 и 3, LCDR1 включает остатки 24-34, LCDR2 включает остатки 50-56 и LCDR3 включает остатки 89-97, приведенные на фиг.2 и 4.

В другом варианте изобретения предлагается изолированный связывающий элемент, специфичный в отношении α -рецептора интерлейкина-4 человека (hIL-4R α), включающий набор CDR: HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, где набор CDR содержит 6 или менее модификаций аминокислот в контрольном наборе CDR, присутствующем в клоне, помещенном в NCIMB 9 декабря 2008 г. (рег. №NCIMB 41600).

В другом варианте изобретения предлагается изолированный связывающий элемент, специфичный в отношении α -рецептора интерлейкина-4 человека (hIL-4R α), включающий VH аминокислотную последовательность, найденную в клоне, помещенном в NCIMB 9 декабря 2008 г. (рег. №NCIMB 41600).

В другом варианте изобретения предлагается изолированный связывающий элемент, специфичный в отношении α -рецептора интерлейкина-4 человека (hIL-4R α), включающий VL аминокислотную последовательность, найденную в клоне, помещенном в NCIMB 9 декабря 2008 г. (рег. №NCIMB 41600).

В другом варианте изобретения предлагается изолированный связывающий элемент, специфичный в отношении α -рецептора интерлейкина-4 человека (hIL-4R α), включающий VH и VL аминокислотную последовательность, найденную в клоне, помещенном в NCIMB 9 декабря 2008 г. (рег. №NCIMB 41600).

В другом варианте изобретения предлагаются изолированные антитела или фрагмент антител, где антитела или фрагмент иммуноспецифично связываются с α -рецептором интерлейкина-4 человека (hIL-4R α) и включают:

(а) VH CDR1, содержащий аминокислотную последовательность, идентичную VH CDR1, или последовательность, включающую замены 1, 2 или 3 аминокислот в VH CDR1, присутствующем в клоне, помещенном в NCIMB 9 декабря 2008 г. (рег. №NCIMB 41600),

(б) VH CDR2, содержащий аминокислотную последовательность, идентичную VH CDR2, или последовательность, включающую замены 1, 2 или 3 аминокислот в VH CDR2, присутствующем в клоне, помещенном в NCIMB 9 декабря 2008 г. (рег. №NCIMB 41600),

(в) VH CDR3, содержащий аминокислотную последовательность, идентичную VH CDR3, или последовательность, включающую замены 1, 2 или 3 аминокислот в VH CDR3, присутствующем в клоне, помещенном в NCIMB 9 декабря 2008 г. (рег. №NCIMB 41600),

(г) VL CDR1, содержащий аминокислотную последовательность, идентичную VL CDR1, или последовательность, включающую замены 1, 2 или 3 аминокислот в VL CDR1, присутствующем в клоне, помещенном в NCIMB 9 декабря 2008 г. (рег. №NCIMB 41600),

(д) VL CDR2, содержащий аминокислотную последовательность, идентичную VL CDR2, или последовательность, включающую замены 1, 2 или 3 аминокислот в VL CDR2, присутствующем в клоне, помещенном в NCIMB 9 декабря 2008 г. (рег. №NCIMB 41600), и

(е) VL CDR3, содержащий аминокислотную последовательность, идентичную VL CDR3, или последовательность, включающую замены 1, 2 или 3 аминокислот в VL CDR3, присутствующем в клоне, помещенном в NCIMB 9 декабря 2008 г. (рег. №NCIMB 41600).

В другом варианте изобретения предлагаются изолированные антитела или фрагмент антител, где антитела или фрагмент иммуноспецифично связываются с α -рецептором интерлейкина-4 человека (hIL-4R α) и включают:

(a) VH, содержащий аминокислотную последовательность, идентичную VH или включающую замену 1, 2, 3, 4, 5 или 6 аминокислотных остатков в VH, присутствующем в клоне, помещенном в NCIMB 9 декабря 2008 г. (рег. №NCIMB 41600),

(б) VL, содержащий аминокислотную последовательность, идентичную VL или включающую замену 1, 2, 3, 4, 5 или 6 аминокислотных остатков в VL, присутствующем в клоне, помещенном в NCIMB 9 декабря 2008 г. (рег. №NCIMB 41600).

Связывающий элемент может включать антитела, содержащие один или более CDR, например набор CDR, в составе каркасных участков антител. Например, один или более CDR или набор CDR антител можно привить в каркасные участки (например, каркасные участки белка человека) для получения антител. Каркасные участки могут включать сегменты, кодируемые геном линии зародышевых клеток человека. Таким образом, можно получать каркасные участки зародышевого типа и тем самым изменить один или более остатков в каркасных участках для приведения в соответствие остатков в эквивалентном положении в наибольшее соответствие с каркасными участками антител линии зародышевых клеток человека. Специалист в данной области может выбрать сегмент зародышевого типа, который наиболее близок к последовательности каркасных участков антител до гибридизации и определить аффинность или активность антител для подтверждения того факта, что гибридизация несущественно снижает связывание с антигеном или эффективность при проведении анализа, описанного в тексте заявки. Последовательности сегмента гена линии зародышевых клеток человека известны специалисту в данной области, например их можно найти в справочнике VBase (см. Tomlinson. Journal Molecular Biology, 224, 487-499 (1997)).

В одном варианте связывающий элемент по изобретению представляет собой изолированное антитело человека, содержащее VH домен, включающий набор HCDR в каркасном участке антител линии зародышевых клеток человека, например, Vh1_DP-7_(1-46). Таким образом, каркасные участки FR1, FR2 и/или FR3 VH домена могут включать каркасные участки сегмента гена линии зародышевых клеток человека Vh1_DP-7_(1-46). FR4 может включать каркасные участки, кодируемые j сегментом антител линии зародышевых клеток человека JH1, JH4 или JH5 (указанные j сегменты содержат идентичные аминокислотные последовательности), или FR4 может включать каркасный участок j сегмента JH3 зародышевого типа. Аминокислотная последовательность VH FR1 может представлять собой SEQ ID NO: 442 (остатки 1-30). Аминокислотная последовательность VH FR2 может представлять собой SEQ ID NO: 442 (остатки 36-49). Аминокислотная последовательность VH FR3 может представлять собой SEQ ID NO: 442 (остатки 66-94). Аминокислотная последовательность VH FR4 может представлять собой SEQ ID NO: 442 (103-113). Обычно связывающий элемент может также содержать VL домен, включающий набор LCDRs, например, в каркасных участках антител линии зародышевых клеток человека, например, Vl1_DPL5. Таким образом, каркасные участки FR1, FR2 и/или FR3 VL домена могут включать каркасные участки, кодируемые сегментом гена клеток линии зародышевых клеток человека, Vl1_DPL5. FR4 может включать каркасные участки j сегмента антител линии зародышевых клеток человека JL2 или JL3 (указанные j сегменты содержат идентичные аминокислотные последовательности). Аминокислотная последовательность VL FR1 может представлять собой SEQ ID NO: 447 (остатки 1-23). Аминокислотная

последовательность VL FR2 может представлять собой SEQ ID NO: 447 (остатки 35-49). Аминокислотная последовательность VL FR3 может представлять собой SEQ ID NO: 447 (остатки 57-88). Аминокислотная последовательность VL FR4 может представлять собой SEQ ID NO: 447 (остатки 98-107). VH или VL домен зародышевого типа можно не модифицировать или модифицировать по одному или более остатков Вернье, но обычно в этом нет необходимости.

Антитела или VH домен по изобретению могут включать следующие каркасные участки тяжелой цепи:

FR1 SEQ ID NO: 442 (остатки 1-30),
FR2 SEQ ID NO: 442 (остатки 36-49),
FR3 SEQ ID NO: 442 (остатки 66-94),
FR4 SEQ ID NO: 442 (остатки 103-113), или могут включать указанный набор каркасных участков тяжелой цепи, содержащих модификацию, например замену одной, двух, трех, четырех, пяти или шести аминокислот.

Антитела или VL домен по изобретению могут включать следующие каркасные участки легкой цепи:

FR1 SEQ ID NO: 447 (остатки 1-23),
FR2 SEQ ID NO: 447 (остатки 35-49),
FR3 SEQ ID NO: 447 (остатки 57-88),
FR4 SEQ ID NO: 447 (остатки 98-107), или могут включать указанный набор каркасных участков легкой цепи, содержащих модификацию, например замену одной, двух, трех, четырех, пяти или шести аминокислот.

Модификация аминокислот представляет собой замену, вставку или деление. Наиболее распространенным способом модификации является замена.

Например, антитела по изобретению могут включать набор каркасных участков тяжелой и легкой цепей, где:

FR1 тяжелой цепи обозначает SEQ ID NO: 192 (остатки 1-30),
FR2 тяжелой цепи обозначает SEQ ID NO: 192 (остатки 36-49),
FR3 тяжелой цепи обозначает SEQ ID NO: 192 (остатки 66-94),
FR4 тяжелой цепи обозначает SEQ ID NO: 192 (остатки 103-113),
FR1 легкой цепи обозначает SEQ ID NO: 197 (остатки 1-23),
FR2 легкой цепи обозначает SEQ ID NO: 197 (остатки 35-49),
FR3 легкой цепи обозначает SEQ ID NO: 197 (остатки 57-88),
FR4 легкой цепи обозначает SEQ ID NO: 197 (остатки 98-107), или могут включать

указанный набор каркасных участков тяжелой и легкой цепей, содержащих модификации, например замены семи или менее, например шести или менее, аминокислот. Например, антитела могут содержать замены одной или двух аминокислот в указанном наборе каркасных участков тяжелой и легкой цепей.

Как показано в примере 4.2, антитела 21-42 получены на основе антитела 20 благодаря включению ряда дополнительных модификаций в CDR и каркасных участках. Подобно антителу 20 антитела 21-42 связываются с hIL-4R α и cyIL-4R α . Следовательно, такие замены в CDR и/или каркасных участках можно считать необязательными или благодаря дополнительным заменам можно получать связывающие элементы, характеризующиеся более эффективным связыванием.

Таким образом, в дополнение к заменам в составе любого из 6 CDR VH и VL доменов связывающие элементы могут также включать одну или более замен следующих остатков аминокислот в каркасных участках (нумерация по Kabat):

11, 12 в HFW1,

37, 48 в HFW2,
 68, 84, 85 в HFW3,
 105, 108, 113 в HFW4,
 1, 2, 3, 9 в LFW1,
 38, 42 в LFW2, или
 58, 65, 66, 70, 74, 85, 87 в LFW3.

Пригодные замены в каркасных участках приводятся на фиг.1-4, причем связывающий элемент по настоящему изобретению может включать одну или более конкретных замен, показанных на фиг.1-4.

Антитела или VH домен по изобретению могут включать VH FR1, где аминокислотный остаток 11 обозначает Val или Glu и/или аминокислотный остаток 12 обозначает Lys или Arg. Антитела или VH домен по изобретению могут включать VH FR2, где аминокислотный остаток 37 обозначает Ala или Val и/или аминокислотный остаток 48 обозначает Met или Val. Антитела или VH домен по изобретению могут включать VH FR3, где аминокислотный остаток 68 обозначает Ser, Ala или Thr и/или аминокислотный остаток 84 обозначает Ser или Pro и/или аминокислотный остаток 85 обозначает Glu или Gly. Антитела или VH домен по изобретению могут включать VH FR4, где аминокислотный остаток 105 обозначает Lys или Asn и/или аминокислотный остаток 108 обозначает Gin, Arg или Leu и/или аминокислотный остаток 113 обозначает Ser или Gly.

Антитела или VL домен по изобретению могут включать VL FR1, где аминокислотный остаток 1 обозначает Gin или Leu и/или аминокислотный остаток 2 обозначает Ser или Pro или Ala и/или аминокислотный остаток 3 обозначает Val или Ala и/или аминокислотный остаток 9 обозначает Ser или Leu. Антитела или VL домен по изобретению могут включать VL FR2, где аминокислотный остаток 42 обозначает Thr или Ala. Антитела или VL домен по изобретению могут включать VL FR3, где аминокислотный остаток 58 обозначает Ile или Val и/или аминокислотный остаток 65 обозначает Ser или Phe и/или аминокислотный остаток 66 обозначает Lys или Arg и/или аминокислотный остаток 70 обозначает Ser или Thr и/или аминокислотный остаток 74 обозначает Ala или Gly и/или аминокислотный остаток 85 обозначает Asp или Val и/или аминокислотный остаток 87 обозначает Tyr или Phe.

Антитела не зародышевого типа содержат аналогичные CDR, но различные каркасные участки по сравнению с указанными выше антителами зародышевого типа. В перечне антител, описанных в тексте заявки, структурами зародышевого типа являются VH и VL домены антител 24PGL и 37GL.

На фиг.5, 6 и 7 приводится композиционная аминокислотная последовательность, которая идентична каждому из антител 1-42. Композиционная последовательность представляет собой искусственную структуру, включающую ключевые CDR. Таким образом, на фиг.5, 6 CDR доменов (LCDR1, LCDR2, LCDR3, HCDR1, HCDR2, HCDR3, 6хCDR) расположены таким образом, что последний кодон LCDR1 непосредственно связан с первым кодоном LCDR2, последний кодон LCDR2 непосредственно связан с первым кодоном LCDR3 и т.д. Таким образом, образуется последовательность, лишенная промежуточных каркасных участков. Композиционная последовательность может включать все, как показано на фиг.5, или CDR только тяжелой или легкой цепи (как показано на фиг.6 и 7, соответственно).

Композиционную последовательность каждого антитела можно сравнить с композиционной последовательностью любого другого антитела и оценить степень

идентичности (гомологии), указанную на схемах, приведенных на фиг.5, 6 и 7. Как видно на фиг.5, все 6 CDR характеризуются минимальной степенью идентичности последовательности, которая у любого из антител 1-42 (при сравнении с другим антителом) составляет 73% (например, у антитела 3 по сравнению с антителами 23, 25, 37, 37GL и 41), за исключением антитела 3, у которого степень идентичности последовательности составляет 78%. Минимальная степень идентичности последовательности при сравнении только с тремя CDR тяжелой цепи CDR (3×HCDR) составляет 75% и 79%, если исключить антитело 3. Минимальная степень идентичности последовательности при сравнении только с тремя CDR легкой цепи (3×LCDR) составляет 65% и 75%, если исключить антитело 3.

В конкретном варианте изолированный связывающий элемент характеризуется аминокислотной последовательностью, которая по меньшей мере на 73% идентична (гомологична) композиту 6хCDR любого из антител 1-42.

В другом варианте изобретения предлагается изолированный связывающий элемент, специфичный в отношении α -рецептора интерлейкина-4 человека (hIL-4R α), включающий набор CDR: HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, у которого по меньшей мере 73% аминокислотной последовательности идентичны композиционной последовательности HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, не содержащей промежуточных каркасных участков, любого из антител 1-42. В конкретном варианте изолированный связывающий элемент характеризуется аминокислотной последовательностью, которая по меньшей мере на 78% гомологична композиционной структуре любого из антител 1-42.

В другом варианте изобретения предлагается изолированный связывающий элемент, специфичный в отношении α -рецептора интерлейкина-4 человека (hIL-4R α), включающий набор CDR: HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, у которого по меньшей мере 75% аминокислотной последовательности гомологичны композиционной последовательности HCDR1, HCDR2, HCDR3 любого из антител 1-42.

В другом варианте изобретения предлагается изолированный связывающий элемент, специфичный в отношении α -рецептора интерлейкина-4 человека (hIL-4R α), включающий набор CDR: HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, у которого по меньшей мере 65% аминокислотной последовательности гомологичны композиционной последовательности LCDR1, LCDR2, LCDR3 любого из антител 1-42.

Связывающий элемент по настоящему изобретению может представлять собой элемент, который конкурирует за связывание с IL-4R α с любым из связывающих элементов, который связывается с IL-4R α и включает связывающий элемент, VH и/или VL домен, CDR, например HCDR3, и/или набор CDR, описанный в тексте заявки. Конкуренцию связывающих элементов оценивают *in vitro*, например, методом ИФА и/или благодаря введению репортерной метки в один из связывающих элементов, которую детектируют в присутствии одного или более других немеченых связывающих элементов, при этом идентифицируют элемент, который связывается с тем же или с перекрывающимся эпитопом. Конкуренцию измеряют, например, с использованием ИФА, при котором рецептор IL-4R α иммобилизуют на планшете и добавляют первый меченый связывающий элемент вместе с одним или более других немеченых связывающих элементов. Присутствие немеченого связывающего элемента, который конкурирует с меченым связывающим элементом, определяют по снижению сигнала, испускаемого меченым связывающим элементом. Такие способы анализа известны специалисту в данной области и более подробно описаны ниже. В

одном варианте конкурентное связывание определяют с использованием анализа конкурентного связывания с эпитопом, описанным в тексте заявки. Связывающий элемент по настоящему изобретению может включать антиген-связывающий участок антител, который конкурирует с антителами, например прежде всего с антителами, содержащими VH и/или VL домен, CDR, например HCDR3 или набор CDR исходных антител или любого из антител 2-42, за связывание с IL-4R α . Объектами изобретения являются связывающие элементы, которые конкурируют за связывание с IL-4R α с любым из связывающих элементов, указанных в тексте заявки, например с исходными антителами или любым из антител 2-42, например scFv в формате IgG1 или IgG2. Связывающий элемент, который конкурирует за связывание с IL-4R α с любым из связывающих элементов, указанных в описании заявки, может обладать одним или более структурными и/или функциональными свойствами, характерными для связывающих элементов по изобретению.

В другом варианте изобретения предлагается изолированная нуклеиновая кислота, которая включает последовательность, кодирующую связывающий элемент, такой как VH домен и/или VL домен по настоящему изобретению, способы получения связывающего элемента, такого как VH домен и/или VL домен по изобретению, которые заключаются в том, что проводят экспрессию указанной нуклеиновой кислоты в условиях, обеспечивающих продуцирование указанного связывающего элемента, такого как VH домен, и/или VL домен, и/или антитела, а также способ его выделения.

Другом объектом настоящего изобретения является нуклеиновая кислота, обычно изолированная, кодирующая последовательность VH CDR или VL CDR, описанную в тексте заявки.

Другим объектом изобретения является клетка хозяина, содержащая нуклеиновую кислоту по изобретению или трансформированная такой нуклеиновой кислотой.

Другими объектами настоящего изобретения являются композиции, содержащие связывающие элементы по изобретению, и их применение в способах ингибирования и/или нейтрализации IL-4R α , включая способы лечения человека или животного.

Связывающие элементы по изобретению можно использовать в способе лечения или диагностики человека или животного, таком как способ лечения (который включает профилактику) заболевания или нарушения у человека, который заключается в том, что указанному пациенту вводят эффективное количество связывающего элемента по изобретению. Состояния, которые можно лечить по настоящему изобретению, включают любые нарушения, ассоциированные с IL-4R α , IL-4 и/или IL-13, более подробно описанные в тексте заявки.

Указанные и другие аспекты изобретения более подробно описаны ниже.

Определение терминов

Подразумевается, что термин "и/или", используемый в описании заявки, обозначает подробное описание вместе или отдельно одного из двух конкретных признаков или компонентов. Например, "А и/или В" обозначает подробное описание каждого из (1) А, (2) В и (3) А и В, как если бы каждый из них описывался индивидуально.

IL-4R α

IL-4R α обозначает α -рецептор интерлейкина-4 человека. Если не указано иное, ссылки на IL-4R α обычно относятся к IL-4R α человека. Аминокислотная последовательность IL-4R α дикого типа взрослого человека, которая присутствует в базе данных под рег. №P24394 (Swiss-Prot), соответствует полноразмерному IL-4R α ,

включающему сигнальный пептид.

IL-4R α макак-крабедов секвенирован заявителями, последовательность кДНК, кодирующая IL-4R α , соответствует SEQ ID NO: 455.

Как указано в тексте заявки, IL-4R α получают в виде рекомбинантного белка и/или в гликозилированной или негликозилированной форме. Обычно IL-4R α экспрессируется *in vivo* в N-гликозилированной форме. Гликозилированный IL-4R α может также экспрессироваться в рекомбинантных системах, например в клетках HEK-EBNA. IL-4R α может также экспрессироваться в гликозилированной форме в клетках E.coli.

Связывающий элемент

Указанный термин обозначает один из двух элементов, которые связываются друг с другом. Элемент связывающейся пары можно получать полностью или частично синтезом. Один из элементов такой пары содержит на поверхности глобулы участок или полость, которые комплементарны и, следовательно, связываются с конкретной пространственной и полярной структурой другого элемента данной пары.

Примерами связывающихся пар элементов являются антиген/антитело, биотин/авидин, гормон/гормональный рецептор, рецептор/лиганд, фермент/субстрат. Настоящее изобретение относится к реакциям типа антиген/антитело.

Термин «связывающий элемент» обычно обозначает элемент, содержащий антиген-связывающий участок. Например, связывающий элемент может представлять собой антитело или белок, который не является иммуноглобулином, но содержит антиген-связывающий участок.

Антиген-связывающий участок получают прививкой CDR на белковые матрицы, такие как фибронектин или цитохром B и т.д. (Haan и Maggos, BioCentury, 12(5), A1-A6 (2004), Koide, Journal of Molecular Biology, 284, 1141-1151 (1998), Nygren и др., Current Opinion in Structural Biology, 7, 463-469, (1997)), или рандомизацией или мутированием аминокислотных остатков в петле в составе белка-носителя для придания специфичности связывания с требуемой мишенью. Каркасные структуры для конструирования новых связывающих участков в белках подробно описаны в литературе (см. Nygren и др., выше). Каркасная структура на основе белков для имитации антител приводятся в заявке WO/0034784 (включенной в описание изобретения в полном объеме в качестве ссылки), в которой заявители описывают белки (имитаторы антител), которые включают домен фибронектина типа III, содержащий по меньшей мере одну рандомизированную петлю. Пригодной каркасной структурой для прививки одного или более CDR, например набора HCDR или HCDR и/или LCDR3, является любой домен суперсемейства иммуноглобулинов. Каркасная структура может представлять собой белок человека или какого-либо животного. Преимущество такой каркасной структуры на основе белка заключается в том, что антиген-связывающий участок можно ввести в молекулу белка, который является меньше по размерам и/или его легче получить по сравнению, по меньшей мере, с некоторыми антителами. Небольшие размеры связывающего элемента могут придать белку полезные физиологические свойства, такие как способность проникать в клетки, глубоко проникать в ткани или достигать мишени в составе других структур, или связываться с антигеном-мишенью в полости белка. Применение антиген связывающих участков в составе каркасной белковой матрицы описано в литературе (см. Wess, 2004). Типичными примерами являются белки, содержащие стабильный каркас и одну или более вариабельных петель, в которых

аминокислотная последовательность петли или петель направлено или произвольно мутирована для создания антиген-связывающего участка, который связывается с мишенью-антигеном. Такие белки включают IgG-связывающие домены белка А из *S. aureus*, трансферрин, тетранектин, фибронектин (например, 10 домен типа III фибронектина) и липокалины. Другие варианты включают синтетические "микроантитела" (фирма Seletcore GmbH), которые основаны на циклотидах, небольших белках, содержащих внутримолекулярные дисульфидные связи.

Наряду с аминокислотными последовательностями антител и антиген-связывающего участка связывающего элемента по настоящему изобретению может включать другие аминокислоты, например, образующие пептид или полипептид, такой как свернутый домен, или придающие элементу другие функциональные свойства (наряду со способностью связываться с антигеном). Связывающие элементы по изобретению могут включать детектируемую метку, или могут конъюгироваться с токсином или с группой адресной доставки или с ферментом (например, за счет пептидной связи или линкера). Например, связывающий элемент может включать каталитический центр (например, в домене фермента), а также антиген-связывающий участок, причем антиген-связывающий участок связывается с антигеном и тем самым направляет каталитический центр на антиген. Каталитический центр может ингибировать биологическую функцию антигена, например, за счет гидролиза.

Хотя, как указано выше, CDR можно переносить на белки-носители, структуры для включения CDR, например, CDR3, или набора CDR по изобретению обычно представляют собой тяжелую или легкую цепь антител или их достаточно большой фрагмент, в который переносят CDR или набор CDR, кодируемые перегруппированными генами иммуноглобулина, в положения, соответствующие CDR или набору CDR VH и VL переменных доменов природных антител. Структуры и положения переменных доменов иммуноглобулина определяют по Kabat (см. *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 4 изд., US Department of Health and Human Services (1987), а также 5 издание (*Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5 изд., US Department of Health and Human Services, Public Service, NIH, Washington (1991)).

Если не указано иное, положения конкретных остатков, а также CDR и каркасных участков, обозначают с использованием нумерации по системе Kabat.

Подразумевается, что CDR обозначает гипервариабельные области тяжелой и легкой цепей иммуноглобулина, описанных Kabat и др. (выше). Обычно антитела содержат 3 CDR в тяжелой цепи и 3 CDR в легкой цепи. Термин CDR используется с целью обозначения, при необходимости, одной или нескольких или даже всех указанных областей, которые содержат большинство аминокислотных остатков, ответственных за аффинность антител при связывании с распознаваемым антигеном или эпитопом.

Среди шести коротких CDR последовательностей наиболее переменным является третий CDR тяжелой цепи (HCDR3), полученный благодаря механизмам перегруппировки генов, которые приводят к такому разнообразию структуры. Наиболее короткие CDR могут включать 2 аминокислоты, а наиболее длинные 26 аминокислот. В функциональном отношении HCDR3 играет определенную роль в определении специфичности антител (Segal и др., *PNAS*, 71, 4298-4302 (1974), Amit и др., *Science*, 233, 747-753 (1986), Chothia и др., *J. Mol. Biol.*, 196, 901-917 (1987), Chothia и др., *Nature*, 342, 877-883 (1989), и др., *J. Immunol.*, 144, 1965-1968 (1990), Sharon и др.,

PNAS, 87, 4814-4817 (1990(a)), Sharon и др. J. Immunol., 144, 4863-4869 (1990), Kabat и др., J. Immunol., 147, 1709-1719(1991b)).

HCDR1 включает 5 аминокислот (остатки 31-35).

HCDR2 включает 17 аминокислот (остатки 50-65).

5 HCDR3 включает 7 аминокислот (остатки 95-102).

LCDR1 включает 13 аминокислот (остатки 24-34).

LCDR2 включает 7 аминокислот (остатки 50-56).

LCDR3 включает 12 аминокислот (остатки 89-97).

10 Нумерация остатков аминокислот указана по Kabat.

Молекулы антител

Термин «антитела» обозначает иммуноглобулин, природный или частично или полностью синтетический. Термин также включает любой полипептид или белок, содержащий антиген-связывающий участок антител. Подразумевается, что
15 изобретение не относится к антителам в природной форме, т.е. присутствующим в нормальной среде, но относится к антителам, которые можно выделить и очистить из природных источников, или также получить с использованием генетической рекомбинации или химическим синтезом, и, следовательно, они могут содержать
20 неприродные аминокислоты, как описано ниже. Фрагменты антител, которые включают антиген-связывающий участок антител, включают, но не ограничиваясь только ими, элементы, такие как Fab, Fab', Fab'-SH, scFv, Fv, dAb, Fd и димерные антитела.

25 Антитела по изобретению относятся к классу IgG, например IgG1, IgG4, IgG2 или агликозил IgG2.

Можно также получать моноклональные и другие антитела, а для получения других антител или химерных элементов, которые связываются с антигеном-мишенью, можно использовать технологию рекомбинантных ДНК. Такие методики
30 включают внедрение ДНК, кодирующей вариабельную область иммуноглобулина или CDR антител, в сегменты гена, кодирующие константные области или константные области и каркасные участки различных иммуноглобулинов. См., например, EP-A-184187, GB 2188638A или EP-A-239400, и множество других источников. Объектом генетической мутации или других модификаций, которые
35 могут изменять или не изменять специфичность связывания получаемых антител, являются гибридомы или другие клетки, продуцирующие антитела.

Антитела можно модифицировать различными способами и подразумевается, что термин "антитела" относится к любому связывающему элементу, содержащему
40 антиген-связывающий участок антител, характеризующийся требуемой специфичностью и/или связыванием с антигеном. Таким образом, указанный термин обозначает фрагменты и производные антител, включая любой полипептид, содержащий антиген-связывающий участок антител, природный или полностью или частично синтетический. Следовательно, термин включает химерные элементы,
45 содержащие антиген-связывающий участок антител, или его эквивалент, конъюгированный с другим полипептидом (например, полученным от другого вида или принадлежащим к другому классу или подклассу антител). Клонирование и экспрессия химерных антител описаны в EP-A-0120694 и EP-A-0125023, и во многих
50 других источниках.

Другие методики генной инженерии антител позволяют получать антитела человека и гуманизированные антитела. Например, гибридомы человека получают по методике, описанной в статье Kontermann и Dubel (Antibodies Engineering, Springer-

Verlag New York, LLC (2001), ISBN: 3540413545). Для получения связывающих элементов используются также методики фагового дисплея, подробно описанные во множестве публикаций, таких как WO 92/01047 (см. ниже) и US 5969108, US 5565332, US 5733743, US 5858657, US 5871907, US 5872215, US 5885793, US 5962255, US 6140471, US 6172197, US 6225447, US 6291650, US 6492160, US 6521404 и Kontermann и Dubel (см. выше). Для получения антител человека можно использовать трансгенных мышей, в которых гены мышечных антител инактивированы и функционально заменены на гены антител человека, в то время как другие компоненты иммунной системы мыши остаются интактными (Mendez и др. *Nature Genet*, 15(2), 146-156 (1997)).

Синтетические антитела получают экспрессией генов, которые получали с использованием синтетических олигонуклеотидов, включенных в пригодные векторы экспрессии, например, как описано в статье Knappik и др., *J. Mol. Biol.*, 296, 57-86, (2000) или Krebs и др., *Journal of Immunological Methods*, 254, 67-84 (2001).

Установлено, что фрагменты полноразмерных антител могут выполнять функцию связывания с антигеном. Примерами связывающих фрагментов являются (1) Fab фрагмент, содержащий домены VL, VH, CL и CH1, (2) Fd фрагмент, содержащий домены VH и CH1, (3) Fv фрагмент, содержащий домены VL и VH одного антитела, (4) dAb фрагмент (Ward и др., *Nature*, 341, 544-546 (1989), McCafferty и др., *Nature*, 348, 552-554 (1990), Holt и др., *Trends in Biotechnology*, 21, 484-490 (2003)), содержащий VH или VL домен, (5) изолированные участки CDR, (6) F(ab')₂ фрагменты, бивалентный фрагмент, включающий два связанных Fab фрагмента, (7) одноцепочечные Fv элементы (scFv), где VH домен и VL домен связаны пептидным линкером, который позволяет двум доменам ассоциировать с образованием антиген-связывающего участка (Bird и др., *Science*, 242, 423-426 (1988), Huston. *PNAS USA*, 85, 5879-5883 (1988)), (8) биспецифичные димеры одноцепочечного Fv (PCT/US 92/09965), и (9) "димерные антитела", мультивалентные или мультиспецифичные фрагменты, полученные гибридизацией генов (WO 94/13804, Holliger и др., *PNAS USA*, 90, 6444-6448 (1993a)). Fv, scFv или димерные антитела можно стабилизировать за счет введения дисульфидных связей между VH и VL доменами (Reiter и др., *Nature Biotech.*, 14, 1239-1245 (1996)). Можно также получить «мини-антитела», включающие scFv, конъюгированный с CH3 доменом (Hu и др., *Cancer Res.*, 56, 3055-3061 (1996)). Другим примером связывающих фрагментов является Fab', который отличается от Fab фрагментов за счет вставки нескольких остатков по С-концевому фрагменту CH1 домена тяжелой цепи, включающих один или более остатков цистеина из шарнирной области антител, и Fab'-SH, который представляет собой Fab' фрагмент, в котором остаток (остатки) цистеина константных доменов содержит свободные тиольные группы.

Фрагменты антител по изобретению можно получать из любого антитела, описанного в тексте заявки, например из антител, включающих VH и/или VL домены или CDR любого из антител 1-42, с использованием таких методов, как гидролиз ферментами, такими как пепсин или папаин и/или расщепление дисульфидных связей за счет восстановления. В другом варианте фрагменты антител по настоящему изобретению можно получить по методиками рекомбинации генов, известным для специалиста в данной области, или также пептидным синтезом, например, с использованием автоматизированных пептидных синтезаторов, таких как синтезаторы фирмы Applied Biosystems, и т.д., или синтезом и экспрессией нуклеиновой кислоты.

Функциональные фрагменты антител по настоящему изобретению включают

любой функциональный фрагмент, период полураспада которого повышен за счет химической модификации, прежде всего ПЭГилирования или за счет включения в липосому.

dA (домен антитела) представляет собой небольшой мономерный антиген-связывающий фрагмент антител, а именно варибельную область тяжелой или легкой цепи антител (Holt и др., Trends in Biotechnology, 21, 484-490 (2003)). VH dA присутствует в антителах верблюжьих (например, верблюдов, лам) и для его получения верблюжьих иммунизируют антигеном-мишенью, выделяют антиген-специфичные В клетки и непосредственно клонируют гены dA из индивидуальных В клеток. dA также получают в культуре клеток. Благодаря небольшим размерам, высокой стабильности, высокой растворимости и температурной стабильности такие dA являются прежде всего физиологически приемлемыми и пригодными для селекции и созревания аффинности. Связывающий элемент по настоящему изобретению может представлять собой dA, включающие VH или VL домен в основном в виде набора, указанного в тексте заявки, или VH или VL домен, включающий набор CDR в основном в виде набора, указанного в тексте заявки.

Положение "в основном в виде набора", используемое в тексте заявки, обозначает характеристику (характеристики) основных CDR VH или VL домена связывающего элемента, описанного в тексте заявки, которые должны быть идентичны или практически аналогичны конкретным областям, из которых составлена указанная последовательность. Положение "практически аналогично", используемое в тексте заявки в связи с конкретной областью (областями) одного или более варибельных доменов, обозначает, что CDR VH и/или VL доменов могут включать замены от 1 до приблизительно 12, например от 1 до 8, включая от 1 до 7, от 1 до 6, от 1 до 5, от 1 до 4, от 1 до 3 или от 1 до 2, аминокислот.

Антитела по изобретению включают биспецифичные антитела. Биспецифичные или бифункциональные антитела образуют второе поколение моноклональных антител, которые содержат две разные варибельные области в составе одной молекулы (Holliger P. и Winter G., Cancer and metastasis rev., 18, 411-419 (1999)). Такие антитела находят применение в диагностике и терапии благодаря их способности придавать новые эффекторные функции или распознавать некоторые антигены на поверхности опухолевых клеток. Если предполагается применение биспецифичных антител, то речь идет о соответствующих биспецифичных антителах, которые получают рядом методов (Holliger и др., PNAS USA, 90, 6444-6448 (1993)), например химическим синтезом или из гибридных гибридом, или речь идет о любых фрагментах биспецифичных антител, указанных выше. Указанные антитела можно получать химическим синтезом (Glennie и др., J. Immunol., 139, 2367-2375 (1987), Repp и др., J. Hemat., 377-382, (1995)) или соматическими методами (Staerz U.D. и Bevan M.J., PNAS. 83 (1986), и др., Method Enzymol., 121, 210-228 (1986)), а также методами генной инженерии, которые обеспечивают полную гетеродимеризацию и, следовательно, облегчают процесс очистки требуемых антител (Merchu и др., Nature Biotech., 16, 677-681 (1998)). Примеры биспецифичных антител включают антитела, полученные по технологии ViTE, в которой используются связывающие домены двух антител с различной специфичностью, которые непосредственно связываются короткими гибкими пептидами. Таким образом, два антитела связываются короткой полипептидной цепью. Димерные антитела и scFv получают в отсутствие Fc области с использованием только варибельных доменов, эффективно снижающих последствия анти-идиотипической реакции.

Биспецифичные антитела можно получать в виде полноразмерного IgG, в виде биспецифичных Fab'2, в виде Fab'/ПЭГ, в виде димерных антител или также в виде биспецифичных scFv. Кроме того, два биспецифичных антитела можно связать с использованием стандартных методов, известных в данной области техники, с
5 образованием тетравалентных антител.

Биспецифичные димерные антитела, в отличие от биспецифичных полноразмерных антител, являются более предпочтительными, поскольку их легко получать и экспрессировать в *E. coli*. Димерные антитела (и многие другие
10 полипептиды, такие как фрагменты антител) с соответствующей специфичностью связывания выбирают из библиотек с использованием фагового дисплея (WO 94/13804). Если одну ветвь димерных антител необходимо сохранять константной, например специфичной в отношении IL-4R α , то библиотека позволяет найти другую ветвь, которая является вариабельной, и выбрать антитела соответствующей
15 специфичности. Биспецифичные полноразмерные антитела можно получать с использованием альтернативных методов генной инженерии, описанных в статье Ridgeway и др., *Protein Eng.*, 9, 616-621 (1996)).

В области техники известно множество способов получения антител против IL-4R α . Антитела могут представлять собой моноклональные антитела, прежде всего антитела человека, мыши, химерные или гуманизированные антитела, которые получают стандартными методами, известными специалисту в данной области.

В общем случае получение моноклональных антител или их функциональных фрагментов, прежде всего мышинных антител, возможно включает методики, описанные в специальном методическом руководстве "Antibodies" (Harlow и Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor N.Y., с. 726 (1988)), или методики получения из гибридомы, описанные в статье Kohler и Milstein, *Nature*, 256, 495-497 (1975)).

Моноклональные антитела можно получать, например, из клеток животного, иммунизированного против IL-4R α или одного из его фрагментов, содержащих эпитоп, распознаваемый указанными моноклональными антителами. IL-4R α или один из его фрагментов получают прежде всего стандартными методами, например генетической рекомбинацией, исходя из нуклеиновой кислоты, содержащей кДНК, кодирующую IL-4R α или его фрагмент, пептидным синтезом, исходя из
35 аминокислотной последовательности, включающей структуру IL-4R α и/или его фрагмент. Моноклональные антитела очищают, например, аффинной хроматографией на колонке, содержащей иммобилизованный IL-4R α или один из его
40 фрагментов, содержащий эпитоп, узнаваемый моноклональными антителами. Более конкретно, моноклональные антитела очищают хроматографией на колонке с иммобилизованным белком А и/или G, необязательно ионообменной хроматографией для удаления остаточного белка, а также ДНК и ЛПС, а затем эксклюзионной хроматографией на сефарозе с целью удаления возможных
45 агрегатов, например димеров или мультимеров. В одном варианте указанные методики можно использовать одновременно или последовательно.

Антиген-связывающий участок

Указанный термин обозначает часть молекулы, которая является
50 комплементарной к антигену и связывается с полным антигеном или частью антигена-мишени. В составе антител такой фрагмент обозначается как антиген-связывающий участок, и включает ту часть антитела, которая является комплементарной к антигену и связывается с полным антигеном или частью

антигена-мишени. Если антиген является большим по размерам, антитела связываются только с конкретной частью антигена, который носит название эпитоп. Антиген-связывающий участок антител может находиться в составе одного или более вариабельных доменов. Антиген-связывающий участок антител может

5 включать вариабельную область легкой цепи антител (VL) и вариабельную область тяжелой цепи антител (VH).

Изолированный

Указанный термин обозначает состояние, в котором по настоящему изобретению

10 обычно должны находиться связывающие элементы по изобретению или нуклеиновая кислота, кодирующая такие связывающие элементы. Таким образом, связывающие элементы, включая VH и/или VL домены, и кодирующая нуклеиновая кислота и векторы по настоящему изобретению предлагаются в изолированном и/или очищенном состоянии, например, от природных примесей, в практически

15 очищенной или гомогенной форме, или в случае нуклеиновой кислоты, свободной или практически свободной от нуклеиновой кислоты или генов, иных, чем последовательность, кодирующая полипептид с требуемой функцией. Изолированные элементы и изолированная нуклеиновая кислота являются

20 свободными или практически свободными от материала, с которым они обычно ассоциированы, такого как другие полипептиды или нуклеиновые кислоты, например, с которыми они контактируют в природном источнике, или в среде, в которой их получали (например, в клеточной культуре), если их получали по технологии рекомбинантных ДНК *in vitro* или *in vivo*. Элементы и нуклеиновую

25 кислоту перерабатывают в смеси с разбавителями или адъювантами и также для практического применения, например, изолированные элементы обычно смешивают с желатином или другими носителями, если они используются для покрытия микротитрационных планшетов при иммуноанализе, или смешивают с

30 фармацевтически приемлемыми носителями или разбавителями, если они используются при диагностике или терапии. Связывающие элементы обычно являются гликозилированными, либо они гликозилируются в системах гетерологичных эукариотических клеток (например, клеток CHO или NSO (ECACC 85110503)), или они являются негликозилированными (например, если их

35 получают экспрессией в прокариотических клетках).

Изобретение также включает гетерогенные препараты, содержащие антитела анти-IL-4R α . Например, такими препаратами являются смеси антител с полноразмерной тяжелой цепью и тяжелой цепью, не содержащей C-концевого

40 лизина, с различной степенью гликозилирования и/или с модифицированными аминокислотами, например, за счет циклизации N-концевой глутаминовой кислоты с образованием остатка пироглутаминовой кислоты.

Как указано выше, связывающий элемент по настоящему изобретению модулирует и может нейтрализовать биологическую активность IL-4R α . Как описано

45 в тексте заявки, IL-4R α -связывающие элементы по настоящему изобретению можно оптимизировать по эффективности нейтрализации. Обычно оптимизация эффективности включает мутирование последовательности выбранного связывающего элемента (обычно последовательности вариабельного домена антител) для получения библиотеки связывающих элементов, которую затем

50 анализируют на эффективность и отбирают элементы с высокой эффективностью связывания. Такие элементы с оптимизированной эффективностью связывания имеют тенденцию обладать более высокой эффективностью по сравнению с элементом, из

которого получали библиотеку. Тем не менее, элемент с высокой эффективностью связывания можно также получать, минуя стадию оптимизации, например, элемент с высокой эффективностью связывания можно получать непосредственно по результатам первоначального поиска, например анализа биохимической нейтрализации. «Оптимизированный по эффективности» связывающий элемент обозначает элемент с оптимизированной эффективностью связывания или нейтрализации конкретной активности или понижения функции IL-4R α . Способы анализа или эффективность элементов более подробно описаны в тексте заявки. В настоящем изобретении предлагаются оптимизированные по эффективности и неоптимизированные связывающие элементы, а также способы оптимизации эффективности выбранного связывающего элемента. Таким образом, настоящее изобретение позволяет специалисту в данной области получать элементы, обладающие высокой эффективностью связывания.

Хотя оптимизацию эффективности связывания можно использовать для получения элементов с высокой эффективностью связывания из данного связывающего элемента, следует отметить, что элементы с высокой эффективностью связывания можно получать даже без проведения оптимизации.

В другом варианте настоящего изобретения предлагается способ получения одного или более связывающих элементов, способных связываться с антигеном, который заключается в том, что библиотеку связывающих элементов по изобретению вводят в контакт с указанным антигеном и выбирают один или более связывающих элементов, способных связываться с указанным антигеном.

Библиотеку можно презентировать на частицах или молекулярных комплексах, например реплицируемых генетических системах, таких как дрожжи, бактериальные частицы или бактериофаги (например, T7), вирусы, клетки или ковалентные комплексы, рибосомальные или другие системы презентации *in vitro*, причем каждая частица или молекулярный комплекс, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую VN переменные домены антител, презентированный на них, необязательно презентует VL домен. Фаговый дисплей описан в WO 92/01047 и, например, в US 5969108, US 5565332, US 5733743, US 5858657, US 5871907, US 5872215, US 5885793, US 5962255, US 6140471, US 6172197, US 6225447, US 6291650, US 6492160 и US 6521404, каждый из которых включен в описание заявки в полном объеме в качестве ссылки.

После отбора связывающих элементов, способных связываться с антигеном, и презентации на бактериофаге или других частицах библиотеки или молекулярных комплексах из бактериофага или других частиц или молекулярных комплексов, презентующих указанный выбранный связывающий элемент, выделяют нуклеиновую кислоту. Такую нуклеиновую кислоту можно использовать для последующего получения связывающего элемента или переменного VN или VL домена антител экспрессией нуклеиновой кислоты, полученной из бактериофага или других частиц или молекулярного комплекса, презентующего указанный выбранный связывающий элемент.

Домен VN антител, характеризующийся аминокислотной последовательностью домена VN указанного выбранного связывающего элемента, получают в изолированной форме, такой как связывающий элемент, содержащий такой VN домен.

Можно также анализировать способность связываться с IL-4R α и/или способность конкурировать, например, с исходными антителами (например, антителом 1) или

оптимизированными антителами, антителами 2-42 (например, в формате scFv и/или IgG, например, IgG1, IgG2 или IgG4) за связывание с IL-4R α . Способность нейтрализовать IL-4R α можно анализировать, как описано ниже в тексте заявки.

Связывающий элемент по настоящему изобретению может связываться с IL-4R α с 5
аффинностью одного из антител 1-42, например, в формате scFv, или IgG1, или IgG2, или IgG4, или с более высокой аффинностью.

Связывающий элемент по настоящему изобретению может нейтрализовать биологическую активность IL-4R α с эффективностью одного из антител 1-42, 10
например, в формате scFv, или IgG1, или IgG2, или IgG4, или с более высокой эффективностью.

Аффинность связывания и эффективность нейтрализации различных связывающих элементов можно сравнивать в соответствующих условиях.

В настоящем изобретении получают и используют варианты антител, описанных в 15
тексте заявки. После компьютерного моделирования зависимости структура/активность с использованием методик анализа мультивариантных данных (Wold и др. Multivariate data analysis in chemistry. Chemometrics -Mathematics and Statistics in Chemistry (Ed.: B. Kowalski), D. Reidel Publishing Company, Dordrecht, Holli 20
(1984) (ISBN 90-277-1846-6)) производят количественную оценку зависимости активность/свойства антител с использованием известных математических операций, таких как статистическая регрессия, распознавание образов и классификация (Norman и др. Applied Regression Analysis. Wiley-Interscience, 3 изд. (1998, апрель) ISBN: 0471170828, Kandel, Abraham и Backer, Computer-Assisted Reasoning in Cluster Analysis. 25
Prentice Hall PTR, (1995, 11 мая), ISBN: 0133418847, Principles of Multivariate Analysis: A User's Perspective (Oxford Statistical Science Series, No 22 (Paper). Oxford University Press, (2000, декабрь), ISBN: 0198507089, Witten и Frank Data Mining: Practical Machine Learning Tools and Techniques with Java Implementations. Morgan Kaufmann, (1999, 11 октября), 30
ISBN: 1558605525, Denison DGT. (ред.), Holmes, CC. и др. Bayesian Methods for Nonlinear Classification and Regression (Wiley Series in Probability and Statistics). John Wiley и Sons, (2002, июль), ISBN: 0471490369, Ghose, AK. и Viswanadhan, VN. Combinatorial Library Design and Evaluation Principles, Software, Tools, and Applications in Drug Discovery. ISBN: 0-8247-0487-8). Свойства антител определяют на основании эмпирических и 35
теоретических моделей (например, анализа возможных контактирующих остатков или рассчитанных физико-химических свойств) аминокислотной последовательности антител, функциональных свойств и трехмерных структур, причем указанные свойства можно рассматривать отдельно или в комбинации.

Антиген-связывающий участок антител, составленный из VH домена и VL домена, 40
обычно образован полипептидом, включающим шесть петель: трех петель переменного домена (VL) легкой цепи и трех петель переменного домена (VH) тяжелой цепи. После анализа известной пространственной структуры антител была выявлена взаимосвязь между аминокислотной последовательностью и трехмерной 45
структурой комбинированных участков антител (Chothia и др., Journal Molecular Biology, 227, 799-817 (1992), Al-Lazikani и др., Journal Molecular Biology, 273(4), 927-948 (1997)). Указанная взаимосвязь означает, что за исключением третьей области (петли) в VH доменах петли связывающего участка находятся в одной из немногих 50
конформаций главной цепи, т.е. канонической структуре. Установлено, что каноническая структура конкретной петли зависит от ее размера и присутствия некоторых аминокислотных остатков в ключевых положениях петли и каркасного участка (Chothia и др., Journal Molecular Biology, 227, 799-817 (1992), Al-Lazikani, см.

выше).

Указанное исследование зависимости пространственной структуры от аминокислотной последовательности можно использовать для предсказания тех остатков в антителах с известной аминокислотной последовательностью, но с не установленной трехмерной структурой, которые являются существенными для поддержания трехмерной структуры CDR петель и тем самым специфичности связывания. Указанные прогнозы можно опровергнуть при сравнении с результатами экспериментов по оптимизации. При проведении структурного анализа формируют модель молекулы антител (Chothia и др., Science, 223, 755-758 (1986)) с использованием известных или коммерческих пакетов программ, таких как WAM (Whitelegg и Rees, Prot. Eng., 12, 815-824 (2000)). Затем можно использовать визуализацию белка и анализ пакетов программ, таких как Insight II (Accelrys, Inc.) или Deep View (Guex & Peitsch, Electrophoresis (1997) 18, 2714-2723) для оценки возможной замены в каждом положении CDR. Указанную информацию можно использовать для замен с целью достижения минимального или значительного повышения активности.

Методики, необходимые для проведения замен в составе аминокислотных последовательностей CDR, VH или VL доменов антител и связывающих элементов, обычно известны в области техники. Можно построить варианты аминокислотной последовательности, содержащие замены, которые по результатам прогноза могут оказывать или не оказывать минимальное или значительное воздействие на активность, и тестировать по способности связываться и/или нейтрализовать IL-4R α и/или на наличие любых других требуемых свойств.

Варианты аминокислотной последовательности любого из переменных доменов VH и VL, последовательности которых конкретно описаны в тексте заявки, можно использовать по настоящему изобретению, как описано ниже. Конкретные варианты могут включать одну или более модификаций аминокислотой последовательности (добавление, делецию, замену и/или вставку аминокислотного остатка), возможно менее приблизительно 20 модификаций, менее приблизительно 15 модификаций, менее приблизительно 12 модификаций, менее приблизительно 10 модификаций, или менее приблизительно 6 модификаций, возможно 5, 4, 3, 2 или 1 модификацию. Модификации можно вводить в один или более каркасных участков и/или в один или более CDR. Обычно модификации не приводят к потере функции, и, следовательно, связывающий элемент, включающий модифицированную таким образом аминокислотную последовательность, сохраняет способность связываться и/или нейтрализовать IL-4R α . Например, элемент может сохранять связывающую и/или нейтрализующую активность в отношении IL-4R α , идентичную в количественном отношении активности связывающего элемента, не содержащего модификаций, например, по данным анализа, описанного в тексте заявки. Связывающий элемент, включающий модифицированную таким образом аминокислотную последовательность, может обладать улучшенной способностью связываться и/или нейтрализовать IL-4R α . Действительно, антитела 21-42, полученные неспецифическим мутагенезом антитела 20 и содержащие замены по сравнению с антителом 20, главным образом в ряде каркасных участков, причем каждое из них связывается и/или нейтрализует IL-4R α , обладают (по меньшей мере некоторые из них) улучшенной способностью связываться и/или нейтрализовать IL-4R α .

Модификация может включать замену одного или более аминокислотных

остатков на неприродную или нестандартную аминокислоту, перевод одного или более аминокислотных остатков в неприродную или нестандартную форму, или вставку одной или более неприродной или нестандартной аминокислоты. Примеры количества и локализации модификаций в аминокислотных последовательностях по изобретению описаны в тексте заявки. Природные аминокислоты включают 20 "стандартных" L-аминокислот, обозначаемых однобуквенным кодом G, A, V, L, I, M, P, F, W, S, T, N, Q, Y, C, K, R, H, D, E. Нестандартные аминокислоты представляют собой любые другие аминокислоты, которые можно включать в полипептидную цепь или которые образуются при модификации присутствующих в структуре аминокислотных остатков. Нестандартные аминокислоты могут присутствовать или могут не присутствовать в природных элементах. В области техники известны несколько природных нестандартных аминокислот, таких как 4-гидроксипролин, 5-гидроксилизин, 3-метилгистидин, N-ацетилсерин и т.п. (Voet и Voet, Biochemistry, 2 изд., Wiley (1995)). Аминокислотные остатки, модифицированные по N-а положению, локализуются только в N-концевой аминокислотной последовательности. Обычно в настоящем изобретении аминокислота является L-аминокислотой, но в некоторых вариантах содержатся D-аминокислоты. Следовательно, модификация может включать модификацию L-аминокислоты с образованием D-формы или замену на D-аминокислоту. Известны также метилированные, ацетилированные и/или фосфорилированные формы аминокислот, и аминокислоты по настоящему изобретению являются объектом такой модификации.

Аминокислотные последовательности доменов антител и связывающих элементов по изобретению могут включать неприродные или нестандартные аминокислоты, описанные выше. В некоторых вариантах нестандартные аминокислоты (например, D-аминокислоты) можно включать в аминокислотную последовательность во время синтеза, в то время как в других вариантах нестандартные аминокислоты можно вводить модификацией или заменой "исходных" стандартных аминокислот после синтеза аминокислотной последовательности.

Применение нестандартных и/или неприродных аминокислот позволяет повысить структурное и функциональное разнообразие антител, и таким образом повысить возможность достижения требуемой связывающей и нейтрализующей активности элементов по изобретению в отношении IL-4R α . Кроме того, установлено, что D-аминокислоты и их аналоги обладают более приемлемым фармакокинетическим профилем по сравнению со стандартными L-аминокислотами, из-за деградации *in vivo* полипептидов, содержащих L-аминокислоты, после введения животному, например человеку.

Новые VH или VL области, содержащие CDR-модифицированные последовательности по изобретению, можно получать с использованием неспецифического мутагенеза одного или более выбранных генов VH и/или VL с целью введения мутаций во весь вариабельный домен. Такие методики описаны в статье Gram и др., Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 89, 3576-3580 (1992), где используется ПЦР пониженной точности. В некоторых вариантах замены одной или двух аминокислот проводят в полном вариабельном домене или в наборе CDR. Другим способом является направленный мутагенез в генах, кодирующих CDR участки VH или VL доменов. Такие методики описаны в статьях Barbas и др., Proc. Natl. Acad. Sci., 91, 3809-3813 (1994) и Schier и др., J. Mol. Biol., 263, 551-567(1996).

Все вышеописанные методики известны в области техники и специалист в данной

области может использовать такие методики для получения связывающих элементов по изобретению стандартными методами.

Другим объектом изобретения является способ получения антиген-связывающего участка антител анти-IL-4R α , который заключается в том, что проводят разработку способа добавления, делеции, замены или вставки одной или более аминокислот в аминокислотную последовательность указанного в описании VH домена, который является вариантом аминокислотной последовательности VH домена, необязательно комбинируют полученный таким образом VH домен с одним или более VL доменами, и производят анализ VH домена или комбинации или комбинаций VH/VL с целью идентификации связывающего элемента или антиген-связывающего участка антител анти-IL-4R α , обладающего одним или более функциональными свойствами, например способностью нейтрализовать активность IL-4R α . Указанный VL домен может характеризоваться аминокислотной последовательностью, указанной в описании заявки. Аналогичный способ можно использовать, если один или более вариантов последовательности VL домена, указанных в заявке, комбинируют с одним или более VH доменами.

Как указано выше, указанную в описании аминокислотную последовательность CDR можно ввести в качестве CDR в вариабельный домен антител человека или в его крупный фрагмент. Указанные в описании последовательности HCDR3 представляют собой варианты настоящего изобретения и, например, каждую из них можно ввести в качестве HCDR3 в вариабельный домен антител человека или в его крупный фрагмент.

Используемые в изобретении вариабельные домены можно получать или выделять из любой линии зародышевых клеток или из перегруппированного вариабельного домена антител человека, или они могут представлять собой синтетический вариабельный домен на основе консенсусной или фактической последовательности известных вариабельных доменов антител человека.

Вариабельный домен можно получить из антител животных.

Последовательность CDR по изобретению (например, CDR3) можно ввести в мотив вариабельных доменов, лишенных CDR (например, CDR3), с использованием технологии рекомбинантных ДНК. Например, в статье Marks и др., Bio/Technology, 10, 779-783 (1992) описаны способы получения мотивов вариабельных доменов антител, в которых используются консенсусные праймеры, направленные или сопредельные с 5' концевой областью вариабельного домена, в конъюгате с консенсусными праймерами, сопредельными с генами третьего каркасного участка VH человека, с целью получения мотива VH вариабельных доменов, лишенных CDR3. В статье Marks и др., кроме того, описано комбинирование указанного мотива с CDR3 конкретных антител. По аналогичным методикам полученные последовательности CDR3 по настоящему изобретению можно перегруппировать с мотивами VH или VL доменов, лишенных CDR3, а

перестроенные полные VH или VL домены можно комбинировать с близким VL или VH доменом для получения связывающего элемента по изобретению. Затем мотив можно презентировать на пригодной системе хозяина, такой как фаговый дисплей (описанный в WO 92/01047, включенной в описание изобретения в полном объеме в качестве ссылки, или в массе другой литературы, включающей справочник Kay, Winter и McCafferty, Phage Display of Peptides and Proteins: A Laboratory Manual, San Diego: Academic Press, (1996)), и выбрать пригодные связывающие элементы. Мотив может состоять приблизительно из 10^4 или более индивидуальных элементов,

например по меньшей мере из 10^5 , по меньшей мере из 10^6 , по меньшей мере из 10^7 , по меньшей мере из 10^8 , по меньшей мере из 10^9 или по меньшей мере из 10^{10} элементов. Другие пригодные системы хозяина включают, но не ограничиваясь только ими, дрожжевой дисплей, бактериальный дисплей, T7 дисплей, вирусный дисплей, клеточный дисплей, рибосомальный дисплей и ковалентный дисплей.

Аналогичная перестройка или комбинаторные методики описаны также в статье Stemmer, Nature, 370, 389-391 (1994) в связи с геном β -лактамазы, но при этом сообщается, что такой метод можно использовать для получения антител.

В настоящем изобретении предлагается способ получения связывающего элемента, специфичного к антигену IL-4R α , который заключается в том, что

(а) получают исходный мотив нуклеиновых кислот, кодирующих V_H домен, который включает CDR3, подлежащий замене, или лишен области, кодирующей CDR3,

(б) комбинируют указанный мотив с донорной нуклеиновой кислотой, кодирующей аминокислотную последовательность, указанную для V_H CDR3, причем указанную донорную нуклеиновую кислоту включают в мотив области CDR3, и тем самым получают мотив нуклеиновых кислот, кодирующих V_H домен,

(в) экспрессируют мотив указанной нуклеиновой кислоты,

(г) выбирают элемент, связывающийся с IL-4R α , и выделяют указанный связывающий элемент или кодирующую его нуклеиновую кислоту.

Аналогичный способ можно использовать, если V_L CDR3 по изобретению комбинируют с мотивом нуклеиновых кислот, кодирующих V_L домен, который включает CDR3, подлежащий замене, или лишен области, кодирующей CDR3.

Аналогичным образом можно использовать другие V_H и V_L домены, наборы CDR и наборы HCDR и/или наборы LCDR, приведенные в описании заявки.

Аналогичным образом один или более или все три CDR можно привить в мотив V_H или V_L доменов, которые затем анализируют для поиска связывающего элемента или элементов, связывающихся с IL-4R α .

В другом варианте нуклеиновую кислоту, кодирующую V_H и/или V_L домены любого из связывающих элементов по настоящему изобретению, например антител 1-42, подвергают мутагенезу, например, направленному или неспецифическому для получения одного или более мутантов нуклеиновой кислоты. Затем получают связывающие элементы, кодируемые такими мутантными последовательностями.

В одном варианте используют один или более HCDR1, HCDR2 и HCDR3 антител 1-42, набор HCDR антител 1-42, и/или используют один или более LCDR1, LCDR2 и LCDR3 или набор LCDR антител 1-42.

Еще одним объектом изобретения является способ получения связывающего элемента, специфичного к антигену IL-4R α , который заключается в том, что

получают исходную нуклеиновую кислоту, кодирующую V_H домен или V_L домен, или исходный мотив нуклеиновых кислот, каждая из которых кодирует V_H домен или V_L домен, причем V_H или V_L домены включают CDR1, CDR2 и/или CDR3, подлежащие замене или лишены области, кодирующей CDR1, CDR2 и/или CDR3,

комбинируют указанную исходную нуклеиновую кислоту или исходный мотив с донорной нуклеиновой кислотой или донорными нуклеиновыми кислотами, кодирующими или продуцирующими благодаря мутации аминокислотную последовательность CDR1, CDR2, и/или CDR3 любого из антител 1-42, таким образом, что указанная донорная нуклеиновая кислота или донорные нуклеиновые

кислоты включены в область CDR1, CDR2 и/или CDR3 исходной нуклеиновой кислоты или исходного мотива, при этом получают мотив нуклеиновых кислот, кодирующих VH или VL домены,

экспрессируют мотив указанной нуклеиновой кислоты для получения продукта VH или VL доменов,

необязательно комбинируют указанный продукт VH или VL доменов с одним или более близкими VL или VH доменами,

выбирают элементы, связывающиеся с IL-4Ra, причем указанный связывающий элемент включает продукт VH или VL доменов и необязательно близкий VL или VH домен, и

выделяют указанный связывающий элемент или кодирующую его нуклеиновую кислоту.

В конкретных вариантах донорную нуклеиновую кислоту получают направленным или неспецифическим мутагенезом области VH или VL доменов или любого CDR.

В другом варианте продукт VH или VL домена присоединен к константной области антитела.

В другом варианте продукт VH или VL домена и близкого VL или VH домена, соответственно, включен в IgG, scFv или Fab фрагмент антитела.

В другом варианте выделенный связывающий элемент или антитело анализируют на способность нейтрализовать IL-4Ra.

В другом варианте антитела перерабатывают с получением композиции, включающей по меньшей мере один дополнительный компонент. Такими компонентами являются, например, инертный фармацевтический эксципиент или носитель.

В некоторых вариантах существенная часть варибельного домена иммуноглобулина включает по меньшей мере три области CDR вместе с чередующимися областями каркасных участков. Фрагмент может также включать по меньшей мере приблизительно 50% одного из двух или обоих первого и четвертого каркасного участка, 50% обозначает 50% С-концевой области первого каркасного участка и 50% N-концевой области четвертого каркасного участка. Дополнительные остатки в N-концевом и С-концевом фрагментах значительной части варибельного домена могут обозначать такие остатки, которые обычно не встречаются в природном варибельном домене. Например, конструирование связывающих элементов по настоящему изобретению по методикам рекомбинантных ДНК может привести к включению N- или С-концевых остатков, кодированных линкерами, введенными для облегчения клонирования или других стадий процесса. Другие стадии процесса включают введение линкеров для связывания варибельных доменов по изобретению с образованием белковых последовательностей, включающих константные области антител, другие варибельные домены (например, при получении димерных антител), или детектируемых/функциональных меток, более подробно описанных в тексте заявки.

Хотя в некоторых вариантах изобретения связывающие элементы включают пару VH и VL доменов, другими вариантами изобретения являются отдельные связывающие домены на основе каждой из двух последовательностей VH или VL доменов. Установлено, что отдельные домены иммуноглобулина, прежде всего VH доменов, способны специфично связываться с мишенями-антигенами. Например, см. описание dAb выше по тексту.

Отдельные связывающие домены можно использовать для поиска комплементарных доменов, способных образовать двухдоменный связывающий элемент, способный связываться с IL-4R α . Анализ проводят методами фагового дисплея с использованием так называемого иерархического двойного комбинаторного подхода, описанного в WO 92/01047, включенной в описание заявки в полном объеме в качестве ссылки, согласно которому индивидуальная колония, содержащая любой из двух клонов, включающих H или L цепь, используется для инфицирования полной библиотеки клонов, кодирующих другую цепь (L или H), и полученные двухцепочечные связывающие элементы отбирают по методикам фагового дисплея, описанным в указанной ссылке. Указанная методика также описана в статье Marks и др., Bio/Technology, 10, 779-783 (1992).

Связывающие элементы по настоящему изобретению могут также включать константные области антител или их фрагменты, например константные области антител человека или их фрагменты. Например, VL домен можно присоединить по его С-концевому фрагменту к константным доменам легкой цепи антител, включая С κ или С λ цепи антител человека, например С λ цепи. Аналогичным образом, связывающий элемент на основе VH домена можно присоединить по его С-концевому фрагменту к полной или части (например, СH1 домену) тяжелой цепи иммуноглобулина, полученной из любого изотипа антител, например, IgG, IgA, IgD, IgY, IgE и IgM и любого изотипа подклассов (например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2, прежде всего IgG1 и IgG4). Предпочтителен IgG1 благодаря наличию эффекторной функции и доступности. В вариантах настоящего изобретения также можно использовать любой синтетический или другой вариант константной области, который обладает указанными свойствами и стабилизирует переменные области.

Термин "изотип" обозначает классификацию константной области тяжелой или легкой цепи антител. Константные домены антител не принимают участия в связывании с антигеном, но обладают различными эффекторными функциями. В зависимости от аминокислотной последовательности константной области тяжелой цепи данные антитела или иммуноглобулины человека относятся к одному из пяти основных классов иммуноглобулинов: IgA, IgD, IgE, IgG, и IgM. Несколько указанных классов подразделяются на подклассы (изотипов), например, IgG1 (γ 1), IgG2 (γ 2), IgG3 (γ 3) и IgG4 (γ 4) и IgA1 и IgA2. Константные области тяжелой цепи, которые соответствуют разным классам иммуноглобулинов, обозначаются буквами α , δ , ϵ , γ и μ , соответственно. Первичные и третичные структуры разных классов иммуноглобулинов известны. Известно, что среди различных классов иммуноглобулинов человека только IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 и IgM активируют систему комплемента. Известно, что IgG1 и IgG3 человека опосредуют АЗКОЦ в организме человека. Константные области легкой цепи антител человека подразделяются на два основных класса, κ (каппа) и λ , (лямбда).

Формат антител

Настоящее изобретение включает также связывающие элементы по изобретению, прежде всего антитела по изобретению, которые содержат модифицированные константные домены IgG.

Антитела класса IgG человека, которые обладают функциональными характеристиками, такими как продолжительный период полураспада в сыворотке и способность опосредовать различные эффекторные функции, используются в некоторых вариантах изобретения (Monoclonal Antibodies: Principles and Applications, Wiley-Liss, Inc., гл.1 (1995)). Антитела класса IgG человека подразделяются на

следующие 4 подкласса: IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4. Исследованию эффекторных функций антитела класса IgG (человека), таких как АЗКОЦ и КЗЦ, посвящено множество работ, в которых сообщается, что среди антител класса IgG человека наибольшей активностью АЗКОЦ и КЗЦ в организме человека обладают иммуноглобулины подкласса IgG1 (Chemical Immunology, 65, 88 (1997)).

Термин "антитело-зависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность" или "АЗКОЦ" обозначает клеточно-опосредованную реакцию, при которой неспецифические цитотоксичные клетки (например, природные клетки-киллеры (ПК), нейтрофилы и макрофаги) распознают связанные антитела на клетках-мишенях и затем вызывают лизис таких клеток-мишеней. В одном варианте такие клетки являются клетками человека. Не ограничиваясь каким-либо конкретным механизмом действия, следует отметить, что указанные цитотоксичные клетки, которые опосредуют АЗКОЦ, обычно экспрессируют Fc рецепторы (FcR). Главные клетки, опосредующие АЗКОЦ, ПК клетки, экспрессируют FcγRIII, в то время как моноциты экспрессируют рецепторы FcγRI, FcγRII, FcγRIII и/или FcγRIV. Экспрессия FcR на кроветворных клетках описана в статье Ravetch и Kinet, Annu. Rev. Immunol., 9, 457-92 (1991). Для оценки АЗКОЦ элемента проводят анализ АЗКОЦ in vitro, описанный в US 5500362 или US 5821337. Эффекторные клетки, которые используются при таком анализе, включают моноклеарные клетки периферической крови (ПКМК) и природные клетки-киллеры (ПК). В другом варианте или дополнительно, АЗКОЦ элемент по изобретению оценивают in vivo, например, на модели животных, как описано в статье Clynes и др., Proc. Natl. Acad. Sci. (USA), 95, 652-656 (1998).

Термин «комплемент-зависимая цитотоксичность» или "КЗЦ" обозначает способность элемента инициировать активацию комплемента и лизировать мишень в присутствии комплемента. Путь активации комплемента инициируется благодаря связыванию первого компонента системы комплемента (C1q) с элементом по изобретению (например, антителами) в составе комплекса с соответствующим антигеном. Для оценки активации комплемента используют анализ КЗЦ, например, описанный в статье Gazzano-Santaro и др., J. Immunol. Methods, 202, 163 (1996).

Процесс индукции АЗКОЦ и КЗЦ активности антител подкласса IgG1 человека обычно включает связывание Fc области антител с рецептором (ниже по тексту FcγR) на поверхности эффекторных клеток, таких как клетки-киллеры, природные клетки-киллеры или активированные макрофаги. При этом могут связываться различные компоненты комплемента. Предполагается, что в таком связывании принимают участие несколько аминокислотных остатков в шарнирной области и втором домене C области (далее по тексту Cγ2 домен) антител (Eur. J. Immunol., 23, 1098 (1993), Immunology, 86, 319 (1995), Chemical Immunology, 65, 88 (1997)), а также углеводная цепь в Cγ2 домене (Chemical Immunology, 65, 88 (1997)).

"Эффекторными клетками" являются лейкоциты, которые экспрессируют один или более FcR и выполняют эффекторные функции. Клетки экспрессируют по меньшей мере FcγRI, FcγRII, FcγRIII и/или FcγRIV и выполняют эффекторные функции в виде АЗКОЦ. Примерами лейкоцитов человека, которые опосредуют АЗКОЦ, являются моноклеарные клетки периферической крови (ПКМК), природные клетки-киллеры (ПК), моноциты, цитотоксичные Т клетки и нейтрофилы.

Термин "рецептор FcRn" или "FcR", используемый в описании заявки, обозначает рецептор, который связывается с Fc областью антител. В одном варианте FcR представляет собой нативную последовательность человека FcR. Более того, в

некоторых вариантах FcR представляет собой рецепторы, которые связываются с антителами IgG (γ рецептор) и включают рецепторы подклассов Fc γ RI, Fc γ RII, Fc γ RIII, и Fc γ RIV, включая аллельные варианты и альтернативно сплайсированные формы указанных рецепторов. Рецепторы Fc γ RII включают Fc γ RIIA ("активирующий рецептор") и Fc γ RIIB ("ингибирующий рецептор"), которые характеризуются гомологичными аминокислотными последовательностями, которые различаются главным образом в цитоплазматических доменах. Активирующий рецептор Fc γ RIIA содержит в цитоплазматическом домене иммунорецепторный активирующий мотив на основе тирозина (ИТАМ). Ингибирующий рецептор Fc γ RIIB содержит в цитоплазматическом домене иммунорецепторный ингибирующий мотив на основе тирозина (ИТИМ) (см. Daeron, *Annu. Rev. Immunol.*, 15, 203-234 (1997)). Рецепторы FcR подробно описаны в ряде обзоров, таких как Ravetch и Kinet, *Annu. Rev. Immunol.*, 9, 457-492 (1991), Capel и др., *Immunomethods*, 4, 25-34 (1994) и de Haas и др., *J. Lab. Clin. Med.*, 126, 330-241 (1995). Термин FcR включает и другие рецепторы, указанные ниже. Термин также включает неонатальный рецептор, FcRn, который отвечает за перенос материнских IgG в организм плода (Guyer и др., *Immunol.*, 117, 587 (1976) и Kim и др., *J. Immunol.*, 24, 249 (1994)).

Антитела анти-IL-4R α можно модифицировать в отношении эффекторной функции, например, для повышения АЗКОЦ и/или комплемент-зависимой цитотоксичности (КЗЦ) антител. Для этого в Fc области антител проводят замену одной или более аминокислот. В Fc область можно также ввести остаток (остатки) цистеина для образования внутрицепочечной дисульфидной связи. Благодаря этому можно получать гомодимерные антитела, обладающие повышенной интернализацией и/или повышенной комплемент-опосредованной цитотоксичностью или АЗКОЦ (Сагоп и др., *J. Exp. Med.*, 176, 1191-1195 (1992) и Shopes, *J. Immunol.*, 148, 2918-2922 (1992)). Для получения гомодимерных антител, обладающих повышенным противоопухолевым действием, можно также использовать гетеробифункциональные сшивающие линкеры (Wolff др., *Cancer Research*, 53, 2560-2565 (1993)). Антитела можно получать методами генной инженерии с целью введения в молекулу двух или более Fc областей, что приводит к повышенной способности инициировать комплемент-зависимый лизис и АЗКОЦ (Stevenson и др., *Anti-Cancer Drug Design*, (3), 219-230 (1989)).

В области техники известны другие способы получения Fc области антител с целью изменения эффекторных функций (см. например, Koenig и др., US 20040185045 и WO 2004/016750, где описана модификация Fc области с целью повышения аффинности к Fc γ RIIB по сравнению с аффинностью к Fc γ RIIA, см. также WO 99/58572 (Armour и др.), WO 99/51642 (Idusogie и др.) и US 6395272 (Deo и др.), включенные в описание заявки в полном объеме в качестве ссылки). Способы модификации Fc области с целью понижения аффинности к Fc γ RIIB также известны в области техники (см., например, Ravetch и др., US 20010036459 и WO 01/79299, включенные в описание заявки в полном объеме в качестве ссылки). В литературе также описаны модифицированные антитела, содержащие вариант Fc области с повышенной аффинностью к Fc γ RIIA и/или Fc γ RIIA по сравнению с Fc областью антител дикого типа (см., например, Stavenhagen и др., WO 2004/063351, включенную в описание заявки в полном объеме в качестве ссылки).

Известно по меньшей мере четыре различных типа Fc γ R, которые соответственно обозначаются Fc γ RI (CD64), Fc γ RII (CD32), Fc γ RIII (CD 16) и Fc γ RIV. В организме человека Fc γ RII и Fc γ RIII подразделяются на Fc γ RIIa и Fc γ RIIb, и Fc γ RIIIa и Fc γ RIIIb

соответственно. Fc γ R представляет собой мембранный белок, относящийся к суперсемейству иммуноглобулинов, Fc γ RII, Fc γ RIII и Fc γ RIV содержат α цепь, включающую внеклеточную область, содержащую два иммуноглобулин-подобных домена, Fc γ RI содержит α цепь, включающую внеклеточную область, содержащую в качестве структурного компонента три иммуноглобулин-подобных домена, причем α цепь принимает участие в связывании с IgG. Кроме того, Fc γ RI и Fc γ RIII содержат в качестве структурного компонента γ цепь или ζ цепь, которая выполняет функцию передачи сигнала в ассоциации с α цепью (Annu. Rev. Immunol., 18, 709 (2000), Annu. Rev. Immunol., 19, 275 (2001)). Fc γ RIV описан в статье Bruhns и др., Clin. Invest. Med. (Canada), 27, 3D (2004).

Для оценки АЗКОЦ активности антител анти-IL-4R α можно использовать анализ АЗКОЦ in vitro, описанный в US 5500362 или US 5821337. Анализ можно также проводить с использованием коммерческого набора, например, CytoTox 96[®] (фирма Promega). Эффекторные клетки, которые используются в таких анализах, включают, но не ограничиваясь только ими, линии моноклеарных клеток периферической крови (ПКМК), природные клетки-киллеры (ПК) и клетки-киллеры (ПК). В качестве эффекторных клеток можно также использовать линии клеток ПК, экспрессирующих трансгенный Fc рецептор (например, CD 16) и ассоциированный сигнальный полипептид (например, FC ϵ RI- γ , см., например, Campbell, WO 2006/023148

A2). Например, можно определять способность любых конкретных антител опосредовать лизис клеток-мишеней по механизму активации комплемента и/или АЗКОЦ. Клетки-мишени культивируют и помечают in vitro, в культуру клеток добавляют антитела в комбинации с иммунокомпетентными клетками, которые активируются комплексами антиген/антитело, т.е. с эффекторными клетками, принимающими участие в АЗКОЦ. Антитела можно также анализировать по активации комплемента. В каждом из двух анализов цитолиз клеток-мишеней детектируют по высвобождению метки из лизированных клеток. Степень лизиса клеток-мишеней можно также оценивать, детектируя высвобождение цитоплазматических белков (например, ЛДГ) в супернатант. Фактически, антитела можно тестировать с использованием сыворотки пациента в качестве источника комплемента и/или иммунокомпетентных клеток. Антитела, способные опосредовать АЗКОЦ клеток человека в анализе in vitro, можно затем использовать при лечении конкретного пациента. Активность элементов в индуцировании АЗКОЦ можно также оценивать in vivo, например на модели животных, например, описанной в статье Clynes и др., Proc. Natl. Acad. Sci. (USA), 95, 652-656 (1998). Более того, методики модулирования (т.е., повышения или понижения) уровня АЗКОЦ и необязательно КЗЦ с использованием антител известны в области техники, см., например, US 6194551. Антитела по настоящему изобретению способны индуцировать лизис клеток-мишеней или их можно модифицировать с целью придания способности индуцировать АЗКОЦ и/или КЗЦ. Для оценки функции АЗКОЦ в организме человека анализ АЗКОЦ можно проводить с использованием эффекторных клеток человека. Для этого можно использовать методы анализа, предназначенные для тестирования антител, которые индуцируют, опосредуют, повышают, блокируют гибель клеток за счет механизмов некроза и/или апоптоза. Такие способы, включающие применение красителей для определения жизнеспособности, способы детектирования и анализа каспаз и анализа разрывов ДНК, можно использовать для оценки апоптотической активности клеток, культивированных in vitro в присутствии антител анти-IL-4R α .

Например, для детектирования апоптотической активности можно использовать анализ, основанный на применении аннексина V или на присоединении дУТФ по разрывам ДНК, опосредованном ТdT (терминальной дезоксирибонуклеотидилтрансферазой), TUNEL, как описано в статье Decker и др., Blood (USA), 103. 2718-2725 (2004). Анализ TUNEL включает культивирование клеток-мишеней в присутствии меченого флуоресцеином дУТФ для присоединения по разрывам нитей ДНК. Затем клетки анализируют проточной цитометрией. Анализ с использованием аннексина V позволяет определить появление фосфатидилсерина (ФС) на наружной стороне мембраны апоптотических клеток с использованием флуоресцеин-аннексина V, который специфично распознает экспонированный ФС. В другом варианте для исключения погибших апоптотических клеток можно использовать маркеры жизнеспособности, такие как пропидий иодид. Клетки окрашивают меченым аннексином V и анализируют проточной цитометрией.

Таким образом, другим объектом изобретения являются связывающие элементы, прежде всего антитела, модифицированные с целью изменения, т.е. повышения, понижения или ликвидации биологической эффекторной функции связывающих элементов, например антитела с модифицированной Fc областью. В некоторых вариантах связывающие элементы или антитела, описанные в тексте заявки, можно модифицировать с целью повышения способности связывать комплемент и принимать участие в комплемент-зависимой цитотоксичности (КЗЦ). В других вариантах связывающие элементы или антитела можно модифицировать с целью повышения способности активировать эффекторные клетки и принимать участие в антитело-зависимой цитотоксичности (АЗКОЦ). В еще одних вариантах связывающие элементы или антитела, описанные в тексте заявки, можно модифицировать с целью повышения способности активировать эффекторные клетки и принимать участие в антитело-зависимой цитотоксичности (АЗКОЦ) и повышения их способности связывать комплемент и принимать участие в комплемент-зависимой цитотоксичности (КЗЦ).

В некоторых вариантах связывающие элементы или антитела, описанные в тексте заявки, можно модифицировать с целью понижения их способности связывать комплемент и принимать участие в комплемент-зависимой цитотоксичности (КЗЦ). В других вариантах связывающие элементы или антитела можно модифицировать с целью понижения их способности активировать эффекторные клетки и принимать участие в антитело-зависимой цитотоксичности (АЗКОЦ). В других вариантах связывающие элементы или антитела, описанные в тексте заявки, можно модифицировать с целью понижения их способности активировать эффекторные клетки и принимать участие в антитело-зависимой цитотоксичности (АЗКОЦ) и понижения их способности связывать комплемент и принимать участие в комплемент-зависимой цитотоксичности (КЗЦ).

В одном варианте связывающий элемент, содержащий вариант Fc области, обладает повышенной активностью индуцировать АЗКОЦ по сравнению с контрольным элементом. В конкретном варианте связывающий элемент, содержащий вариант Fc области, обладает активностью индуцировать АЗКОЦ, которая по меньшей мере в 2 раза, или по меньшей мере в 3 раза, или по меньшей мере в 5 раз, или по меньшей мере в 10 раз, или по меньшей мере в 50 раз, или по меньшей мере в 100 раз, превышает активность контрольного элемента. В другом конкретном варианте связывающий элемент, содержащий вариант Fc области, характеризуется повышенным связыванием с Fc рецептором FcγR1A и обладает

повышенной активностью индуцировать АЗКОЦ активность по сравнению с контрольным элементом. В других вариантах связывающий элемент, содержащий вариант Fc области, обладает повышенной индукцией АЗКОЦ и характеризуется повышенным периодом полураспада в сыворотке по сравнению с контрольным элементом.

В одном варианте связывающий элемент, содержащий вариант Fc области, обладает пониженной активностью индуцировать АЗКОЦ по сравнению с контрольным элементом. В конкретном варианте связывающий элемент, содержащий вариант Fc области, обладает активностью индуцировать АЗКОЦ, которая по меньшей мере в 2 раза, или по меньшей мере в 3 раза, или по меньшей мере в 5 раз, или по меньшей мере в 10 раз, или по меньшей мере в 50 раз, или по меньшей мере в 100 раз, ниже активности контрольного элемента. В другом конкретном варианте связывающий элемент, содержащий вариант Fc области, характеризуется пониженным связыванием с Fc рецептором FcγRIIIA и обладает пониженной активностью индуцировать АЗКОЦ по сравнению с контрольным элементом. В других вариантах связывающий элемент, содержащий вариант Fc области, обладает пониженной активностью индуцировать АЗКОЦ и характеризуется повышенным периодом полураспада в сыворотке по сравнению с контрольным элементом.

В одном варианте связывающий элемент, содержащий вариант Fc области, обладает повышенной индукцией КЗЦ по сравнению с контрольным элементом. В конкретном варианте связывающий элемент, содержащий вариант Fc области, обладает активностью индуцировать КЗЦ, которая по меньшей мере в 2 раза, или по меньшей мере в 3 раза, или по меньшей мере в 5 раз, или по меньшей мере в 10 раз, или по меньшей мере в 50 раз, или по меньшей мере в 100 раз, превышает активность контрольного элемента. В других вариантах связывающий элемент, содержащий вариант Fc области, обладает повышенной активностью индуцировать КЗЦ и характеризуется повышенным периодом полураспада в сыворотке по сравнению с контрольным элементом.

В одном варианте связывающий элемент, содержащий вариант Fc области, характеризуется пониженным связыванием с одним или более лигандами Fc по сравнению с контрольным элементом. В другом варианте связывающий элемент, содержащий вариант Fc области, характеризуется аффинностью к Fc лиганду, которая по меньшей мере в 2 раза, или по меньшей мере в 3 раза, или по меньшей мере в 5 раз, или по меньшей мере в 7 раз, или по меньшей мере в 10 раз, или по меньшей мере в 20 раз, или по меньшей мере в 30 раз, или по меньшей мере в 40 раз, или по меньшей мере в 50 раз, или по меньшей мере в 60 раз, или по меньшей мере в 70 раз, или по меньшей мере в 80 раз, или по меньшей мере в 90 раз, или по меньшей мере в 100 раз, или по меньшей мере в 200 раз, ниже аффинности контрольного элемента. В конкретном варианте связывающий элемент, содержащий вариант Fc области, характеризуется пониженным связыванием с Fc рецептором. В другом конкретном варианте связывающий элемент, содержащий вариант Fc области, характеризуется пониженным связыванием с Fc рецептором FcγRIIIA. В другом конкретном варианте связывающий элемент, содержащий вариант Fc области, характеризуется аффинностью к Fc рецептору FcγRIIIA, которая по меньшей мере в 5 раз ниже по сравнению с аффинностью с контрольного элемента, причем указанный элемент, содержащий вариант области Fc, характеризуется аффинностью к Fc рецептору FcγRIIIA, которая по меньшей мере в 2 раза ниже

аффинности контрольного элемента. В еще одном конкретном варианте связывающий элемент, содержащий вариант Fc области, характеризуется пониженным связыванием с Fc рецептором FcRn. В еще одном конкретном варианте связывающие элементы, содержащие вариант Fc области, характеризуются

5 пониженным связыванием с C1q по сравнению с контрольным элементом.

В одном варианте связывающий элемент, содержащий вариант Fc области, обладает повышенным связыванием с одним или более Fc лигандом (лигандами) по сравнению с контрольным элементом. В другом варианте связывающий элемент,

10 содержащий вариант Fc области, характеризуется аффинностью к лиганду Fc, которая по меньшей мере в 2 раза, или по меньшей мере в 3 раза, или по меньшей мере в 5 раз, или по меньшей мере в 7 раз, или по меньшей мере в 10 раз, или по меньшей мере в 20 раз, или по меньшей мере в 30 раз, или по меньшей мере в 40 раз, или по меньшей мере в 50 раз, или по меньшей мере в 60 раз, или по меньшей мере

15 в 70 раз, или по меньшей мере в 80 раз, или по меньшей мере в 90 раз, или по меньшей мере в 100 раз, или по меньшей мере в 200 раз, превышает аффинность контрольного элемента. В конкретном варианте связывающий элемент, содержащий вариант Fc области, обладает повышенным связыванием с Fc рецептором. В другом конкретном варианте связывающий элемент, содержащий вариант Fc области, обладает повышенным связыванием с Fc рецептором FcγRIIIA. В еще одном конкретном варианте связывающий элемент, содержащий вариант Fc области, обладает повышенным связыванием с Fc рецептором FcRn. В еще одном конкретном варианте связывающие элементы, содержащие вариант Fc области, характеризуются

25 повышенным связыванием с C1q по сравнению с контрольным элементом.

В одном варианте антитела анти-IL-4Rα по изобретению включают вариант Fc домена, причем указанный вариант Fc домена характеризуется повышенной аффинностью к рецептору FcγIIB по сравнению с Fc доменом, не относящимся к

30 указанному варианту. В другом варианте антитела анти-IL-4Rα по изобретению характеризуются аффинностью к рецептору FcγIIB, которая по меньшей мере в 2 раза, или по меньшей мере в 3 раза, или по меньшей мере в 5 раз, или по меньшей мере в 7 раз, или по меньшей мере в 10 раз, или по меньшей мере в 20 раз, или по меньшей мере в 30 раз, или по меньшей мере в 40 раз, или по меньшей мере в 50 раз, или по меньшей мере в 60 раз, или по меньшей мере в 70 раз, или по меньшей мере в 80 раз, или по меньшей мере в 90 раз, или по меньшей мере в 100 раз, или по меньшей мере в 200 раз, превышает аффинность по сравнению с аффинностью Fc домена, не относящегося к указанному варианту.

В одном варианте настоящего изобретения предлагается связывающий элемент, содержащий вариант Fc области, или препараты, включающие указанный элемент, где Fc область включает остатки ненативных аминокислот в одном или более

40 положениях, выбранных из группы, включающей 228, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 243, 244, 245, 247, 251, 252, 254, 255, 256, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 279, 280, 284, 292, 296, 297, 298, 299, 305, 313, 316, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 339, 341, 343, 370, 373, 378, 392, 416, 419, 421, 440 и 443 (нумерация указана в соответствии с EU каталогом по Kabat). Fc область может необязательно включать остатки ненативных аминокислот в дополнительных и/или альтернативных

50 положениях, известных специалисту в данной области (см., например, US 5624821, 6277375, 6737056, WO 01/58957, WO 02/06919, WO 04/016750, WO 04/029207, WO 04/035752, WO 04/074455, WO 04/099249, WO 04/063351, WO 05/070963, WO 05/040217, WO 05/092925 и WO 06/020114).

Термин "остатки ненативных аминокислот" обозначает остаток аминокислоты, которая отсутствует в указанном положении в природном белке. Обычно это означает, что нативный остаток аминокислоты заменен на один или более других остатков, которые могут включать одну из 20 природных (обычных) аминокислот или неклассические аминокислоты или их аналоги. Неклассические аминокислоты включают, но не ограничиваясь только ими, D-изомеры обычных аминокислот, α-аминоизомасляную кислоту, 4-аминомасляную кислоту, аминотетрагидропиримидин-2-карбоновую кислоту, 2-аминоизомасляную кислоту, 2-аминопропионовую кислоту, орнитин, норлейцин, норвалин, гидроксипролин, саркозин, цитруллин, цистеиновую кислоту, трет-бутилглицин, трет-бутилаланин, фенилглицин, циклогексилаланин, β-аланин, фтораминокислоты, производные аминокислот, такие как β-метиламинокислоты, Cα-метиламинокислоты, Na-метиламинокислоты и в общем случае аналоги аминокислот.

В конкретном варианте настоящего изобретения предлагается связывающий элемент, включающий вариант Fc области, или препарат, содержащий такой связывающий элемент, включающий вариант Fc области, где Fc область включает по меньшей мере один остаток ненативной аминокислоты, выбранный из группы, включающей 234D, 234E, 234N, 234Q, 234T, 234H, 234Y, 234I, 234V, 234F, 235A, 235D, 235R, 235W, 235P, 235S, 235N, 235Q, 235T, 235H, 235Y, 235I, 235V, 235F, 236E, 239D, 239E, 239N, 239Q, 239F, 239T, 239H, 239Y, 240I, 240A, 240T, 240M, 241W, 241L, 241Y, 241E, 241R, 243W, 243L, 243Y, 243R, 243Q, 244H, 245A, 247L, 247V, 247G, 251F, 252Y, 254T, 255L, 256E, 256M, 262I, 262A, 262T, 262E, 263I, 263A, 263T, 263M, 264L, 264I, 264W, 264T, 264R, 264F, 264M, 264Y, 264E, 265G, 265N, 265Q, 265Y, 265F, 265V, 265I, 265L, 265H, 265T, 266I, 266A, 266T, 266M, 267Q, 267L, 268E, 269H, 269Y, 269F, 269R, 270E, 280A, 284M, 292P, 292L, 296E, 296Q, 296D, 296N, 296S, 296T, 296L, 296I, 296H, 299G, 297S, 297D, 297E, 298H, 298I, 298T, 298F, 299I, 299L, 299A, 299S, 299V, 299H, 299F, 299E, 305I, 313F, 316D, 325Q, 325L, 325I, 325D, 325E, 325A, 325T, 325V, 325H, 327G, 327W, 327N, 327L, 328S, 328M, 328D, 328E, 328N, 328Q, 328F, 328I, 328V, 328T, 328H, 328A, 329F, 329H, 329Q, 330K, 330G, 330T, 330C, 330L, 330Y, 330V, 330I, 330F, 330R, 330H, 331G, 331A, 331L, 331M, 331F, 331W, 331K, 331Q, 331E, 331S, 331V, 331I, 331C, 331Y, 331H, 331R, 331N, 331D, 331T, 332D, 332S, 332W, 332F, 332E, 332N, 332Q, 332T, 332H, 332Y, 332A, 339T, 370E, 370N, 378D, 392T, 396L, 416G, 419H, 421K, 440Y и 434W (нумерация указана в соответствии с EU каталогом по Kabat).

Fc область может необязательно включать остатки ненативных аминокислот в дополнительных и/или альтернативных положениях, известных специалисту в данной области (см., например, US 5624821, 6277375, 6737056, WO 01/58957, WO 02/06919, WO 04/016750, WO 04/029207, WO 04/035752 и WO 05/040217).

Подразумевается, что термин «Fc область», используемый в описании заявки, включает полипептиды, содержащие константные области антител за исключением первой константной области домена иммуноглобулина. Таким образом, Fc обозначает остальные две константные области доменов иммуноглобулина IgA, IgD, и IgG, последние три константные области доменов иммуноглобулина IgE и IgM, и гибкий шарнирный N-концевой фрагмент указанных доменов. Fc иммуноглобулинов IgA и IgM включает J цепь. Fc иммуноглобулина IgG включает домены Cγ2 и Cγ3 и шарнирную область между Cγ1 и Cγ2. Хотя границы Fc области могут изменяться, Fc область тяжелой цепи IgG человека обычно включает остатки C226 или P230 в C-концевом фрагменте (нумерация указана в соответствии с EU

каталогом по Kabat и др., NIH Publication 91-3242, National Technical Information Service, Springfield, VA (1991)). Термин "каталог EU по Kabat" обозначает остатки аминокислот в IgG1 человека, пронумерованные в соответствии с каталогом антител EU, описанным Kabat и др. (выше). Fc обозначает указанную область
 5 отдельно или в составе антител, фрагмента антител или Fc гибридного белка. Вариант Fc белка может представлять собой антитела, Fc гибридного белка, или любого белка или домена белка, который включает Fc область, включая, но не ограничиваясь только ими, белки, содержащие варианты Fc области, которые
 10 являются неприродными вариантами Fc.

Настоящее изобретение включает связывающие элементы, содержащие вариант Fc области, который обладает модифицированными связывающими свойствами в отношении лиганда Fc (например, Fc рецептора, C1q) по сравнению с контрольным элементом (например, белком, содержащим аналогичную аминокислотную
 15 последовательность за исключением Fc области дикого типа). Примерами параметров связывания являются, но не ограничиваясь только ими, константа равновесия диссоциации (K_D), скорости диссоциации и ассоциации (k_{off} и k_{on} , соответственно), аффинность и/или авидность связывания. Подразумевается, что связывающий элемент (например, вариант Fc белка, такого как антитела) с низкой
 20 K_D может оказаться предпочтительным по сравнению со связывающим элементом с высокой K_D . Однако в некоторых случаях более существенными параметрами по сравнению с K_D могут оказаться значения k_{on} или k_{off} . Специалист в данной области может определить, какой кинетический параметр является наиболее существенным
 25 для применения данных антител.

Аффинность и связывающие свойства Fc домена в отношении лиганда определяют рядом методов анализа *in vitro* (методами биохимического или иммунологического анализа), которые используются в уровне техники для определения
 30 взаимодействия Fc/FcγR, т.е., специфичного связывания Fc области с FcγR, включая, но не ограничиваясь только ими, равновесные методы (например, твердофазный иммуноферментный анализ (ИФА), или радиоиммуноанализ (РИА), или кинетические методы (например, анализ BIACORE®), и другие методы, такие как анализы непрямого связывания, анализы конкурентного связывания, передача
 35 энергии посредством флуоресцентного резонанса (FRET), гель-электрофорез и хроматография (например, гель-фильтрация). В указанных и других методах можно использовать метку на одном или более анализируемых компонентах и/или использовать множество методов детектирования, включающих, но не
 40 ограничиваясь только ими, хромогенные, флуоресцентные, люминесцентные или изотопные метки. Подробное описание аффинности и кинетики связывания приводится в монографии Paul, W.E., ред., Fundamental Immunology, 4 изд., Lippincott-Raven, Philadelphia (1999), которая посвящена взаимодействию антитело/иммуноген. Период полураспада в сыворотке белков, включающих Fc области, может
 45 обозначать повышенную или пониженную аффинность связывания Fc области с FcRn. В одном варианте белок с вариантом Fc обладает повышенным периодом полураспада в сыворотке по сравнению с контрольным элементом.

Термин "период полураспада антител", используемый в описании изобретения,
 50 относится к фармакокинетическому параметру антител, который отражает продолжительность пребывания антител в кровотоке после введения. Период полураспада антител определяют как время, необходимое для элиминирования 50% известного количества иммуноглобулина из организма пациента или конкретного

отдела организма, например, по результатам измерения в сыворотке или плазме крови, т.е. полупериода в кровотоке или других тканях. Период полураспада может изменяться для разных иммуноглобулинов или разных классов иммуноглобулинов. В общем случае увеличение периода полураспада антител приводит к увеличению среднего времени пребывания (СВП) введенных антител в кровотоке.

В некоторых вариантах период полураспада антител анти-IL-4R α или композиций по изобретению составляет по меньшей мере приблизительно от 4 до 7 дней. В некоторых вариантах средний период полураспада антител анти-IL-4R α или композиций по изобретению составляет по меньшей мере приблизительно от 2 до 5 дней, от 3 до 6 дней, от 4 до 7 дней, от 5 до 8 дней, от 6 до 9 дней, от 7 до 10 дней, от 8 до 11 дней, от 8 до 12 дней, от 9 до 13 дней, от 10 до 14 дней, от 11 до 15 дней, от 12 до 16 дней, от 13 до 17 дней, от 14 до 18 дней, от 15 до 19 дней или от 16 до 20 дней. В других вариантах средний период полураспада антител анти-IL-4R α или композиций по изобретению составляет по меньшей мере приблизительно от 17 до 21 дней, от 18 до 22 дней, от 19 до 23 дней, от 20 до 24 дней, от 21 до 25 дней, от 22 до 26 дней, от 23 до 27 дней, от 24 до 28 дней, от 25 до 29 дней или от 26 до 30 дней. В еще одних вариантах период полураспада антител анти-IL-4R α или композиций по изобретению составляет приблизительно 50 дней. В некоторых вариантах период полураспада антител анти-IL-4R α или композиций по изобретению можно пролонгировать методами, известным в области техники. Такое пролонгирование в свою очередь снижает количество и/или частоту введения антител и композиций. Антитела с улучшенным периодом полураспада *in vivo* и способы их получения описаны в US 6277375, US 7083784, WO 98/23289 и WO 97/3461.

Циркуляцию антител анти-IL-4R α *in vivo* можно также пролонгировать за счет присоединения к антителам инертных полимеров, таких как высокомолекулярный полиэтиленгликоль (ПЭГ), с использованием (или без использования) полифункционального линкера или за счет сайт-специфичной конъюгации ПЭГ по N- или C-концевым остаткам антител или ϵ -аминогруппам остатков лизина. При этом необходимо использовать линейные или разветвленные полимеры, которые обеспечивают минимальную потерю биологической активности. Степень конъюгации определяют методом электрофореза в ДСН-ПААГ и масс-спектрометрией с целью достижения оптимальной конъюгации ПЭГ с антителами. Непрореагировавший ПЭГ отделяют от конъюгатов антитело/ПЭГ методами эксклюзионной или ионообменной хроматографии. Эффективность модифицированных антител (или их фрагментов) оценивают по связывающей активности, а также по эффективности действия *in vivo* известными методами, например иммунологическим анализом, описанным в тексте заявки.

Кроме того, антитела по изобретению можно конъюгировать с альбумином для получения антител более стабильных *in vivo* или обладающих более продолжительным периодом полураспада *in vivo*. Способы конъюгации известны в данной области техники (см., например, WO 93/15199, WO 93/15200 и WO 01/77137, а также EP 413622, включенные в описание заявки в полном объеме в качестве ссылки).

В некоторых вариантах период полураспада связывающего элемента или антител, описанных в тексте заявки, и композиций по изобретению составляет по меньшей мере приблизительно от 4 до 7 дней. В некоторых вариантах средний период полураспада связывающего элемента или антител, описанных в тексте заявки, и композиций по изобретению составляет по меньшей мере приблизительно от 2 до 5 дней, от 3 до 6 дней, от 4 до 7 дней, от 5 до 8 дней, от 6 до 9 дней, от 7 до 10 дней,

от 8 до 11 дней, от 8 до 12 дней, от 9 до 13 дней, от 10 до 14 дней, от 11 до 15 дней, от 12 до 16 дней, от 13 до 17 дней, от 14 до 18 дней, от 15 до 19 дней или от 16 до 20 дней. В других вариантах средний период полураспада связывающего элемента или антител, описанных в тексте заявки, и композиций по изобретению составляет по меньшей мере приблизительно от 17 до 21 дней, от 18 до 22 дней, от 19 до 23 дней, от 20 до 24 дней, от 21 до 25 дней, от 22 до 26 дней, от 23 до 27 дней, от 24 до 28 дней, от 25 до 29 дней или от 26 до 30 дней. В еще одних вариантах период полураспада связывающего элемента или антител, описанных в тексте заявки, и композиций по изобретению составляет приблизительно 50 дней. В некоторых вариантах период полураспада антител и композиций по изобретению можно пролонгировать известными методами, известными в области техники. Такое пролонгирование в свою очередь снижает количество и/или частоту введения антител и композиций. Антитела с улучшенным периодом полураспада *in vivo* и способы их получения описаны в US 6277375, US 7083784, WO 98/23289 и WO 97/3461.

В другом варианте настоящего изобретения предлагается связывающий элемент, прежде всего антитела, содержащие вариант Fc области, или препарат, включающий такие антитела, причем Fc область включает по меньшей мере одну ненативную аминокислоту в одном или более положений, выбранных из группы, включающей 239, 330 и 332 (нумерация указана в соответствии с каталогом EU по Kabat). В конкретном варианте настоящего изобретения предлагается Fc вариант, где Fc область включает по меньшей мере одну ненативную аминокислоту, выбранную из группы, включающей 239D, 330L и 332E (нумерация указана в соответствии с EU каталогом по Kabat). Fc область необязательно может также включать дополнительные ненативные аминокислоты в одном или более положений, выбранных из группы, включающей 252, 254 и 256 (нумерация указана в соответствии с EU каталогом по Kabat). В конкретном варианте настоящего изобретения предлагается Fc вариант, где Fc область включает по меньшей мере одну ненативную аминокислоту, выбранную из группы, включающей 239D, 330L и 332E (нумерация указана в соответствии с EU каталогом по Kabat) и по меньшей мере одну ненативную аминокислоту в одном или более положений, выбранных из группы, включающей 252Y, 254T и 256E (нумерация указана в соответствии с EU каталогом по Kabat).

В другом варианте настоящего изобретения предлагается связывающий элемент, прежде всего антитела, содержащие вариант Fc области, или препарат, включающий такие антитела, причем Fc область включает по меньшей мере одну ненативную аминокислоту в одном или более положений, выбранных из группы, включающей 234, 235 и 331 (нумерация указана в соответствии с EU каталогом по Kabat). В конкретном варианте настоящего изобретения предлагается Fc вариант, где Fc область включает по меньшей мере одну ненативную аминокислоту, выбранную из группы, включающей 234F, 235F, 235Y и 33 IS (нумерация указана в соответствии с EU каталогом по Kabat). В другом конкретном варианте Fc вариант по изобретению включает 234F, 235F и 331S аминокислотные остатки (нумерация указана в соответствии с EU каталогом по Kabat). В другом конкретном варианте Fc вариант по изобретению включает 234F, 235Y, и 331S аминокислотные остатки (нумерация указана в соответствии с EU каталогом по Kabat). Fc область необязательно может также включать дополнительные ненативные аминокислотные остатки в одном или более положений, выбранных из группы, включающей 252, 254 и 256 (нумерация указана в соответствии с EU каталогом по Kabat). В конкретном

варианте настоящего изобретения предлагается Fc вариант, где Fc область включает по меньшей мере одну ненативную аминокислоту, выбранную из группы, включающей 234F, 235F, 235Y и 331S (нумерация указана в соответствии с EU каталогом по Kabat), и по меньшей мере одну ненативную аминокислоту в одном или

более положений, выбранных из группы, включающей 252Y, 254T и 256E (нумерация указана в соответствии с EU каталогом по Kabat).

В конкретном варианте изобретения предлагается связывающий элемент по настоящему изобретению, содержащий вариант Fc области, где вариант включает

остаток тирозина (Y) в положении 252, остаток треонина (T) в положении 254 и остаток глутаминовой кислоты (E) в положении 256 (нумерация указана в соответствии с EU каталогом по Kabat).

Как указано в литературе, мутации M252Y, S254T и T256E (нумерация указана в соответствии с EU каталогом по Kabat), обозначенные в описании заявки как

мутации YTE, повышают период полураспада в сыворотке конкретных антител IgG1 (Dall'Acqua и др., J. Biol. Chem. 281(33), 23514-23524 (2006)).

В другом варианте изобретения предлагается связывающий элемент по настоящему изобретению, содержащий вариант Fc области, включающий остаток

тирозина (Y) в положении 252, остаток треонина (T) в положении 254, остаток глутаминовой кислоты (E) в положении 256 и остаток пролина (P) в положении 241 (нумерация указана в соответствии с EU каталогом по Kabat).

Как указано в литературе, мутация серин228пролин (S228P) (нумерация указана в соответствии с EU каталогом по Kabat), обозначенная в тексте заявки P мутация,

повышает стабильность конкретных антител IgG4 (Lu и др., J. Pharmaceutical Sciences, 97(2), 960-969 (2008)). Примечание: в статье Lu и др. указанное положение обозначается как 241, поскольку авторы используют систему нумерации по Kabat, а не "EU каталог" по Kabat.

Указанную P мутацию можно комбинировать с L235E для последующего нокаута АЗКОЦ. Указанная комбинация мутантов обозначается в тексте заявки как двойная мутация (ДМ).

В конкретном варианте изобретения предлагается связывающий элемент по настоящему изобретению, содержащий вариант Fc области, включающий остаток

фенилаланина (F) в положении 234, остаток фенилаланина (F) или остаток глутаминовой кислоты (E) в положении 235 и остаток серина (S) в положении 331 (нумерация указана в соответствии с EU каталогом по Kabat). Вариант с такой комбинацией мутаций обозначается как тройной мутант (ТМ).

В еще одном варианте изобретения предлагаются антитела по настоящему изобретению в формате IgG1, содержащие в Fc области мутации YTE.

В еще одном варианте изобретения предлагаются антитела по настоящему изобретению в формате IgG1, содержащие в Fc области мутации ТМ.

В еще одном варианте изобретения предлагаются антитела по настоящему изобретению в формате IgG1, содержащие в Fc области мутации YTE и мутации ТМ.

В еще одном варианте изобретения предлагаются антитела по настоящему изобретению в формате IgG4, содержащие в Fc области мутации YTE и мутации P.

В еще одном варианте изобретения предлагаются антитела по настоящему изобретению в формате IgG4, содержащие в Fc области мутации YTE и мутации DM.

В конкретных вариантах изобретения предлагаются антитела по настоящему изобретению в формате, выбранном из IgG1 YTE, IgG1 ТМ, IgG1 ТМ+YTE, IgG4 P, IgG4 DM, IgG4 YTE, IgG4 P+YTE и IgG4 DM+YTE.

В соответствии с использованной номенклатурой подразумевается, что DM+YTE обозначает тот факт, что константный домен Fc области содержит двойные мутации (S228P и L235E) и мутации YTE (M252Y, S254T и T256E).

Способы получения неприродных Fc областей известны в области техники.

5 Например, замены аминокислот и/или делеции получают мутагенезом, включающим, но не ограничиваясь только ими, направленный мутагенез (Kunkel, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82, 488-492 (1985)), ПЦР мутагенез (Higuchi, "PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications", Academic Press, San Diego, с. 177-183 (1990)) и касетный
10 мутагенез (Wells и др., Gene, 34, 315-323 (1985)). Предпочтительно, сайт-направленный мутагенез проводят методом ПЦР с перекрыванием/расширением (Higuchi, "PCR Technology: Principles and Applications for DNA Amplification", Stockton Press, New York, с. 61-70, (1989)). Методику ПЦР с перекрыванием/расширением (Higuchi, выше) можно также использовать для
15 введения любой требуемой мутации (мутаций) в последовательность-мишень (в исходную ДНК). Например, первый цикл ПЦР с перекрыванием/расширением включает амплификацию последовательности-мишени с внешним праймером (праймер 1) и внутренним праймером мутагенеза (праймер 3), и отдельно со вторым
20 внешним праймером (праймер 4) и внутренним праймером (праймер 2), при этом получают два ПЦР сегмента (сегменты А и В). Внутренний праймер мутагенеза (праймер 3) должен содержать ошибочные спаривания в составе последовательности-мишени, обозначающие требуемую мутацию (мутации). На
25 втором цикле ПЦР продукт, полученный на первом цикле ПЦР (сегменты А и В), амплифицируют методом ПЦР с использованием двух внешних праймеров (праймеров 1 и 4). Полученный полноразмерный ПЦР сегмент (сегмент С) гидролизуют ферментами рестрикции и полученный фрагмент клонируют в соответствующий вектор. На первой стадии мутагенеза исходную ДНК (например,
30 кодирующую Fc гибридный белок, антитела или просто Fc области) оперативно клонируют в вектор мутагенеза. Праймеры должны отражать требуемые замены аминокислот. Другие способы, которые можно использовать для получения варианта Fc области, известны в области техники (см., например, US 5624821, US 5885573, US 5677425, US 6165745, US 6277375, US 5869046, US 6121022, US 5624821, US
35 5648260, US 6528624, US 6194551, US 6737056, US 6821505, US 6277375, US 2004/0002587 и WO 94/29351, WO 99/58572, WO 00/42072, WO 02/060919, WO 04/029207, WO 04/099249, WO 04/063351, WO 06/23403).

В некоторых вариантах изобретения в связывающих элементах по изобретению
40 модифицируют профиль гликозилирования для усиления эффекторных функций АЗКОЦ и КЗЦ (см. Shields R.L. и др., J. B. C., 277, 26733-26740 (2002), Shinkawa T. и др., J. B. C., 278, 3466-3473 (2003) и Okazaki A. и др., J. Mol. Biol., 336, 1239 (2004)). В некоторых вариантах Fc вариант белка включает одну или более гликоформ, полученных генной инженерией, т.е. углеводную композицию, которая ковалентно
45 связана с элементом, включающим Fc область. Гликоформы, полученные генной инженерией, можно использовать для многих целей, включающих, но не ограничиваясь только ими, повышение или понижение эффекторной функции. Гликоформы можно получать любым способом, известным специалисту в данной
50 области, например с использованием штаммов, полученных генной инженерией или экспрессирующих указанный вариант, совместной экспрессией с одним или более ферментом, например, DI N-ацетилглюкозаминилтрансферазы III (GnTII1), экспрессией элемента, включающего Fc область, в различных организмах или в

линиях клеток различных организмов, или модификацией углевода (углеводов) после экспрессии элемента, включающего Fc область. Способы получения модифицированных генной инженерией гликоформ известны в области техники и включают, но не ограничиваясь только ими, способы, описанные в литературе, например, см. Umana и др., Nat. Biotechnol., 17, 176-180 (1999), Davies и др., Biotechnol. Bioeng., 74, 288-294 (2007), Shields и др., J. Biol. Chem., 277, 26733-26740 (2002), Shinkawa и др., J. Biol. Chem., 278, 3466-3473 (2003), US 6602684, US 10/277370, US 10/113929, WO 00/61739A1, WO 01/292246A1, WO 02/311140A1, WO 02/30954A1,

технология Potillegent™ (фирма Biowa, Inc. Princeton, N.J.), технология гликозилирования с использованием генной инженерии GlycoMAb™ (фирма Glycart Biotechnology AG, Zurich, Швейцария). См., например, WO 00/061739, EA 01229125, US 20030115614, Okazaki и др., J. M. B. 336, 1239-1249 (2004).

Связывающие элементы по изобретению можно конъюгировать с детектируемой или функциональной меткой. Метка может представлять собой любой элемент, который продуцирует или индуцирует сигнал, включающий, но не ограничиваясь только ими, флуорогены, радиоактивные метки, ферменты, хемилюминесцентные метки или фотосенсибилизаторы. Таким образом, связывание можно детектировать, измеряя флуоресценцию или люминесценцию, радиоактивность, ферментативную активность или абсорбцию (оптическую плотность).

Пригодные метки включают, не ограничиваясь только ими, ферменты, такие как щелочная фосфатаза, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа (Г6ФДГ) и пероксидаза хрена, красители, флуорогены, такие как флуоресцеин, родамин, фикоэритрин фикоцианин, аллофикоцианин, орто-фталевый альдегид, флуорескамин, флуорофоры, такие как криптаты и хелаты лантанидов (фирма Perkin Elmer и Cis Biointernational), хемилюминесцентные агенты, такие как изолуминол, сенсibilizаторы, коферменты, субстраты ферментов, радиоактивные метки, включая, но не ограничиваясь только ими, ^{125}I , ^{131}I , ^{35}S , ^{32}P , ^{14}C , ^3H , ^{57}Co , ^{99}Tc и ^{75}Se и другие радиометки, указанные в тексте заявки, частицы, такие как латексные или углеродные частицы, коллоидные растворы (золи) металлов, кристаллиты, липосомы, клетки и т.п., которые можно также пометить красителем, катализатором или другой детектируемой группой.

Пригодные ферменты и коферменты описаны в US 4275149 и US 4318980, каждый из которых включен в описание заявки в полном объеме в качестве ссылки. Пригодные флуорогены и хемилюминесцентные агенты также описаны в US 4275149, который включен в описание заявки в полном объеме в качестве ссылки. Метки также включают химические элементы, такие как биотин, который можно детектировать по связыванию с другим детектируемым элементом, например меченым авидином или стрептавидином. Детектируемые метки можно конъюгировать с антителами по изобретению с использованием стандартных реагентов, известных в области техники.

Метка может генерировать детектируемый (визуализированный) сигнал под воздействием множества факторов, например под воздействием электромагнитного излучения, высокой температуры и химических реагентов. Метку можно также конъюгировать с другим связывающим элементом, который связывается с антителами по изобретению, или иммобилизовать на твердой подложке.

Метка может генерировать сигнал непосредственно, т.е. в отсутствии дополнительных компонентов. Многие органические элементы, например флуорогены, способны абсорбировать излучение в ультрафиолетовой или видимой

области, трансформировать энергию и возбуждать энергию испускания. Затем указанная поглощенная энергия рассеивается за счет испускания света на другой длине волны. Указанная вторая волна испускания может также переносить энергию на меченую молекулу-акцептор, которая в свою очередь рассеивает энергию за счет испускания света, например передачи энергии посредством флуоресцентного резонанса (FRET). Другими метками, которые непосредственно генерируют сигнал, являются радиоактивные изотопы и красители.

В другом варианте для генерирования сигнала при использовании метки могут потребоваться другие компоненты, и поэтому система, генерирующая сигнал, должна включать все компоненты, необходимые для генерирования регистрируемого сигнала, которые включают субстраты, коферменты, усилители, дополнительные ферменты, элементы, которые взаимодействуют с продуктами ферментативной реакции, катализаторы, активаторы, кофакторы, ингибиторы, акцепторы, ионы металлов и специфично связывающийся элемент, необходимое для связывания с элементами, генерирующими сигнал. Подробное описание пригодных систем, продуцирующих сигнал, приводится в US 5185243, который включен в описание заявки в полном объеме в качестве ссылки

Связывающий элемент, антитела или один из функциональных фрагментов могут присутствовать в форме иммуноконъюгата для получения детектируемого и/или пригодного для количественной оценки сигнала. Иммуноконъюгаты можно конъюгировать, например, с ферментами, такими как пероксидаза хрена, щелочная фосфатаза, α -D-галактозидаза, глюкозооксидаза, глюкозоамилаза, карбоангидраза, ацетилхолинэстераза, лизоцим, малатдегидрогеназа или глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, или с другими элементами, такими как биотин, дигоксигенин или 5-бромдезокситуридин. Иммуноконъюгаты или их функциональные фрагменты по изобретению также можно конъюгировать с флуоресцентными метками, прежде всего с флуоресцеином и его производными, флуорохромом, родамином и его производными, ЗФП (зеленым флуоресцентным белком), дансилхлоридом, умбеллифероном, хелатами или криптатами лантанидов, например, европия, и т.п.

Иммуноконъюгаты или их функциональные фрагменты можно получать методами, известными специалисту в данной области. Элемент можно конъюгировать с ферментами или флуоресцентными метками непосредственно или опосредованно с использованием промежуточной или линкерной группы, такой как полиальдегид, например глутаровый альдегид, этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТУ), диэтилентриаминпентауксусная кислота (ДПТУ), или в присутствии конденсирующих агентов, таких как указанные выше для терапевтических конъюгатов. Конъюгаты, содержащие метки типа флуоресцеина, получают по реакции с изотиоцианатом. Другие иммуноконъюгаты могут также включать хемолуминесцентные метки, такие как люминол и диоксетаны, биолуминесцентные метки, такие как люцифераза и люциферин, или даже радиоактивные метки, такие как иод¹²³, иод¹²⁵, иод¹²⁶, иод¹³¹, иод¹³³, бром⁷⁷, технеций⁹⁹, индий¹¹¹, индий¹¹³, галлий⁶⁷, галлий⁶⁶, сера³⁵, фосфор³², углерод¹⁴, тритий(водород³), кобальт⁵⁷, селен⁷⁵, рутений⁹⁵, рутений⁹⁷, рутений¹⁰³, рутений¹⁰⁵, ртуть²⁰³, ртуть²⁰⁷, рений¹⁸⁵, рений¹⁸⁶, рений¹⁸⁸, скандий⁴⁷, теллур¹²¹, теллур¹²², теллур¹²⁵, туллий¹⁶⁵, туллий¹⁶⁷, туллий¹⁶⁸, фтор, иттрий. Иммобилизация радиоактивных элементов, которые можно использовать в диагностике, включает способы конденсации терапевтических радиоизотопов с антителами непосредственно или с использованием хелатирующих агентов, таких как ЭДТУ, ДПТУ, указанные выше, известные специалисту в данной

области. Следует также упомянуть введение метки NaI¹²⁵ с использованием хлорамина Т (Hunter и Greenwood, Nature, 194, 495 (1962)) или технеция⁹⁹ по методике Crockford и др. (US 4424200, включенный в описание заявки в полном объеме в качестве ссылки), или связывание с использованием ДПТУ, описанное Hnatowich (US 4479930, включенный в описание заявки в полном объеме в качестве ссылки). Другие иммуноконъюгаты могут включать токсин, выбранный из группы, включающей экзотоксин *Pseudomonas* (ЭП или его цитотоксичный фрагмент или мутант), дифтерийный токсин или его цитотоксичный фрагмент или мутант, и токсины А-Е ботулизма, рицин или его цитотоксичный фрагмент, абрин или его цитотоксичный фрагмент, сапорин, его цитотоксичный фрагмент, противовирусный токсин фитолаки американской или его цитотоксичный фрагмент и бриодин 1 или его цитотоксичный фрагмент.

В настоящем изобретении предлагается способ, включающий стимулирование или обеспечение связывания связывающего элемента по изобретению с IL-4Rα. Как указано выше, такое связывание происходит *in vivo*, например, после введения связывающего элемента или нуклеиновой кислоты, кодирующей связывающий элемент, или происходит *in vitro*, например, при проведении ИФА, вестерн-блоттинга, иммуноцитохимии, иммунопреципитации, аффинной хроматографии и биохимических анализов или анализов на клетках, например, описанных в тексте заявки. В изобретении также предлагается измерение уровня антигена непосредственно с использованием связывающего элемента по изобретению, например, в системе с биосенсором (биочипом).

Например, настоящее изобретение включает способ детектирования и/или измерения связывания с IL-4Rα, который заключается в том, что (1) указанный связывающий элемент вводят в контакт с IL-4Rα и (2) детектируют связывание указанного связывающего элемента с IL-4Rα, причем связывание детектируют с использованием любого из способа или детектируемой метки, описанных выше. Указанные способы и любой другой способ детектирования связывания, описанный в тексте заявки, можно интерпретировать непосредственно, например визуально наблюдая детектируемую метку. В другом варианте указанные способы и любой другой способ детектирования связывания, описанный в тексте заявки, позволяют представлять результаты наблюдений в форме автордиографии, фотографии, компьютерной записи, материалов проточной цитометрии, графиков, схем, пробирки или контейнера или лунки, содержащей результаты анализа, или любого другого визуального или физического представления результатов анализа.

Можно определять количество элемента, связанного с IL-4Rα. Количественная оценка отражает количество антигена в анализируемом образце, который представляет интерес для диагностики. Тестирование по связыванию с IL-4Rα и/или количественную оценку связывания можно использовать, например, при обследовании пациентов на наличие заболеваний или нарушений, ассоциированных с IL-4Rα, указанных в описании заявки. В одном варианте способ диагностики по изобретению включает (1) получение образца ткани или жидкости из организма субъекта, (2) контактирование указанного образца ткани или жидкости с одним или более связывающих элементов по настоящему изобретению, и (3) детектирование связанного IL-4Rα при сравнении с контрольным образцом, при этом повышение количества связанного IL-4Rα по сравнению с контролем является признаком аномального уровня экспрессии или активности IL-4Rα. Анализируемые образцы ткани или жидкости включают кровь, сыворотку, мочу, материал биопсии, опухоли

или любой ткани, предположительно содержащей аномальный уровень IL-4Ra. На субъектов с нарушенным уровнем или активностью IL-4Ra может оказать благоприятное действие лечение способами по изобретению.

5 Специалист в данной области на основании своего предпочтения и квалификации, а также описания настоящего изобретения, может выбрать пригодный способ определения связывания связывающего элемента с антигеном.

Реактивность связывающего элемента в образце можно определить любым пригодным способом, например радиоиммуноанализом (РИА). Антиген,
10 содержащий радиоактивную метку, смешивают с немеченым антигеном (анализируемый образец) и вводят в контакт со связывающим элементом. Связанный антиген отделяют от несвязанного антигена и определяют количество связанного связывающим элементом радиоактивного антигена. Чем больше антигена присутствует в анализируемом образце, тем меньше радиоактивного антигена будет
15 связываться со связывающим элементом. Кроме того, можно использовать анализ конкурентного связывания с нерадиоактивным антигеном в присутствии антигена или его аналога, связанного с репортерным элементом. Репортерный элемент может представлять собой флуорохром, фосфор или лазерный краситель с определенными
20 спектральными параметрами абсорбции или излучения. Пригодными флуорохромами являются флуоресцеин, родамин, фикоэритрин, тexasский красный и хелаты или криптаты лантанидов. Пригодными хромогенным красителем является диаминобензидин.

Другими репортерными элементами являются высокомолекулярные коллоидные
25 частицы или и макрочастицы, такие как латексные гранулы, окрашенные, магнитные или парамагнитные, и биологически или химически активные агенты, которые могут непосредственно или опосредованно генерировать детектируемые сигналы, которые можно наблюдать визуально, регистрировать инструментально или иным способом.
30 Указанные элементы могут представлять собой ферменты, которые катализируют реакции или изменяют окраску или заряд субстрата. Указанные элементы могут представлять собой такие структуры, которые в составе комплекса изменяют спектральные характеристики, например длину волны абсорбции или испускания. Кроме того, такие системы включают химические элементы, иммобилизованные на
35 биосенсорах. Применяются также системы биотин/авидин или биотин/стрептавидин и щелочная фосфатаза.

Сигналы, генерированные конъюгатами индивидуального связывающего элемента с репортерным элементом, можно использовать для количественной
40 оценки абсолютных и относительных данных относительно содержания связывающего элемента в образцах (в контроле и в анализируемом образце).

Объектом настоящего изобретения является также набор, включающий связывающий элемент по любому из вариантов изобретения. Связывающий элемент в составе набора может включать метку для анализа реактивности в анализируемом
45 образце, например, как описано ниже. Кроме того, связывающий элемент необязательно иммобилизован на твердой подложке. Компоненты набора обычно являются стерильными и находятся в герметично закрытых флаконах или других контейнерах. Набор можно использовать для диагностики или для других целей.
50 Набор может содержать инструкции по применению компонентов, например, способом по настоящему изобретению. Для реализации такого способа набор по изобретению может включать вспомогательные материалы. Вспомогательные материалы включают второй элемент, который конъюгирован с детектируемой

меткой (например, флуоресцентной меткой, радиоактивным изотопом или ферментом) и способен связываться с первым связывающим элементом. Набор антител может также включать гранулы для проведения иммунопреципитации. Каждый компонент набора обычно содержится в отдельном контейнере. Таким образом, указанные наборы обычно содержат несколько контейнеров, пригодных для каждого связывающего элемента. Кроме того, набор включает инструкции, где описана методика проведения анализа и способы интерпретации и расшифровки полученных данных.

В настоящем изобретении предлагается также применение связывающего элемента для измерения уровня антигена в анализе конкурентного связывания, т.е. способ измерения уровня антигена в образце благодаря применению связывающего элемента по настоящему изобретению в анализе конкурентного связывания.

Указанный анализ проводят в том случае, если нет необходимости в физическом разделении связанного и несвязанного антигенов. Одним из вариантов является получение конъюгата связывающего элемента с репортерным элементом, который изменяет свои физические или оптические свойства при связывании комплекса с антигеном. Репортерный элемент может непосредственно или опосредованно генерировать детектируемые сигналы, которые пригодны для количественной оценки. Связь репортерного элемента в составе комплекса является прямой или опосредованной, ковалентной, например, за счет пептидной связи, или нековалентной. Пептидная связь может являться результатом рекомбинантной экспрессии гибридного гена, кодирующего антитела и репортерный элемент.

Например, настоящее изобретение включает способ идентификации элемента, связывающегося с IL-4R α , который заключается в том, что (1) IL-4R α иммобилизуют на подложке, (2) иммобилизованный IL-4R α вводят в контакт одновременно или последовательно по меньшей мере с одним меченым связывающим элементом по изобретению и одним или более немеченым анализируемым связывающим элементом, и (3) идентифицируют новый IL-4R α -связывающий элемент, наблюдая снижение количества связанной метки, т.е. меченого связывающего элемента.

Другой способ идентификации элемента, связывающегося с IL-4R α , заключается в том, что (1) связывающий элемент иммобилизуют на подложке, (2) иммобилизованный связывающий элемент вводят в контакт одновременно или последовательно с меченым IL-4R α и одним (или более) немеченым анализируемым связывающим элементом, и (3) идентифицируют новый IL-4R α -связывающий элемент, наблюдая снижение количества связанной метки, т.е. меченого IL-4R α .

Такие способы можно проводить высокопроизводительным анализом с использованием мультитуночного или ранжированного формата. Такие анализы можно также проводить в растворе, например, анализом HTRF, описанным в примере 4.3. См., например, US 5814468, включенный в описание заявки в полном объеме в качестве ссылки. Как описано выше, детектирование связывания можно интерпретировать непосредственно, например, наблюдая визуально детектируемую метку или ее снижение в присутствии связывающего элемента. В другом варианте способы связывания по изобретению позволяют получать материалы наблюдений в форме автордиографии, фотографии, компьютерной записи, материалов проточной цитометрии, графиков, схем, пробирки или контейнера или лунки с полученными результатами, или любого другого визуального или физического представления результатов анализа.

При картировании эпитопа можно использовать анализ конкурентного

связывании. В одном варианте картирование эпитопа можно использовать для идентификации эпитопа, связанного с элементом, специфичным в отношении IL-4R α , который необязательно может обладать оптимизированными нейтрализующими и/или модулирующими свойствами. Такой эпитоп является линейным или конформационным. Конформационный эпитоп может включать по меньшей мере два различных фрагмента IL-4R α , причем указанные фрагменты располагаются близко друг от друга при укладке цепи IL-4R α с образованием третичной и четвертичной структур. Образующийся при этом конформационный эпитоп распознается ингибитором IL-4R α , таким как элемент, связывающийся с IL-4R α . При анализе конкурентного связывания можно использовать пептидный фрагмент антигена, прежде всего пептид, который включает эпитоп или по существу является эпитопом. При этом используют пептид, содержащий эпитоп и одну или более аминокислот на каждом концевом фрагменте. Для связывающих элементов по настоящему изобретению характерно, что их связывание с антигеном ингибируется пептидом, содержащим или включающим аминокислотную последовательность эпитопа.

Кроме того, в настоящем изобретении предлагается изолированная нуклеиновая кислота, кодирующая связывающий элемент по настоящему изобретению. Нуклеиновая кислота может представлять собой ДНК и/или РНК. В одном варианте настоящего изобретения предлагается нуклеиновая кислота, которая кодирует CDR, или набор CDRs, или VH домен, или VL домен, или антиген-связывающий участок антител, или молекулу антител, например, scFv или IgG, например, IgG1, IgG2 или IgG4, по изобретению, как указано выше.

В настоящем изобретении также предлагаются конструкторы в форме плазмид, векторов, кассет транскрипции или экспрессии, которые включают по меньшей мере один полинуклеотид, указанный выше.

В настоящем изобретении также предлагается рекомбинантная клетка хозяина, которая включает один или более конструкторов, указанных выше. Объектом настоящего изобретения является нуклеиновая кислота, кодирующая любой CDR, или набор CDR, или VH домен, или VL домен, или антиген-связывающий участок антител, или молекулу антител, например, scFv или IgG1, IgG2 или IgG4, по изобретению, а также способ получения кодируемого продукта, включающий экспрессию кодирующей нуклеиновой кислоты. Экспрессию обычно проводят культивированием в соответствующих условиях рекомбинантной клетки хозяина, содержащей нуклеиновую кислоту. После получения экспрессией VH или VL домен или связывающий элемент выделяют и/или очищают по любой пригодной методике.

Нуклеиновая кислота по настоящему изобретению может представлять собой ДНК или РНК и может быть полностью и частично синтетической. Ссылка на нуклеотидную последовательность в описании изобретения включает ДНК, которая характеризуется конкретной последовательностью, и РНК, которая характеризуется конкретной последовательностью, где U заменен на Т, если не указано иное.

В еще одном варианте предлагается способ получения VH переменного VH домена антител, включающий экспрессию кодирующей нуклеиновой кислоты. Такой способ включает культивирование клетки хозяина в условиях, пригодных для получения указанного переменного VH домена антител.

Объектами настоящего изобретения являются также аналогичные способы получения переменных VL доменов и связывающих элементов, включающих VH и/или VL домен.

Способ получения может включать стадию выделения и/или очистки продукта. Способ получения может включать переработку продукта с получением композиции, включающей по меньшей мере один дополнительный компонент, такой как фармацевтически приемлемый эксципиент.

Системы клонирования и экспрессии полипептида в ряде различных клеток хозяина известны в области техники. Пригодные клетки хозяина включают бактерии, клетки млекопитающих, клетки растений, нитевидных грибов, дрожжей и системы бакуловирусов и трансгенные растения и животные. Экспрессия антител и фрагментов антител в клетках прокариот известна в области техники (см., например, обзор Pluckthun 1991). Обычным бактериальным хозяином является *E. coli*.

Экспрессия в культуре клеток эукариот также известна специалисту в данной области как один из вариантов получения связывающего элемента (см., например, Chadd и Chamow, *Current Opinion in Biotechnology* 12, 188-194 (2001), Andersen и Krummen, *Current Opinion in Biotechnology*, 13, 117 (2002) и Larrick и Thomas, *Current Opinion in Biotechnology*, 12, 411-418 (2001)). Линии клеток млекопитающих, пригодных для экспрессии гетерологичного полипептида, включают клетки яичника китайского хомячка (CHO), клетки HeLa, клетки почки детеныша хомячка, клетки NSO меланомы мыши, клетки YB2/0 миеломы крысы, клетки почки эмбриона человека, клетки сетчатки эмбриона человека и многие др.

Для проведения экспрессии выбирают или конструируют пригодные векторы, содержащие соответствующие регуляторные последовательности, включающие промоторные последовательности, терминаторные последовательности, последовательности полиаденилирования, последовательности усилителя, репортерные гены и другие необходимые последовательности. Векторы могут представлять собой плазмиды, например фагмид, или вирусный фаг. Более подробно см., например, Sambrook и Russell, *Molecular Cloning: a Laboratory Manual*: 3 изд., Cold Spring Harbor Laboratory Press (2001). В литературе подробно описаны множество методик и протоколов проведения экспериментов с нуклеиновой кислотой, например методик получения конструкторов нуклеиновой кислоты, проведения мутагенеза, секвенирования, введения ДНК в клетки и генной экспрессии, а также анализа белков (см., например, Ausubel и др. ред., *Short Protocols in Molecular Biology: A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley и Sons, 4 изд. (1999)).

В другом варианте настоящего изобретения предлагается клетка хозяина, содержащая указанную нуклеиновую кислоту. Такая клетка хозяина может присутствовать *in vitro* и в культуре. Такая клетка хозяина может находиться *in vivo*. В условиях *in vivo* клетка хозяина экспрессирует связывающий элемент по настоящему изобретению в виде "интрател" или внутриклеточных антител. Интратела можно использовать для генной терапии.

Еще одним вариантом изобретения является способ, включающий введение нуклеиновой кислоты по изобретению в клетку хозяина. Введение проводят по любой известной методике. При введении в клетки эукариот пригодными методиками являются трансфекция в присутствии фосфата кальция, DEAE-декстрана, электропорация, трансфекция, опосредованная липосомами, и трансдукция с использованием ретровируса или другого вируса, например вируса оспы, или, при введении в клетки насекомых, бакуловируса. При интродукции нуклеиновой кислоты в клетки хозяина, прежде всего в клетки эукариот, используют систему на основе вируса или плазмиды. Плазмидную систему можно сохранять в виде эписомы или

включать в клетку хозяина или в искусственную хромосому. Включение является произвольной или адресной интеграцией одной или более копий одного или многих локусов. В случае бактериальных клеток пригодными методиками являются трансформации в присутствии хлорида кальция, электропорация и трансфекция с использованием бактериофага.

Интродукция вызывает или обеспечивает процесс экспрессии нуклеиновой кислоты, например, при культивировании клетки хозяина в условиях, обеспечивающих экспрессию гена. Очистку экспрессированного продукта проводят любым известным способом.

В одном варианте нуклеиновая кислота по изобретению интегрируется в геном (например, хромосому) клетки хозяина. Интеграция может стимулироваться включением последовательностей, которые активируют рекомбинацию с геном.

В настоящем изобретении также предлагается способ применения конструктора, указанного выше, при экспрессии системы с целью получения связывающего элемента или полипептида.

Связывающие элементы по настоящему изобретению можно использовать в способах диагностики или лечения человека или животного, например человека.

Например, связывающие элементы можно использовать при диагностике или лечении IL-4R α -ассоциированных заболеваний или нарушений, примеры которых приводятся в тексте заявки.

Конкретными состояниями, при которых связывающие элементы по изобретению можно использовать для лечения или диагностики, являются: астма, ХОЗЛ (включая хронический бронхит, заболевание тонких дыхательных путей и эмфизему), воспалительное заболевание кишечника, фиброзные состояния, включая системный склероз, фиброз легких, фиброз печени, индуцированный паразитами, и муковисцидоз, аллергия (включая, например, атонический дерматит и пищевую аллергию), трансплантационная терапия для предотвращения отторжения трансплантата, а также подавление реакций поздней или контактной гиперчувствительности, в качестве адъювантов при иммунотерапии аллергии и адъювантов при вакцинации.

Таким образом, связывающие элементы по изобретению можно использовать в качестве терапевтических агентов при лечении состояния, ассоциированных с экспрессией и/или активностью IL-4, IL-13 или IL-4R α . Одним вариантом изобретения является способ лечения, заключающийся в том, что пациенту, который нуждается в лечении, вводят эффективное количество связывающего элемента по изобретению, при котором наблюдается ослабление функциональных последствий активации IL-4R α . Другим вариантом является способ лечения, включающий (1) идентификацию пациента, у которого наблюдается экспрессия или активность IL-4, IL-13 или IL-4R α , например, при диагностике описанными выше способами, и (2) введение пациенту эффективного количества связывающего элемента по изобретению, при котором наблюдается ослабление функциональных последствий активации IL-4R α .

Эффективное количество по изобретению обозначает количество, которое модулирует (например, ослабляет) функциональные последствия активации IL-4R α , т.е. модулирует (например, понижает или уменьшает) тяжесть по меньшей мере одного симптома конкретного заболевания или нарушения, подлежащего лечению, но необязательно излечение заболевания или нарушения. Соответственно, одним вариантом изобретения является способ лечения или снижения тяжести по меньшей мере одного симптома любого из нарушений, указанных в тексте заявки,

закключающийся в том, что пациенту, который нуждается в лечении, вводят эффективное количество одного или более связывающих элементов по настоящему изобретению отдельно или в комбинации с лечением другим пригодным лекарственным средством, описанным в области техники, при этом наблюдается
 5 снижение тяжести по меньшей мере одного симптома любого из нарушений. Другим вариантом изобретения является способ подавления по меньшей мере одной функции IL-4R α , заключающийся в том, что пациент контактирует или пациенту вводят эффективное количество одного или более связывающих элементов по
 10 настоящему изобретению, в результате чего наблюдается подавление по меньшей мере одной функции IL-4R α , например способности IL-4R α образовывать комплекс с IL-4 (предшественник активной передачи сигнала).

Соответственно, в других вариантах изобретения предлагаются способы лечения, которые заключаются в том, что пациенту вводят связывающие элементы по
 15 изобретению или фармацевтические композиции, включающие такой связывающий элемент, и/или применение такого связывающего элемента для получения лекарственного средства, например, способ получения лекарственного средства или фармацевтической композиции включает переработку связывающего элемента в
 20 смеси с фармацевтически приемлемым эксципиентом. Фармацевтически приемлемый эксципиент обозначает элемент или комбинацию элементов в составе фармацевтической композиции, которые не обладают побочным действием и обеспечивают, например облегчают введение активного элемента (элементов),
 25 повышают период полураспада и/или эффективность действия в организме пациента, повышают растворимости или улучшают сохранение композиции. Указанные фармацевтически приемлемые носители известны и выбираются специалистом в данной области в соответствии со свойствами активного элемента (элементов) и способом введения.

Связывающие элементы по настоящему изобретению обычно вводят в форме
 30 фармацевтической композиции, которая может включать наряду со связывающим элементом по меньшей мере один компонент. Таким образом, фармацевтические композиции по настоящему изобретению и для применения по настоящему изобретению могут включать наряду с активным ингредиентом фармацевтически
 35 приемлемый эксципиент, носитель, буферные вещества, стабилизирующий агент или другие материалы, известные специалисту в данной области. Такие материалы являются нетоксичными и не оказывают воздействия на эффективность активного ингредиента. Природа носителя или другого материала зависит от способа введения,
 40 который является пероральным, ингаляционным или инъекционным, например внутривенным. В одном варианте композиция является стерильной.

Настоящее изобретение также включает фармацевтические композиции для перорального введения, такие, например, как наноантитела и др. Такие пероральные препараты получают в форме таблеток, капсул, порошка, в жидкой или полутвердой
 45 форме. Таблетки включают твердый носитель, такой как желатин, или адъювант. Жидкие фармацевтические композиции обычно включают жидкий носитель, такой как вода, вазелин, животные и растительные масла, минеральное масло или синтетические масла, а также физраствор, раствор декстрозы или других сахаров,
 50 или гликоли, такие как этиленгликоль, пропиленгликоль или полиэтиленгликоль.

Препараты для внутривенной инъекции или инъекции в участок поражения получают в форме пригодной для парентерального введения водного раствора активного ингредиента, который является апирогенным и характеризуется

соответствующей величиной pH, параметрами изотоничности и стабильности.

Специалист в данной области может получить пригодные растворы с использованием, например, изотоничных носителей, таких как хлорид натрия для инъекции, раствор Рингера для инъекции, раствор Рингера для инъекций, содержащий лактозу. Кроме того, растворы могут содержать консерванты, стабилизирующие агенты, буферные вещества, антиоксиданты и/или другие компоненты, например буферные вещества, такие как фосфат, цитрат, гистидин, и другие органические кислоты, антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота и метионин, консерванты (такие как хлорид октадецилдиметилбензиламмония, хлорид гексаметония, хлорид бензалкония, хлорид бензетония, фенол, бутиловый или бензиловый спирт, алкилпарабены, такие как метил- или пропилпарабен, катехин, резорцин, циклогексанол, 3-пентанол, и мета-крезол), низкомолекулярные пептиды, белки, такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины, гидрофильные полимеры, такие как поливинилпиролон, аминокислоты, такие как глицин, глутамин, аспарагин, гистидин, аргинин, или лизин, моносахариды, дисахариды и другие углеводы, такие как глюкоза, манноза или декстрины, комплексоны, такие как ЭДТУ, сахара, такие как сахароза, маннит, трегалоза или сорбит, солеобразующие противоионы, такие как натрий, комплексы металлов (например, цинк-содержащие белки) и/или неионные ПАВ, такие как TWEEN, PLURONICS™ или полиэтиленгликоль (ПЭГ).

Связывающие элементы по настоящему изобретению можно получать в жидкой, полутвердой или твердой формах в зависимости от физико-химических свойств элементов и способа доставки. Препараты могут включать эксципиенты или комбинации эксципиентов, например сахара, аминокислоты и ПАВ. Жидкие препараты могут содержать различные концентрации антител, характеризоваться различными значениями pH. Твердые препараты получают лиофилизацией, распылительной сушкой или высушиванием с использованием суперкритических жидкостей. Форма препаратов анти-IL-4R α зависит от предполагаемого способа доставки: например, препараты для доставки в легкие могут содержать частицы, физические свойства которых обеспечивают проникновение глубоко в легкие после ингаляции, препараты для местного применения могут включать агенты, регулирующие вязкость, которые пролонгируют время удерживания лекарственного средства в участке поражения. В некоторых вариантах связывающий элемент получают в смеси с носителем, который препятствует быстрому высвобождению связывающего элемента, т.е. в виде препаратов с контролируемым высвобождением, включающих имплантаты, чрескожные пластыри и микроинкапсулированные системы доставки. При этом используются биodeградируемые, биосовместимые полимеры, такие как этиленвинилацетат, полиангидриды, полигликолевая кислота, коллаген, полиортоэфиры и полимолочная кислота. Многие способы получения таких препаратов известны специалисту в данной области. См., например, Robinson (1978).

При лечении антителами анти-IL-4R α связывающие элементы по изобретению можно вводить перорально (например, в виде наноантител), инъекцией (например, подкожно, внутрисуставно, внутривенно, внутрибрюшинно, внутриартериально или внутримышечно), ингаляцией, внутрипузырным способом (инстилляцией в мочевого пузырь), или местно (например, внутриглазным способом, интраназальным, ректальным способом, в раны и на кожу). Препараты можно вводить пульсирующим вливанием, прежде всего убывающими дозами связывающего

элемента. Способ введения можно определять по физико-химическим параметрам лечения, по конкретным признакам заболевания или по необходимости оптимизировать эффективность действия или минимизировать побочные действия. Одним предпочтительным способом введения является внутривенный способ.

Другим способом введения фармацевтических композиций по настоящему изобретению является подкожный способ.

Подразумевается, что лечение антителами анти-IL-4R α не ограничено больницами или кабинетами врачей, а включает лечение на дому и по месту работы.

Следовательно, предпочтительна подкожная инъекция с использованием безигольного устройства.

Композицию можно вводить отдельно или в комбинации с другими видами лечения, одновременно или последовательно или с использованием комбинированного препарата, включающего другой терапевтический агент или агенты, в зависимости от состояния, подлежащего лечению.

Элемент, связывающийся с IL-4R α , можно использовать при комбинированной терапии в сочетании с дополнительным лекарственным средством.

Комбинированную терапию можно использовать для получения высокого

синергетического действия, прежде всего в виде комбинации элемента, связывающегося с IL-4R α , с одним или более другими лекарственными средствами. Элемент, связывающийся с IL-4R α , вводят одновременно или последовательно или в виде комбинированного препарата с другим терапевтическим агентом или агентами, для лечения одного или более состояний, перечисленных выше.

Связывающий элемент по настоящему изобретению можно получать в комбинации или смеси с одним или более следующими агентами:

- цитокин или агонист или антагонист функции цитокина (например, агент, который воздействует на сигнальные пути цитокина, такой как модулятор системы СЦС), такой как α -, β - и/или γ -интерферон, инсулиноподобный фактор роста типа I (ИРФ-1), их рецепторы и ассоциированные связывающие белки, интерлейкины (IL), например один или более IL-1-33, и/или антагонист или ингибитор интерлейкина, такой как анакинра, ингибиторы рецепторов семейства интерлейкина или ингибиторы конкретных субъединиц таких рецепторов, ингибитор фактора некроза опухоли α (ФНО- α), такой как моноклональные антитела анти-ФНО (например, инфликсимаб, адалимумаб и/или CDP-870) и/или антагонист рецептора ФНО, например иммуноглобулин (такой, как этанерцепт) и/или низкомолекулярный агент, такой как пентоксифиллин,

- модулятор В клеток, например моноклональные антитела, специфичные в отношении В-лимфоцитов (такие, как CD20 (ритуксимаб) или MRA- α IL16R) или Т-лимфоцитов (например, CTLA4-Ig или абатацепт),

- модулятор, который ингибирует активность остеокластов, например антитела анти-RANKL,

- модулятор хемокина или функции рецептора хемокина, такой как антагонист CCR1, CCR2, CCR2A, CCR2B, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR7, CCR8, CCR9, CCR10 или CCR11 (для семейства C-C), CXCR1, CXCR2, CXCR3, CXCR4, CXCR5, CXCR6 или CXCL13 (для семейства C-X-C) или CX3CR1 (для семейства C-X3-C),

- ингибитор матриксных металлопротеаз (ММП), т.е. один или более стромелизинов, коллагеназ и желатиназ, а также агреканы, прежде всего коллагеназы-1 (ММП-1), коллагеназы-2 (ММП-8), коллагеназы-3 (ММП-13),

стромелизина-1 (ММП-3), стромелизина-2 (ММП-10) и/или стромелизина-3 (ММП-11) и/или ММП-9 и/или ММП-12, такой, например, как доксициклин,

- ингибитор биосинтеза лейкотриена, ингибитор 5-липоксигеназы (5-LO) или антагонист белка-активатора 5-липоксигеназы (FLAP), такой как зилейтон, АВТ-761, фенлейтон, тепоксалин, Abbott-79175, Abbott-85761, N-(5-замещенные)тиофен-2-алкилсульфонамиды, 2,6-ди-трет-бутилфенолгидразоны, метокситетрагидропираны, такие как Zeneca ZD-2138, элемент SB-210661, пиридинил-замещенный 2-цианофталин, такой как L-739,010, 2-цианохинолин, такой как L-746530, элементы

на основе индола и/или хинолина, такие как МК-591, МК-886 и/или BAYx1005,

- антагонист рецептора лейкотриенов (LT) B₄, LTC₄, LTD₄, и LTE₄, выбранный из группы, включающей фенолтиазин-3-ил, такой как L-651392, амидино-элементы, такие как CGS-25019с, бензоксаламины, такие как онтазоласт, бензолкарбоксимидамины, такие как BPL 284/260, и элементы, такие как зафирлукаст, аблукаст, монтелукаст, пранлукаст, верлукаст (МК-679), RG-12525, Ro-245913, иралукаст (CGP 45715A) и BAYx7195,

- ингибитор фосфодиэстеразы (ФДЭ), такой как метилксантин, например теofilлин и/или аминофиллин, и/или селективный ингибитор изофермента ФДЭ, например ингибитор ФДЭ₄, и/или ингибитор изоформы ФДЭ_{4Д}, и/или ингибитор ФДЭ₅,

- антагонист рецептора гистамина типа 1, такой как цетиризин, лоратадин, деслоратадин, фексофенадин, акривастин, терфенадин, астемизол, азеластин, левокабастин, хлорфенирамин, прометазин, циклизин и/или мизоластин (обычно при введении перорально, местно или парентерально),

- ингибитор протонного насоса (такой, как омепразол) или гастропротективный антагонист рецептора гистамина типа 2,

- антагонист рецептора гистамина типа 4,

- агонист α -1/ α -2 адренорецептора, сосудосуживающий симпатомиметический агент, такой как пропилгекседрин, фенилэфрин, фенилпропаноламин, эфедрин, псевдоэфедрин, гидрохлорид нафтазолина, гидрохлорид оксиметазолина, гидрохлорид тетрагидрозолина, гидрохлорид ксилометазолина, гидрохлорид трамазолина и гидрохлорид этилнорэпинефрина,

- антихолинергический агент, например антагонист мускаринового рецептора (например, M₁, M₂, M₃, M₄ или M₅), такой как атропин, гиосцин, гликопирролат, ипратропий бромид, тиотропий бромид, окситропий бромид, пирензепин и телензепин,

- агонист β -адренорецептора (включая β -рецептор подтипа 1-4), такой как изопреналин, салбутамол, формотерол, салметерол, тербуталин, орципреналин, битолтерон мезилат и/или пирбутерол, например его хиральный энантиомер,

- хромон, например хромогликат натрия и/или недохромил натрий,

- глюкокортикоид, такой как флунизолит, ацетонид триамцинолона, дипропионат беклометазона, будезонид, пропионат флутиказона, циклезонид и/или фураат мометазона,

- агент, который модулирует ядерные рецепторы гормона, такой как PPAR,

- иммуноглобулин (Ig), или препарат Ig, или антагонист, или антитела,

модулирующие функцию Ig, такие как анти-IgE (например, омализумаб),

- другой системный или местный противовоспалительный агент, например талидомид или его производное, ретиноид, дитранол и/или калципотриол,

- комбинации аминосалицилатов и сульфамиридина, такие как сульфасалазин,

месалазин, балсалазин и олсалазин, и иммуномодуляторы, такие как тиопурины, и кортикостероиды, такие как будесонид,

- антибактериальный агент, например производное пенициллина, тетрациклин, макролид, β-лактам, фторхинолон, метронидазол и/или ингалируемый

аминогликозид, и/или противовирусный агент, например, ацикловир, фамциловир, валацикловир, ганцикловир, цидофовир, амантадин, римантадин, рибавирин, занамавир и/или оселтамавир, ингибитор протеазы, такой как индинавир, нелфинавир, ритонавир и/или саквинавир, нуклеозидный ингибитор обратной транскриптазы, такой как диданозин, ламивудин, ставудин, залцитабин, зидовудин, ненуклеозидный ингибитор обратной транскриптазы, такой как невирапин, эфавиренц,

- сердечно-сосудистый агент, такой как блокатор кальциевого канала, блокатор β-адренорецептора, ингибитор ангиотензин-конвертирующего фермента (АКФ), антагонист рецептора ангиотензина-2, агент, понижающий уровень липидов, такой как статин и/или фибрат, модулятор морфологии клеток крови, такой как пентоксифиллин, тромболитик и/или антикоагулянт, например ингибитор агрегации тромбоцитов,

- ЦНС-специфичный агент, например, антидепрессант (такой, как сертралин), лекарственные средства для лечения болезни Паркинсона (такие, как депренил, L-дофа, ропинирол, прамипексол, ингибитор МАОВ, такой как селегин и разагилин, ингибитор comP, такой как тасмар, ингибитор А-2, ингибитор захвата допамина, антагонист NMDA, агонист никотина, агонист допамина и/или ингибитор нейронной синтазы оксида азота) и лекарственные средства для лечения болезни Альцгеймера, такие как донепезил, ривастигмин, такрин, ингибитор COX-2, пропентофиллин или метрифонат,

- агент, предназначенный для лечения острой или хронической боли, например анальгетики центральной или периферической нервной системы, такие как аналоги или производные опиоидов, карбамазепин, фенитоин, валпроат натрия, амитриптилин или другой антидепрессант, парацетамол, или нестероидный противовоспалительный агент,

- анестезирующий агент, предназначенный для парентерального или местного применения (включая ингаляцию), такой как лигнокаин или его аналог,

- агент для лечения остеопороза, например гормональный агент, такой как ралоксифен, или бифосфонат, такой как алендронат,

- (1) ингибитор триптазы, (2) антагонист фактора активации тромбоцитов (ФАТ), (3) ингибитор интерлейкин-конвертирующего фермента (ИКФ), (4) ингибитор ИМФДГ (инозинмонофосфатдегидрогеназы), (5) антагонист ингибиторов элементов адгезии, включая антагонист VLA-4, (6) катепсин, (7) ингибитор киназы, например ингибитор тирозинкиназ (таких, как Btk, Itk, Jak3, примеры ингибиторов MAP включают gefitinib, мезилат иматиниба), серин/треонинкиназы (например, ингибитор MAP киназ, таких как p38, JNK, протеинкиназы A, B и C и IKK), или киназы, принимающей участие в регуляции клеточного цикла (например, циклин-зависимой киназы), (8) ингибитор глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, (9) антагонист кинин-В(подгруппа 1)- и/или кинин-В(подгруппа 2)-рецептора, (10) агент для лечения подагры, например, колхицин, (11) ингибитор ксантиноксидазы, например, аллопуринол, (12) агент, способствующий выведению из организма мочевой кислоты, например, пробенецид, сульфипиразон и/или бензбромарон, (13) гормон роста, усиливающий секрецию, (14) трансформирующий ростовой фактор (TGFβ),

(15) фактор роста из тромбоцитов (PDGF), (16) фактор роста фибробластов, например основной фактор роста фибробластов (bFGF), (17) гранулоцит-макрофаг колониестимулирующий (GM-CSF), (18) капсаициновый крем, (19) антагонист тахикинина NK(подгруппа 1)- и/или NL(подгруппа 3)-рецептора, такой как NKP-608C, SB-233412 (талнетан) и/или D-4418, (20) ингибитор эластазы, например, UT-77 и/или ZD-0892, (21) ингибитор ФНО- α -конвертирующего фермента (TACE), (22) ингибитор индуцированной синтазы оксида азота (iNOS) или (23) гомолог рецептора хемоаттрактанта, экспрессированный на клетках TH2 (такой, как антагонист CRTN2), (24) ингибитор P38 (25) агент, модулирующий функцию Toll-подобных рецепторов (TLR) и (26) агент, модулирующий активность пуринергических рецепторов, таких как P2X7, (27) ингибитор активации фактора транскрипции, такой как NFkB, API и/или STATS.

Ингибитор является специфичным или полиспецифичным, например специфичным в отношении более одной мишени (например, рецепторам) или более одного класса мишеней, указанных выше.

Связывающий элемент можно также использовать в комбинации с химиотерапевтическим агентом или другим ингибитором тирозинкиназы при совместном введении или в форме иммуноконъюгата. Фрагменты указанных антител можно также использовать в составе биспецифичных антител, полученных рекомбинантным методом или биохимической конденсацией, и, следовательно, объединяющих специфичность вышеописанных антител и специфичность других антител, способных узнавать другие элементы, принимающие участие в активности, ассоциированной с IL-4R α .

Для лечения воспалительного заболевания, например ревматоидного артрита, остеоартрита, астмы, аллергического ринита, хронического обструктивного заболевания легких (ХОЗЛ) или псориаза, связывающие элементы по изобретению можно комбинировать с одним или более агентами, такими как нестероидные противовоспалительные агенты (далее по тексту NSAID), включая неселективные ингибиторы циклооксигеназы COX-1/COX-2, предназначенные для применения местным или системным способом, такими как пироксикам, диклофенак, пропионовые кислоты, такие как напроксен, флурбипрофен, фенпрофен, кетопрофен и ибупрофен, фенаматы, такие как мефенаминовая кислота, индометацин, сулиндак, азапропазон, пиразолоны, такие как фенилбутазон, салицилаты, такие как аспирин, селективные ингибиторы COX-2 (такие, как мелоксикам, целекоксиб, рофекоксиб, валдекоксиб, лумарококсиб, парекоксиб и эториксиб), доноры циклооксигеназы, ингибирующие оксид азота (CINOD), глюкокортикостероиды (для введения местным, пероральным, внутримышечным, внутривенным и внутрисуставным способом), метотрексат, лефлунонид, гидроксихлороквин, D-пеницилламин, ауранофин или другие препараты золота для парентерального или перорального введения, анальгетики, диацереин, внутрисуставные препараты, такие как производные гиалуроновой кислоты, и пищевые добавки, включая глюкозамин.

Связывающий элемент по изобретению можно также использовать в комбинации с известным терапевтическим агентом, для лечения рака. Пригодными агентами для применения в указанной комбинации являются:

(1) антипролиферативные антинеопластические лекарственные средства и их комбинации, используемые в медицинской онкологии, такие как Gleevec (мезулат иматиниба), алкилирующие агенты (например, цисплатин, карбоплатин,

циклофосфамид, азотистый иприт, мелфалан, хлорамбуцил, бусульфан и нитрозомочесвина), антиметаболиты (например, антифолаты, такие как фторпиримидины, такие как 5-фторурацил и тегафур, ралтитрексед, метотрексат,

противоопухолевые антибиотики (например, антрациелины, такие как адриаамин, блеомицин, доксорубин, дауномицин, эпирубин, идарубин, митомицин С, дактиномицин и митрамицин), антимитотические агенты (например, алкалоиды барвинка, такие как винкристин, винбластин, виндезин и винорелбин, и таксоиды, такие как таксол и таксотере), и ингибиторы топоизомеразы (например, эпиподофиллотоксины, такие как этопозид и тенипозид, амсакрин, топотекан и камптотецины),

(2) цитостатические агенты, такие как антиэстрогены (например, тамоксифен, торемифен, ралоксифен, дролоксифен и иодоксифен), регуляторы, понижающие активность рецептора эстрогена (например, фулвестрант), антиандрогены (например, бикалутамид, флутамид, нилутамид и ацетат ципротерона), антагонисты LHRH или агонисты LHRH (например, гесерелин, лейпрорелин и бисерелин), прогестогены (например, ацетат мегестрола), ингибиторы ароматазы (например, анастрозол, летрозол, ворозол и экземестан) и ингибиторы 5 α -редуктазы, такие как финастерид,

(3) агенты, который ингибируют инвазию раковых клеток (например, ингибиторы металлопротеиназы (такие, как маримастат) и ингибиторы функции рецептора урокиназы активатора /плазминогена,

(4) ингибиторы функции фактора роста, например, такие ингибиторы включают антитела, специфичные в отношении ростового фактора, антитела, специфичные в отношении рецептора ростового фактора (например, антитела анти-erbB2, растузумаб, антитела анти-erbB1, цетуксимаб [C225]), ингибиторы фарнезилтрансферазы, ингибиторы тирозинкиназы и ингибиторы серин/треонинкиназы, например, ингибиторы семейства фактора роста эпидермиса (например, ингибиторы семейства тирозинкиназы EGFR, такие как N-(3-хлор-4-фторфенил)-7-метокси-6-(3-мрфолинопропокси)хиназолин-4-амин (гефилтиниб, AZD1839), N-(3-этинилфенил)-6,7-бис(2-метоксиэтокси)хиназолин-4-амин (эрлотиниб, OSI-774) и 6-акриламидо-N-(3-хлор-4-фторфенил)-7-(3-мрфолинопропокси)хиназолин-4-амин (CI 1033)), например, ингибиторы семейства факторов роста из тромбоцитов и, например, ингибиторы семейства фактора роста гепатоцитов,

(5) антиангиогенные агенты, ингибирующие действие фактора роста эндотелия сосудов (например, антитела антифактора роста эндотелиальных клеток сосудов, бевацизумаб, элементы, описанные в WO 97/22596, WO 97/30035, WO 97/32856 и WO 98/13354, каждая из которых включена в описание заявки в полном объеме в качестве ссылки) и элементы, которые действуют по другим механизмам (например, линомид, ингибиторы функции интегрин $\alpha v \beta 3$ и ангиостатин),

(6) агенты, повреждающие сосуды, такие как комбретастин A4 и элементы, описанные в WO 99/02166, WO 00/40529, WO 00/41669, WO 01/92224, WO 02/04434 и WO 02/08213 (которые включены в описание заявки в полном объеме в качестве ссылки),

(7) бессмысловые терапевтические агенты, например, специфичные в отношении мишеней, указанных выше, такие как ISIS 2503, анти-ras,

(8) методы, основанные на генной терапии, включающие, например, замену

нарушенных генов, например нарушенного гена p53 или нарушенных генов BRCA1 или BRCA2, GDEPT (терапия с использованием в качестве пролекарства фермента, специфичного в отношении гена), например, с использованием цитозиндеамины, тимидинкиназы или бактериального фермента нитроредуктазы, и методы лечения

пациента, резистентного к химиотерапии или радиотерапии, такие как генная терапия мультirezистентности, и

(9) иммунотерапевтические методы, включающие, например, методы *ex vivo* и *in vivo* повышения иммуногенности опухолевых клеток пациента, такие как

трансфекция цитокинов, таких как интерлейкин 2, интерлейкин 4 или гранулоцит-макрофаг колониестимулирующий фактор, способы понижения Т-клеточной анергии, способы с использованием трансфектированных иммункомпетентных клеток, таких как цитокин-трансфектированные дендритные клетки, способы с использованием цитокин-трансфектированных линий опухолевых клеток и способы

с использованием антиидиотипических антител.

Связывающий элемент по изобретению и один или более вышеуказанных дополнительных компонентов можно использовать при получении лекарственного препарата. Лекарственный препарат можно использовать при отдельном или комбинированном введении пациенту, причем такой препарат включает связывающий элемент и дополнительный компонент в составе комбинированного препарата или в составе отдельных препаратов. Раздельные препараты можно вводить раздельно, последовательно или одновременно, и, кроме того, такие препараты можно вводить различными способами, например перорально.

Композиции по настоящему изобретению можно вводить млекопитающим. Композиции вводят в "терапевтически эффективном количестве", которое является достаточным для оказания лечебного действия в организме пациента. Такое лечебное действие обозначает по меньшей мере уменьшение интенсивности по меньшей мере одного симптома заболевания. Фактическое количество введенного препарата и скорость и курс лечения зависят от природы и тяжести заболевания, подлежащего лечению, конкретного вида млекопитающего, клинического состояния пациента, причины нарушения, места доставки композиции, типа связывающего элемента, способа введения, графика введений и других факторов, известных лечащим врачам. Курс лечения, например выбор дозы и т.п., назначается главным врачом и другим лечащим врачом и зависит от тяжести симптомов и/или развития заболевания, подлежащего лечению. Пригодные дозы антител известны в области техники (Ledermann и др. *Int. J. Cancer*, 47, 659-664 (1991), Bagshawe и др. *Antibody, Immunoconjugates and Radiopharmaceuticals*, 4, 915-922 (1991)). При этом используются конкретные дозы, указанные в тексте заявки или в *Physician's Desk Reference* (2003), пригодные для конкретного лекарственного препарата, подлежащего введению. Терапевтически эффективное количество или пригодную дозу связывающего элемента по изобретению определяют, сравнивая активность *in vitro* и *in vivo* на модели животных. Способы экстраполяции эффективных доз в организме мышей и других подопытных животных для применения при лечении человека известны. Точная доза зависит от ряда факторов, включающих назначение антител, т.е. предназначаются они для диагностики, профилактики или лечения, локализации области, подлежащей лечению, природы антител (например, полноразмерные антитела, фрагмент или димерные антитела), и природы любой детектируемой метки или другого элемента, связанного с антителами. Типичная доза антител составляет от 100 мкг до 1 г при системном введении, и от 1 мкг до 1 мг при местном

применении. После введения более высокой дозы можно ввести одну или более низких доз. Обычно антитела представляют собой полноразмерные антитела, например, изотипа IgG1. Указанная доза предназначена для одноразового введения взрослому пациенту, которую можно пропорционально уменьшить при лечении детей и подростков, а также при использовании антител другого формата пропорционально молекулярной массе. Введение можно повторять ежедневно, дважды в неделю, с интервалом на неделю или месяц, в соответствии с предписанием лечащего врача. Лечение можно проводить каждые две-четыре недели при подкожном введении и каждые четыре-восемь недель при внутривенном введении. В некоторых вариантах настоящего изобретения лечение является периодическим и интервал между введением доз может составлять приблизительно две недели или более, например приблизительно три недели или более, приблизительно четыре недели или более, или дозу можно вводить приблизительно один раз в месяц. В других вариантах изобретения лечение можно проводить до и/или после хирургии, а препарат можно вводить или наносить непосредственно в анатомический участок проведения хирургической операции.

Изобретение иллюстрируется следующими примерами и чертежами, не ограничивающими его объем.

Подписи на чертежах

На фиг.1 представлено сравнение структур V_H доменов антител 2-42 со структурой антитела 1 (разделены на лист а и б).

На фиг.2 представлено сравнение структур V_L доменов антител 2-42 со структурой антитела 1 (разделены на лист а и б).

На фиг.3 представлено сравнение структур V_H доменов антител 1-19 и 21-42 со структурой антитела 20 (разделены на лист а и б).

На фиг.4 представлено сравнение структур V_L доменов антител 1-19 и 21-42 со структурой антитела 20 (разделены на лист а и б).

На фиг.5 представлены данные о гомологичности последовательностей $6 \times CDR$ (разделены на лист а, б и в).

На фиг.6 представлены данные о гомологичности последовательностей $3 \times V_H CDR$ (разделены на лист а, б и в).

На фиг.7 представлены данные о гомологичности последовательностей $3 \times V_L CDR$ (разделены на лист а, б и в).

Примеры

Пример 1

1.1 Клонирование внеклеточного домена IL-4R α человека

кДНК, кодирующую внеклеточный домен IL-4R α человека (1-229 аминокислотных остатков, номер P24394 по базе данных Swiss-Prot Accession), амплифицировали из библиотеки кДНК HUVES методом ПЦР с использованием праймеров на основе последовательности кДНК IL-4R α человека (RefSeq NM_000418). Полученную кДНК клонировали в pDONR201 (фирмы Invitrogen) по методике фирмы-производителя.

Фрагменты кДНК, кодирующие внеклеточные домены IL-4R α , затем включали в вектор экспрессии pDEST12.2 млекопитающих (фирмы Invitrogen) с использованием реакции LR Gateway® (фирмы Invitrogen). Вектор pDEST12.2 модифицировали: вводили фрагмент, кодирующий Fc-фрагмент IgG1 человека, фрагмент полигистидина (His6) tag в рамку считывания в составе требуемого гена, а также вводили участок инициации репликации oriP из вектора pCER4 (фирмы Invitrogen),

обеспечивающий эписомальную репликацию плазмиды при трансфекции в клеточные линии, экспрессирующие рекомбинантный продукт EBNA-1 (такие, как клетки HEK293-EBNA).

Идентификационный номер мРНК IL-4R α человека в базе данных: NM-000418, в составе последовательности из указанной базы данных наибольший интерес представляет фрагмент 243-929. Предсказанная аминокислотная последовательность полученного IL-4R α человека/Fc представляет собой последовательность SEQ ID №454.

1.1.1 Экспрессия и очистка

Клетки HEK-EBNA трансфектировали с использованием ПЭИ. Белок выделяли из модифицированной среды хроматографией на иммобилизованном белке G, затем очищали методом эксклюзионной хроматографии.

1.2 Клонирование рекомбинантного IL-4R α макака-крабоедов и мутантного IL-4R α I75V человека

Субъединицу IL-4R α макака-крабоедов амплифицировали из тимуса и лимфатического узла макака-крабоедов (BioCat GmbH) методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), при этом в качестве праймеров использовали следующие олигонуклеотиды:

5' ggggacaagt ttgtacaaaa aagcaggcct cttaacttt aagaaggaga tataaccatg gggtggcttt gctctgggct cctgttcct gtgagc-3' (SEQ ID №451)

5'- ggggaccact ttgtacaaga aagctgggctc ctgctcgaag ggctccctgt aggagttgta cca-3' (SEQ ID №452)

Полученную кДНК затем клонировали в pDONR201 (фирмы Invitrogen) по методике фирмы-производителя. Последовательность внеклеточного домена IL-4R α макака-крабоедов представляет собой последовательность SEQ ID №455.

1.3 Клонирование варианта IL-4R α I75V человека

Полиморфный вариант IL-4R α человека, I75V, получали с использованием вектора pDONR201, содержащего кодирующую последовательность IL-4R α человека (аминокислотные остатки 1-229 NP_000409). Остаток изолейцина в положении 75 замещали на остаток валина с использованием набора для сайт-направленного мутагенеза (QuikChange Multi, фирмы Stratagene), затем в качестве мутантного праймера использовали

олигонуклеотид 5' -gaagccacacgtgtgcctgagaacaacgga-3' (SEQ ID №453).

1.4 Получение рекомбинантных бакуловирусов для вариантов IL-4R α /Fc макака-крабоедов и I75V

IL-4R α макака-крабоедов и I75V вариант IL-4R α человека встраивали в вектор pFastBac (получен в лаборатории), модифицированный по методике Gateway, содержащий область, кодирующую Fc-фрагмент IgG1 человека. Нуклеотидная и белковая последовательности для IL4R α /Fc макака-крабоедов представлены в виде последовательностей SEQ ID №456 и SEQ ID №457, соответственно. Нуклеотидная и белковая последовательности для I75V IL4R α /Fc представлены в виде последовательностей SEQ ID №458 и SEQ ID №459, соответственно. Для получения рекомбинантной бакмиды вектор DH10Bac E.coli (фирмы Invitrogen) трансформировали, и высевали на LB агар (агар Лурия-Бертани) на основе среды для селекции. Клетки Sf9 трансфектировали рекомбинантными бакмидами, при этом получали рекомбинантные бакуловирусы с высоким титром.

1.5 Экспрессия и очистка вариантов I75V IL-4R α человека и IL-4R α макака-крабоедов, содержащих Fc-фрагменты

Белки экспрессировали в клетках Sf21 (400 мл), инфицированных вирусами

(множественность заражения, MOI 1), при этом плотность клеток составляла 3×10⁶ клеток/мл, в среде SF-900 II SFM (фирмы Invitrogen). Среду, содержащую секретируемые гибридные белки IL-4Rα-Fc, собирали через 72 и 96 ч, соответственно. pH питательной среды для клеток Sf21 (400 мл) доводили до 8,0.

Белки выделяли методом хроматографии на иммобилизованном белке G, и очищали методом эксклюзионной хроматографии.

Пример 2

Основная методика

2.1 Селекция

Для проведения селекции использовали библиотеки фаговых отображений наивных одноцепочечных Fv (scFv) человека, клонированные в фагмидном векторе на основе нитевидного фага M13 (см. статью Vaughan и др., Nature Biotechnology, 14(3), 309-314 (1996), статья Hutchings C.. Generation of Naive Human Antibody Libraries, в сборнике Antibody Engineering, под ред. R. Kontermann и S. Dubel, Springer Laboratory Manuals, Берлин, стр.93 (2001)). Специфичные scFv-антитела анти-IL-4Rα выделяли из библиотек фаговых отображений, осуществляя серии циклов селекции рекомбинантных IL-4Rα/Fc человека (фирмы R&D Systems), в основном как описано ранее (см. статью Vaughan T. J. и др., Nature Biotechnology, 14(3), 309-314 (1996) и статью Hawkins и др., Journal of Molecular Biology, 226, 889-896 (1992)). Краткое описание методики: для осуществления селекции методом пэннинга, IL-4Rα/Fc в ФСБ (ФСБ фирмы Dulbecco, pH7,4) адсорбировали в течение ночи при 4°C на поверхности лунок микротитрационных планшетов Immobilizer™ (фирмы Nunc). Лунки промывали ФСБ, затем блокировали раствором ФСБ-Marvel (3% мас./об.) в течение 1 ч. Дисперсию очищенных фагов в ФСБ-Marvel (3% мас./об.), содержащую 10 кратный избыток белка, содержащего Fc-фрагмент, с другой специфичностью, добавляли в лунки, и инкубировали в течение 1 ч для связывания с адсорбированным антигеном. Несвязавшиеся фаги удаляли в ходе серий циклов промывки с использованием раствора ФСБ-твин (0,1% об./об.) и ФСБ. Связавшиеся фаговые частицы элюировали, бактерии E. coli TG1 инфицировали полученными фагами, затем фаги выделяли и использовали в следующем цикле селекции (статья Vaughan и др., Nature Biotechnology, 14(3), 309-314, (1996)).

2.2 Ингибирование связывания ИЛ-4 с рецептором ИЛ-4 с использованием неочищенного scFv

Скрининг неочищенных scFv из периплазматических препаратов проводили методом оценки связывания рецептора с лигандом на основе гомогенной флуоресценции с разрешением во времени (HTRF®), при этом проводили два параллельных анализа, а именно для оценки ингибирующей активности как в отношении IL4Rα человека, так и IL4Rα макака-крабоедов. При анализе IL4Rα человека образцы неочищенных scFv конкурировали с биотинилированным ИЛ-4 человека (ИЛ-4 фирмы Reprotec, биотинилированные препараты, полученные в лаборатории) за связывание с рецептором IL4Rα/Fc человека (фирмы R&D Systems, 604-4R). При анализе IL4Rα макака-крабоедов образцы неочищенных scFv конкурировали с биотинилированным ИЛ-4 макака-крабоедов (использовали ИЛ-4, экспрессируемый в E.coli, биотинилированный в лаборатории) за связывание с IL4Rα-Fc-HIS6 макака-крабоедов (экспрессируемый в НЕК, полученный в лаборатории). Подробное описание методов анализа приводится в разделе 2.4 "Материалы и методы".

Затем была установлена последовательность ДНК, кодирующей фрагмент ScFv,

который по данным анализа связывания рецептора с лигандом в виде неочищенных периплазматических экстрактов ингибировал связывание ИЛ-4 и с IL4R α человека и макак-крабоедов (см. статью Osbourn и др., Immunotechnology, 2, 181-196 (1996)).

Уникальные последовательности ScFvs экспрессировали в бактериях и очищали методом аффинной хроматографии (как описано в статье Bannister и др., Biotechnology and bioengineering, 94, 931-937 (2006)).

2.3 Ингибирование связывания ИЛ-4 с рецептором ИЛ-4 с использованием очищенного scFv

Эффективность образцов scFv оценивали по результатам метода конкурентного связывания серийных разбавлений очищенных препаратов scFv и ИЛ-4 с IL4R α . Анализы связывания рецептора с лигандом для белков человека и макак-крабоедов проводили в параллельных экспериментах, как описано в разделе 2.4 "Материалы и методы". Очищенные препараты scFv антител 1 ингибировали связывание ИЛ-4 человека с IL4R α , при этом K_i составляет 12 нМ (доверительный интервал 95%, 8,7, 16,6). Антитела 1 ингибировали связывание ИЛ-4 макак-крабоедов с IL4R α частично, при этом уровень ингибирования составлял 10%. Таким образом, полученные результаты анализа не позволяют точно рассчитать значение K_i .

2.4 Материалы и методы

Анализ методом HTRF связывания рецептора с лигандом для оценки ингибирования связывания ИЛ-4 с IL4R α

Высокоэффективный экспресс-анализ

Продукты селекции оценивали методом связывания рецептора с лигандом на основе гомогенной флуоресценции с разрешением во времени (HTRF[®]), при этом проводили два параллельных анализа, а именно для оценки ингибирующей активности как в отношении IL4R α человека, так и IL4R α макак-крабоедов.

Оба анализа продуктов селекции проводили с использованием неразбавленных или разбавленных неочищенных периплазматических бактериальных экстрактов, содержащих scFv, полученных в 50 мМ буферном растворе следующего состава: MOPS (pH7,4), 0,5 мМ ЭДТУ и 0,5 М сахара.

Все разбавления осуществляли фосфатно-солевым буферным раствором (ФСБ), содержащим 0,4 М фторида калия и 0,1% БСА (буферный раствор для анализа).

Козьи антитела против Fc-фрагмента антител человека, меченные цитратом европия в виде 3,2 нМ раствора (фирмы CIS Bio International, 61HFCKLB), предварительно смешивали с 0,5 нМ раствором IL4R α /Fc человека (фирмы R&D Systems, 604-4R), при этом получали предварительную смесь "А". Конъюгат XL665 и стрептавидина в виде 10 нМ раствора (фирмы CIS Bio International, 611SAXLB) предварительно смешивали с 4 нМ раствором биотинилированного ИЛ-4 человека (ИЛ-4 фирмы Reprotec биотинилировали в лаборатории), при этом получали предварительную смесь "Б".

Параллельно при анализе белков макак-крабоедов козьи антитела против Fc-фрагмента антител человека, меченные цитратом европия в виде 3,2 нМ раствора (фирмы CIS Bio International, 61HFCKLB), предварительно смешивали с 0,5 нМ раствором IL4R α /Fc макак-крабоедов (выделены/экспрессированы в Sf21) или с 0,5 нМ раствором IL4R α /Fc HIS6 макак-крабоедов (оптимизированы/экспрессированы в НЕК), при этом получали предварительную смесь "А". Конъюгат XL665 и стрептавидина в виде 10 нМ раствора (фирмы CIS Bio International, 611SAXLB) предварительно смешивали с 3 нМ раствором биотинилированного ИЛ-4 макак-крабоедов (экспрессировали в E.coli и биотинилировали в лаборатории), при этом

получали предварительную смесь "Б".

Для каждого анализа 5 мкл предварительной смеси "А" добавляли в лунки 384-луночного микротитрационного планшета (фирмы Costar, Costar 3676). Затем добавляли 5 мкл образца неочищенных scFv и 10 мкл предварительной смеси "Б".

В ходе анализа связывания рецептора с лигандом для оценки неспецифического связывания использовали моноклональные мышиные антитела IgG2a, клон 25463 (фирмы R&D Systems) при конечной концентрации ИЛ-4 10 нМ или 50 нМ использовании (экспрессировали в E.coli в лаборатории) для анализа IL4Ra человека или макак-крабоедов, соответственно.

При проведении анализа планшеты инкубировали при комнатной температуре в течение 4 ч, затем оценивали уровень флуоресценции (с разрешением во времени) при 620 нм и 665 нм, при этом использовали планшет-ридер EnVision (фирмы Perkin Elmer).

Полученные данные использовали для расчета величины AF (%) для каждого образца. AF рассчитывали по уравнению 1.

Уравнение 1

$$\Delta F (\%) = \frac{(665 \text{ нм} / 620 \text{ нм образца}) - (665 \text{ нм} / 620 \text{ нм контроля}^*)}{(665 \text{ нм} / 620 \text{ нм контроля}^*)} \times 100$$

Контроль* - образец для оценки неспецифического связывания. Затем, используя $\Delta F (\%)$, по уравнению 2 рассчитывали величину специфического связывания.

Уравнение 2

$$\text{Специфическое связывание}(\%) = \frac{\Delta F (\%) \text{ образца}}{\Delta F (\%) \text{ контроля}} \times 100$$

Определение K_i

При оценке K_i для scFv для белков человека и белков макак-крабоедов получали серийные разведения препаратов очищенных scFv. 5 мкл предварительной смеси "А" добавляли в лунки 384-луночного микротитрационного планшета (фирмы Costar, Costar 3676). Затем добавляли 5 мкл разбавленного образца scFv и 10 мкл предварительной смеси "Б".

В ходе анализа связывания рецептора с лигандом для оценки неспецифического связывания использовали моноклональные мышиные антитела IgG2a, клон 25463 (фирмы R&D Systems) при конечной концентрации ИЛ-4 10 нМ или 50 нМ использовании (экспрессировали в E.coli в лаборатории) для анализа IL4Ra человека или макак-крабоедов, соответственно.

При проведении анализа планшеты инкубировали при комнатной температуре в течение 4 ч, затем оценивали уровень флуоресценции (с разрешением во времени) при 620 нм и 665 нм, при этом использовали планшет-ридер EnVision (фирмы Perkin Elmer).

Полученные данные использовали для расчета величины $\Delta F (\%)$ для каждого образца. ΔF рассчитывали по уравнению 1.

Уравнение 1

$$\Delta F (\%) = \frac{(665 \text{ нм} / 620 \text{ нм образца}) - (665 \text{ нм} / 620 \text{ нм контроля}^*)}{(665 \text{ нм} / 620 \text{ нм контроля}^*)} \times 100$$

Контроль* - образец для оценки неспецифического связывания.

Затем, используя $\Delta F (\%)$, по уравнению 2 рассчитывали величину специфического связывания.

Уравнение 2

$$\text{Специфическое связывание}(\%) = \frac{\Delta F (\%) \text{ образца}}{\Delta F (\%) \text{ контроля}} \times 100$$

Значения IC_{50} определяли с использованием программного обеспечения GraphPad Prism, аппроксимируя кривые с использованием четырехпараметрического логистического уравнения (уравнение 3).

Уравнение 3

$$Y = \min + (\max - \min) / (1 + 10^{((\log EC_{50} - X) * \text{коэф. Хилла}))}$$

X обозначает логарифм концентрации. Y обозначает величину специфического связывания.

Y изменяется от минимального значения (min) до максимального (max) по S-образной кривой.

Значения K_i рассчитывали с использованием значений IC_{50} по уравнению Ченга-Пруссоффа (уравнение 4).

Уравнение 4

$$K_i = IC_{50} / (1 + [L] / K_d)$$

Пример 3

Модификация IgG2 на основе scFv

3.1

Клоны конвертировали, при этом на основе scFv получали IgG, с этой целью V_H и V_L домены клонировали в векторах, экспрессирующих тяжелые и легкие цепи полноразмерных антител соответственно. V_H домен клонировали в вектор (pEU9.2), содержащий константные домены тяжелой цепи антител человека и регуляторные элементы для экспрессии тяжелой цепи полноразмерного IgG в клетках млекопитающих. Аналогичным образом V_L домен клонировали в вектор (pEU4.4) для экспрессии константных доменов легкой λ -цепи антител человека с регуляторными элементами для экспрессии легкой цепи полноразмерного IgG в клетках млекопитающих. Векторы для экспрессии тяжелых цепей и легких цепей подробно описаны в статье Peric и др. Gene, 187, 9-18 (1997). Указанные векторы получали, вводя OriP элемент. Для получения IgG векторы, экспрессирующие тяжелую и легкую цепи, трансфектировали в клетки млекопитающих EBNA-HEK293 (фирмы Invitrogen, R620-07-). Указанные клетки экспрессировали и секретировали в культуральную среду IgG. Клетки собирали и фильтровали. IgG очищали методом хроматографии на иммобилизованном белке A. Культуральные супернатанты наносили на колонку Ceramic Protein A (фирмы BioSeptra) соответствующего размера, и промывали буферным раствором следующего состава: 50 mM трис-HCl (pH 8,0), 250 mM NaCl. Связавшиеся антитела IgG элюировали из колонки 0,1 M цитратом натрия (pH 3,0), и нейтрализовали при добавлении трис-HCl (pH 9,0). Элюат переводили в буферный раствор ФСБ, используя колонки Nap10 (фирмы Amersham, №17-0854-02), концентрацию IgG определяли спектрофотометрически по коэффициенту экстинкции на основе аминокислотной последовательности IgG (см. статью Mach и др., Anal Biochem., 200 (1), 20-26 (1992)). Очищенный IgG анализировали, оценивая агрегативную устойчивость или уровень деградации методом эксклюзионной ЖХВР и методом электрофореза ДСН-ПААГ.

3.2 Ингибирование ИЛ-13 и ИЛ-4 индуцированной пролиферации клеток TF-1 с использованием антител IgG

Ингибирующую активность очищенных препаратов IgG в отношении биологической активности ИЛ-13 и ИЛ-4 человека оценивали методом анализа пролиферации клеток TF-1. TF-1 представляет собой клеточную линию миелоидных клеток-предшественников человека, полученных от пациента, страдающего от эритролейкоза (см. статью Kitamura и др., J. Cell Physiol., 140(2), 323-334 (1989)).

Клеточная линия TF-1 является факторзависимой клеточной линией в отношении выживания и пролиферации клеток. Установлено, что клетки TF-1 чувствительны к ИЛ-13 и к ИЛ-4 человека (фирмы Reprotech, получены в E.coli). Ингибирование ИЛ-4 и ИЛ-13 зависимой пролиферации клеток оценивали по снижению уровня включения тимидина, меченного тритием, в вновь синтезируемую ДНК делящихся клеток. 5 Подробное описание методики приводится в разделе 3.2.1 "Материалы и методы".

Ингибирование ИЛ-13 и ИЛ-4 индуцируемой пролиферации клеток TF-1 препаратами антител 1, модифицированными IgG, зависело от концентрации антител. 10 Среднегеометрическое значение IC₅₀ для антител 1 в отношении ИЛ-13 и ИЛ-4 составляло 18 нМ и 38 нМ, соответственно.

3.2.1 Материалы и методы, ингибирование ИЛ-4 и ИЛ-13 индуцируемой пролиферации клеток TF-1 в присутствии очищенных IgG

Клетки TF-1 (фирмы R&D Systems) культивировали по методике фирмы-изготовителя. В качестве среды для анализа использовали среду RPMI-1640, 15 содержащую препарат GLUTAMAX I (фирмы Invitrogen), 5% эмбриональную телячью сыворотку (ЭТС, фирмы JRH), 1% пируват натрия (фирмы Sigma), пенициллин/стрептомицин (1-2%). Перед каждым анализом клетки TF-1 отделяли центрифугированием (300×g) в течение 5 мин, среду отделяли с в вакууме, и клетки ресуспендировали в среде для анализа. Указанные стадии повторяли дважды, при этом конечная концентрация ресуспендированных клеток составила 2×10⁵ клеток/мл 20 среды для анализа. Суспензию клеток переносили в 96-луночный планшет (100 мкл в лунке). Анализируемые растворы IgG (в 2 повторях) разбавляли средой для анализа до требуемой концентрации. В качестве отрицательного контроля использовали 25 антитела с другой специфичностью, т.е. не взаимодействующие с IL-4Rα.

Конкурентный анализ проводили в следующих условиях: 50 мкл каждого рекомбинантного бактериального ИЛ-4 или ИЛ-13 человека (фирмы Reprotech) и 30 серийных разведений соответствующего анализируемого антитела последовательно добавляли в лунки, содержащие 100 мкл клеток. Таким образом конечный объем анализируемой смеси составлял 200 мкл в лунке, при этом конечная концентрация в случае ИЛ-4 составляла 18 пМ или в случае ИЛ-13 составляла 400 пМ.

Концентрацию ИЛ-4 и ИЛ-13 подбирали таким образом, чтобы уровень пролиферации составлял приблизительно 50% от максимальной величины. 35

Планшеты инкубировали в течение 72 ч при 37°C в атмосфере 5% CO₂. В каждую лунку добавляли 20 мкл тимидина, меченного тритием (5 мкКи/мл), и планшеты инкубировали в инкубаторе в течение еще 4-5 ч. Клетки собирали в планшетах со 40 стекловолоконными фильтрами (фирмы Perkin Elmer), с использованием коллектора клеток. Количество включенного тимидина оценивали с использованием жидкостного сцинтилляционного счетчика Packard TopCount для микропланшетов. Затем полученные данные анализировали с использованием программного обеспечения Graphpad Prism.

45 Пример 4

Оптимизация антител

4.1 Оптимизация исходного клона методом направленного мутагенеза

Преимущество настоящего изобретения заключается в разработке и получении 50 антител против IL4Rα человека, которые проявляют также перекрестную реактивность к ортологическому белку из другого вида, например из макак-крабоедов. Такие антитела позволят упростить их характеризацию с точки зрения фармакологических свойств и оценки их безопасности in vivo. Эффективность и

аффинность к белкам других видов, которые, например, отличаются по активности менее чем в 10 раз по сравнению с белками человека, можно использовать сами по себе и для других методов анализа.

Для получения антител с необходимой межвидовой перекрестной активностью исходные антитела (антитело 1) оптимизировали с целью повышения их аффинности как в отношении IL4R α человека, так и в отношении IL4R α макака-крабоедов. Для этого использовали метод направленного мутагенеза и селекцию фаговых отображений белков с учетом их аффинности. При осуществлении направленного мутагенеза были получены многочисленные scFv-фаговые библиотеки, для этого проводили олигонуклеотидный направленный мутагенез определяющих комплементарность областей 3 (CDR3) переменных участков тяжелой (V_H) и легкой (V_L) цепей, соответственно, с использованием стандартных методов молекулярной биологии, как описано в статье Clackson и Lowman, A Practical Approach, Oxford University Press (2004).

Библиотеки анализировали методом селекции фаговых отображений белков с учетом их аффинности, при этом выбирали варианты, характеризующиеся более высокой аффинностью в отношении IL-4R α человека и макака-крабоедов. Селекцию проводили в основном, как описано ранее в статье Thompson, Journal of Molecular Biology, 256, 77-88 (1996). Краткое описание методики: частицы scFv-фагов инкубировали в растворе, содержащем рекомбинантный биотинилированный IL-4R α человека или макака-крабоедов (bio-huIL-4R α FLAG HIS или bio-cyno-IL-4R α Fc HIS, оба типа белков получены в лаборатории из клеток HEK-EBNA). Тип используемого антигена использовали поочередно в каждом последующем цикле селекции. scFv-фаг, связавшийся с антигеном, собирали с использованием покрытых стрептавидином магнитных частиц (Dynabeads® M280) по методике фирмы-производителя. Отобранные частицы scFv-фагов затем выделяли, как описано ранее в статье Osbourn J. K. и др., Immunotechnology, 2(3), 181-196 (1996), затем процесс селекции повторяли в присутствии уменьшающихся концентраций bio-huIL-4R α или bio-cyno-IL-4R α , при этом тип используемого антигена использовали поочередно в каждом последующем цикле селекции (концентрацию изменяли от 500 нМ до 250 пМ в ходе 6 циклов).

После завершения 6 циклов селекции рандомизированные библиотеки V_H и V_L объединяли, при этом получали одну библиотеку, в которой клоны содержали произвольные парные комбинации индивидуальных рандомизированных последовательностей V_H и V_L . Затем процесс селекции проводили, как описано ранее в присутствии уменьшенных концентраций bio-huIL-4R α или bio-cyno-IL-4R α , при этом тип используемого антигена использовали поочередно в каждом последующем цикле селекции (концентрацию изменяли от 2,5 нМ до 0,5 пМ в ходе 5 циклов).

4.2 Оптимизация антител методом неспецифического мутагенеза Одно из антител (антитело 20) дополнительно оптимизировали методом неспецифического мутагенеза для идентификации ключевых аминокислотных остатков в составе последовательности антитела, с целью повышения уровня связывания антител с IL4R α человека и макака-крабоедов. Многочисленные scFv-фаговые библиотеки получали за счет случайных мутаций в составе переменных участков антитела 20 (scFv последовательности). Указанные мутации получали в ходе двух циклов мутагенеза, с использованием набора Diversify PCR для неспецифического мутагенеза (фирмы BD biosciences), по методике фирмы-производителя, для включения в среднем 8,1 мутаций на тысячу оснований в составе нуклеотидной

последовательности в ходе одного цикла мутагенеза. Мутагенез проводили по методике, описанной в заявке W02006/072801 (фирмы Cambridge Antibody Technology). Библиотеки анализировали методом селекции фаговых отображений белков с учетом их аффинности, при этом выбирали варианты, характеризующиеся более высокой аффинностью в отношении IL-4R α человека и макак-крабоедов.

Селекцию проводили, как описано ранее в статье Thompson, Journal of Molecular Biology, 256, 77-88 (1996). Краткое описание методики: частицы scFv-фагов инкубировали в растворе, содержащем рекомбинантный биотинилированный IL-4R α человека или макак-крабоедов (bio-huIL-4R α FLAG HIS или bio-cyno-IL-4R α Fc HIS, оба типа рецептора получены в лаборатории из клеток НЕК-EBNA). Тип используемого антигена использовали поочередно (использовали белки человека или макак-крабоедов), с целью повышения аффинности в отношении указанных типов IL-4R α , соответственно. scFv-фаг, связавшийся с антигеном, собирали с использованием покрытых стрептавидином магнитных частиц (Dynabeads[®] M280) по методике фирмы-производителя. Отобранные scFv-фаги затем выделяли, как описано ранее в статье Osbourn J. K. и др., Immunotechnology, 2(3), 181-196 (1996), затем процесс селекции повторяли, используя уменьшающиеся концентрации bio-huIL-4R α или bio-cyno-IL-4R α (концентрацию изменяли от 20 нМ до 1 пМ в ходе 4 циклов).

4.3 Идентификация более эффективных клонов, полученных неспецифическим мутагенезом, методом связывания рецептора с лигандом

ScFv, полученные в ходе селекции вариантов направленного и неспецифического мутагенеза, экспрессировали в бактериальной плазмиде и анализировали методом связывания рецептора с лигандом на основе гомогенной флуоресценции с разрешением во времени (HTRF[®]), при этом проводили два параллельных анализа, а именно для оценки ингибирующей активности как в отношении IL4R α человека, так и IL4R α макак-крабоедов. Подробное описание методики приводится в разделе 2.4 "Материалы и методы". Для scFv, характеризующихся высокой ингибирующей активностью по данным обоих анализов, определяли нуклеотидную последовательность ДНК, и уникальные последовательности scFv получали в виде очищенных препаратов.

Активность очищенных scFv-антител оценивали методом конкурентного связывания серийных разведений очищенных препаратов scFv и ИЛ-4 с IL4R α . Анализы связывания рецептора с лигандом для белков человека и макак-крабоедов проводили в параллельных экспериментах, как описано в разделе 2.4 "Материалы и методы".

Типичная эффективность scFv для каждого образца приводится в таблице 1.

Таблица 1

scFv	K _i (нМ), среднегеометрическое значение (95% доверительный интервал указан в скобках)				
	IL4R человека	IL4R макак-крабоедов	scFv	IL4R человека	IL4R макак-крабоедов
Антитело 1	12,0 (8,7, 16,6)	Неполное связывание	Антитело 24	49 пМ (25, 94)	0,8 (0,5, 1,0)
Антитело 2	0,6 (0,5, 0,7)	4,3 (2,1, 8,9)	Антитело 24PGL	65 пМ	0,7
Антитело 3	0,5	48,0	Антитело 25	39 пМ (20, 79)	1,3 (0,7, 2,7)
Антитело 4	0,8 (0,4, 1,8)	6,8 (3,4, 13,6)	Антитело 26	0,1	1,2
Антитело 5	0,6 (0,1, 2,8)	3,8 (1,8, 8,2)	Антитело 27	63 пМ	2,8
Антитело 6	0,3	3,5	Антитело 28	94 пМ	1,8
Антитело 7	1,1	16,5	Антитело 29	61 пМ	2,4

5	Антитело 8	0,4	9,4	Антитело 30	69 пМ	3,6
	Антитело 9	0,1 (0,1, 0,3)	12,9 (9,0, 19)	Антитело 31	44 пМ (26, 76)	2,2 (1,4, '3,4)
	Антитело 10	0,5	19,6	Антитело 32	75 пМ	1,3
	Антитело 11	0,7	26,1	Антитело 33	92 пМ	1,4
	Антитело 12	0,3	7,2	Антитело 34	56 пМ	1,2
	Антитело 13	0,3	22,2	Антитело 35	71 пМ	2,6
	Антитело 14	0,6 (0,4, 0,9)	27,7	Антитело 36	0,1	5,3
	Антитело 15	1,0 (0,8, 1,2)	32,3	Антитело 37	40 пМ (30, 51)	0,8 (0,7, 1,0)
	Антитело 16	0,4 (0,2, 1,0)	8,7	Антитело 37 GL	61 пМ (40, 92)	0,7 (0,5, 1,1)
10	Антитело 17	0,9	43,5	Антитело 38	66 пМ	2,7
	Антитело 18	0,7	56,5	Антитело 39	27 пМ	1,6
	Антитело 19	0,8 (0,4, 1,6)	18,5	Антитело 40	31 пМ	6,5
	Антитело 20	0,7 (0,6, 0,8)	4,2 (3,4, 5,3)	Антитело 41	53 пМ	2,7
	Антитело 21	31 пМ (13, 76)	1,0 (0,5, 1,9)	Антитело 42	27 пМ (16, 49)	2,5 (1,4, 4,5)
	Антитело 22	0,3	2,6			
15	Антитело 23	0,2	4,8			

4.4 Ингибирование ИЛ-13 и ИЛ-4 индуцированной пролиферации клеток TF1 в присутствии оптимизированных клонов

Ингибирующую активность очищенных scFv антител анализировали методом пролиферации клеток TF1.

Наиболее активные клоны (по данным анализа методом пролиферации клеток TF-1) использовали для модификации IgG, как описано выше, которые также анализировали методом пролиферации клеток TF-1. Типичная эффективность IgG для каждого образца приводятся в таблице 2.

Таблица 2		
Типичная эффективность улучшенных клонов (по данным анализа пролиферации клеток TF-1) для оптимизированных клонов		
30	Клон (незародышевого типа)	IC ₅₀ (пМ)
		ИЛ-4 ИЛ-13
	Антитело 2	41,7 (33,2, 52,3) 171 (68,0,429)
	Антитело 4	20,9 (13,5, 32,3) 58,1
	Антитело 7	12,3 42,7
	Антитело 8	7,9 22,4
	Антитело 9	8,88 (5,94, 13,3) 20,4 (13,9,29,9)
35	Антитело 10	10,1 25,4
	Антитело 11	18,8 32,7
	Антитело 12	18,2 40,7
	Антитело 14	3,8 27,2
	Антитело 15	2,8 17,8
40	Антитело 16	6,2 19,5
	Антитело 19	7,6 22,4
	Антитело 20	31,1 (19,9, 48,6) 66,1 (34,2, 128)
	Антитело 13	15,7 (7,47, 33,1) 24,6
	Антитело 21	19,7 34,7
45	Антитело 24	12,6 (9,5, 16,7) 30,2 (14,5,62,8)
	Антитело 25	9,8 23,2
	Антитело 31	20,2 44,2
	Антитело 37	10,4 (7,5, 14,5) 22,1 (11,7, 41,8)
	Антитело 42	20,2 42,7
	12 B5*	42,7 (25,9, 70,4) 79,1 (34,7, 180)
50	* 12 B5 обозначает стандартное антитело, которое получали по методике, описанной в заявке WO 01/92340.	

4.5 Получение фрагментов антител зародышевого типа

Аминокислотные последовательности V_H и V_L доменов оптимизированных

анти-IL-4R α антител сравнивали с последовательностями известных антител человека зародышевого типа из базы данных VBASE (MRC, Centre For Protein Engineering), и идентифицировали последовательность зародышевого типа с самой высокой степенью гомологии. Наибольшей гомологией с V_H доменами оптимизированных антител характеризуется вариант Vhl_DP-7_(1-46), а с V_L характеризуется вариант VUJDPL5.

Без учета остатков Верньера (см. статью Foote и Winter, J. Mol. Biol., 224(2), 487-499 (Mar.20, 1992)), которые не изменяли, выявлены 3 мутации в составе V_H доменов и 2 мутации в составе V_L доменов антитела 37, все указанные мутации обращали для получения последовательности с наибольшей гомологией с антителами человека зародышевого типа. Антитело 24 содержало одну мутацию в составе V_H доменов и 2 мутации в составе V_L доменов, которые отличаются от последовательности с наибольшей гомологией с антителами человека зародышевого типа. Мутацию 37 (согласно нумерации Кабата) в домене V_H и мутацию 73 (согласно нумерации Кабата) в домене V_L обращали для получения последовательности с наибольшей гомологией с антителами человека зародышевого типа. Аминокислотную замену в положении 87 в составе V_L домена не изменяли для сохранения уровня ингибирующей активности (антитело 24PGL). Включение указанных аминокислотных остатков зародышевого типа проводили с использованием стандартных способов сайт-специфичного мутагенеза с использованием соответствующих мутагенных праймеров.

Последовательность антитела 37GL scFv клонировали в клонирующий вектор, включали в клетки E. coli Top 10 (F-mcrA Δ (mrr-hsdRMS-mcrBC) Φ 801acZAM15 Δ 1acX74 recA1 araD139 Δ (araleu) 7697 galU galK rpsL (StrR) endA1 nupG) и штамм депонировали (9 декабря 2008) в соответствии с будапештским соглашением в базе данных NCIMB (Абердин, Шотландия). В данном контексте клон назван "Антитело 37 GL", а в базе данных NCIMB ему соответствует номер NCIMB 41600.

Отсутствие снижения активности IgG зародышевого типа подтверждали методом ИЛ-4 и ИЛ-13 индуцируемой пролиферации клеток TF-1. Типичная эффективность антител зародышевого типа (GL) приводится в таблице 3.

Типичная эффективность оптимизированных клонов зародышевого типа по данным метода ИЛ-4 и ИЛ-13 индуцируемой пролиферации клеток TF-1		
Клон (зародышевый тип)	IC ₅₀ (нМ)	
	ИЛ-4	ИЛ-13
Антитело 24 (PGL)	15,3 (6,63, 35,1)	55,0 (29,3, 103,1)
Антитело 37 (PGL)	14,9 (7,8, 28,6)	41,7 (18,6, 93,4)
Антитело 37 (FGL)	11,4 (9,8, 13,3)	21,1 (12,4, 35,9)

Значения приводятся в виде среднегеометрических величин и 95% доверительных интервалов.

4.6 Анализ селективности и межвидовой перекрестной иммунореактивности оптимизированных антител методом DELFIA[®] (диссоционно-усиленный лантанидный флуоресцентный иммуноанализ) в формате конкурентного связывания с эпитопом

Межвидовую перекрестную активность и селективность антител в отношении IL-4R α и структурно родственных молекул, IL13R α 1/Fc, IL13R α 2/Fc, а также общей γ -цепи (IL-2R γ), оценивали методом DELFIA[®], в формате конкурентного связывания с

эпитопом. Анализ величины относительной перекрестной (межвидовой) активности оценивали по уровню ингибирования биотинилированного IL-4R α /HIS/FLAG (получен в лаборатории в клетках HEK-EBNA) при связывании с каждым из

- 5 Серийные разведения очищенных IL13R α 1/Fc, IL13R α 2/Fc и общей γ -цепи (IL-2R γ) (все препараты фирмы R&D Systems) использовали в каждом анализе, и определяли профиль специфичности для каждого структурно родственного белка, при этом определяли значения IC₅₀.
- 10 Серийные разведения вариантов IL-4R α , включая IL-4R α /HIS/Fc макак-крабоедов (получен в лаборатории в клетках HEK-EBNA), IL-4R α -I75V/Fc человека (фирмы AstraZeneca), IL-4R α /Fc человека и IL-4R α мыши (оба препарата фирмы R&D Systems) использовали в каждом анализе, для определения межвидовой перекрестной
- 15 использовали в качестве положительного контроля. IL-4R α /HIS/Fc человека и макак-крабоедов, а также IL-4R α -I75V/Fc человека характеризуются перекрывающимися кривыми ингибирования и эквивалентными IC₅₀. В случае IL-4R α мыши или любых исследованных родственных белков человека ингибирование не наблюдалось.
- 20 Согласно полученным данным антитело 37GL характеризуется перекрестной активностью в отношении IL-4R α макак-крабоедов и IL-4R α -I75V человека, но не связывалось с IL-4R α мыши или любым из исследованных белков человека, характеризующихся высокой гомологией в отношении IL-4R α человека. Подробное описание методики приводится в разделе 4.6.1 "Материалы и методы".

25 4.6.1 Материалы и методы, анализ методом DELFIA в формате конкурентного связывания с эпитопом

- Очищенные IgG в ФСБ адсорбировали на поверхности лунок 96-луночных микротитрационных планшетов MaxiSorp (фирмы Nunc), при этом антитела
- 30 использовали в концентрации, при которой наблюдается существенный сигнал при взаимодействии с биотинилированным IL-4R α /HIS/FLAG человека, который добавляли в количестве, соответствующем приблизительно величине K_D для указанного IgG. Избыток IgG отмывали буферным раствором ФСБ-твин (0,1% об./об.), и поверхность лунок блокировали раствором ФСБ-Marvel (3% мас./об.) в течение 1 ч. Затем с использованием ФСБ получали серийные разведения каждого из
- 35 следующих конкурирующих элементов, начиная с концентрации приблизительно 400 раз выше величину K_D, рассчитанную при взаимодействии биотинилированного IL-4R α человека и соответствующим IgG, IL-4R α /Fc человека (фирмы R&D Systems, 604-4R-050), IL-4R α -I75V/Fc человека (фирмы AstraZeneca), IL-4R α /HIS/Fc макак-
- 40 крабоедов (получен в лаборатории), IL4R α /Fc мыши (фирмы R&D Systems, 530-MR-100), общей γ -цепи рецептора человека (sIL-2R γ , фирмы R&D Systems, 384-RG-050-CF), IL-13R α 1/Fc человека (фирмы R&D Systems, 146-IR-100), IL-13R α 2/Fc человека (фирмы R&D Systems, 614-IR-100). Небиотинилированный IL-4R α /HIS/FLAG человека
- 45 использовали в качестве положительного контроля. К указанным серийным разведениям добавляли равный объем биотинилированного рекомбинантного IL-4R α человека в концентрации в 2 раза выше K_D (в серийных разведениях конкурирующий антиген/биотинилированный IL-R α человека составлял
- 50 приблизительно 200:1). Затем полученные смеси переносили в лунки с иммобилизованными IgG, обработанные блокирующим раствором, и инкубировали в течение 1,5 ч. Несвязавшийся антиген удаляли при промывке раствором ФСБ-твин (0,1% об./об.), и количество связавшегося биотинилированного IL-4R α человека

детектировали, используя конъюгат стрептавидина и европия (анализ методом DELFIA фирмы PerkinElmer). Флуоресценцию с разрешением во времени оценивали при 620 нм на планшет-ридере EnVision (фирмы PerkinElmer). По данным флуоресцентного анализа рассчитывали величину специфического связывания (%) (за 100% связывания принимали величину, рассчитанную для контрольных лунок, содержащих биотинилированный IL-4R α человека, но не содержащих конкурирующий элемент, за 0% связывания принимали величину, рассчитанную для контрольных лунок, содержащих биотинилированный IL-4R α человека и 1000-кратный избыток небитинилированного IL-4R α человека). Полученные результаты анализировали с использованием программного обеспечения Prism Graphpad, и рассчитывали величины IC₅₀.

4.7 Оценка аффинности оптимизированных клонов методом анализа BIAcore

Аффинность связывания образцов очищенных IgG из типичной панели антител против IL-4R α человека и макак-крабоедов оценивали методом поверхностного плазменного резонанса с использованием биосенсора BIAcore 2000 (фирмы BIAcore AB), анализ проводили по методике, описанной ранее в статье Karlsson и др., J. Immunol. Methods, 145(1-2), 229-240 (1991). Краткое описание методики: белок G' (фирмы Sigma Aldrich, P4689) ковалентно иммобилизовали на поверхности чипа-сенсора CM5 с использованием стандартных реагентов для аминоконденсации по методике фирмы-производителя (фирма BIAcore). Биочип с иммобилизованным белком G' использовали для связывания постоянного количества очищенных анти-IL-4R α антител или контрольного изотипа антител через Fc-фрагмент антител. Растворы IL-4R α /HIS/FLAG человека или макак-крабоедов в буферном растворе HBS-EP (фирмы BIAcore AB), с концентрацией в диапазоне от 100 нМ до 0,2 нМ прокачивали через указанный биочип. Перед каждым введением антител рабочую поверхность биочипа регенерировали, используя 10 мМ раствор глицина (рН 1,75). Полученные сенсограммы анализировали с использованием программного обеспечения BIA evaluation 4.1, и представляли в виде модели Ленгмюра в масштабе 1:1, при этом рассчитывали относительную величину связывания. Эксперименты проводили в течение по меньшей мере трех различных дней для расчета средней величины одновалентной аффинности. Согласно полученным данным аффинность антител 37GL в отношении IL-4R α человека и макак-крабоедов характеризуется величиной K_D приблизительно 504 пМ и 4,4 нМ, соответственно, как указано в таблице 4.

Типичный кинетический анализ связывания образцов из обычной панели антител с IL4R α человека и макак-крабоедов						
	IL4R α /HIS/FLAG человека			IL4R α /HIS/FLAG макак-крабоедов		
	Ka (M ⁻¹ c ⁻¹)	Kd (c ⁻¹)	K _D (нМ)	Ka (M ⁻¹ c ⁻¹)	Kd (c ⁻¹)	K _D (нМ)
Антитело 2	6,51×10 ⁵	2,94×10 ⁻³	4,51	9,67×10 ⁴	4,59×10 ⁻³	47,5
Антитело 9	5,43×10 ⁵	2,29×10 ⁻⁴	0,422	1,31×10 ⁵	1,63×10 ⁻²	124
Антитело 20	6,98×10 ⁵	8,73×10 ⁻⁴	1,25	1,63×10 ⁵	4,52×10 ⁻³	27,7
Антитело 37	6,40×10 ⁵	1,62×10 ⁻⁴	0,255 (0,313, 0,250, 0,203)	2,43×10 ⁵	6,88×10 ⁻⁴	2,97 (2,59, 2,36, 3,96)
Антитело 37GL	6,88×10 ⁵	3,46×10 ⁻⁴	0,504 (0,533, 0,531, 0,459)	2,44×10 ⁵	1,08×10 ⁻³	4,41 (4,67, 4,34, 4,41)

Пример 5

Картирование эпитопов IL-4R α : взаимодействие антител с использованием гибридных (человек/мышь) внеклеточных доменов IL4R α

5.1 Получение полноразмерных гибридных IL-4R α с замещенными доменами

Связывающиеся элементы по изобретению эффективно связываются с IL4R α человека, но чрезвычайно слабо (связывание практически отсутствует) с IL-4R α мыши. С учетом указанного свойства были получены гибридные IL-4R α для картирования эпитопов. Полноразмерные гибридные элементы с заменами доменов получали, заменяя домен 1 (D1) (M1-E119) или домен 2 (D2) (H120-F229) внеклеточного домена IL-4R α человека на соответствующие последовательности IL-4R α мыши. Гибридные соединения с заменами петель получали, заменяя области петель, которые, как известно, взаимодействуют с ИЛ-4 (см. статью Hage и др., Cell, 97, 271-281 (1999)) IL-4R α человека на соответствующие области IL-4R α мыши. Связывание полученных гибридных элементов с антителами анализировали методом конкурентного анализа HTRF (гомогенная флуоресценция с разрешением во времени). В ходе анализа антитела, меченные криптоном Eu³⁺, взаимодействовали с IL-4R α человека, меченным биотином. Взаимодействие детектировали методом FRET (резонансный перенос энергии флуоресценции) при взаимодействии криптона Eu и XL665, меченного стрептавидином (см. статью Mathis и др., Clin Chem, 41, 1391-1397 (1995)).

5.1.1 Материалы и методы, клонирование, экспрессия и очистка гибридных элементов

кДНК, кодирующие гибридный внеклеточный домен IL-4R α человека (аминокислотные остатки 1-229 NP_000409) и внеклеточный домен IL-4R α мыши (аминокислотные остатки 1-230 NP_001008700), синтезировали методом клонирования и наращивания цепи ПЦР с использованием праймеров, и клонировали в pDONR221 (фирмы Invitrogen, номер по каталогу 12536-017). Фрагменты кДНК, кодирующие гибридные внеклеточные домены IL-4R α , затем включали в вектор экспрессии pDEST12.2 млекопитающих (фирмы Invitrogen), при этом использовали набор LR Gateway, содержащий клоназу II, по методике фирмы-производителя (фирма Invitrogen, номер по каталогу 12538-120). В вектор pDEST12.2 модифицировали, при этом в указанный вектор в рамку считывания включали FLAG 10xhis tag (DYKDDDDKAANNNNNNNNNN, например, см. SEQ ID №460, положения 252-261) и требуемый ген, а также включали сайт инициации репликации oriP из вектора pCER4 (фирмы Invitrogen, номер по каталогу V044-50), обеспечивающий эписомальную репликацию плазмиды при трансфекции в клеточные линии, экспрессирующие рекомбинантный продукт EBNA-1 (такие, как клетки HEK293-EBNA). Белок, экспрессируемый в супернатант клеток HEK293-EBNA, очищали методом аффинной хроматографии на колонке Ni-NTA (колонка HisTrap HP, фирмы GE Healthcare, номер по каталогу 17-5248-02), затем очищали методом эксклюзионной хроматографии (колонка Superdex 200, фирмы GE Healthcare, номер по каталогу 17-1069-01).

Последовательность внеклеточного домена IL-4R α человека (положения 1-229, NP_000409), вектор, кодирующий последовательность (положения 230-241), FLAG tag (положения 242-249) и 10xhis tag (положения 252-261) представлены в последовательности SEQ ID №460. Последовательность внеклеточного домена IL-4R α мыши (положения 1-230, NP_001008700), вектор, кодирующий последовательность (положения 233-242), FLAG tag (положения 243-250) and 10xhis tag (положения 253-262) представлены в последовательности SEQ ID №461.

5.1.2 Связывание антител с гибридными IL-4R α

Антитела, меченные криптоном, получали с использованием набора для введения

метки, содержащий криптат Eu^{3+} (фирмы CisBio International, номер по каталогу 62EUSPEA), по методике фирмы-изготовителя, IL-4R α /Fc (фирмы R&D systems, номер по каталогу 604-4R-050) биотинилировали, используя набор EZ Link NHS-Biotin (фирмы Perbio, номер по каталогу 20217) по методике фирмы-изготовителя. Анализ проводили с использованием 0,4 нМ антител, меченных криптатом, 0,25 нМ биотинилированного IL-4R α /Fc, 2,5 нМ стрептавидина XL665 (фирмы CisBio International, номер по каталогу 611SAXLB) в 1х ДФСБ, 0,1% БСА, 0,4 М фторида калия, при этом суммарный объем среды в лунках 384-луночного микротитрационного планшета (фирмы Greiner) составлял 20 мкл. В среду для анализа вводили серийные разведения анализируемых белков (концентрацию изменяли от 1000 нМ до 0,017 нМ), и планшеты инкубировали при 4°C в течение ночи. FRET сигнал детектировали на планшет-ридере PerkinElmer EnVision, при X возбуждения 320 нм и X испускания 620 нм и 665 нм. Результаты анализировали по соотношению 665/620, и рассчитывали уровень специфического связывания (%), при этом за 100% связывания принимали величину, полученную в отсутствие конкурирующего антигена. Результаты анализировали с использованием программного обеспечения Prism (фирмы GraphPad), используя S-образную модель зависимости ответной реакции от дозы.

5.2 Результаты

Связывание антител с гибридными элементами анализировали способом HTRF (гомогенная флуоресценция с разрешением во времени) методом конкурентного связывания. Элементы, которые связываются с антителом в том же паратипе, что и IL-4R α человека, ингибируют процесс связывания, что приводит к снижению регистрируемого сигнала. С использованием кривых зависимости ингибирования рассчитывали значения IC_{50} для IL-4R α человека, IL-4R α мыши и гибридных элементов (см. таблицу 5). Если элемент не полностью ингибировал связывание, то уровень ингибирования (%) оценивали при максимальной концентрации указанного элемента. Гибридные элементы, характеризующиеся величинами IC_{50} , сопоставимыми со значением для нативного IL-4R α человека, содержали полноразмерный эпитоп. Гибридные элементы, которые не полностью ингибировали связывание IL-4R α с антителами, или характеризующиеся более высоким значением IC_{50} , не содержали полноразмерного эпитопа. Полученные данные позволили локализовать эпитоп антител.

Таблица 5			
IC_{50} (нМ) гибридных элементов IL4R α , конкурирующих с IL4R α человека за связывание с антителами			
Гибридные элементы	Последовательность, NP000409	Последовательность, NP_001008700	IC_{50} (нМ), конкурентный метод анализа
HuIL-4R α	M1-F229		0,673
MoIL-4R α		M1-L230	45% ингибирование*
HuD1MoD2IL-4R α	M1-E119	N121-L230	3,4
MoD1HuD2IL-4R α	H120-F229	M1-G120	34% ингибирование*
MoLoop1HuIL-4R α	M1-Y38, S42-F229	I39-T41	1,9
MoLoop2HuIL-4R α	M1-L64, T73-F229	M65-L73	23
MoLoopSHuIL-4R α	M1-L88, Y99-F229	E90-R99	58% ингибирование*
MoLoop4HuIL-4R α	M1-W143, N151-F229	N145-N151	0,663
MoLoop5HuIL-4R α	M1-W204, T211-F229	S206-G211	1,4
AllMoLoopsHuIL-4R α	M1-Y38, S42-L88, Y99-W143, N151-W204, T211-F229	I39-T41, M65-173, E90-R99, N145-N151, S206-G211	41% ингибирование*

Оценивали способность гибридных элементов, содержащих аминокислотную

последовательность IL-4R α человека (NP_000409) и мыши (NP_001008700), конкурировать с IL-4R α человека за связывание с антителами. Для элементов, полностью ингибирующих процесс связывания, рассчитывали величину IC₅₀ по кривой зависимости ингибирования. *Если гибридный элемент не полностью ингибировал связывание IL-4R α человека с антителами, то оценивали уровень ингибирования (%) при максимальной концентрации гибридного элемента (1000 нМ).

Анализ связывания гибридных (человек/мышь) элементов IL-4R α позволил локализовать эпитоп IL-4R α человека, связывающийся с антителами.

Полноразмерные гибридные элементы, включающие замены доменов, содержали эпитоп к D1 домену IL-4R α человека (остатки M1-E119), так как гибридный элемент, D1 домен рецептора человека-D2 домен рецептора мыши конкурировала с IL-4R α человека, в то время как гибридный элемент, D1 домен рецептора мыши-02 домен рецептора человека не полностью ингибировала связывание IL-4R α человека (см. таблицу 5). Эпитоп практически полностью состоит из петлевых областей, поскольку гибридный элемент AllMoLoops и MoIL-4R α характеризуются практически одинаковым уровнем ингибирования связывания (см. таблицу 5).

IL-4R α человека включает пять петлевых областей, которые располагаются в непосредственной близости к ИЛ-4 в кристаллической структуре (см. статью Hage и др., Cell, 97, 271-281 (1999)). Гибридные элементы, содержащие замены петель, позволили локализовать эпитоп IL-4R α человека к основному компоненту в составе петли 3 (остатки L89-N98) и минорному компоненту петли 2 (остатки V65-H72).

Гибридные элементы, не содержащие петлю 3 рецептора человека, не ингибировали связывание IL-4R α человека с антителами, а гибридные молекулы, не содержащие петлю 2, характеризовались величиной IC₅₀, в 100 раз более высокой по сравнению с IL-4R α человека (таблица 5). Анализ данных для гибридных элементов, содержащих замены доменов, позволил установить, что петля 2 и петля 3 локализованы в составе D1 домена (см. статью Hage и др., Cell, 97, 271-281 (1999)).

Согласно указанным данным эпитоп антител локализован в виде прерывистого эпитопа, и включает 18 аминокислотных остатков, входящих в состав 2 петель IL-4R α человека, V65-H72 и L89-N98.

5.3 Дополнительная локализация эпитопа IL-4R α , связывающегося с эпитопом с использованием мутантных элементов MoLoop2Hu IL-4R α и MoLoop3HuIL-4R α

Для локализации "важных" остатков в составе эпитопа IL-4R α человека, связывающегося с антителами, получали мутантные IL-4R α человека, MoLoop2HuIL-4R α и MoLoop3HuIL-4R α , активность которых определяли методом конкурентного HTRF.

MoLoop2HuIL-4R α (таблица 5) модифицировали с целью замены аминокислотных остатков из фрагментов рецептора мыши обратно на аминокислотные остатки из рецептора человека. В случае замены "важных" остатков в составе эпитопа полученные элементы характеризовались более низкими значениями IC₅₀ по сравнению с MoLoop2HuIL-4R α (таблица 6). Три мутанта (конструкты EM18, EM22 и EM23) характеризовались величинами IC₅₀, сопоставимыми с IC₅₀ для MoLoop2HuIL-4R α (таблица 6). Кроме того, если остатки N72 и L73 из последовательности рецептора мыши вводили в состав IL-4R α человека, то полученный гибридный элемент характеризовался значительным ингибированием взаимодействия IL-4R α человека с антителами (см. таблицу 6). Полученные данные свидетельствуют о том, что остатки V65, A71 и H72 в составе IL-4R α человека не являются "важными" компонентами эпитопа, связывающегося с антителами.

Остальные три остатка из петли 2 рецептора мыши (F67, E68, F69) соответствовали двум остаткам из рецептора человека (L67, L68). Мутантные молекулы MoLoop2HuIL-4R α , в которых любой из двух остатков фенилаланина из фрагмента рецептора мыши замещали на остаток лизина из рецептора человека, характеризовались более низкой величиной IC₅₀ (см. таблицу 6). В случае удаления из MoLoop2HuIL-4R α остатка E68, входящего в состав фрагмента рецептора мыши, также отмечалось снижение IC₅₀, что позволяет предположить, что кислотный остаток глутаминовой кислоты в составе петли 2 рецептора мыши блокирует часть эпитопа, связывающегося с антителами. Кроме того, при включении всех трех остатков F67, E68, F69 из рецептора мыши в состав IL-4R α человека полученные гибридные элементы только незначительно ингибировали связывание IL-4R α человека с антителами (таблица 6). Согласно полученным данным остатки L67 и L68 из рецептора человека являются компонентами эпитопа IL-4R α человека, связывающегося с антителами.

Таблица 6		
IC ₅₀ (нМ) гибридных элементов IL-4R α , конкурирующих с IL-4R α человека за связывание с антителами		
Конструкт	Последовательность петли 2	IC ₅₀ (нМ), конкурентный метод анализа
IL-4R α человека	VfL-LseAH	0,673
MoLoop2HuIL-4R α	MfFEFseNL	25
EM18	VfFEFseNL	20
EM19	MfLEFseNL	4,5
EM20	MfF-FseNL	3,8
EM21	MfFELseNL	5,7
EM22	MfFEFseAL	19
EM23	MfFEFseNH	56
EM24	VfFEFseAH	13
EM25	VfL-LseNL	0,448

Оценивали способность гибридных элементов, включающих аминокислотные остатки M1-L64 и T73-F229 из IL-4R α человека (NP_000409) и различные фрагменты петли 2, конкурировать с IL-4R α человека за связывание с антителами. Консервативные остатки в составе рецептора человека и мыши приводятся в виде строчных букв, остатки рецептора человека, отличающиеся от остатков рецептора мыши, приводятся в виде заглавных букв и выделены полужирным курсивом, а остатки рецептора мыши, отличающиеся от остатков рецептора человека, приводятся в виде простых заглавных букв. Для элементов, полностью ингибирующих процесс связывания, рассчитывали величину IC₅₀ по кривым зависимости ингибирования.

Были получены мутантные варианты IL-4R α человека, с этой целью в петле 3 конкретные остатки заменяли на остатки из рецептора мыши (таблица 7). В случае замены "важных" остатков в составе эпитопа полученные молекулы характеризовались более низкими значениями величины IC₅₀ по сравнению с IL-4R α человека.

Два мутантных варианта характеризовались значительным снижением способности блокировать взаимодействие IL-4R α человека с антителами, что указывает на то, что они являются компонентами эпитопа. При модификации IL-4R α D92 человека в форму R (в мутантный вариант EM03) мутантный белок при концентрации 1000 нМ не ингибировал взаимодействие IL-4R α с антителами. При модификации IL-4R α V93 человека в форму P (в мутантный вариант EM04)

полученный белок характеризовался величиной IC_{50} в 20 раз выше величины IC_{50} IL-4R α человека (таблица 7). При сравнении мутаций L89E, D91N, S95Q, A96V и N98R IL-4R α человека (гибридные конструкторы EM01, EM02, EM05, EM06 и EM07) все конструкторы характеризовались величинами IC_{50} , сопоставимыми с величиной IC_{50} IL-4R α человека (таблица 3). Согласно полученным данным можно предположить, что эпитоп, связывающийся с антителами, включает D92 и V93 IL-4R α человека, и D92 является наиболее важным остатком, участвующим во взаимодействии IL-4R α человека с антителами.

Таблица 7		
IC_{50} (нМ) гибридных элементов IL-4R α , конкурирующих с IL-4R α человека за связывание с антителами		
Конструктор	Последовательность петли 3	IC_{50} (нМ), конкурентный метод анализа
IL-4R α человека	LmDDVvSAdN	0,673

MoLoop3HuIL-4R α	EmNRPvQSdR	45% ингибирование*
EM01	EmDDVvSAdN	0,71
EM02	LmNDVvSAdN	2,25
EM03	LmDRVvSAdN	29% ингибирование*
EM04	LmDDPvSAdN	15
EM05	LmDDVvQAdN	1,65
EM06	LmDDVvSSdN	3,25
EM07	LmDDVvSAdR	1,41

Оценивали способность гибридных элементов, включающих аминокислотные остатки M1-L88 и Y99-F229 из IL-4R α человека (NP_000409) и различные фрагменты петли 3, конкурировать с IL-4R α человека за связывание с антителами.

Консервативные остатки в составе рецептора человека и мыши приводятся в виде строчных букв, остатки рецептора человека, отличающиеся от остатков рецептора мыши, приводятся в виде заглавных букв и выделены полужирным курсивом, а остатки рецептора мыши, отличающиеся от остатков рецептора человека, приводятся в виде простых заглавных букв. Для элементов, полностью ингибирующих процесс связывания, рассчитывали величину IC_{50} по кривым зависимости ингибирования. *Если гибридный элемент не полностью ингибировало связывание IL-4R α человека с антителами, то оценивали уровень ингибирования (%) при максимальной концентрации гибридного элемента (1000 нМ).

Применение замены доменов и мутагенеза позволило локализовать эпитоп, связывающийся с антителами, в петлях 2 (остатки 65-72) и 3 (остатки 89-98) IL-4R α человека. В состав эпитопа входят также аминокислотные остатки L67 и L68 петли 2 и D92 и V93 петли 3 (см. SEQ ID №454 для локализации остатков 67, 68, 92 и 93).

Антитела по изобретению характеризуются также перекрестной активностью в отношении IL-4R α макак-крабеедов. Установлено, что остатки D92 и V93 присутствуют также в эпитопе IL-4R α макак-крабеедов.

Последовательности

Последовательности связывающихся элементов по изобретению приводятся в прилагавом "перечне последовательностей", в котором каждому элементу соответствует определенная SEQ ID №:

Последовательность	Описание
1	Антитело 1 VH, ДНК
2	Антитело 1 VH, ПРТ
3	Антитело 1 CDR1, ПРТ

5	4	Антитело 1 CDR2, ПРТ
	5	Антитело 1 CDR3, ПРТ
	6	Антитело 1 VL, ДНК
	7	Антитело 1 VL, ПРТ
	8	Антитело 1 CDR1, ПРТ
10	9	Антитело 1 CDR2, ПРТ
	10	Антитело 1 CDR3, ПРТ
	11	Антитело 2 VH, ДНК
	12	Антитело 2 VH, ПРТ
	13	Антитело 2 CDR1, ПРТ
15	14	Антитело 2 CDR2, ПРТ
	15	Антитело 2 CDR3, ПРТ
	16	Антитело 2 VL, ДНК
	17	Антитело 2 VL, ПРТ
	18	Антитело 2 CDR1, ПРТ
20	19	Антитело 2 CDR2, ПРТ
	20	Антитело 2 CDR3, ПРТ
	21	Антитело 3 VH, ДНК
	22	Антитело 3 VH, ПРТ
	23	Антитело 3 CDR1, ПРТ
25	24	Антитело 3 CDR2, ПРТ
	25	Антитело 3 CDR3, ПРТ
	26	Антитело 3 VL, ДНК
	27	Антитело 3 VL, ПРТ
	28	Антитело 3 CDR1, ПРТ
30	29	Антитело 3 CDR2, ПРТ
	30	Антитело 3 CDR3, ПРТ
	31	Антитело 4 VH, ДНК
	32	Антитело 4 VH, ПРТ
	33	Антитело 4 CDR1, ПРТ
35	34	Антитело 4 CDR2, ПРТ
	35	Антитело 4 CDR3, ПРТ
	36	Антитело 4 VL, ДНК
	37	Антитело 4 VL, ПРТ
	38	Антитело 4 CDR1, ПРТ
40	39	Антитело 4 CDR2, ПРТ
	40	Антитело 4 CDR3, ПРТ
	41	Антитело 5 VH, ДНК
	42	Антитело 5 VH, ПРТ
	43	Антитело 5 CDR1, ПРТ
45	44	Антитело 5 CDR2, ПРТ
	45	Антитело 5 CDR3, ПРТ
	46	Антитело 5 VL, ДНК
	47	Антитело 5 VL, ПРТ
	48	Антитело 5 CDR1, ПРТ
50	49	Антитело 5 CDR2, ПРТ
	50	Антитело 5 CDR3, ПРТ
	51	Антитело 6 VH, ДНК
	52	Антитело 6 VH, ПРТ
	53	Антитело 6 CDR1, ПРТ
55	54	Антитело 6 CDR2, ПРТ
	55	Антитело 6 CDR3, ПРТ
	56	Антитело 6 VL, ДНК
	57	Антитело 6 VL, ПРТ
	58	Антитело 6 CDR1, ПРТ
60	59	Антитело 6 CDR2, ПРТ
	60	Антитело 6 CDR3, ПРТ

5	61	Антитело 7 VH, ДНК
	62	Антитело 7 VH, ПРТ
	63	Антитело 7 CDR1, ПРТ
	64	Антитело 7 CDR2, ПРТ
	65	Антитело 7 CDR3, ПРТ
10	66	Антитело 7 VL, ДНК
	67	Антитело 7 VL, ПРТ
	68	Антитело 7 CDR1, ПРТ
	69	Антитело 7 CDR2, ПРТ
	70	Антитело 7 CDR3, ПРТ
15	71	Антитело 8 VH, ДНК
	72	Антитело 8 VH, ПРТ
	73	Антитело 8 CDR1, ПРТ
	74	Антитело 8 CDR2, ПРТ
	75	Антитело 8 CDR3, ПРТ
20	76	Антитело 8 VL, ДНК
	77	Антитело 8 VL, ПРТ
	78	Антитело 8 CDR1, ПРТ
	79	Антитело 8 CDR2, ПРТ
	80	Антитело 8 CDR3, ПРТ
25	81	Антитело 9 VH, ДНК
	82	Антитело 9 VH, ПРТ
	83	Антитело 9 CDR1, ПРТ
	84	Антитело 9 CDR2, ПРТ
	85	Антитело 9 CDR3, ПРТ
30	86	Антитело 9 VL, ДНК
	87	Антитело 9 VL, ПРТ
	88	Антитело 9 CDR1, ПРТ
	89	Антитело 9 CDR2, ПРТ
	90	Антитело 9 CDR3, ПРТ
35	91	Антитело ЮУН, ДНК
	92	Антитело 10 VH, ПРТ
	93	Антитело 10 CDR1, ПРТ
	94	Антитело 10 CDR2, ПРТ
	95	Антитело 10 CDR3, ПРТ
40	96	Антитело ЮУВ, ДНК
	97	Антитело 10 VL, ПРТ
	98	Антитело 10 CDR1, ПРТ
	99	Антитело 10 CDR2, ПРТ
	100	Антитело 10 CDR3, ПРТ
45	101	Антитело 11 VH, ДНК
	102	Антитело 11 VH, ПРТ
	103	Антитело 11 CDR1, ПРТ
	104	Антитело 11 CDR2, ПРТ
	105	Антитело 11 CDR3, ПРТ
50	106	Антитело 11 VL, ДНК
	107	Антитело 11 VL, ПРТ
	108	Антитело 11 CDR1, ПРТ
	109	Антитело 11 CDR2, ПРТ
	110	Антитело 11 CDR3, ПРТ
	111	Антитело 12 УН, ДНК
	112	Антитело 12 VH, ПРТ
	113	Антитело 12 CDR1, ПРТ
	114	Антитело 12 CDR2, ПРТ
	115	Антитело 12 CDR3, ПРТ
	116	Антитело 12 VL, ДНК
	117	Антитело 12 VL, ПРТ

	118	Антитело 12 CDR1, ПРТ
	119	Антитело 12 CDR2, ПРТ
	120	Антитело 12 CDR3, ПРТ
5	121	Антитело 13 VH, ДНК
	122	Антитело 13 VH, ПРТ
	123	Антитело 13 CDR1, ПРТ
	124	Антитело 13 CDR2, ПРТ
	125	Антитело 13 CDR3, ПРТ
	126	Антитело 13 VL, ДНК
10	127	Антитело 13 VL, ПРТ
	128	Антитело 13 CDR1, ПРТ
	129	Антитело 13 CDR2, ПРТ
	130	Антитело 13 CDR3, ПРТ
	131	Антитело 14 УН, ДНК
	132	Антитело 14 VH, ПРТ
15	133	Антитело 14 CDR1, ПРТ
	134	Антитело 14 CDR2, ПРТ
	135	Антитело 14 CDR3, ПРТ
	136	Антитело 14 VL, ДНК
	137	Антитело 14 VL, ПРТ
20	138	Антитело 14 CDR1, ПРТ
	139	Антитело 14 CDR2, ПРТ
	140	Антитело 14 CDR3, ПРТ
	141	Антитело 15 VH, ДНК
	142	Антитело 15 VH, ПРТ
25	143	Антитело 15 CDR1, ПРТ
	144	Антитело 15 CDR2, ПРТ
	145	Антитело 15 CDR3, ПРТ
	146	Антитело 15 VL, ДНК
	147	Антитело 15 VL, ПРТ
	148	Антитело 15 CDR1, ПРТ
30	149	Антитело 15 CDR2, ПРТ
	150	Антитело 15 CDR3, ПРТ
	151	Антитело 16 VH, ДНК
	152	Антитело 16 VH, ПРТ
	153	Антитело 16 CDR1, ПРТ
35	154	Антитело 16 CDR2, ПРТ
	155	Антитело 16 CDR3, ПРТ
	156	Антитело 16 VL, ДНК
	157	Антитело 16 VL, ПРТ
	158	Антитело 16 CDR1, ПРТ
40	159	Антитело 16 CDR2, ПРТ
	160	Антитело 16 CDR3, ПРТ
	161	Антитело 17 VH, ДНК
	162	Антитело 17 VH, ПРТ
	163	Антитело 17 CDR1, ПРТ
45	164	Антитело 17 CDR2, ПРТ
	165	Антитело 17 CDR3, ПРТ
	166	Антитело 17 VL, ДНК
	167	Антитело 17 VL, ПРТ
	168	Антитело 17 CDR1, ПР
50	169	Антитело 17 CDR2, ПРТ
	170	Антитело 17 CDR3, ПРТ
	171	Антитело 18 VH, ДНК
	172	Антитело 18 VH, ПРТ
	173	Антитело 18 CDR1, ПРТ
	174	Антитело 18 CDR2, ПРТ

	175	Антитело 18 CDR3, ПРТ
	176	Антитело 18 VL, ДНК
	177	Антитело 18 VL, ПРТ
	178	Антитело 18 CDR1, ПРТ
5	179	Антитело 18 CDR2, ПРТ
	180	Антитело 18 CDR3, ПРТ
	181	Антитело 19 VH, ДНК
	182	Антитело 19 VH, ПРТ
	183	Антитело 19 CDR1, ПРТ
10	184	Антитело 19 CDR2, ПРТ
	185	Антитело 19 CDR3, ПРТ
	186	Антитело 19 VL, ДНК
	187	Антитело 19 VL, ПРТ
	188	Антитело 19 CDR1, ПРТ
	189	Антитело 19 CDR2, ПРТ
15	190	Антитело 19 CDR3, ПРТ
	191	Антитело 20 VH, ДНК
	192	Антитело 20 VH, ПРТ
	193	Антитело 20 CDR1, ПРТ
	194	Антитело 20 CDR2, ПРТ
20	195	Антитело 20 CDR3, ПРТ
	196	Антитело 20 VL, ДНК
	197	Антитело 20 VL, ПРТ
	198	Антитело 20 CDR1, ПРТ
	199	Антитело 20 CDR2, ПРТ
	200	Антитело 20 CDR3, ПРТ
25	Последовательность	Описание
	201	Антитело 21 VH, ДНК
	202	Антитело 21 VH, ПРТ
	203	Антитело 21 CDR1, ПРТ
	204	Антитело 21 CDR2, ПРТ
30	205	Антитело 21 CDR3, ПРТ
	206	Антитело 21 VL, ДНК
	207	Антитело 21 VL, ПРТ
	208	Антитело 21 CDR1, ПРТ
	209	Антитело 21 CDR2, ПРТ
35	210	Антитело 21 CDR3, ПРТ
	211	Антитело 22 VH, ДНК
	212	Антитело 22 VH, ПРТ
	213	Антитело 22 CDR1, ПРТ
	214	Антитело 22 CDR2, ПРТ
40	215	Антитело 22 CDR3, ПРТ
	216	Антитело 22 VL, ДНК
	217	Антитело 22 VL, ПРТ
	218	Антитело 22 CDR1, ПРТ
	219	Антитело 22 CDR2, ПРТ
	220	Антитело 22 CDR3, ПРТ
45	221	Антитело 23 VH, ДНК
	222	Антитело 23 VH, ПРТ
	223	Антитело 23 CDR1, ПРТ
	224	Антитело 23 CDR2, ПРТ
	225	Антитело 23 CDR3, ПРТ
50	226	Антитело 23 VL, ДНК
	227	Антитело 23 VL, ПРТ
	228	Антитело 23 CDR1, ПРТ
	229	Антитело 23 CDR2, ПРТ
	230	Антитело 23 CDR3, ПРТ

5	231	Антитело 24 VH, ДНК
	232	Антитело 24 VH, ПРТ
	233	Антитело 24 CDR1, ПРТ
	234	Антитело 24 CDR2, ПРТ
	235	Антитело 24 CDR3, ПРТ
10	236	Антитело 24 VL, ДНК
	237	Антитело 24 VL, ПРТ
	238	Антитело 24 CDR1, ПРТ
	239	Антитело 24 CDR2, ПРТ
	240	Антитело 24 CDR3, ПРТ
15	241	Антитело 25 VH, ДНК
	242	Антитело 25 VH, ПРТ
	243	Антитело 25 CDR1, ПРТ
	244	Антитело 25 CDR2, ПРТ
	245	Антитело 25 CDR3, ПРТ
20	246	Антитело 25 VL, ДНК
	247	Антитело 25 VL, ПРТ
	248	Антитело 25 CDR1, ПРТ
	249	Антитело 25 CDR2, ПРТ
	250	Антитело 25 CDR3, ПРТ
25	251	Антитело 26 VH, ДНК
	252	Антитело 26 VH, ПРТ
	253	Антитело 26 CDR1, ПРТ
	254	Антитело 26 CDR2, ПРТ
	255	Антитело 26 CDR3, ПРТ
30	256	Антитело 26 VL, ДНК
	257	Антитело 26 VL, ПРТ
	258	Антитело 26 CDR1, ПРТ
	259	Антитело 26 CDR2, ПРТ
	260	Антитело 26 CDR3, ПРТ
35	261	Антитело 27 VH, ДНК
	262	Антитело 27 VH, ПРТ
	263	Антитело 27 CDR1, ПРТ
	264	Антитело 27 CDR2, ПРТ
	265	Антитело 27 CDR3, ПРТ
40	266	Антитело 27 VL, ДНК
	267	Антитело 27 VL, ПРТ
	268	Антитело 27 CDR1, ПРТ
	269	Антитело 27 CDR2, ПРТ
	270	Антитело 27 CDR3, ПРТ
45	271	Антитело 28 VH, ДНК
	272	Антитело 28 VH, ПРТ
	273	Антитело 28 CDR1, ПРТ
	274	Антитело 28 CDR2, ПРТ
	275	Антитело 28 CDR3, ПРТ
50	276	Антитело 28 VL, ДНК
	277	Антитело 28 VL, ПРТ
	278	Антитело 28 CDR1, ПРТ
	279	Антитело 28 CDR2, ПРТ
	280	Антитело 28 CDR3, ПРТ
	281	Антитело 29 VH, ДНК
	282	Антитело 29 VH, ПРТ
	283	Антитело 29 CDR1, ПРТ
	284	Антитело 29 CDR2, ПРТ
	285	Антитело 29 CDR3, ПРТ
	286	Антитело 29 VL, ДНК
	287	Антитело 29 VL, ПРТ

	288	Антитело 29 CDR1, ПРТ
	289	Антитело 29 CDR2, ПРТ
	290	Антитело 29 CDR3, ПРТ
5	291	Антитело 30 VH, ДНК
	292	Антитело 30 VH, ПРТ
	293	Антитело 30 CDR1, ПРТ
	294	Антитело 30 CDR2, ПРТ
	295	Антитело 30 CDR3, ПРТ
	296	Антитело 30 VL, ДНК
10	297	Антитело 30 VL, ПРТ
	298	Антитело 30 CDR1, ПРТ
	299	Антитело 30 CDR2, ПРТ
	300	Антитело 30 CDR3, ПРТ
	301	Антитело 31 VH, ДНК
	302	Антитело 31 VH, ПРТ
15	303	Антитело 31 CDR1, ПРТ
	304	Антитело 31 CDR2, ПРТ
	305	Антитело 31 CDR3, ПРТ
	306	Антитело 31 VL, ДНК
	307	Антитело 31 VL, ПРТ
20	308	Антитело 31 CDR1, ПРТ
	309	Антитело 31 CDR2, ПРТ
	310	Антитело 31 CDR3, ПРТ
	311	Антитело 32 VH, ДНК
	312	Антитело 32 VH, ПРТ
25	313	Антитело 32 CDR1, ПРТ
	314	Антитело 32 CDR2, ПРТ
	315	Антитело 32 CDR3, ПРТ
	316	Антитело 32 VL, ДНК
	317	Антитело 32 VL, ПРТ
	318	Антитело 32 CDR1, ПРТ
30	319	Антитело 32 CDR2, ПРТ
	320	Антитело 32 CDR3, ПРТ
	321	Антитело 33 VH, ДНК
	322	Антитело 33 VH, ПРТ
	323	Антитело 33 CDR1, ПРТ
35	324	Антитело 33 CDR2, ПРТ
	325	Антитело 33 CDR3, ПРТ
	326	Антитело 33 VL, ДНК
	327	Антитело 33 VL, ПРТ
	328	Антитело 33 CDR1, ПРТ
40	329	Антитело 33 CDR2, ПРТ
	330	Антитело 33 CDR3, ПРТ
	331	Антитело 34 VH, ДНК
	332	Антитело 34 VH, ПРТ
	333	Антитело 34 CDR1, ПРТ
	334	Антитело 34 CDR2, ПРТ
45	335	Антитело 34 CDR3, ПРТ
	336	Антитело 34 VL, ДНК
	337	Антитело 34 VL, ПРТ
	338	Антитело 34 CDR1, ПРТ
	339	Антитело 34 CDR2, ПРТ
50	340	Антитело 34 CDR3, ПРТ
	341	Антитело 35 VH, ДНК
	342	Антитело 35 VH, ПРТ
	343	Антитело 35 CDR1, ПРТ
	344	Антитело 35 CDR2, ПРТ

	345	Антитело 35 CDR3, ПРТ
	346	Антитело 35 VL, ДНК
	347	Антитело 35 VL, ПРТ
	348	Антитело 35 CDR1, ПРТ
5	349	Антитело 35 CDR2, ПРТ
	350	Антитело 35 CDR3, ПРТ
	351	Антитело 36 VH, ДНК
	352	Антитело 36 VH, ПРТ
	353	Антитело 36 CDR1, ПРТ
10	354	Антитело 36 CDR2, ПРТ
	355	Антитело 36 CDR3, ПРТ
	356	Антитело 36 VL, ДНК
	357	Антитело 36 VL, ПРТ
	358	Антитело 36 CDR1, ПРТ
	359	Антитело 36 CDR2, ПРТ
15	360	Антитело 36 CDR3, ПРТ
	361	Антитело 37 VH, ДНК
	362	Антитело 37 VH, ПРТ
	363	Антитело 37 CDR1, ПРТ
	364	Антитело 37 CDR2, ПРТ
20	365	Антитело 37 CDR3, ПРТ
	366	Антитело 37 VL, ДНК
	367	Антитело 37 VL, ПРТ
	368	Антитело 37 CDR1, ПРТ
	369	Антитело 37 CDR2, ПРТ
25	370	Антитело 37 CDR3, ПРТ
	371	Антитело 38 VH, ДНК
	372	Антитело 38 VH, ПРТ
	373	Антитело 38 CDR1, ПРТ
	374	Антитело 38 CDR2, ПРТ
	375	Антитело 38 CDR3, ПРТ
30	376	Антитело 38 VL, ДНК
	377	Антитело 38 VL, ПРТ
	378	Антитело 38 CDR1, ПРТ
	379	Антитело 38 CDR2, ПРТ
	380	Антитело 38 CDR3, ПРТ
35	381	Антитело 39 VH, ДНК
	382	Антитело 39 VH, ПРТ
	383	Антитело 39 CDR1, ПРТ
	384	Антитело 39 CDR2, ПРТ
	385	Антитело 39 CDR3, ПРТ
40	386	Антитело 39 VL, ДНК
	387	Антитело 39 VL, ПРТ
	388	Антитело 39 CDR1, ПРТ
	389	Антитело 39 CDR2, ПРТ
	390	Антитело 39 CDR3, ПРТ
45	391	Антитело 40 VH, ДНК
	392	Антитело 40 VH, ПРТ
	393	Антитело 40 CDR1, ПРТ
	394	Антитело 40 CDR2, ПРТ
	395	Антитело 40 CDR3, ПРТ
50	396	Антитело 40 VL, ДНК
	397	Антитело 40 VL, ПРТ
	398	Антитело 40 CDR1, ПРТ
	399	Антитело 40 CDR2, ПРТ
	400	Антитело 40 CDR3, ПРТ
	401	Антитело 41 VH, ДНК

5	402	Антитело 41 VH, ПРТ
	403	Антитело 41 CDR1, ПРТ
	404	Антитело 41 CDR2, ПРТ
	405	Антитело 41 CDR3, ПРТ
	406	Антитело 41 VL, ДНК
10	407	Антитело 41 VL, ПРТ
	408	Антитело 41 CDR1, ПРТ
	409	Антитело 41 CDR2, ПРТ
	410	Антитело 41 CDR3, ПРТ
	411	Антитело 42 VH, ДНК
15	412	Антитело 42 VH, ПРТ
	413	Антитело 42 CDR1, ПРТ
	414	Антитело 42 CDR2, ПРТ
	415	Антитело 42 CDR3, ПРТ
	416	Антитело 42 VL, ДНК
20	417	Антитело 42 VL, ПРТ
	418	Антитело 42 CDR1, ПРТ
	419	Антитело 42 CDR2, ПРТ
	420	Антитело 42 CDR3, ПРТ
	421	Антитело 24 PGLVH, ДНК
25	422	Антитело 24 PGLVH, ПРТ
	423	Антитело 24 PGLCDR1, ПРТ
	424	Антитело 24 PGLCDR2, ПРТ
	425	Антитело 24 PGLCDR3, ПРТ
	426	Антитело 24 PGL VL, ДНК
30	427	Антитело 24 PGL VL, ПРТ
	428	Антитело 24 PGLCDR1, ПРТ
	429	Антитело 24 PGLCDR2, ПРТ
	430	Антитело 24 PGLCDR3, ПРТ
	431	Антитело 24 GLVH, ДНК
35	432	Антитело 24 GLVH, ПРТ
	433	Антитело 24 GLCDR1, ПРТ
	434	Антитело 24 GLCDR2, ПРТ
	435	Антитело 24 GLCDR3, ПРТ
	436	Антитело 24 GL VL, ДНК
40	437	Антитело 24 GL VL, ПРТ
	438	Антитело 24 GLCDR1, ПРТ
	439	Антитело 24 GLCDR2, ПРТ
	440	Антитело 24 GLCDR3, ПРТ
	441	Антитело 37 GLVH, ДНК
45	442	Антитело 37 GLVH, ПРТ
	443	Антитело 37 GLCDR1, ПРТ
	444	Антитело 37 GLCDR2, ПРТ
	445	Антитело 37 GLCDR3, ПРТ
	446	Антитело 37 GL VL, ДНК
50	447	Антитело 37 GL VL, ПРТ
	448	Антитело 37 GLCDR1, ПРТ
	449	Антитело 37 GLCDR2, ПРТ
	450	Антитело 37 GLCDR3, ПРТ
	451	IL4R макак-крабоедов, праймер 1
50	452	IL4R макак-крабоедов, праймер 2
	453	Олигонуклеотидный мутантный вариант I75V, праймер
	454	IL-4R/Fc человека, белок
	455	кДНК IL-4Ra макак-крабоедов, нуклеотид
	456	кДНК IL-4Ra/Fc макак-крабоедов, нуклеотид
	457	кДНК IL-4Ra/Fc макак-крабоедов, белок
	458	кДНК I75V IL-4Ra/Fc человека, нуклеотидная последовательность

459	I75V IL-4R α /Fc человека, белок
460	IL-4R α /FLAG/HIS tag человека, аминокислотная последовательность
461	IL-4R α /FLAG/HIS tag мыши, аминокислотная последовательность

5

Формула изобретения

1. Изолированное антитело, которое специфически связывает α -рецептор интерлейкина-4 (hIL-4R α) человека, включающее VH домен антитела, содержащий набор CDR: HCDR1, HCDR2, HCDR3 и каркасную область, и VL домен антитела, содержащий набор CDR: LCDR1, LCDR2 и LCDR3 и каркасную область, причем набор CDR имеет 10 или менее замен аминокислот, выбранных из набора CDR, где:

HCDR1 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:193;
HCDR2 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:194;
HCDR3 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:195;
LCDR1 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:198;
LCDR2 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:199; и
LCDR3 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:200, и где замены не приводят к потере способности связывать hIL-4R α .

2. Изолированное антитело по п.1, где замены аминокислот включают одну или более замен, приведенных на фигурах 3 и 4.

3. Изолированное антитело по п.1, где замены аминокислот включают замену одного или более из следующих остатков в составе участков CDR, при использовании стандартной нумерации по Kabat:

53, 57 в HCDR2;
97, 98, 99, 101, 102 в HCDR3;
27, 27A, 27B, 31 в LCDR1;
56 в LCDR2; или
92, 93, 94, 95, 95A, 95B, 95C, 96, 97 в LCDR3.

4. Изолированное антитело по п.1, которое дополнительно включает замену одной или более аминокислот в области каркасных участков, при использовании стандартной нумерации по Kabat:

11, 12 в HFW1;
37, 48 в HFW2;
68, 84, 85 в HFW3;
105, 108, 113 в HFW4;
1, 2, 3, 9 в LFW1,
38, 42 в LFW2; или
58, 65, 66, 70, 74, 85, 87 в LFW3.

5. Изолированное антитело по п.4, где замены аминокислот в области каркасных участков включают одну или более замен, приведенных на фигурах 3 и 4.

6. Изолированное антитело, которое специфически связывает α -рецептор интерлейкина-4 (hIL-4R α) человека, где:

(i) HCDR1 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:363;
HCDR2 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:364;
HCDR3 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:365;
LCDR1 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:368;
LCDR2 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:369; и
LCDR3 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:370;

или

(ii) HCDR1 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:233; HCDR2 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:234; HCDR3 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:235; LCDR1 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:238; LCDR2 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:239; и LCDR3 характеризуется аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:240.

7. Изолированное антитело по п.1 или 6, причем антитело или фрагмент включает антитела, содержащие VH домен и VL домен, причем VH домен включает HCDR1, HCDR2, HCDR3 и первый каркасный участок, а VL домен включает LCDR1, LCDR2, LCDR3 и второй каркасный участок.

8. Изолированное антитело по п.7, где антитела обозначают scFv.

9. Изолированное антитело по п.7, где антитела включают константную область антител.

10. Изолированное антитело по п.7, где антитела обозначают IgG1, IgG2 или IgG4.

11. Изолированное антитело, которое специфически связывает α -рецептор интерлейкина-4 (hIL-4R α) человека, включающее VH домен и VL домен, где:

(i) VH домен имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 192 и VL домен имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:197;

(ii) VH домен имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:362 и VL домен имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:367; или

(iii) VH домен имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:232 и VL домен имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:237;

и где VH домен и VL домен включают замену одной или более аминокислот в следующих остатках в области каркасных участков, при использовании стандартной нумерации по Kabat:

11, 12 в HFW1;

37, 48 в HFW2;

68, 84, 85 в HFW3;

105, 108, 113 в HFW4;

1, 2, 3, 9 в LFW1,

38, 42 в LFW2; или

58, 65, 66, 70, 74, 85, 87 в LFW3.

12. Изолированное антитело по п.11, где замены аминокислот в области каркасных участков включают одну или более замен, приведенных на фигурах 3 и 4.

13. Изолированное антитело по п.11, где антитела обозначают scFv.

14. Изолированное антитело по п.11, где антитела включают константную область антител.

15. Изолированное антитело по п.11, где антитела обозначают IgG1, IgG2 или IgG4.

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

<110> МЕДИМУН ЛИМИТЕД

<120> Элементы, связывающиеся с α -рецептором интерлейкина-4 (IL-4R α)-173

<130> 103173-1L US

<140>

<141>

<150> US 61/015,869

<151> 2007-12-21

<160> 461

<170> Cambridge Antibody Technology patent версия 1.0

<210> 1

<211> 348

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 1

<400> 1

caggtccagc	tggtgcagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	ctggggcctc	agtgaaggtt	60
tcctgcaagg	catctggata	cgccttcacc	agctactata	tgcactgggc	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggcttgagtg	gatgggaata	atcaacccta	gtggtggtag	cacaagctac	180
gcacagaagt	tccagggcag	agtcaccatg	accagggaca	cgtccacgag	cacagtctac	240
atggagctga	gcagcctgag	atctgaggac	acggccgtgt	attactgtgc	gagaggaaaa	300
tggtggcttg	actactgggg	caaaggcacc	ctggtcaccg	tctcgagt		348

<210> 2

<211> 116

<212> ППТ

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 1

<400> 2

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

Thr Val Ser Ser
115

<210> 3
<211> 5
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 1

<400> 3
Ser Tyr Tyr Met His
5

<210> 4
<211> 17
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 1

<400> 4
Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
5 10 15

Gly

<210> 5
<211> 7
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 1

<400> 5
Gly Lys Trp Trp Leu Asp Tyr
5

<210> 6
<211> 333
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 1

<400> 6	
cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcgcccc caggacagaa ggtcaccatc	60
tcctgctctg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tctcctggta ccagcaactc	120
ccaggaacag cccccaaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct	180
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag	240
actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcctgag tgccaattat	300
gtcttcggaa ctggggaccaa gctgaccgtc cta	333

<210> 7

```
<211> 111
<212> PPT
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 1

<400>	7														
Gln	Ser	Val	Leu	Thr	Gln	Pro	Pro	Ser	Val	Ser	Ala	Ala	Pro	Gly	Gln
			5						10					15	
Lys	Val	Thr	Ile	Ser	Cys	Ser	Gly	Gly	Ser	Ser	Asn	Ile	Gly	Asn	Ser
			20					25					30		
Tyr	Val	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Leu	Pro	Gly	Thr	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu
		35					40					45			
Ile	Tyr	Asp	Asn	Asn	Lys	Arg	Pro	Ser	Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser
	50					55					60				
Gly	Ser	Lys	Ser	Gly	Thr	Ser	Ala	Thr	Leu	Ala	Ile	Thr	Gly	Leu	Gln
65					70					75					80
Thr	Gly	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gly	Thr	Trp	Asp	Thr	Ser	Leu
				85					90					95	
Ser	Ala	Asn	Tyr	Val	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	
			100					105					110		

```
<210> 8
<211> 13
<212> PPT
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 1

<400> 8
Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser
5 10

```
<210> 9
<211> 7
<212> PPT
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 1

<400> 9
Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
5

```
<210> 10
<211> 12
<212> PPT
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 1

<400> 10
Gly Thr Trp Asp Thr Ser Leu Ser Ala Asn Tyr Val
5 10

<210> 11

```
<210> 14
<211> 17
```

<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 2

<400> 14
Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
5 10 15

Gly

<210> 15
<211> 7
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 2

<400> 15
Gly Lys Trp Trp Leu Tyr Asn
5

<210> 16
<211> 333
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 2

<400> 16
cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60
tcctgctctg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tatcctggta ccagcaactc 120
ccaggaacag cccccaaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240
actgggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagccagcc cccgaacccc 300
ctcttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 17
<211> 111
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 2

<400> 17
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
5 10 15
Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser
20 25 30
Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

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

<210> 18
 <211> 13
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 2

<400> 18
 Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser
 5 10

<210> 19
 <211> 7
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 2

<400> 19
 Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
 5

<210> 20
 <211> 12
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 2

<400> 20
 Gly Thr Trp Asp Thr Ser Gln Pro Pro Asn Pro Leu
 5 10

<210> 21
 <211> 348
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 3

<400> 21
 caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaagggt 60
 tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtggtggtag cacaagctac 180
 gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag 300
 ttgttgaaga acccctgggg caaaggcacc ctgggtcaccg tctcgagt 348

```
<210> 22
<211> 116
<212> PPT
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 3

[illegible]

```
<210> 23
<211> 5
<212> PPT
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 3

```
<400> 23
Ser Tyr Tyr Met His
                    5
```

```
<210> 24
<211> 17
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 3

<400> 24
Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
5 10 15

Gly

```
<210> 25
<211> 7
<212> PPT
<213> Homo sapiens
```

<220>

<223> Антитело 3

<400> 25

Gly Lys Leu Leu Lys Asn Pro
5

<210> 26

<211> 333

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 3

<400> 26

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc	60
tcctgctctg gaggcagctc caacattggg aatagttatg taccctggta ccagcaactc	120
ccaggaacag cccccaaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct	180
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag	240
actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggttcg gcacccccgc gagcaattat	300
gtcttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta	333

<210> 27

<211> 111

<212> ПРТ

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 3

<400> 27

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

<210> 28

<211> 13

<212> ПРТ

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 3

<400> 28

Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser

5

10

<210> 29
 <211> 7
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 3

<400> 29
 Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
 5

<210> 30
 <211> 12
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 3

<400> 30
 Gly Thr Trp Phe Gly Thr Pro Ala Ser Asn Tyr Val
 5 10

<210> 31
 <211> 348
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 4

<400> 31
 caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaagggtt 60
 tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtggtggtag cacaagctac 180
 gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaaa 300
 tgggtggctgt acaactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 32
 <211> 116
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 4

<400> 32
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Tyr Met His Trp Ala Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe

50		55		60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr				
65		70		75
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys				
	85		90	
Ala Arg Gly Lys Trp Trp Leu Tyr Asn Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val				
	100		105	110
Thr Val Ser Ser				
	115			

<210> 33
 <211> 5
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 4

<400> 33
 Ser Tyr Tyr Met His
 5

<210> 34
 <211> 17
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 4

<400> 34
 Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 5 10 15

Gly

<210> 35
 <211> 7
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 4

<400> 35
 Gly Lys Trp Trp Leu Tyr Asn
 5

<210> 36
 <211> 333
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 4

<400> 36
 cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtaaccatc 60
 tcttgctctg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tatcctggta ccagcaactc 120

ccaggaacag cccccaaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180
gaccgattct ctgggtccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240
actgggggacg agggccgatta ttactgcgga acatggggata ccagcagccc cccccagccg 300
atcttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 37
<211> 111
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 4

<400> 37
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
5 10 15
Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser
20 25 30
Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln
65 70 75 80
Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Thr Ser Ser
85 90 95
Pro Pro Gln Pro Ile Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 38
<211> 13
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 4

<400> 38
Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser
5 10

<210> 39
<211> 7
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 4

<400> 39
Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
5

<210> 40
<211> 12
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<223> Антитело 4

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Ser Pro Pro Gln Pro Ile
5 10

<213> Homo sapiens

<223> Антитело 5

<400> 41	caggtccagc	tggtgcagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	ctggggcctc	agtgaagggt	60
	tccctgcaagg	catctggata	cgccttcacc	agctactata	tgcactgggc	gcgacaggcc	120
	cctggacaag	ggcttgagtg	gatgggaata	atcaacccta	gtggtggtag	cacaagctac	180
	gcacagaagt	tccagggcag	agtcaccatg	accagggaca	cgccacagag	cacagtctac	240
	atggagctga	gcagcctgag	atctgaggac	acggccgtgt	attactgtgc	gagaggaaaa	300
	tqqtggttgt	acgactgggg	caaaggcacc	ctggtcaccg	tctcgagt		348

<213> Homo sapiens

<223> Антитело 5

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Gly Lys Trp Trp Leu Tyr Asp Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 5

<400> 43
Ser Tyr Tyr Met His
5

<210> 44
<211> 17
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 5

<400> 44
Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
5 10 15

Gly

<210> 45
<211> 7
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 5

<400> 45
Gly Lys Trp Trp Leu Tyr Asp
5

<210> 46
<211> 333
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 5

<400> 46	
cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc	60
tcctgctctg gaggcagctc caacattggg aatagttatg taccctggta ccagcaactc	120
ccaggaacag cccccaaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct	180
gaccgattct ctgggtccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag	240
actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcagccc cccccagccg	300
atcttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta	333

<210> 47
<211> 111
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 5

<400> 47
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
5 10 15

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

<210> 48
<211> 13
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 5

<400> 48
Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser
5 10

<210> 49
<211> 7
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 5

<400> 49
Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
5

<210> 50
<211> 12
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 5

<400> 50
Gly Thr Trp Asp Thr Ser Ser Pro Pro Gln Pro Ile
5 10

<210> 51
<211> 348
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 6

<400> 51
cagggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaagggtt

60

tcttgcaagg	catctggata	cgccttcacc	agctactata	tgcactgggc	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggcttgagtg	gatgggaata	atcaacccta	gtgggtgtag	cacaagctac	180
gcacagaagt	tccagggcag	agtcaccatg	accagggaca	cgccacagag	cacagtctac	240
atggagctga	gcagcctgag	atctgaggac	acggccgtgt	attactgtgc	gagaggaaag	300
tactggatgt	acgactgggg	caaaggcacc	ctggtcaccg	tctcgagt		348

```
<210> 52
<211> 116
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 6

<400> 52																
Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala	
				5					10					15		
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Ala	Phe	Thr	Ser	Tyr	
				20					25					30		
Tyr	Met	His	Trp	Ala	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met	
				35					40					45		
Gly	Ile	Ile	Asn	Pro	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Ser	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	
				50					55					60		
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Val	Tyr	
				65					70					75		
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	
				85					90					95		
Ala	Arg	Gly	Lys	Tyr	Trp	Met	Tyr	Asp	Trp	Gly	Lys	Gly	Thr	Leu	Val	
				100					105					110		
Thr	Val	Ser	Ser													
				115												

```
<210> 53
<211> 5
<212> ΠPT
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 6

<400> 53
Ser Tyr Tyr Met His
5

```
<210> 54
<211> 17
<212> PPT
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 6

<400> 54
Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
5 10 15

<400> 62

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

<210> 63
<211> 5
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 7

<400> 63
Ser Tyr Tyr Met His
5

<210> 64
<211> 17
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 7

<400> 64
Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
5 10 15

Gly

<210> 65
<211> 7
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 7

<400> 65
Gly Lys Trp Trp Trp Gln Tyr
5

<210> 66
<211> 333
<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 7

<400> 66

```

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc      60
tcctgctctg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tctcctggta ccagcaactc      120
ccaggaacag cccccaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct      180
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag      240
actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcagccc ccccagccg      300
atcttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta                                     333

```

<210> 67

<211> 111

<212> ПРТ

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 7

<400> 67

```

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

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser
      20                    25                    30

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

Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
      50                    55                    60

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

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

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

```

<210> 68

<211> 13

<212> ПРТ

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 7

<400> 68

```

Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser
      5                                10

```

<210> 69

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 7

<400> 69
Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
5

<210> 70
<211> 12
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 7

<400> 70
Gly Thr Trp Asp Thr Ser Ser Pro Pro Gln Pro Ile
5 10

<210> 71
<211> 348
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 8

<400> 71	
caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaagggtt	60
tcttgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc	120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtgggtggtag cacaagctac	180
gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac	240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaaa	300
tgggtggtggc agtactgggg caaaggcacc ctgggtcaccg tctcgagt	348

<210> 72
<211> 116
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 8

<400> 72	
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala	15
	5 10
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Ser Tyr	30
	20 25
Tyr Met His Trp Ala Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met	45
	35 40
Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe	60
	50 55
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr	80
	65 70 75
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	95
	85 90
Ala Arg Gly Lys Trp Trp Trp Gln Tyr Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val	110
	100 105

Thr Val Ser Ser
115

<210> 73
<211> 5
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 8

<400> 73
Ser Tyr Tyr Met His
5

<210> 74
<211> 17
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 8

<400> 74
Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
5 10 15

Gly

<210> 75
<211> 7
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 8

<400> 75
Gly Lys Trp Trp Trp Gln Tyr
5

<210> 76
<211> 333
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 8

<400> 76
cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60
tcctgctctg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tatcctggta ccagcaactc 120
ccaggaacag cccccaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180
gaccgattct ctgggtccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240
actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcacgac ctaccacccc 300
atcttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 77

```
<211> 111
<212> PPT
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 8

<400>	77																
Gln	Ser	Val	Leu	Thr	Gln	Pro	Pro	Ser	Val	Ser	Ala	Ala	Pro	Gly	Gln		
			5						10					15			
Lys	Val	Thr	Ile	Ser	Cys	Ser	Gly	Gly	Ser	Ser	Asn	Ile	Gly	Asn	Ser		
			20					25					30				
Tyr	Val	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Leu	Pro	Gly	Thr	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu		
		35					40					45					
Ile	Tyr	Asp	Asn	Asn	Lys	Arg	Pro	Ser	Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser		
	50					55					60						
Gly	Ser	Lys	Ser	Gly	Thr	Ser	Ala	Thr	Leu	Ala	Ile	Thr	Gly	Leu	Gln		
65					70					75					80		
Thr	Gly	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gly	Thr	Trp	Asp	Thr	Ser	Thr		
				85					90					95			
Thr	Tyr	His	Pro	Ile	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu			
			100					105					110				

```
<210> 78
<211> 13
<212> PPT
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 8

<400> 78
Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser
5 10

```
<210> 79
<211> 7
<212> PPT
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 8

<400> 79
Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
5

```
<210> 80
<211> 12
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 8

<400> 80
Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Thr Tyr His Pro Ile
5 10

<210> 81

<211> 348
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 9

<400> 81
 caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaagggt 60
 tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtggtggtag cacaagctac 180
 gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaaa 300
 tgggtggctgt acaactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 82
 <211> 116
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 9

<400> 82
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Tyr Met His Trp Ala Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Lys Trp Trp Leu Tyr Asn Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser
 115

<210> 83
 <211> 5
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 9

<400> 83
 Ser Tyr Tyr Met His
 5

<210> 84
 <211> 17

<212> PPT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 9

<400> 84
Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
5 10 15

Gly

```
<210> 85
<211> 7
<212> NPT
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 9

<400> 85
Gly Lys Trp Trp Leu Tyr Asn
5

```
<210> 86
<211> 333
<212> ДНК
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 9

<400>	86
cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcgcccc caggacagaa ggtcaccatc	60
tcttgcctctg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tatcctggta ccagcaactc	120
ccaggaacag ccccctaact cctcat ttac gacaataata agcgaccctc agggatttcct	180
gaccgatctt ctggctccaa gtctggcacg tcagccacctc tggccatcac cggaactccag	240
actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcacgac gatgtaccgc	300
ttqttcqaaa ctgggaccaaa gctgaccgtc cta	333

```
<210> 87
<211> 111
<212> PPT
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 9

<400> 87
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
5 10 15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser
20 25 30

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

Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

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

<210> 88
<211> 13
<212> ППТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 9

<400> 88
Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser
5 10

<210> 89
<211> 7
<212> ППТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 9

<400> 89
Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
5

<210> 90
<211> 12
<212> ППТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 9

<400> 90
Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Thr Met Tyr Pro Leu
5 10

<210> 91
<211> 348
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 10

<400> 91
cagggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60
tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtgggtggtag cacaagctac 180
gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaaa 300
tgggtggctct acgactgggg caaaggcacc ctgggtcaccg tctcgagt 348

<210> 92
 <211> 116
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 10

<400> 92
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Tyr Met His Trp Ala Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Lys Trp Trp Leu Tyr Asp Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser
 115

<210> 93
 <211> 5
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 10

<400> 93
 Ser Tyr Tyr Met His
 5

<210> 94
 <211> 17
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 10

<400> 94
 Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 5 10 15
 Gly

<210> 95
 <211> 7
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 10

<400> 95

Gly Lys Trp Trp Leu Tyr Asp
5

<210> 96

<211> 333

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 10

<400> 96

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc	60
tcctgctctg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tctcctggta ccagcaactc	120
ccaggaacag cccccaaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct	180
gaccgattct ctgggtccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag	240
actggggacg agggcgatta ttactgcgga acatgggata ccagcacctg cctcaccccc	300
atcttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta	333

<210> 97

<211> 111

<212> ПРТ

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 10

<400> 97

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

<210> 98

<211> 13

<212> ПРТ

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 10

<400> 98

Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser

5

10

<210> 99
 <211> 7
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 10

<400> 99
 Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
 5

<210> 100
 <211> 12
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 10

<400> 100
 Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Val Leu Thr Pro Ile
 5 10

<210> 101
 <211> 348
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 11

<400> 101
 cagggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaagggtt 60
 tcttgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtggtggtag cacaagctac 180
 gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaaa 300
 tgggtggttct acgactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 102
 <211> 116
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 11

<400> 102
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Tyr Met His Trp Ala Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe

50	55	60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr		
65	70	75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
	85	90 95
Ala Arg Gly Lys Trp Trp Phe Tyr Asp Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val		
	100	105 110
Thr Val Ser Ser		
	115	

<210> 103
 <211> 5
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 11

<400> 103
 Ser Tyr Tyr Met His
 5

<210> 104
 <211> 17
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 11

<400> 104
 Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 5 10 15

Gly

<210> 105
 <211> 7
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 11

<400> 105
 Gly Lys Trp Trp Phe Tyr Asp
 5

<210> 106
 <211> 333
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 11

<400> 106
 cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60
 tcctgctctg gaggcagctc caacattggg aatagttatg taccctggta ccagcaactc 120

ccaggaacag cccccaaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180
gaccgattct ctgggtccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240
actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagccccag catgatcccg 300
ctcttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 107
<211> 111
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 11

<400> 107
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
5 10 15
Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser
20 25 30
Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln
65 70 75 80
Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Thr Ser Pro
85 90 95
Ser Met Ile Pro Leu Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 108
<211> 13
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 11

<400> 108
Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser
5 10

<210> 109
<211> 7
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 11

<400> 109
Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
5

<210> 110
<211> 12
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 11

<400> 110

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Pro Ser Met Ile Pro Leu
 5 10

<210> 111

<211> 348

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 12

<400> 111

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaagggtt 60
 tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtggtggtag cacaagctac 180
 gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaaa 300
 tggtggttct acgactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 112

<211> 116

<212> ПРТ

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 12

<400> 112

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

<210> 113

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 12

<400> 113
Ser Tyr Tyr Met His
5

<210> 114
<211> 17
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 12

<400> 114
Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
5 10 15

Gly

<210> 115
<211> 7
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 12

<400> 115
Gly Lys Trp Trp Phe Tyr Asp
5

<210> 116
<211> 333
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 12

<400> 116
cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60
tcctgctctg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tatcctggta ccagcaactc 120
ccaggaacag cccccaaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240
actgggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcacgac gatgtaccgc 300
ttgttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 117
<211> 111
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 12

<400> 117
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
5 10 15

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

<210> 118
<211> 13
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 12

<400> 118
Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser
5 10

<210> 119
<211> 7
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 12

<400> 119
Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
5

<210> 120
<211> 12
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 12

<400> 120
Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Thr Met Tyr Pro Leu
5 10

<210> 121
<211> 348
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 13

<400> 121
caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaagggtt

60

tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcaactgggc gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagt gatgggaata atcaacccta gtgggtgtag cacaagctac 180
gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag 300
tggtggctct acgactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 122
<211> 116
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 13

<400> 122
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Tyr Met His Trp Ala Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Lys Trp Trp Leu Tyr Asp Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser
115

<210> 123
<211> 5
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 13

<400> 123
Ser Tyr Tyr Met His
5

<210> 124
<211> 17
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 13

<400> 124
Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
5 10 15

Gly

<210> 125
 <211> 7
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 13

<400> 125
 Gly Lys Trp Trp Leu Tyr Asp
 5

<210> 126
 <211> 333
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 13

<400> 126
 cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60
 tcctgctctg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tctcctggta ccagcaactc 120
 ccaggaacag cccccaaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180
 gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240
 actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcacgac cttgcagccg 300
 ctgttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 127
 <211> 111
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 13

<400> 127
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
 5 10 15
 Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser
 20 25 30
 Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln
 65 70 75 80
 Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr
 85 90 95
 Thr Leu Gln Pro Leu Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105 110

<400> 132

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

<210> 133
<211> 5
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 14

<400> 133
Ser Tyr Tyr Met His
5

<210> 134
<211> 17
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 14

<400> 134
Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
5 10 15

Gly

<210> 135
<211> 7
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 14

<400> 135
Gly Lys Trp Trp Leu Tyr Asn
5

<210> 136
<211> 333
<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 14

<400> 136

```

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc      60
tcctgctctg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tatcctggta ccagcaactc      120
ccaggaacag cccccaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct      180
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag      240
actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagccccc gaccaagccc      300
ttgttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta                                     333

```

<210> 137

<211> 111

<212> ПРТ

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 14

<400> 137

```

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

```

<210> 138

<211> 13

<212> ПРТ

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 14

<400> 138

```

Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser
                    5                      10

```

<210> 139

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 14

<400> 139

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
5

<210> 140

<211> 12

<212> ПРТ

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 14

<400> 140

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Pro Pro Thr Lys Pro Leu
5 10

<210> 141

<211> 348

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 15

<400> 141

cagggtccagc	tggtgcagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	ctggggcctc	agtgaaggtt	60
tcctgcaagg	catctggata	cgccttcacc	agctactata	tgactgggc	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggcttgagtg	gatgggaata	atcaacccta	gtggtggtag	cacaagctac	180
gcacagaagt	tccagggcag	agtcaccatg	accagggaca	cgtccacgag	cacagtctac	240
atggagctga	gcagcctgag	atctgaggac	acggccgtgt	attactgtgc	gagaggaaaa	300
tggtggctgt	acaactgggg	caaaggcacc	ctggtcaccg	tctcgagt		348

<210> 142

<211> 116

<212> ПРТ

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 15

<400> 142

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

Thr Val Ser Ser
115

<210> 143
<211> 5
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 15

<400> 143
Ser Tyr Tyr Met His
5

<210> 144
<211> 17
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 15

<400> 144
Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
5 10 15

Gly

<210> 145
<211> 7
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 15

<400> 145
Gly Lys Trp Trp Leu Tyr Asn
5

<210> 146
<211> 333
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 15

<400> 146	
cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcgcccc caggacagaa ggtcaccatc	60
tcttgcctctg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tatcctggta ccagcaactc	120
ccaggaacag cccccaaact cctcattttac gacaataata agcgaccctc agggattcct	180
gaccgattct ctgggtccaa gtctggcagc tcagccaccc tggccatcac cggactccag	240
actggggagc aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcaccca ccggcatccc	300
ctcttcggaa ctggggaccaa gctgaccgtc cta	333

<210> 147

<211> 111
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 15

<400> 147
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
 5 10 15
 Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser
 20 25 30
 Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln
 65 70 75 80
 Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr
 85 90 95
 His Arg His Pro Leu Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 148
 <211> 13
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 15

<400> 148
 Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser
 5 10

<210> 149
 <211> 7
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 15

<400> 149
 Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
 5

<210> 150
 <211> 12
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 15

<400> 150
 Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr His Arg His Pro Leu
 5 10

<210> 151

```
<211> 348
<212> ДНК
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 16

<400>	151
caggtccagc tggatgcagtc tgggctgtag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaagggt	60
tacctcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcatgggac ggcacaggcc	120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtgggtgtag cacaaagctac	180
gcacagaagt tcagggcag agtcacccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac	240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaaa	300
tqqtggctgt acaactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt	348

```
<210> 152
<211> 116
<212> PPT
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 16

[illegible]

```
<210> 153
<211> 5
<212> PPT
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 16

<400> 153
Ser Tyr Tyr Met His
5

<210> 154
<211> 17

```
<212> IPT
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 16

<400> 154
Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
5 10 15

Gly

```
<210> 155
<211> 7
<212> PPT
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 16

<400> 155
Gly Lys Trp Trp Leu Tyr Asn
5

```
<210> 156
<211> 333
<212> ДНК
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 16

<400> 156							
cagtctgtgt	tgacgcagcc	gccctcagtg	tctgcggccc	caggacagaa	ggtcaccatc		60
tcttgctctg	gaggcagctc	caacattggg	aatagttatg	tatcctggta	ccagcaactc		120
ccaggaacag	cccccaaact	cctcatttac	gacaataata	agcgaccctc	agggattcct		180
gaccgattct	ctgggtccaa	gtctggcacg	tcagccaccc	tggccatcac	cggactccag		240
actggggacg	aggccgatta	ttactgcgga	acatgggata	ccagcacgac	ctaccacccc		300
atcttcqgaa	ctgggaccaa	gctgaccqtc	cta				333

```
<210> 157
<211> 111
<212> IPT
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 16

<400> 157																
Gln	Ser	Val	Leu	Thr	Gln	Pro	Pro	Ser	Val	Ser	Ala	Ala	Pro	Gly	Gln	
				5					10					15		
Lys	Val	Thr	Ile	Ser	Cys	Ser	Gly	Gly	Ser	Ser	Asn	Ile	Gly	Asn	Ser	
			20					25					30			
Tyr	Val	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Leu	Pro	Gly	Thr	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	
		35					40					45				
Ile	Tyr	Asp	Asn	Asn	Lys	Arg	Pro	Ser	Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	
	50					55					60					

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

<210> 158
<211> 13
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 16

<400> 158
Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser
5 10

<210> 159
<211> 7
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 16

<400> 159
Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
5

<210> 160
<211> 12
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 16

<400> 160
Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Thr Tyr His Pro Ile
5 10

<210> 161
<211> 348
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 17

<400> 161
cagggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaagggt 60
tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc ggcacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtgggtggtag cacaagctac 180
gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaaa 300
tgggtggtggc agcactgggg caaaggcacc ctgggtcaccg tctcgagt 348

<210> 162
 <211> 116
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 17

<400> 162
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Tyr Met His Trp Ala Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Lys Trp Trp Trp Gln His Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser
 115

<210> 163
 <211> 5
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 17

<400> 163
 Ser Tyr Tyr Met His
 5

<210> 164
 <211> 17
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 17

<400> 164
 Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 5 10 15
 Gly

<210> 165
 <211> 7
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 17

<400> 165

Gly Lys Trp Trp Trp Gln His
5

<210> 166

<211> 333

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 17

<400> 166

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc	60
tcctgctctg gaggcagctc caacattggg aatagttatg taccctggta ccagcaactc	120
ccaggaacag cccccaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct	180
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag	240
actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcccggg ggacaggccg	300
atcttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta	333

<210> 167

<211> 111

<212> ПРТ

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 17

<400> 167

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

<210> 168

<211> 13

<212> ПРТ

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 17

<400> 168

Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser

5

10

<210> 169
 <211> 7
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 17

<400> 169
 Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
 5

<210> 170
 <211> 12
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 17

<400> 170
 Gly Thr Trp Asp Thr Ser Pro Val Asp Arg Pro Ile
 5 10

<210> 171
 <211> 348
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 18

<400> 171
 cagggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60
 tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtgggtggtag cacaagctac 180
 gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaaa 300
 tgggtggtggc agcactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 172
 <211> 116
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 18

<400> 172
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Tyr Met His Trp Ala Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe

50		55		60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr				
65		70		75
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys				
	85		90	
Ala Arg Gly Lys Trp Trp Trp Gln His Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val				
	100		105	110
Thr Val Ser Ser				
	115			

<210> 173
 <211> 5
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 18

<400> 173
 Ser Tyr Tyr Met His
 5

<210> 174
 <211> 17
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 18

<400> 174
 Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 5 10 15

Gly

<210> 175
 <211> 7
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 18

<400> 175
 Gly Lys Trp Trp Trp Gln His
 5

<210> 176
 <211> 333
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 18

<400> 176
 cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60
 tcctgctctg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tatcctggta ccagcaactc 120

ccaggaacag cccccaaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180
gaccgattct ctgggtccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240
actgggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcaccac cccgatgccc 300
gtcttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 177
<211> 111
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 18

<400> 177
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
5 10 15
Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser
20 25 30
Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln
65 70 75 80
Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr
85 90 95
Thr Pro Met Pro Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 178
<211> 13
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 18

<400> 178
Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser
5 10

<210> 179
<211> 7
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 18

<400> 179
Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
5

<210> 180
<211> 12
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 18

<400> 180
Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Thr Pro Met Pro Val
5 10

```
<210> 181
<211> 348
<212> ДНК
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 19

<400> 181									
caggtccagc	tggtgcagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	ctggggcctc	agtgaagggtt				60
tcttgcaagg	catctggata	cgccttcacc	agctactata	tgcactgggc	gcgacaggcc				120
cctggacaag	ggcttgagtg	gatgggaata	atcaacccta	gtggtggtag	cacaagctac				180
gcacagaagt	tccagggcag	agtcaccatg	accagggaca	cgtccacgag	cacagtctac				240
atggagctga	gcagcctgag	atctgaggac	acggccgtgt	attactgtgc	gagaggaaaa				300
tqgtqgtqgc	agcactgggg	caaaggcacc	ctggtcaccg	tctcgagt					348

```
<210> 182
<211> 116
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 19

[illegible]

```
<210> 183
<211> 5
<212> PPT
<213> Homo sapiens
```

<220>
 <223> Антитело 19

<400> 183
 Ser Tyr Tyr Met His
 5

<210> 184
 <211> 17
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 19

<400> 184
 Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 5 10 15

Gly

<210> 185
 <211> 7
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 19

<400> 185
 Gly Lys Trp Trp Trp Gln His
 5

<210> 186
 <211> 333
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 19

<400> 186	
cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc	60
tcctgctctg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tctcctggta ccagcaactc	120
ccaggaacag cccccaaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct	180
gaccgattct ctgggtccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag	240
actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcacgac ctaccacccc	300
atcttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta	333

<210> 187
 <211> 111
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 19

<400> 187
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
 5 10 15

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

<210> 188
<211> 13
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 19

<400> 188
Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser
5 10

<210> 189
<211> 7
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 19

<400> 189
Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
5

<210> 190
<211> 12
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 19

<400> 190
Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Thr Tyr His Pro Ile
5 10

<210> 191
<211> 348
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 20

<400> 191
caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaagggtt

60

tcctgcaagg	catctggata	cgccttcacc	agctactata	tgcactgggc	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggcttgagtg	gatgggaata	atcaacccta	gtggtggtag	cacaagctac	180
gcacagaagt	tccagggcag	agtcaccatg	accagggaca	cgtccacgag	cacagtctac	240
atggagctga	gcagcctgag	atctgaggac	acggccgtgt	attactgtgc	gagaggaaag	300
tactggaagt	acgactgggg	caaaggcacc	ctgggtcaccg	tctcgaagt		348

```
<210> 192
<211> 116
<212> NPT
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 20

<400> 192																
Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala	
				5					10					15		
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Ala	Phe	Thr	Ser	Tyr	
				20					25					30		
Tyr	Met	His	Trp	Ala	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met	
				35					40					45		
Gly	Ile	Ile	Asn	Pro	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Ser	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	
				50					55					60		
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Val	Tyr	
				65					70					75		
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	
				85					90					95		
Ala	Arg	Gly	Lys	Tyr	Trp	Met	Tyr	Asp	Trp	Gly	Lys	Gly	Thr	Leu	Val	
				100					105					110		
Thr	Val	Ser	Ser													
				115												

```
<210> 193
<211> 5
<212> PPT
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 20

<400> 193
Ser Tyr Tyr Met His
5

```
<210> 194
<211> 17
<212> PPT
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 20

```
<400> 194
Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
      5              10              15
```

Gly

<210> 195
 <211> 7
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 20

<400> 195
 Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp
 5

<210> 196
 <211> 333
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 20

<400> 196
 cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcgggccc caggacagaa ggtcaccatc 60
 tctctgctctg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tctcctggta ccagcaactc 120
 ccaggaacag cccccaaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180
 gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240
 actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcacggt gtgggagtg 300
 ccgttcgga ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 197
 <211> 111
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 20

<400> 197
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
 5 10 15
 Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser
 20 25 30
 Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln
 65 70 75 80
 Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr
 85 90 95
 Val Trp Glu Trp Pro Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 198
 <211> 13
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 20

<400> 198
 Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser
 5 10

<210> 199
 <211> 7
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 20

<400> 199
 Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
 5

<210> 200
 <211> 12
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 20

<400> 200
 Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Val Trp Glu Trp Pro
 5 10

<210> 201
 <211> 348
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 21

<400> 201
 caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60
 tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagtg gatggggata atcaacccta gtggtggtag cgcaagctac 180
 gcgcagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag 300
 tactggatgt acgactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 202
 <211> 116
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 21

<400> 202

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

<210> 203
<211> 5
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 21

<400> 203
Ser Tyr Tyr Met His
5

<210> 204
<211> 17
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 21

<400> 204
Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Ala Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
5 10 15

Gly

<210> 205
<211> 7
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 21

<400> 205
Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp
5

<210> 206
<211> 333
<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 21

<400> 206

```

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcgggtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc      60
tcctgctctg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tatcctggta ccagcaactc      120
ccaggaacag cccccaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct      180
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag      240
actggggacg aggccgttta tttctgcgga acatgggata ccagcacggt gtgggagtgg      300
ccgttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta                                     333

```

<210> 207

<211> 111

<212> ПРТ

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 21

<400> 207

```

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

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser
                20                      25              30

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

Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
                50                      55              60

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

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

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

```

<210> 208

<211> 13

<212> ПРТ

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 21

<400> 208

```

Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser
                    5                      10

```

<210> 209

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 21

<400> 209
Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
5

<210> 210
<211> 12
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 21

<400> 210
Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Val Trp Glu Trp Pro
5 10

<210> 211
<211> 348
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 22

<400> 211	
caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ccggggcctc agtgaagggtt	60
tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc	120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtgggtggtag cacaagctac	180
gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac	240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag	300
tactggatgt acgactgggg caaaggcacc ctgggtcacg tctcgagt	348

<210> 212
<211> 116
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 22

<400> 212	
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala	15
5	10
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Ser Tyr	30
20	25
Tyr Met His Trp Ala Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met	45
35	40
Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe	60
50	55
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr	80
65	70
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	95
85	90
Ala Arg Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val	110
100	105

Thr Val Ser Ser
115

<210> 213
<211> 5
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 22

<400> 213
Ser Tyr Tyr Met His
5

<210> 214
<211> 17
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 22

<400> 214
Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
5 10 15

Gly

<210> 215
<211> 7
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 22

<400> 215
Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp
5

<210> 216
<211> 333
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 22

<400> 216
cagcccgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60
tcttgctctg gaggcagctc caacattggg aatagttatg taccctggta ccagcaactc 120
ccaggaacag cccccaaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240
actggggacg aggccgatta tttctgcgga acatgggata ccagcacggt gtgggagtgg 300
ccgttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 217

```

<211> 111
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 22

<400> 217
Gln Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
                    5                               10                      15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser
                20                               25                      30

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

Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
                50                               55                      60

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

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

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

```

```
<210> 218
<211> 13
<212> PPT
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 22

```
<400> 218
Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser
          5          10
```

```
<210> 219
<211> 7
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 22

<400> 219
Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
5

```
<210> 220
<211> 12
<212> PPT
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 22

<400> 220
Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Val Trp Glu Trp Pro
5 10

<210> 221

<211> 348
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 23

<400> 221
 caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaggaagc ctggggcctc agtgaagggt 60
 tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120
 cccgggcaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtgggtggtag cacaagctac 180
 gcgcagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag 300
 tactggatgt acgactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 222
 <211> 116
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 23

<400> 222
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Arg Lys Pro Gly Ala
 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Tyr Met His Trp Ala Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser
 115

<210> 223
 <211> 5
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 23

<400> 223
 Ser Tyr Tyr Met His
 5

<210> 224
 <211> 17

<212> IPT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 23

```
<400> 224
Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
          5              10              15
```

Gly

```
<210> 225
<211> 7
<212> PPT
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 23

<400> 225
Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp
5

```
<210> 226
<211> 333
<212> ДНК
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 23

<400> 226							
cagtcctgtgt	tgacgcagcc	gccctcagtg	tctgcggccc	caggacagaa	ggtcaccatc		60
tcttgctctg	gaggcagctc	caacattggg	aataattatg	tatcctggta	ccagcaactc		120
ccaggaacag	cccccaaact	cctcatttac	gacaataata	agcgaccccc	agggattcct		180
gaccgattct	ctggctccaa	gtctggcacg	tcagccaccc	tggccatcac	cggactccag		240
actggggacg	aggccgatta	ttactgcgga	acatgggata	ccagcacggt	gtgggagtgg		300
ccgttcggaa	ctgggaccaa	gctgaccgtc	cta				333

```
<210> 227
<211> 111
<212> ΠPT
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 23

<400> 227
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
5 10 15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn
20 25 30

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

Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Pro Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

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

<210> 228
 <211> 13
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 23

<400> 228
 Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn Tyr Val Ser
 5 10

<210> 229
 <211> 7
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 23

<400> 229
 Asp Asn Asn Lys Arg Pro Pro
 5

<210> 230
 <211> 12
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 23

<400> 230
 Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Val Trp Glu Trp Pro
 5 10

<210> 231
 <211> 348
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 24

<400> 231
 caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaagggtt 60
 tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcaactggc gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagt gatgggaata atcaacccta gaggtggtag cacaagctac 180
 gcacagaagt tccagggcag agtcacatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag 300
 tactggatgt acgactgggg caaaggcacc ctgggtcaccg tctcgagt 348

<210> 232
 <211> 116
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 24

<400> 232
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Tyr Met His Trp Ala Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Ile Ile Asn Pro Arg Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser
 115

<210> 233
 <211> 5
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 24

<400> 233
 Ser Tyr Tyr Met His
 5

<210> 234
 <211> 17
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 24

<400> 234
 Ile Ile Asn Pro Arg Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 5 10 15
 Gly

<210> 235
 <211> 7
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 24

<400> 235

Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp
5

<210> 236

<211> 333

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 24

<400> 236

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc	60
tcctgctctg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tatectggta ccagcaactc	120
ccaggaacag cccccaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct	180
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag	240
actggggacg aggccgatta tttctgcgga acatgggata ccagcacggt gtgggagtgg	300
ccgttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta	333

<210> 237

<211> 111

<212> ПРТ

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 24

<400> 237

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

<210> 238

<211> 13

<212> ПРТ

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 24

<400> 238

Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser

5

10

<210> 239
 <211> 7
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 24

<400> 239
 Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
 5

<210> 240
 <211> 12
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 24

<400> 240
 Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Val Trp Glu Trp Pro
 5 10

<210> 241
 <211> 348
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 25

<400> 241
 caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaagggtt 60
 tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagt gatgggaata atcaacccta gaggtggtag cgcaagctac 180
 gcacagaagt tccagggcag agtctccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240
 atggagctga gcagcctgag gtctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag 300
 tactggatgt acgactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 242
 <211> 116
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 25

<400> 242
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala 15
 5 10
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Ser Tyr 30
 20 25
 Tyr Met His Trp Ala Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met 45
 35 40
 Gly Ile Ile Asn Pro Arg Gly Gly Ser Ala Ser Tyr Ala Gln Lys Phe

50		55		60
Gln Gly Arg Val Ser Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr				
65		70		75
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys				
	85		90	95
Ala Arg Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val				
	100		105	110
Thr Val Ser Ser				
	115			

<210> 243
 <211> 5
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 25

<400> 243
 Ser Tyr Tyr Met His
 5

<210> 244
 <211> 17
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 25

<400> 244
 Ile Ile Asn Pro Arg Gly Gly Ser Ala Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 5 10 15

Gly

<210> 245
 <211> 7
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 25

<400> 245
 Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp
 5

<210> 246
 <211> 333
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 25

<400> 246
 cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcgcccc cgggacagaa ggtcaccatc 60
 tcctgctctg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tctcctggta ccagcaactc 120

ccaggaacag cccccaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180
gaccgattct ctgggtccaa gtctggcacg acagccaccc tggccatcac cggactccag 240
actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatggggtta ccagcacggt gtgggagtgg 300
ccgttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 247
<211> 111
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 25

<400> 247
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
5 10 15
Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser
20 25 30
Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Thr Ala Thr Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln
65 70 75 80
Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Val Thr Ser Thr
85 90 95
Val Trp Glu Trp Pro Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 248
<211> 13
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 25

<400> 248
Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser
5 10

<210> 249
<211> 7
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 25

<400> 249
Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
5

<210> 250
<211> 12
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 25

<400> 250

Gly Thr Trp Val Thr Ser Thr Val Trp Glu Trp Pro
5 10

<210> 251

<211> 348

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 26

<400> 251

caggtccagc	tggtgcagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	ctggggcctc	agtgaaggtt	60
tcttgcaagg	catctggata	cgccttcacc	agctactata	tgactgggc	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggcttgagtg	gatgggaata	atcaacccta	gtggtggtag	cacaagctac	180
gcacagaagt	tccagggcag	agtcaccatg	accagggaca	cgtccacgag	cacagtctac	240
atggagctga	gcagcctgag	atctgaggac	acggccgtgt	attactgtgc	gagaggaaag	300
tactggatgt	acgactgggg	caaaggcacc	ctggtcaccg	tctcgagt		348

<210> 252

<211> 116

<212> ПРТ

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 26

<400> 252

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

<210> 253

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 26

<400> 253
Ser Tyr Tyr Met His
5

<210> 254
<211> 17
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 26

<400> 254
Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
5 10 15

Gly

<210> 255
<211> 7
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 26

<400> 255
Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp
5

<210> 256
<211> 333
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 26

<400> 256
cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcccgc caggacagaa ggtcaccatc 60
tctgtctctg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tctctggta ccagcaactc 120
ccaggaacag cccccaaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240
actggggacg aggccgatta tttctgcgga acatgggata ccagcacggt gtgggagtg 300
ccgttcgga ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 257
<211> 111
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 26

<400> 257
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
5 10 15

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

<210> 258
<211> 13
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 26

<400> 258
Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser
5 10

<210> 259
<211> 7
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 26

<400> 259
Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
5

<210> 260
<211> 12
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 26

<400> 260
Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Val Trp Glu Trp Pro
5 10

<210> 261
<211> 348
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 27

<400> 261
caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaggaagc ctggggcctc agtgaaggtt

60

tcctgcaagg	catctggata	cgccttcacc	agctactata	tgcactgggc	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggcttgagtg	gatgggaata	atcaacccta	gtggtggtag	cacaagctac	180
gcacagaagt	tccagggcag	agttaccatg	accagggaca	cgtdccacgag	cacggtctac	240
atggagctga	gcagcctgag	acctgaggac	acggccgtgt	attactgtgc	gagaggaaag	300
tactggatgt	acgactgggg	caaaggcacc	caggtcaccg	tctcgagt		348

```
<210> 262
<211> 116
<212> PPT
<213> Homo sapiens
```

```

<400> 262
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Arg Lys Pro Gly Ala
      5      10
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Ser Tyr
      20      25      30
Tyr Met His Trp Ala Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
      35      40      45
Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
      50      55      60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
      65      70      75      80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
      85      90      95
Ala Arg Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp Trp Gly Lys Gly Thr Gln Val
      100      105      110
Thr Val Ser Ser
      115

```

<220>
<223> Антитело 27

```
<210> 264
<211> 17
<212> PPT
<213> Homo sapiens
```

```
<400> 264
Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
          5              10              15
```



```
<210> 268
<211> 13
<212> PPT
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 27

<400> 268
Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser
5 10

```
<210> 269
<211> 7
<212> PPT
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 27

<400> 269
Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
5

```
<210> 270
<211> 12
<212> PPT
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 27

<400> 270
Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Val Trp Glu Trp Pro
5 10

```
<210> 271
<211> 348
<212> ДНК
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 28

<400>	271
cagggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcgctc agtgaaggtt	60
tectgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcaactgggc gcgacaggcc	120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtggtggttag cacaagctac	180
gcacagaagt tcaggggcag agtcaccatg accaggggaca cgcccacgag cacagtctac	240
atggagctga gcagcctgag atctgaagac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag	300
tactggatgt acgactgggg caacggcacc ctgggtcacccg tctcgagt	348

```
<210> 272
<211> 116
<212> PPT
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 28

<400> 272

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

<210> 273
<211> 5
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 28

<400> 273
Ser Tyr Tyr Met His
5

<210> 274
<211> 17
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 28

<400> 274
Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
5 10 15

Gly

<210> 275
<211> 7
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 28

<400> 275
Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp
5

<210> 276
<211> 333
<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 28

<400> 276

ctgcctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc	60
tctgtctctg gaggcagctc cagcattggg aatagttatg tatcctggta ccagcaactc	120
ccaggagcag cccccaact cctcatttac gacaacaata agcgaccctc agggattcct	180
gaccgattct ctggcttcag gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag	240
actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcccggg gtgggagtgg	300
ccgttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta	333

<210> 277

<211> 111

<212> ПРТ

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 28

<400> 277

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

<210> 278

<211> 13

<212> ПРТ

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 28

<400> 278

Ser Gly Gly Ser Ser Ser Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser	5	10
---	---	----

<210> 279

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 28

<400> 279
Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
5

<210> 280
<211> 12
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 28

<400> 280
Gly Thr Trp Asp Thr Ser Pro Val Trp Glu Trp Pro
5 10

<210> 281
<211> 348
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 29

<400> 281
caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60
tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtggtggtag cacaagctac 180
gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag 300
tactggatgt acgactgggg caaaggcacc cgggtcaccg tctcgagt 348

<210> 282
<211> 116
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 29

<400> 282
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Tyr Met His Trp Ala Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp Trp Gly Lys Gly Thr Arg Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 283
<211> 5
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 29

<400> 283
Ser Tyr Tyr Met His
5

<210> 284
<211> 17
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 29

<400> 284
Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
5 10 15

Gly

<210> 285
<211> 7
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 29

<400> 285
Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp
5

<210> 286
<211> 333
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 29

<400> 286
cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcgggccc caggacagaa ggtcaccatc 60
tcctgctctg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tatcctggta ccagcaactc 120
ccaggaacag cccccaaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240
actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcccggg gtgggagtgg 300
ccgttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 287

<211> 111
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 29

<400> 287
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
 5 10 15
 Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser
 20 25 30
 Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln
 65 70 75 80
 Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Thr Ser Pro
 85 90 95
 Val Trp Glu Trp Pro Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 288
 <211> 13
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 29

<400> 288
 Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser
 5 10

<210> 289
 <211> 7
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 29

<400> 289
 Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
 5

<210> 290
 <211> 12
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 29

<400> 290
 Gly Thr Trp Asp Thr Ser Pro Val Trp Glu Trp Pro
 5 10

<210> 291

<211> 348
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 30

<400> 291
 caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaagggt 60
 tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagtg gatggggata atcaacccta gtggtggttag cacaagctac 180
 gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag 300
 tactggatgt acgactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 292
 <211> 116
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 30

<400> 292
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Tyr Met His Trp Ala Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser
 115

<210> 293
 <211> 5
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 30

<400> 293
 Ser Tyr Tyr Met His
 5

<210> 294
 <211> 17

<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 30

<400> 294
Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
5 10 15

Gly

<210> 295
<211> 7
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 30

<400> 295
Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp
5

<210> 296
<211> 333
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 30

<400> 296
cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60
tctgtctctg ggggcagctc caacattggg aatagttatg tctcctggta ccagcgactc 120
ccaggagcag cccccaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240
actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcacggt gtgggagtgg 300
ccgttcgga ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 297
<211> 111
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 30

<400> 297
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
5 10 15
Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser
20 25 30
Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Arg Leu Pro Gly Ala Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

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

<210> 298
<211> 13
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 30

<400> 298
Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser
5 10

<210> 299
<211> 7
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 30

<400> 299
Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
5

<210> 300
<211> 12
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 30

<400> 300
Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Val Trp Glu Trp Pro
5 10

<210> 301
<211> 348
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 31

<400> 301
caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaagggtt 60
tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtggtggtag cacaagctac 180
gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag 300
tactggatgt acgactgggg caaaggcacc ctgggtcaccg tctcgagt 348

<210> 302
 <211> 116
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 31

<400> 302
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Tyr Met His Trp Ala Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser
 115

<210> 303
 <211> 5
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 31

<400> 303
 Ser Tyr Tyr Met His
 5

<210> 304
 <211> 17
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 31

<400> 304
 Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 5 10 15
 Gly

<210> 305
 <211> 7
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 31

<400> 305

Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp
5

<210> 306

<211> 333

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 31

<400> 306

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc	60
tcctgctctg gaggcagctc cagcattggg aatagttatg tatcctggta ccagcaactc	120
ccaggaacag cccccaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct	180
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag	240
actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggcta ccagcccggg gtgggagtgg	300
ccgttcgga ctgggaccaa gctgaccgtc cta	333

<210> 307

<211> 111

<212> ПРТ

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 31

<400> 307

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

<210> 308

<211> 13

<212> ПРТ

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 31

<400> 308

Ser Gly Gly Ser Ser Ser Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser

<210> 309
 <211> 7
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 31

<400> 309
 Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
 5

<210> 310
 <211> 12
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 31

<400> 310
 Gly Thr Trp Ala Thr Ser Pro Val Trp Glu Trp Pro
 5 10

<210> 311
 <211> 348
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 32

<400> 311
 cagggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggggcctc agtgaaggtt 60
 tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtggtggtag cacaagctac 180
 gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaaag 300
 tactggatgt acgactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 312
 <211> 116
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 32

<400> 312
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Tyr Met His Trp Ala Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe

50		55		60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr				
65		70		75
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys				
	85		90	95
Ala Arg Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val				
	100		105	110
Thr Val Ser Ser				
	115			

<210> 313
 <211> 5
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 32

<400> 313
 Ser Tyr Tyr Met His
 5

<210> 314
 <211> 17
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 32

<400> 314
 Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 5 10 15

Gly

<210> 315
 <211> 7
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 32

<400> 315
 Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp
 5

<210> 316
 <211> 333
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 32

<400> 316
 cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtaaccatc 60
 tctgtctctg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tatcctggta ccagcaactc 120

ccaggaacag cccccaaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180
gaccgattct ctgggtccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240
actgggggacg aggccgatta tttctgcgga acatgggata ccagcacggc gtgggagtg 300
ccgttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 317
<211> 111
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 32

<400> 317
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
5 10 15
Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser
20 25 30
Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln
65 70 75 80
Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Phe Cys Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr
85 90 95
Ala Trp Glu Trp Pro Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 318
<211> 13
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 32

<400> 318
Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser
5 10

<210> 319
<211> 7
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 32

<400> 319
Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
5

<210> 320
<211> 12
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 32

<400> 320

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Ala Trp Glu Trp Pro
 5 10

<210> 321

<211> 348

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 33

<400> 321

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gagaagaagc ctggggcctc agtgaagggtt 60
 tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcaactgggc ggcacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagt gatgggaata atcaacccta gtgggtggtag cactagctac 180
 gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag 300
 tactggatgt acgactgggg caaaggcacc ctgggtcaccg tctcgagt 348

<210> 322

<211> 116

<212> ПРТ

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 33

<400> 322

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

<210> 323

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 33

<400> 323
Ser Tyr Tyr Met His
5

<210> 324
<211> 17
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 33

<400> 324
Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
5 10 15

Gly

<210> 325
<211> 7
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 33

<400> 325
Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp
5

<210> 326
<211> 333
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 33

<400> 326
cagtctgcgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60
tcctgctctg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tctcctggta ccagcaactc 120
cctggaacag cccccaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240
actggggacg aggccgatta tttctgcgga acatgggata ccagcacggt gtgggagtgg 300
ccgttcggaa ccgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 327
<211> 111
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 33

<400> 327
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
5 10 15

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

<210> 328
<211> 13
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 33

<400> 328
Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser
5 10

<210> 329
<211> 7
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 33

<400> 329
Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
5

<210> 330
<211> 12
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 33

<400> 330
Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Val Trp Glu Trp Pro
5 10

<210> 331
<211> 348
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 34

<400> 331
caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaagggtt

60

tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagt gatgggaata atcaacccta gtggtggtag cacaagctac 180
gcacagaagt tccagggcag agtctccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag 300
tactggatgt acgactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 332
<211> 116
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 34

<400> 332
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Tyr Met His Trp Ala Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Ser Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser
115

<210> 333
<211> 5
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 34

<400> 333
Ser Tyr Tyr Met His
5

<210> 334
<211> 17
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 34

<400> 334
Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
5 10 15

Gly

<210> 335
 <211> 7
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 34

<400> 335
 Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp
 5

<210> 336
 <211> 333
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 34

<400> 336
 cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tccgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60
 tcctgctctg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tgtcctggta ccagcaactc 120
 ccaggaacgg cccccaaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180
 gaccgattct ctgggtccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240
 actggggacg aggccgatta tttctgogga acatgggata ccagcacggt gtgggagtg 300
 ccgttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 337
 <211> 111
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 34

<400> 337
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
 5 10 15
 Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser
 20 25 30
 Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln
 65 70 75 80
 Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Phe Cys Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr
 85 90 95
 Val Trp Glu Trp Pro Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 338
 <211> 13
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 34

<400> 338
 Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser
 5 10

<210> 339
 <211> 7
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 34

<400> 339
 Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
 5

<210> 340
 <211> 12
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 34

<400> 340
 Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Val Trp Glu Trp Pro
 5 10

<210> 341
 <211> 348
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 35

<400> 341
 caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60
 tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtggtggttag cacaagctac 180
 gcacagaagt tccagggcag agtcacatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag 300
 tactggatgt acgactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 342
 <211> 116
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 35

<400> 342

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

<210> 343
<211> 5
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 35

<400> 343
Ser Tyr Tyr Met His
5

<210> 344
<211> 17
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 35

<400> 344
Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
5 10 15

Gly

<210> 345
<211> 7
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 35

<400> 345
Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp
5

<210> 346
<211> 333
<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 35

<400> 346

```

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc      60
tcctgctctg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tatcctggta ccagcaactc      120
ccaggaacag cccccaaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct      180
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag      240
actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcccggg gtgggagtgg      300
ccgttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta                                     333

```

<210> 347

<211> 111

<212> ПРТ

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 35

<400> 347

```

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

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser
                    20                                25                30

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

Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
                    50                                55                60

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

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

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

```

<210> 348

<211> 13

<212> ПРТ

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 35

<400> 348

```

Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser
                    5                                10

```

<210> 349

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 35

<400> 349
Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
5

<210> 350
<211> 12
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 35

<400> 350
Gly Thr Trp Asp Thr Ser Pro Val Trp Glu Trp Pro
5 10

<210> 351
<211> 348
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 36

<400> 351
cagggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggggcctc agtgaagggtt 60
tcctgcaagg catctggata cgcttcacc agctactaca tgcactgggc gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagt gatgggaata atcaacccta gtgggtggtag cgcaagctac 180
gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag 300
tactggatgt acgactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 352
<211> 116
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 36

<400> 352
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Tyr Met His Trp Ala Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Ala Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 353
<211> 5
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 36

<400> 353
Ser Tyr Tyr Met His
5

<210> 354
<211> 17
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 36

<400> 354
Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Ala Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
5 10 15

Gly

<210> 355
<211> 7
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 36

<400> 355
Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp
5

<210> 356
<211> 333
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 36

<400> 356
cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60
tcctgctctg gaggcagctc caacattggg aatagttatg taccctggta ccagcaactc 120
ccaggaacag cccccaaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180
gaccgattct ctgggtccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240
actggggacg aggcggatta ttactgcgga acatgggatt ccagcacggg gtgggagtgg 300
ccgttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 357

```
<211> 111
<212> PPT
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 36

<400>		357																	
Gln	Ser	Val	Leu	Thr 5	Gln	Pro	Pro	Ser	Val 10	Ser	Ala	Ala	Pro	Gly 15	Gln				
Lys	Val	Thr	Ile 20	Ser	Cys	Ser	Gly	Gly 25	Ser	Ser	Asn	Ile	Gly 30	Asn	Ser				
Tyr	Val	Ser 35	Trp	Tyr	Gln	Gln	Leu 40	Pro	Gly	Thr	Ala	Pro 45	Lys	Leu	Leu				
Ile	Tyr 50	Asp	Asn	Asn	Lys	Arg 55	Pro	Ser	Gly	Ile	Pro 60	Asp	Arg	Phe	Ser				
Gly 65	Ser	Lys	Ser	Gly	Thr 70	Ser	Ala	Thr	Leu	Ala 75	Ile	Thr	Gly	Leu	Gln 80				
Thr	Gly	Asp	Glu	Ala 85	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gly 90	Thr	Trp	Asp	Ser	Ser 95	Thr				
Val	Trp	Glu	Trp 100	Pro	Phe	Gly	Thr	Gly 105	Thr	Lys	Leu	Thr	Val 110	Leu					

```
<210> 358
<211> 13
<212> PPT
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 36

<400> 358
Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser
5 10

```
<210> 359
<211> 7
<212> PPT
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 36

<400> 359
Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
5

```
<210> 360
<211> 12
<212> PPT
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 36

<400> 360
Gly Thr Trp Asp Ser Ser Thr Val Trp Glu Trp Pro
5 10

<210> 361

```
<210> 364
<211> 17
```

<212> PPT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 37

<400> 364
Ile Ile Asn Pro Arg Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
5 10 15

Gly

```
<210> 365
<211> 7
<212> PPT
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 37

<400> 365
Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp
5

```
<210> 366
<211> 333
<212> ДНК
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 37

```
<400> 366  
cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tcagcgggccc caggacagaa ggtcaccatc      60  
  
tcctgctctg gaggcggctc cagcattggg aatagctatg tatcctggta ccagcaactc      120  
  
ccaggaacag cccccaaact cctcatctac gacaataata agcgaccctc agggttccct      180  
  
gaccgattct ctgggtccaa gtctggcacg tgggccacct tggccatcac cggaactccag      240  
  
actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcccggg gtggggagtgg      300  
  
ccgttcggaa ctgggacca gctgaccgtc cta                                     333
```

```
<210> 367
<211> 111
<212> PPT
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 37

<400> 367
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
5 10 15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Gly Ser Ser Ile Gly Asn Ser
20 25 30

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

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

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

<210> 368
<211> 13
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 37

<400> 368
Ser Gly Gly Gly Ser Ser Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser
5 10

<210> 369
<211> 7
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 37

<400> 369
Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
5

<210> 370
<211> 12
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 37

<400> 370
Gly Thr Trp Asp Thr Ser Pro Val Trp Glu Trp Pro
5 10

<210> 371
<211> 348
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 38

<400> 371
cagggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggggcctc agtgaagggtt 60
tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagt gatgggaata atcaacccta gtgggtggtag cgcaagctac 180
gcacagaagt tccagggcag agtcacatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag 300
tactggatgt acgactgggg caaaggcacc ctgggtcaccg tctcgagt 348

```
<210> 372
<211> 116
<212> PPT
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 38

```
<400> 372
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
      5                               10                      15

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

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

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

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

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

Ala Arg Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val
      100                           105                      110

Thr Val Ser Ser
      115
```

```
<210> 373
<211> 5
<212> PPT
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 38

<400> 373
Ser Tyr Tyr Met His
5

```
<210> 374
<211> 17
<212> PPT
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 38

```

<400> 374
Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Ala Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
          5              10              15
Gly

```

```
<210> 375
<211> 7
<212> PPT
<213> Homo sapiens
```

<220>

<223> Антитело 38

<400> 375

Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp
5

<210> 376

<211> 333

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 38

<400> 376

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc	60
tctgtctctg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tctcctggta ccagcaactc	120
ccaggaacag cccccaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct	180
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag	240
actggggacg aggccgatta tttctgcgga acatgggata ccagcacggg gtgggagtg	300
ccgttcgga ctgggaccaa gctgaccgtc cta	333

<210> 377

<211> 111

<212> ПРТ

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 38

<400> 377

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

<210> 378

<211> 13

<212> ПРТ

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 38

<400> 378

Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser

5

10

<210> 379
 <211> 7
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 38

<400> 379
 Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
 5

<210> 380
 <211> 12
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 38

<400> 380
 Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Val Trp Glu Trp Pro
 5 10

<210> 381
 <211> 348
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 39

<400> 381
 caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaagggtt 60
 tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta ggggtggtag cacaagctac 180
 gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag 300
 tactggatgt acgactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 382
 <211> 116
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 39

<400> 382
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Tyr Met His Trp Ala Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Ile Ile Asn Pro Arg Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe

50		55		60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr				
65		70		75
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys				
	85		90	95
Ala Arg Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val				
	100		105	110
Thr Val Ser Ser				
	115			

<210> 383
 <211> 5
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 39

<400> 383
 Ser Tyr Tyr Met His
 5

<210> 384
 <211> 17
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 39

<400> 384
 Ile Ile Asn Pro Arg Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 5 10 15

Gly

<210> 385
 <211> 7
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 39

<400> 385
 Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp
 5

<210> 386
 <211> 333
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 39

<400> 386
 cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcgggccc caggacagaa ggtcaccatc 60
 tctgtctctg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tctctggta ccagcaactc 120

ccaggaacag cccccaaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180
gaccgattct ctgggtccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240
actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcacggc gtggggagtgg 300
ccgttcggaa ctggggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 387
<211> 111
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 39

<400> 387
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
5 10 15
Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser
20 25 30
Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln
65 70 75 80
Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr
85 90 95
Ala Trp Glu Trp Pro Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 388
<211> 13
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 39

<400> 388
Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser
5 10

<210> 389
<211> 7
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 39

<400> 389
Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
5

<210> 390
<211> 12
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 39

<400> 390

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Ala Trp Glu Trp Pro
 5 10

<210> 391

<211> 348

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 40

<400> 391

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaagggtt 60
 tcctgcaagg catctggata cgcttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtggtggtag cacaagctac 180
 gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag 300
 tactggatgt acgactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 392

<211> 116

<212> ПРТ

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 40

<400> 392

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

<210> 393

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 40

<400> 393
 Ser Tyr Tyr Met His
 5

<210> 394
 <211> 17
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 40

<400> 394
 Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 5 10 15

Gly

<210> 395
 <211> 7
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 40

<400> 395
 Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp
 5

<210> 396
 <211> 333
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 40

<400> 396
 cagtcctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcgggccc caggacagaa ggtcaccatc 60
 tcctgctctg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tctcctggta ccagcaactc 120
 ccaggaacag cccccaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180
 gaccgattct ctgggtccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240
 actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggatt ccagcacggt gtgggagtgg 300
 ccgttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 397
 <211> 111
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 40

<400> 397
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
 5 10 15

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

<210> 398
<211> 13
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 40

<400> 398
Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser
5 10

<210> 399
<211> 7
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 40

<400> 399
Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
5

<210> 400
<211> 12
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 40

<400> 400
Gly Thr Trp Asp Ser Ser Thr Val Trp Glu Trp Pro
5 10

<210> 401
<211> 348
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 41

<400> 401
caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaggaagc ctggggcctc agtgaagggtt

60

tctctgcaagg	catctggata	cgccttcacc	agctactata	tgcactgggc	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggcttgagtg	gatgggaata	atcaacccta	gtggtggtag	cacaagctac	180
gcacagaagt	tccagggcag	agtcaccatg	accagggaca	cgtccacgag	cacagtctac	240
atggagctga	gcagcctgag	acctgaggac	acggccgtgt	attactgtgc	gagaggaaag	300
tactgqatgt	acgactgggg	caaaggcacc	ctgggtcaccg	tctcgggt		348

```
<210> 402
<211> 116
<212> IPT
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 41

[illegible]

```
<210> 403
<211> 5
<212> PPT
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 41

<400> 403
Ser Tyr Tyr Met His
5

```
<210> 404
<211> 17
<212> PPT
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 41

```
<400> 404
Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
          5              10              15
```

Gly

<210> 405
 <211> 7
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 41

<400> 405
 Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp
 5

<210> 406
 <211> 333
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 41

<400> 406
 cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60
 tcctgctctg gaggcagcac caacattggg aatagttatg tatcctggta ccagcgactc 120
 ccaggaacag cccccaaact cctcatttac gacaataata agcgaccccc agggattcct 180
 gaccgattct ctgggtccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240
 actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcacggt gtgggagtgg 300
 ccgttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 407
 <211> 111
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 41

<400> 407
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
 5 10 15
 Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Thr Asn Ile Gly Asn Ser
 20 25 30
 Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Arg Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Pro Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln
 65 70 75 80
 Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr
 85 90 95
 Val Trp Glu Trp Pro Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105 110

<400> 412

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

<210> 413
<211> 5
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 42

<400> 413
Ser Tyr Tyr Met His
5

<210> 414
<211> 17
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 42

<400> 414
Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
5 10 15

Gly

<210> 415
<211> 7
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 42

<400> 415
Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp
5

<210> 416
<211> 333
<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 42

<400> 416

```

caggctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcgggccc caggacagaa ggtcaccatc      60
tctgtctctg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tctcctggta ccagcgactc      120
ccaggagcag cccccaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct      180
gaccgattct ctgggtccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag      240
actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcacggg gtgggagtgg      300
ccgttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta                                     333

```

<210> 417

<211> 111

<212> ПРТ

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 42

<400> 417

```

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

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser
                    20                      25                      30

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

Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
                    50                      55                      60

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

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

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

```

<210> 418

<211> 13

<212> ПРТ

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 42

<400> 418

```

Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser
                    5                      10

```

<210> 419

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 42

<400> 419
Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
5

<210> 420
<211> 12
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 42

<400> 420
Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Gly Trp Glu Trp Pro
5 10

<210> 421
<211> 348
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 24 PGL

<400> 421
caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaagggt 60
tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gaggtggtag cacaagctac 180
gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag 300
tactggatgt acgactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 422
<211> 116
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 24 PGL

<400> 422
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Ile Ile Asn Pro Arg Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 423
<211> 5
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 24 PGL

<400> 423
Ser Tyr Tyr Met His
5

<210> 424
<211> 17
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 24 PGL

<400> 424
Ile Ile Asn Pro Arg Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
5 10 15

Gly

<210> 425
<211> 7
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 24 PGL

<400> 425
Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp
5

<210> 426
<211> 333
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Антитело 24 PGL

<400> 426
cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60
tctgtctctg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tctcctggta ccagcaactc 120
ccaggaacag cccccaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tgggcatcac cggactccag 240
actggggacg aggccgatta tttctgcgga acatgggata ccagcacggt gtgggagtg 300
ccgttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 427

```
<211> 111
<212> PPT
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 24 PGL

<400> 427															
Gln	Ser	Val	Leu	Thr	Gln	Pro	Pro	Ser	Val	Ser	Ala	Ala	Pro	Gly	Gln
			5						10					15	
Lys	Val	Thr	Ile	Ser	Cys	Ser	Gly	Gly	Ser	Ser	Asn	Ile	Gly	Asn	Ser
			20					25					30		
Tyr	Val	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Leu	Pro	Gly	Thr	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu
		35					40					45			
Ile	Tyr	Asp	Asn	Asn	Lys	Arg	Pro	Ser	Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser
	50					55					60				
Gly	Ser	Lys	Ser	Gly	Thr	Ser	Ala	Thr	Leu	Gly	Ile	Thr	Gly	Leu	Gln
65					70					75					80
Thr	Gly	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Phe	Cys	Gly	Thr	Trp	Asp	Thr	Ser	Thr
				85					90					95	
Val	Trp	Glu	Trp	Pro	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	
			100					105					110		

```
<210> 428
<211> 13
<212> PPT
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 24 PGL

<400> 428
Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser
5 10

```
<210> 429
<211> 7
<212> PPT
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 24 PGL

<400> 429
Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
5

```
<210> 430
<211> 12
<212> PPT
<213> Homo sapiens
```

<223> Антитело 24 PGL

<400> 430
Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Val Trp Glu Trp Pro
5 10

<210> 431

<211> 348
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 24 GL

<400> 431
 caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaagggt 60
 tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggt gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gaggtggtag cacaagctac 180
 gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag 300
 tactggatgt acgactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 432
 <211> 116
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 24 GL

<400> 432
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Ile Ile Asn Pro Arg Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser
 115

<210> 433
 <211> 5
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 24 GL

<400> 433
 Ser Tyr Tyr Met His
 5

<210> 434
 <211> 17

<212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 24 GL

<400> 434
 Ile Ile Asn Pro Arg Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 5 10 15

Gly

<210> 435
 <211> 7
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 24 GL

<400> 435
 Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp
 5

<210> 436
 <211> 333
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 24 GL

<400> 436
 cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcgggccc caggacagaa ggtcaccatc 60
 tcctgctctg gaggcagctc caacattggg aatagttatg taccctggta ccagcaactc 120
 ccaggaacag cccccaaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180
 gaccgattct ctgggtccaa gtctggcacg tcagccaccc tgggcatcac cggactccag 240
 actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcacggt gtgggagtgg 300
 ccgttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 437
 <211> 111
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 24 GL

<400> 437
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
 5 10 15
 Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser
 20 25 30
 Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60

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

<210> 438
 <211> 13
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 24 GL

<400> 438
 Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser
 5 10

<210> 439
 <211> 7
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 24 GL

<400> 439
 Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
 5

<210> 440
 <211> 12
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 24 GL

<400> 440
 Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Val Trp Glu Trp Pro
 5 10

<210> 441
 <211> 348
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 37 GL

<400> 441
 caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaagggt 60
 tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggt gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagt gatgggaata atcaacccta gaggtggtag cacaagctac 180
 gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag 300
 tactggatgt acgactgggg caaaggcacc ctgggtaccg tctcgagt 348

```
<210> 442
<211> 116
<212> PPT
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 37 GL

[illegible]

```
<210> 443
<211> 5
<212> PPT
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 37 GL

<400> 443
Ser Tyr Tyr Met His
5

```
<210> 444
<211> 17
<212> PPT
<213> Homo sapiens
```

<220>
<223> Антитело 37 GL

```
<400> 444
Ile Ile Asn Pro Arg Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
          5              10              15
Gly
```

```
<210> 445
<211> 7
<212> PPT
<213> Homo sapiens
```

<220>

<223> Антитело 37 GL

<400> 445

Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp
5

<210> 446

<211> 333

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 37 GL

<400> 446

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tcagcggccc caggacagaa ggtcaccatc	60
tcctgctctg gaggcggctc cagcattggg aatagctatg tatcctggta ccagcaactc	120
ccaggaacag cccccaaact cctcatctac gacaataata agcgaccctc agggattcct	180
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tgggcatcac cggactccag	240
actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcccggg gtgggagtgg	300
ccgttcgga ctgggaccaa gctgaccgtc cta	333

<210> 447

<211> 111

<212> ПРТ

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 37 GL

<400> 447

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

<210> 448

<211> 13

<212> ПРТ

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Антитело 37 GL

<400> 448

Ser Gly Gly Gly Ser Ser Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser

5

10

<210> 449
 <211> 7
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 37 GL

<400> 449
 Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
 5

<210> 450
 <211> 12
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Антитело 37 GL

<400> 450
 Gly Thr Trp Asp Thr Ser Pro Val Trp Glu Trp Pro
 5 10

<210> 451
 <211> 96
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

<220>
 <223> IL4R макак-крабоедов, праймер 1

<400> 451
 ggggacaagt ttgtacaaaa aagcaggctt ctttaacttt aagaaggaga tataaccatg 60
 ggggtggcttt gctctgggct cctgttgccct gtgagc 96

<210> 452
 <211> 63
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

<220>
 <223> IL4R макак-крабоедов, праймер 2

<400> 452
 ggggaccact ttgtacaaga aagctgggtc ctgctcgaag ggctccctgt aggagttgta 60
 сса 63

<210> 453
 <211> 32
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

<220>
 <223> I75V олигонуклеотид, мутантный праймер

<400> 453
 gaagccsaca cgtgtgccct gagaacaacg ga 32

<210> 454
 <211> 478

<212> HPT

<213> Homo sapiens

<400> 454

Met Gly Trp Leu Cys Ser Gly Leu Leu Phe Pro Val Ser Cys Leu Val
 1 5 10 15

Leu Leu Gln Val Ala Ser Ser Gly Asn Met Lys Val Leu Gln Glu Pro
 20 25 30

Thr Cys Val Ser Asp Tyr Met Ser Ile Ser Thr Cys Glu Trp Lys Met
 35 40 45

Asn Gly Pro Thr Asn Cys Ser Thr Glu Leu Arg Leu Leu Tyr Gln Leu
 50 55 60

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

Gly Ala Gly Cys Val Cys His Leu Leu Met Asp Asp Val Val Ser Ala
 85 90 95

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

Gly Ser Phe Lys Pro Ser Glu His Val Lys Pro Arg Ala Pro Gly Asn
 115 120 125

Leu Thr Val His Thr Asn Val Ser Asp Thr Leu Leu Leu Thr Trp Ser
 130 135 140

Asn Pro Tyr Pro Pro Asp Asn Tyr Leu Tyr Asn His Leu Thr Tyr Ala
 145 150 155 160

Val Asn Ile Trp Ser Glu Asn Asp Pro Ala Asp Phe Arg Ile Tyr Asn
 165 170 175

Val Thr Tyr Leu Glu Pro Ser Leu Arg Ile Ala Ala Ser Thr Leu Lys
 180 185 190

Ser Gly Ile Ser Tyr Arg Ala Arg Val Arg Ala Trp Ala Gln Cys Tyr
 195 200 205

Asn Thr Thr Trp Ser Glu Trp Ser Pro Ser Thr Lys Trp His Asn Ser
 210 215 220

Tyr Arg Glu Pro Phe Asp Pro Ala Phe Leu Tyr Lys Val Val Gly Ala
 225 230 235 240

Ala Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 245 250 255

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro

260					265					270					
Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val
		275					280					285			
Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val
	290					295					300				
Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln
305					310					315					320
Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln
				325					330					335	
Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala
			340					345					350		
Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro
		355					360					365			
Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr
	370					375					380				
Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser
385					390					395					400
Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr
				405					410					415	
Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr
			420					425					430		
Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe
		435					440					445			
Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys
	450					455					460				
Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	His	His	His	His	His	His		
465					470					475					

<211> 693

<213> Мако

 $\langle 223 \rangle$

atgggggtggc

gcaagctctg ggagcatgaa ggtcctgcag gagcccacct gcgtctccga ctacatgagc 120

atctctacct gtgagtggaa gatgggcggt cccaccaatt gcagcgccga gctccgtctg 180

ttgtaccagc tgggtttttca gtcctccgaa acccacacgt gtgtccccga gaacaacggc 240
 ggtgtggggg gcgtgtgcc cctgctcatg gatgatgtgg tcagtatgga caactatacg 300
 ctggacctgt gggctggaca gcagctgctg tggaagggct ccttcaagcc cagcgagcat 360
 gtgaaaccca gggccccagg aaacctcacg gttcacacca atgtctccga cactgtgctg 420
 ctgacctgga gcaaccata tccccctgac aattacctgt ataatgatct cacctatgca 480
 gtcaacattt ggagtga aaa cgacccggca tattccagaa tccataacgt gacctaccta 540
 aaaccacccc tccgcatccc agccagcacc ctgaagtctg gaatttccta cagggcacgg 600
 gtgagggcct gggctcagca ctataacacc acctggagtg agtggagccc cagcaccaag 660
 tgggtacaact cctacagga gcccttcgag cag 693

<210> 456

<211> 1428

<212> ДНК

<213> Макаки-крабоеды

<220>

<223> КДНК IL-4Ra/Fc макак-крабоедов, нуклеотид

<400> 456

atgggggtggc tttgctctgg gtcctgttg cctgtgagct gcctggctct gctgcagggtg 60
 gcaagctctg ggagcatgaa ggtcctgcag gagccacct gcgtctccga ctacatgagc 120
 atctctacct gtgagtggaa gatgggcggg cccaccaatt gcagcgccga gctccgtctg 180
 ttgtaccagc tgggtttttca gtcctccgaa acccacacgt gtgtccccga gaacaacggc 240
 ggtgtggggg gcgtgtgcc cctgctcatg gatgatgtgg tcagtatgga caactatacg 300
 ctggacctgt gggctggaca gcagctgctg tggaagggct ccttcaagcc cagcgagcat 360
 gtgaaaccca gggccccagg aaacctcacg gttcacacca atgtctccga cactgtgctg 420
 ctgacctgga gcaaccata tccccctgac aattacctgt ataatgatct cacctatgca 480
 gtcaacattt ggagtga aaa cgacccggca tattccagaa tccataacgt gacctaccta 540
 aaaccacccc tccgcatccc agccagcacc ctgaagtctg gaatttccta cagggcacgg 600
 gtgagggcct gggctcagca ctataacacc acctggagtg agtggagccc cagcaccaag 660
 tgggtacaact cctacagga gcccttcgag caggaccag ctttcttgta caaagtgggt 720
 cgattcgagg agcccaaatc tagcgacaaa actcacacat gccaccgtg cccagcacct 780
 gaactcctgg ggggaccgtc agtcttcctc tccccccaa aaccaagga caccctcatg 840
 atctcccgga cccctgaggt cacatgcgtg gtgggtggacg tgagccacga agaccctgag 900
 gtcaagttca actggtagct ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg 960
 gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac 1020
 tggctgaatg gcaaggagta caagtgaag gtctccaaca aagccctccc agccccatc 1080
 gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc 1140
 ccatcccggt atgagctgac caagaaccag gtcagcctga cctgcctggg caaaggcttc 1200
 tatcccgagc acatcgccgt ggagtgggag agcaatggg agccggagaa caactacaaa 1260

accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc tccttcttcc tctacagcaa gctcaccgtg 1320
gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg 1380
cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc ctgtctccgg gtaaatga 1428

<210> 457

<211> 475

<212> ПРТ

<213> Макаки-крабоеды

<220>

<223> IL-4Ra/Fc макак-крабоедов, белок

<400> 457

Met Gly Trp Leu Cys Ser Gly Leu Leu Leu Pro Val Ser Cys Leu Val
1 5 10 15

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

Thr Cys Val Ser Asp Tyr Met Ser Ile Ser Thr Cys Glu Trp Lys Met
35 40 45

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

Val Phe Gln Ser Ser Glu Thr His Thr Cys Val Pro Glu Asn Asn Gly
65 70 75 80

Gly Val Gly Cys Val Cys His Leu Leu Met Asp Asp Val Val Ser Met
85 90 95

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

Gly Ser Phe Lys Pro Ser Glu His Val Lys Pro Arg Ala Pro Gly Asn
115 120 125

Leu Thr Val His Thr Asn Val Ser Asp Thr Val Leu Leu Thr Trp Ser
130 135 140

Asn Pro Tyr Pro Pro Asp Asn Tyr Leu Tyr Asn Asp Leu Thr Tyr Ala
145 150 155 160

Val Asn Ile Trp Ser Glu Asn Asp Pro Ala Tyr Ser Arg Ile His Asn
165 170 175

Val Thr Tyr Leu Lys Pro Thr Leu Arg Ile Pro Ala Ser Thr Leu Lys
180 185 190

Ser Gly Ile Ser Tyr Arg Ala Arg Val Arg Ala Trp Ala Gln His Tyr
195 200 205

Asn Thr Thr Trp Ser Glu Trp Ser Pro Ser Thr Lys Trp Tyr Asn Ser

210	215	220
Tyr Arg Glu Pro Phe Glu Gln Asp Pro Ala Phe Leu Tyr Lys Val Val 225 230 235 240		
Arg Phe Glu Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro 245 250 255		
Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro 260 265 270		
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr 275 280 285		
Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn 290 295 300		
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg 305 310 315 320		
Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val 325 330 335		
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser 340 345 350		
Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys 355 360 365		
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp 370 375 380		
Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe 385 390 395 400		
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu 405 410 415		
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe 420 425 430		
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly 435 440 445		
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr 450 455 460		
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys 465 470 475		
<210> 458		
<211> 1422		
<212> ДНН		

<213> Homo sapiens

<220>

<223> кДНК I75V IL-4Ra/Fc человека, нуклеотид

<400> 458

```

atgggggtggc tttgctctgg gctcctgttc cctgtgagct gcctggtcct gctgcagggtg      60
gcaagctctg ggaacatgaa ggtcttgag gagccacct gcgtctccga ctacatgagc      120
atctctactt gcgagtggaa gatgaatggt cccaccaatt gcagcaccga gctccgcctg      180
ttgtaccagc tggtttttct gctctccgaa gccacacgt gtgtccctga gaacaacgga      240
ggcgcggggt gcgtgtgcca cctgctcatg gatgacgtgg tcagtgcgga taactataca      300
ctggacctgt gggctgggca gcagctgctg tggagggtct cttcaagcc cagcgagcat      360
gtgaaacca gggccccagg aaacctgaca gttcacacca atgtctccga cactctgctg      420
ctgacctgga gcaaccgta tccccctgac aattacctgt ataatcatct cacctatgca      480
gtcaacattt ggagtgaana cgaccgggca gatttcagaa tctataacgt gacctaccta      540
gaacctccc tccgcatcgc agccagcacc ctgaagtctg ggatttcta cagggcacgg      600
gtgagggcct gggctcagtg ctataacacc acctggagtg agtggagccc cagcaccaag      660
tggcacaact cctacaggga gcccttcgac ccagctttct tgtacaaagt ggttcgattc      720
gaggagccca aatctagcga caaaactcac acatgccac cgtgcccagc acctgaactc      780
ctggggggac cgtcagtctt cctcttcccc ccaaaacca aggacacct catgatctcc      840
cggacctctg aggtcacatg cgtgggtgtg gacgtgagcc acgaagacc tgaggtcaag      900
ttcaactggt acgtggacgg cgtggaggtg cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag      960
cagtacaaca gcacgtaccg tgtggtcagc gtctcaccg tctgcacca ggactggctg     1020
aatggcaagg agtacaagtg caaggtctcc aacaaagccc tccagcccc catcgagaaa     1080
accatctcca aagccaaagg gcagccccga gaaccacagg tgtacacct gccccatcc     1140
cgggatgagc tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc tggtaaagg cttctatccc     1200
agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caaaaccacg     1260
cctcccgctg tggactccga cggtccttc ttctctaca gcaagctcac cgtggacaag     1320
agcaggtggc agcaggggaa cgtcttctca tgctccgtga tgcagtaggc tctgcacaac     1380
cactacacgc agaagagcct ctccctgtct ccgggtaaat ga                        1422

```

<210> 459

<211> 473

<212> ПРТ

<213> Homo sapiens

<220>

<223> I75V IL-4Ra/Fc человека, белок

<400> 459

```

Met Gly Trp Leu Cys Ser Gly Leu Leu Phe Pro Val Ser Cys Leu Val
1           5           10           15

```

```

Leu Leu Gln Val Ala Ser Ser Gly Asn Met Lys Val Leu Gln Glu Pro

```

20										25										30									
Thr	Cys	Val	Ser	Asp	Tyr	Met	Ser	Ile	Ser	Thr	Cys	Glu	Trp	Lys	Met														
		35					40					45																	
Asn	Gly	Pro	Thr	Asn	Cys	Ser	Thr	Glu	Leu	Arg	Leu	Leu	Tyr	Gln	Leu														
	50					55					60																		
Val	Phe	Leu	Leu	Ser	Glu	Ala	His	Thr	Cys	Val	Pro	Glu	Asn	Asn	Gly														
	65				70					75					80														
Gly	Ala	Gly	Cys	Val	Cys	His	Leu	Leu	Met	Asp	Asp	Val	Val	Ser	Ala														
				85					90					95															
Asp	Asn	Tyr	Thr	Leu	Asp	Leu	Trp	Ala	Gly	Gln	Gln	Leu	Leu	Trp	Lys														
			100					105					110																
Gly	Ser	Phe	Lys	Pro	Ser	Glu	His	Val	Lys	Pro	Arg	Ala	Pro	Gly	Asn														
		115					120					125																	
Leu	Thr	Val	His	Thr	Asn	Val	Ser	Asp	Thr	Leu	Leu	Leu	Thr	Trp	Ser														
	130					135					140																		
Asn	Pro	Tyr	Pro	Pro	Asp	Asn	Tyr	Leu	Tyr	Asn	His	Leu	Thr	Tyr	Ala														
	145				150					155					160														
Val	Asn	Ile	Trp	Ser	Glu	Asn	Asp	Pro	Ala	Asp	Phe	Arg	Ile	Tyr	Asn														
				165					170					175															
Val	Thr	Tyr	Leu	Glu	Pro	Ser	Leu	Arg	Ile	Ala	Ala	Ser	Thr	Leu	Lys														
			180					185					190																
Ser	Gly	Ile	Ser	Tyr	Arg	Ala	Arg	Val	Arg	Ala	Trp	Ala	Gln	Cys	Tyr														
		195					200					205																	
Asn	Thr	Thr	Trp	Ser	Glu	Trp	Ser	Pro	Ser	Thr	Lys	Trp	His	Asn	Ser														
	210					215					220																		
Tyr	Arg	Glu	Pro	Phe	Asp	Pro	Ala	Phe	Leu	Tyr	Lys	Val	Val	Arg	Phe														
	225				230					235					240														
Glu	Glu	Pro	Lys	Ser	Ser	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro														
				245					250					255															
Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys														
			260					265					270																
Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val														
		275					280					285																	
Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr														
	290					295					300																		

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
340 345 350

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
370 375 380

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

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
405 410 415

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

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

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

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465 470

<210> 460
<211> 261
<212> ПРТ
<213> Homo sapiens
<220>
<223> IL-4Ra/HIS tag человека, полипептид

<400> 460

Met Gly Trp Leu Cys Ser Gly Leu Leu Phe Pro Val Ser Cys Leu Val
1 5 10 15

Leu Leu Gln Val Ala Ser Ser Gly Asn Met Lys Val Leu Gln Glu Pro
20 25 30

Thr Cys Val Ser Asp Tyr Met Ser Ile Ser Thr Cys Glu Trp Lys Met
35 40 45

Asn Gly Pro Thr Asn Cys Ser Thr Glu Leu Arg Leu Leu Tyr Gln Leu
50 55 60

Val Phe Leu Leu Ser Glu Ala His Thr Cys Ile Pro Glu Asn Asn Gly

```
<210> 461
<211> 262
<212> ПРТ
<213> Домовая мышь
<220>
<223> IL-4Ra/HIS tag мыши, полипептид
<400> 461
```

Asp 50	Ser	Ala	Val	Asp	Cys 55	Ser	Gln	Leu	Cys 60	Leu	His	Tyr	Arg	Leu	
Met 65	Phe	Phe	Glu	Phe 70	Ser	Glu	Asn	Leu	Thr 75	Cys	Ile	Pro	Arg	Asn 80	
Ala	Ser	Thr	Val	Cys 85	Val	Cys	His	Met	Glu 90	Met	Asn	Arg	Pro	Val 95	
Ser	Asp	Arg	Tyr 100	Gln	Met	Glu	Leu	Trp 105	Ala	Glu	His	Arg	Gln 110	Leu	Trp
Gln	Gly	Ser 115	Phe	Ser	Pro	Ser	Gly 120	Asn	Val	Lys	Pro 125	Leu	Ala	Pro	Asp
Asn 130	Leu	Thr	Leu	His	Thr	Asn 135	Val	Ser	Asp	Glu	Trp 140	Leu	Leu	Thr	Trp
Asn 145	Asn	Leu	Tyr	Pro 150	Ser	Asn	Asn	Leu	Leu	Tyr 155	Lys	Asp	Leu	Ile	Ser 160
Met	Val	Asn	Ile	Ser 165	Arg	Glu	Asp	Asn 170	Pro	Ala	Glu	Phe	Ile	Val 175	Tyr
Asn	Val	Thr	Tyr 180	Lys	Glu	Pro	Arg	Leu 185	Ser	Phe	Pro	Ile	Asn 190	Ile	Leu
Met	Ser	Gly 195	Val	Tyr	Tyr	Thr	Ala 200	Arg	Val	Arg	Val	Arg 205	Ser	Gln	Ile
Leu 210	Thr	Gly	Thr	Trp	Ser	Glu 215	Trp	Ser	Pro	Ser	Ile 220	Thr	Trp	Tyr	Asn
His 225	Phe	Gln	Leu	Pro 230	Leu	Asn	Pro	Ala	Phe	Leu 235	Tyr	Lys	Val	Val	Gly 240
Ala	Ala	Asp	Tyr	Lys 245	Asp	Asp	Asp	Asp	Lys 250	Ala	Ala	His	His	His 255	His
His	His	His	His 260	His	His	His									

№	П	В	С	Д	К	Л	М	Н	О	П	Р	С	Т	У	Ф	Х	Ц	Ч	Ш	Щ	Ъ	Ы	Э	Ю	Я	СР 1										СР 2										СР 3										СР 4										СР 5										СР 6										СР 7										СР 8										СР 9										СР 10										СР 11										СР 12										СР 13										СР 14										СР 15										СР 16										СР 17										СР 18										СР 19										СР 20										СР 21										СР 22										СР 23										СР 24										СР 25										СР 26										СР 27										СР 28										СР 29										СР 30										СР 31										СР 32										СР 33										СР 34										СР 35										СР 36										СР 37										СР 38										СР 39										СР 40										СР 41										СР 42										СР 43										СР 44										СР 45										СР 46										СР 47										СР 48										СР 49										СР 50										СР 51										СР 52										СР 53										СР 54										СР 55										СР 56										СР 57										СР 58										СР 59										СР 60										СР 61										СР 62										СР 63										СР 64										СР 65										СР 66										СР 67										СР 68										СР 69										СР 70										СР 71										СР 72										СР 73										СР 74										СР 75										СР 76										СР 77										СР 78										СР 79										СР 80										СР 81										СР 82										СР 83										СР 84										СР 85										СР 86										СР 87										СР 88										СР 89										СР 90										СР 91										СР 92										СР 93										СР 94										СР 95										СР 96										СР 97										СР 98										СР 99										СР 100										СР 101										СР 102										СР 103										СР 104										СР 105										СР 106										СР 107										СР 108										СР 109										СР 110										СР 111										СР 112										СР 113										СР 114										СР 115										СР 116										СР 117										СР 118										СР 119										СР 120										СР 121										СР 122										СР 123										СР 124										СР 125										СР 126										СР 127										СР 128										СР 129										СР 130										СР 131										СР 132										СР 133										СР 134										СР 135										СР 136										СР 137										СР 138										СР 139										СР 140										СР 141										СР 142										СР 143										СР 144										СР 145										СР 146										СР 147										СР 148										СР 149										СР 150										СР 151										СР 152										СР 153										СР 154										СР 155										СР 156										СР 157										СР 158										СР 159										СР 160										СР 161										СР 162										СР 163										СР 164										СР 165										СР 166										СР 167										СР 168										СР 169										СР 170										СР 171										СР 172										СР 173										СР 174										СР 175										СР 176										СР 177										СР 178										СР 179										СР 180										СР 181										СР 182										СР 183										СР 184										СР 185										СР 186										СР 187										СР 188										СР 189										СР 190										СР 191										СР 192										СР 193										СР 194										СР 195										СР 196										СР 197										СР 198										СР 199										СР 200										СР 201										СР 202										СР 203										СР 204										СР 205										СР 206										СР 207										СР 208										СР 209										СР 210										СР 211										СР 212										СР 213										СР 214										СР 215										СР 216										СР 217										СР 218										СР 219										СР 220										СР 221										СР 222										СР 223										СР 224										СР 225										СР 226										СР 227										СР 228										СР 229										СР 230										СР 231										СР 232										СР 233										СР 234										СР 235										СР 236										СР 237										СР 238										СР 239										СР 240										СР 241										СР 242										СР 243										СР 244										СР 245										СР 246										СР 247										СР 248										СР 249										СР 250										СР 251										СР 252										СР 253										СР 254										СР 255										СР 256										СР 257										СР 258										СР 259										СР 260										СР 261										СР 262										СР 263										СР 264</									
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----------	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Фиг. 1а

[illegible]

Фиг. 16

[illegible]

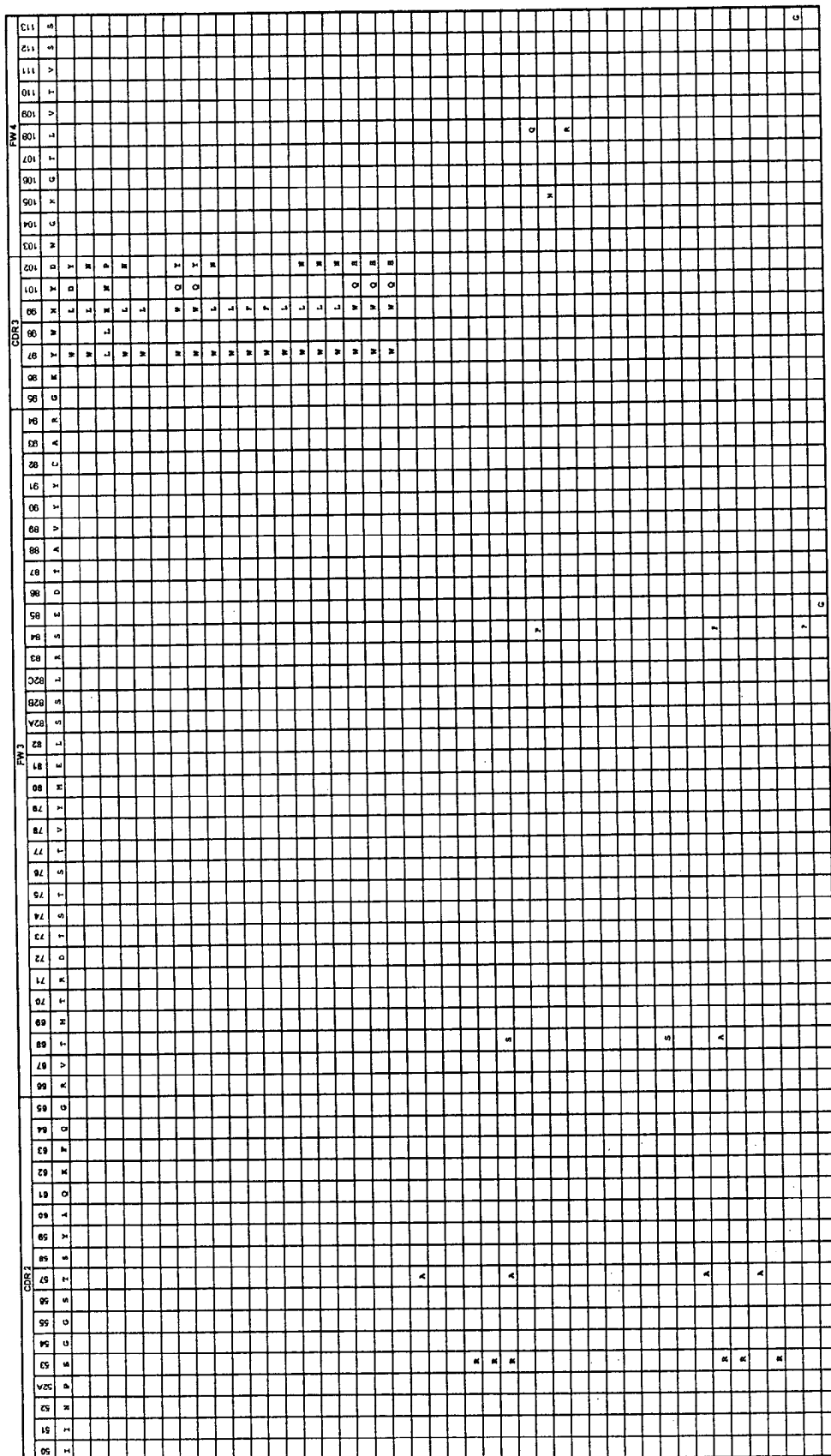
Фиг. 2а

5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45																																																							

Фиг. 26

[illegible]

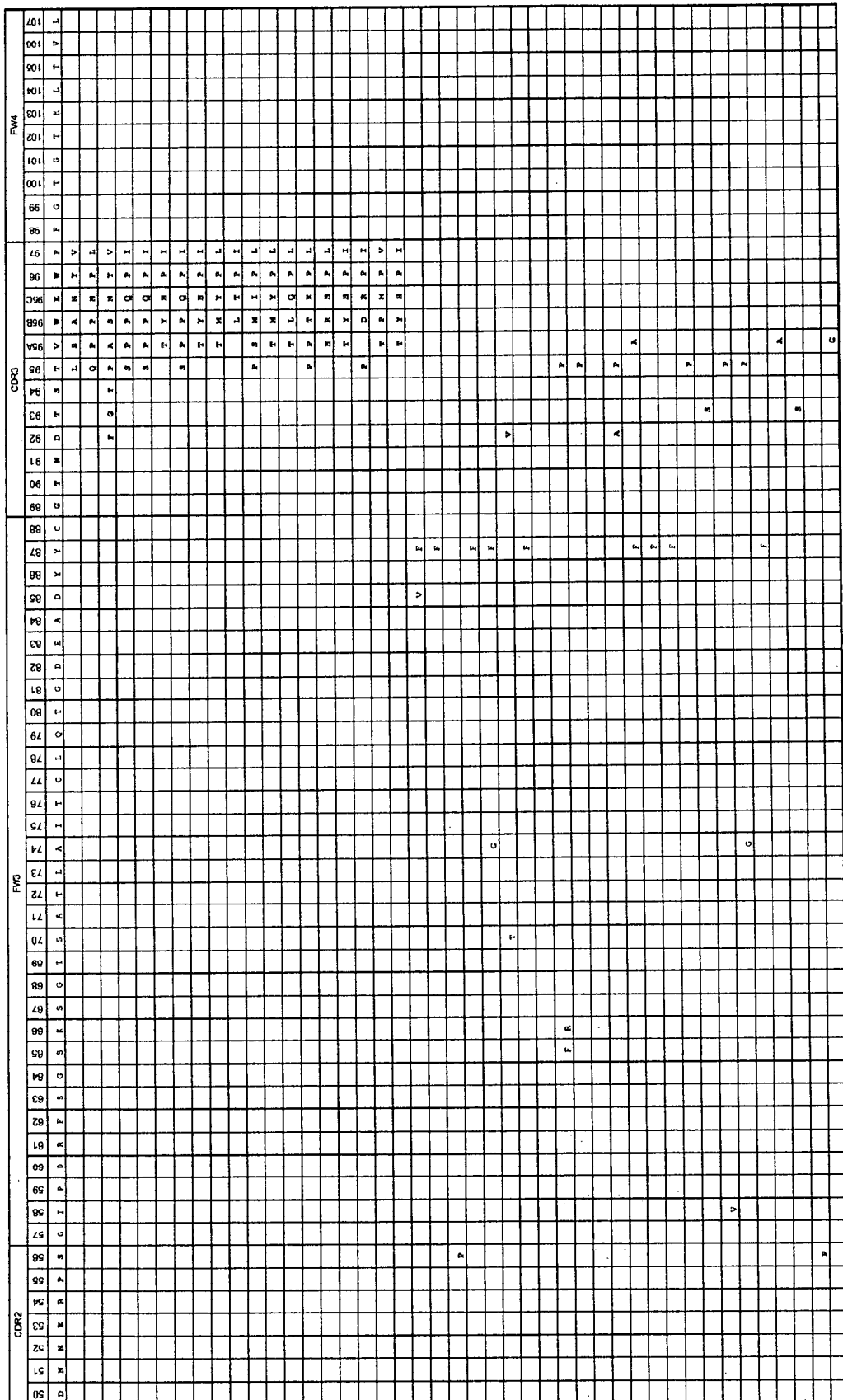
Фиг. 3а



Фиг. 36

[illegible]

Фиг. 4а



Фиг. 46

Амурская 1	Амурская 1	Амурская 2	Амурская 3	Амурская 4	Амурская 5	Амурская 6	Амурская 7	Амурская 8	Амурская 9	Амурская 10	Амурская 11	Амурская 12	Амурская 13	Амурская 14	Амурская 15
		86%	81%	86%	86%	83%	86%	86%	86%	86%	86%	85%	86%	86%	86%
Амурская 2			78%	95%	93%	86%	90%	86%	93%	90%	90%	90%	91%	95%	93%
Амурская 3				77%	77%	77%	77%	77%	77%	77%	78%	77%	77%	78%	77%
Амурская 4					98%	88%	95%	88%	91%	91%	88%	88%	91%	93%	91%
Амурская 5						90%	95%	86%	90%	93%	90%	90%	91%	86%	90%
Амурская 6							86%	93%	90%	91%	86%	86%	91%	86%	86%
Амурская 7															
Амурская 8															
Амурская 9															
Амурская 10															
Амурская 11															
Амурская 12															
Амурская 13															
Амурская 14															
Амурская 15															
Амурская 16															
Амурская 17															
Амурская 18															
Амурская 19															
Амурская 20															
Амурская 21															
Амурская 22															
Амурская 23															
Амурская 24															
Амурская 24 PGL															
Амурская 25															
Амурская 26															
Амурская 27															
Амурская 28															
Амурская 29															
Амурская 30															
Амурская 31															
Амурская 32															
Амурская 33															
Амурская 34															
Амурская 35															
Амурская 36															
Амурская 37															
Амурская 37 GL															
Амурская 38															
Амурская 39															
Амурская 40															
Амурская 41															
Амурская 42															

Фиг. 5a

Амплитуда 1	Амплитуда 16	Амплитуда 17	Амплитуда 18	Амплитуда 19	Амплитуда 20	Амплитуда 21	Амплитуда 22	Амплитуда 23	Амплитуда 24	Амплитуда 24 PCL	Амплитуда 24 QI	Амплитуда 25	Амплитуда 26	Амплитуда 27	Амплитуда 28
Амплитуда 1	86%	85%	86%	85%	87%	81%	83%	80%	81%	81%	81%	78%	83%	83%	81%
Амплитуда 2	91%	86%	88%	86%	85%	83%	85%	81%	83%	83%	83%	80%	85%	85%	83%
Амплитуда 3	77%	78%	78%	77%	77%	75%	77%	72%	75%	75%	75%	72%	77%	77%	77%
Амплитуда 4	83%	88%	88%	88%	85%	83%	85%	81%	83%	83%	83%	80%	85%	85%	83%
Амплитуда 5	91%	88%	88%	88%	86%	85%	86%	83%	85%	85%	85%	81%	86%	86%	85%
Амплитуда 6	95%	86%	88%	93%	91%	90%	91%	88%	90%	90%	90%	86%	91%	91%	88%
Амплитуда 7	88%	91%	91%	91%	83%	81%	83%	80%	81%	81%	81%	78%	83%	83%	81%
Амплитуда 8	95%	91%	91%	88%	85%	83%	85%	81%	83%	83%	83%	80%	85%	85%	81%
Амплитуда 9	95%	86%	90%	90%	86%	85%	86%	82%	85%	85%	85%	81%	86%	86%	83%
Амплитуда 10	92%	96%	88%	90%	90%	88%	90%	86%	88%	88%	88%	85%	90%	90%	86%
Амплитуда 11	88%	88%	86%	86%	86%	85%	86%	83%	85%	85%	85%	81%	86%	86%	86%
Амплитуда 12	91%	86%	90%	90%	88%	86%	88%	85%	86%	86%	86%	82%	88%	88%	85%
Амплитуда 13	93%	86%	90%	90%	88%	86%	88%	85%	86%	86%	86%	82%	88%	88%	85%
Амплитуда 14	91%	88%	86%	86%	85%	83%	85%	81%	83%	83%	83%	80%	85%	85%	83%
Амплитуда 15	95%	88%	88%	90%	86%	85%	86%	83%	85%	85%	85%	81%	86%	86%	83%
Амплитуда 16	-	-	-	95%	85%	85%	86%	83%	85%	85%	85%	81%	86%	86%	83%
Амплитуда 17	-	-	-	93%	85%	83%	85%	83%	85%	85%	85%	81%	86%	86%	83%
Амплитуда 18	-	-	-	95%	85%	83%	85%	83%	85%	85%	85%	81%	86%	86%	83%
Амплитуда 19	-	-	-	-	85%	83%	85%	83%	85%	85%	85%	81%	86%	86%	83%
Амплитуда 20	-	-	-	-	85%	83%	85%	83%	85%	85%	85%	81%	86%	86%	83%
Амплитуда 21	-	-	-	-	85%	83%	85%	83%	85%	85%	85%	81%	86%	86%	83%
Амплитуда 22	-	-	-	-	85%	83%	85%	83%	85%	85%	85%	81%	86%	86%	83%
Амплитуда 23	-	-	-	-	85%	83%	85%	83%	85%	85%	85%	81%	86%	86%	83%
Амплитуда 24	-	-	-	-	85%	83%	85%	83%	85%	85%	85%	81%	86%	86%	83%
Амплитуда 24 PCL	-	-	-	-	85%	83%	85%	83%	85%	85%	85%	81%	86%	86%	83%
Амплитуда 24 QI	-	-	-	-	85%	83%	85%	83%	85%	85%	85%	81%	86%	86%	83%
Амплитуда 25	-	-	-	-	85%	83%	85%	83%	85%	85%	85%	81%	86%	86%	83%
Амплитуда 26	-	-	-	-	85%	83%	85%	83%	85%	85%	85%	81%	86%	86%	83%
Амплитуда 27	-	-	-	-	85%	83%	85%	83%	85%	85%	85%	81%	86%	86%	83%
Амплитуда 28	-	-	-	-	85%	83%	85%	83%	85%	85%	85%	81%	86%	86%	83%
Амплитуда 29	-	-	-	-	85%	83%	85%	83%	85%	85%	85%	81%	86%	86%	83%
Амплитуда 30	-	-	-	-	85%	83%	85%	83%	85%	85%	85%	81%	86%	86%	83%
Амплитуда 31	-	-	-	-	85%	83%	85%	83%	85%	85%	85%	81%	86%	86%	83%
Амплитуда 32	-	-	-	-	85%	83%	85%	83%	85%	85%	85%	81%	86%	86%	83%
Амплитуда 33	-	-	-	-	85%	83%	85%	83%	85%	85%	85%	81%	86%	86%	83%
Амплитуда 34	-	-	-	-	85%	83%	85%	83%	85%	85%	85%	81%	86%	86%	83%
Амплитуда 35	-	-	-	-	85%	83%	85%	83%	85%	85%	85%	81%	86%	86%	83%
Амплитуда 36	-	-	-	-	85%	83%	85%	83%	85%	85%	85%	81%	86%	86%	83%
Амплитуда 37	-	-	-	-	85%	83%	85%	83%	85%	85%	85%	81%	86%	86%	83%
Амплитуда 38	-	-	-	-	85%	83%	85%	83%	85%	85%	85%	81%	86%	86%	83%
Амплитуда 39	-	-	-	-	85%	83%	85%	83%	85%	85%	85%	81%	86%	86%	83%
Амплитуда 40	-	-	-	-	85%	83%	85%	83%	85%	85%	85%	81%	86%	86%	83%
Амплитуда 41	-	-	-	-	85%	83%	85%	83%	85%	85%	85%	81%	86%	86%	83%
Амплитуда 42	-	-	-	-	85%	83%	85%	83%	85%	85%	85%	81%	86%	86%	83%

Фиг. 56

Амурско 1	Амурско 29	Амурско 30	Амурско 31	Амурско 32	Амурско 33	Амурско 34	Амурско 35	Амурско 36	Амурско 37	Амурско 37 GL	Амурско 38	Амурско 39	Амурско 40	Амурско 41	Амурско 42
83%	83%	83%	80%	83%	83%	83%	83%	80%	78%	78%	81%	81%	81%	80%	83%
Амурско 2	85%	85%	81%	85%	85%	85%	85%	81%	80%	80%	83%	83%	83%	81%	85%
Амурско 3	79%	77%	77%	76%	77%	77%	78%	75%	73%	73%	75%	77%	77%	73%	77%
Амурско 4	85%	85%	81%	85%	85%	85%	85%	81%	80%	80%	83%	83%	83%	81%	85%
Амурско 5	86%	86%	83%	86%	86%	86%	86%	83%	81%	81%	83%	85%	85%	83%	86%
Амурско 6	90%	91%	86%	91%	91%	91%	90%	88%	85%	85%	90%	90%	90%	88%	91%
Амурско 7	83%	83%	80%	83%	83%	83%	83%	80%	78%	78%	81%	81%	81%	80%	83%
Амурско 8	83%	85%	80%	85%	85%	85%	85%	81%	78%	78%	83%	83%	83%	81%	85%
Амурско 9	85%	86%	81%	86%	86%	86%	86%	83%	80%	80%	85%	86%	86%	84%	88%
Амурско 10	88%	90%	85%	88%	88%	88%	88%	84%	83%	83%	88%	88%	88%	86%	90%
Амурско 11	88%	86%	85%	86%	86%	86%	86%	83%	80%	80%	85%	86%	86%	84%	88%
Амурско 12	84%	88%	85%	88%	88%	88%	88%	84%	81%	81%	86%	86%	86%	84%	88%
Амурско 13	86%	88%	83%	88%	88%	88%	88%	84%	81%	81%	86%	86%	86%	84%	88%
Амурско 14	86%	85%	83%	85%	85%	85%	85%	81%	81%	81%	83%	83%	83%	81%	85%
Амурско 15	85%	86%	81%	86%	86%	86%	86%	83%	80%	80%	85%	86%	86%	84%	88%
Амурско 16	85%	86%	81%	86%	86%	86%	86%	83%	80%	80%	85%	86%	86%	84%	88%
Амурско 17	85%	86%	81%	86%	86%	86%	86%	83%	80%	80%	85%	86%	86%	84%	88%
Амурско 18	83%	85%	80%	85%	85%	85%	85%	81%	81%	81%	83%	83%	83%	81%	85%
Амурско 19	83%	85%	80%	85%	85%	85%	85%	81%	81%	81%	83%	83%	83%	81%	85%
Амурско 20	98%	100%	95%	98%	98%	98%	98%	94%	92%	92%	98%	98%	98%	96%	98%
Амурско 21	94%	98%	93%	94%	94%	94%	94%	90%	88%	88%	94%	94%	94%	92%	96%
Амурско 22	98%	100%	95%	98%	98%	98%	98%	94%	92%	92%	98%	98%	98%	96%	98%
Амурско 23	95%	96%	91%	95%	95%	95%	95%	91%	89%	89%	95%	95%	95%	93%	95%
Амурско 24	96%	98%	93%	96%	96%	96%	96%	92%	90%	90%	96%	96%	96%	94%	96%
Амурско 24 PGL	96%	98%	93%	96%	96%	96%	96%	92%	90%	90%	96%	96%	96%	94%	96%
Амурско 24 GL	96%	98%	93%	96%	96%	96%	96%	92%	90%	90%	96%	96%	96%	94%	96%
Амурско 25	93%	95%	91%	93%	93%	93%	93%	89%	87%	87%	93%	93%	93%	91%	93%
Амурско 26	98%	100%	95%	98%	98%	98%	98%	94%	92%	92%	98%	98%	98%	96%	98%
Амурско 27	98%	100%	95%	98%	98%	98%	98%	94%	92%	92%	98%	98%	98%	96%	98%
Амурско 28	98%	100%	95%	98%	98%	98%	98%	94%	92%	92%	98%	98%	98%	96%	98%
Амурско 29	98%	100%	95%	98%	98%	98%	98%	94%	92%	92%	98%	98%	98%	96%	98%
Амурско 30	98%	100%	95%	98%	98%	98%	98%	94%	92%	92%	98%	98%	98%	96%	98%
Амурско 31	98%	100%	95%	98%	98%	98%	98%	94%	92%	92%	98%	98%	98%	96%	98%
Амурско 32	98%	100%	95%	98%	98%	98%	98%	94%	92%	92%	98%	98%	98%	96%	98%
Амурско 33	98%	100%	95%	98%	98%	98%	98%	94%	92%	92%	98%	98%	98%	96%	98%
Амурско 34	98%	100%	95%	98%	98%	98%	98%	94%	92%	92%	98%	98%	98%	96%	98%
Амурско 35	98%	100%	95%	98%	98%	98%	98%	94%	92%	92%	98%	98%	98%	96%	98%
Амурско 36	98%	100%	95%	98%	98%	98%	98%	94%	92%	92%	98%	98%	98%	96%	98%
Амурско 37	98%	100%	95%	98%	98%	98%	98%	94%	92%	92%	98%	98%	98%	96%	98%
Амурско 37 GL	98%	100%	95%	98%	98%	98%	98%	94%	92%	92%	98%	98%	98%	96%	98%
Амурско 38	98%	100%	95%	98%	98%	98%	98%	94%	92%	92%	98%	98%	98%	96%	98%
Амурско 39	98%	100%	95%	98%	98%	98%	98%	94%	92%	92%	98%	98%	98%	96%	98%
Амурско 40	98%	100%	95%	98%	98%	98%	98%	94%	92%	92%	98%	98%	98%	96%	98%
Амурско 41	98%	100%	95%	98%	98%	98%	98%	94%	92%	92%	98%	98%	98%	96%	98%
Амурско 42	98%	100%	95%	98%	98%	98%	98%	94%	92%	92%	98%	98%	98%	96%	98%

Фиг. 5в

Аппетит 1	Аппетит 1	Аппетит 2	Аппетит 3	Аппетит 4	Аппетит 5	Аппетит 6	Аппетит 7	Аппетит 8	Аппетит 9	Аппетит 10	Аппетит 11	Аппетит 12	Аппетит 13	Аппетит 14	Аппетит 15
Аппетит 1	-	93%	82%	93%	93%	86%	93%	93%	93%	93%	89%	89%	93%	93%	93%
Аппетит 2		-	82%	100%	96%	86%	89%	89%	100%	96%	93%	93%	96%	100%	100%
Аппетит 3			-	82%	82%	82%	87%	82%	82%	82%	82%	82%	82%	82%	82%
Аппетит 4				-	96%	89%	89%	89%	100%	96%	93%	93%	96%	100%	100%
Аппетит 5					-	93%	89%	89%	96%	100%	96%	96%	100%	96%	96%
Аппетит 6						-	86%	86%	89%	93%	93%	93%	89%	89%	89%
Аппетит 7							-	100%	89%	89%	89%	89%	89%	89%	89%
Аппетит 8								-	89%	89%	89%	89%	89%	89%	89%
Аппетит 9									-	96%	93%	93%	96%	100%	100%
Аппетит 10										-	96%	100%	96%	96%	96%
Аппетит 11											-	100%	96%	93%	93%
Аппетит 12												-	96%	96%	96%
Аппетит 13													-	96%	96%
Аппетит 14														-	100%
Аппетит 15															-
Аппетит 16															
Аппетит 17															
Аппетит 18															
Аппетит 19															
Аппетит 20															
Аппетит 21															
Аппетит 22															
Аппетит 23															
Аппетит 24															
Аппетит 24 PGL															
Аппетит 24 GL															
Аппетит 25															
Аппетит 26															
Аппетит 27															
Аппетит 28															
Аппетит 29															
Аппетит 30															
Аппетит 31															
Аппетит 32															
Аппетит 33															
Аппетит 34															
Аппетит 35															
Аппетит 36															
Аппетит 37															
Аппетит 37GL															
Аппетит 38															
Аппетит 39															
Аппетит 40															
Аппетит 41															
Аппетит 42															

Фиг. 6а

	America 16	America 17	America 18	America 19	America 20	America 21	America 22	America 23	America 24	America 24 PCL	America 24 GL	America 25	America 26	America 27	America 28
America 1	93%	89%	89%	89%	86%	82%	86%	86%	82%	82%	82%	79%	81%	86%	86%
America 2	100%	89%	89%	89%	89%	86%	86%	86%	86%	86%	86%	82%	86%	86%	86%
America 3	82%	82%	82%	82%	82%	79%	82%	79%	79%	79%	79%	75%	82%	82%	82%
America 4	100%	89%	89%	89%	89%	86%	86%	86%	86%	86%	86%	82%	86%	89%	86%
America 5	96%	89%	86%	89%	93%	89%	93%	93%	86%	86%	86%	86%	93%	93%	93%
America 6	84%	86%	86%	86%	100%	96%	100%	100%	96%	96%	96%	93%	100%	100%	100%
America 7	89%	96%	96%	96%	86%	82%	86%	86%	82%	82%	82%	79%	86%	86%	86%
America 8	89%	96%	96%	96%	86%	82%	86%	86%	82%	82%	82%	79%	86%	86%	86%
America 9	100%	89%	89%	89%	89%	86%	86%	86%	86%	86%	86%	82%	86%	86%	86%
America 10	96%	89%	89%	89%	93%	89%	93%	93%	86%	86%	86%	86%	93%	93%	93%
America 11	93%	89%	89%	89%	93%	89%	93%	93%	86%	86%	86%	86%	93%	93%	93%
America 12	93%	89%	89%	89%	93%	89%	93%	93%	86%	86%	86%	86%	93%	93%	93%
America 13	96%	89%	89%	89%	93%	89%	93%	93%	86%	86%	86%	86%	93%	93%	93%
America 14	100%	89%	89%	89%	89%	86%	89%	89%	86%	86%	86%	82%	86%	89%	89%
America 15	89%	89%	89%	89%	89%	86%	86%	86%	86%	86%	86%	82%	86%	89%	89%
America 16	-	89%	89%	89%	89%	86%	89%	89%	86%	86%	86%	82%	86%	89%	89%
America 17	-	-	100%	100%	86%	82%	86%	86%	82%	82%	82%	79%	86%	86%	86%
America 18	-	-	-	-	86%	82%	86%	86%	82%	82%	82%	79%	86%	86%	86%
America 19	-	-	-	-	86%	82%	86%	86%	82%	82%	82%	79%	86%	86%	86%
America 20	-	-	-	-	86%	82%	86%	86%	82%	82%	82%	79%	86%	86%	86%
America 21	-	-	-	-	86%	82%	86%	86%	82%	82%	82%	79%	86%	86%	86%
America 22	-	-	-	-	86%	82%	86%	86%	82%	82%	82%	79%	86%	86%	86%
America 23	-	-	-	-	86%	82%	86%	86%	82%	82%	82%	79%	86%	86%	86%
America 24	-	-	-	-	86%	82%	86%	86%	82%	82%	82%	79%	86%	86%	86%
America 24 PCL	-	-	-	-	86%	82%	86%	86%	82%	82%	82%	79%	86%	86%	86%
America 24 GL	-	-	-	-	86%	82%	86%	86%	82%	82%	82%	79%	86%	86%	86%
America 25	-	-	-	-	86%	82%	86%	86%	82%	82%	82%	79%	86%	86%	86%
America 26	-	-	-	-	86%	82%	86%	86%	82%	82%	82%	79%	86%	86%	86%
America 27	-	-	-	-	86%	82%	86%	86%	82%	82%	82%	79%	86%	86%	86%
America 28	-	-	-	-	86%	82%	86%	86%	82%	82%	82%	79%	86%	86%	86%
America 29	-	-	-	-	86%	82%	86%	86%	82%	82%	82%	79%	86%	86%	86%
America 30	-	-	-	-	86%	82%	86%	86%	82%	82%	82%	79%	86%	86%	86%
America 31	-	-	-	-	86%	82%	86%	86%	82%	82%	82%	79%	86%	86%	86%
America 32	-	-	-	-	86%	82%	86%	86%	82%	82%	82%	79%	86%	86%	86%
America 33	-	-	-	-	86%	82%	86%	86%	82%	82%	82%	79%	86%	86%	86%
America 34	-	-	-	-	86%	82%	86%	86%	82%	82%	82%	79%	86%	86%	86%
America 35	-	-	-	-	86%	82%	86%	86%	82%	82%	82%	79%	86%	86%	86%
America 36	-	-	-	-	86%	82%	86%	86%	82%	82%	82%	79%	86%	86%	86%
America 37	-	-	-	-	86%	82%	86%	86%	82%	82%	82%	79%	86%	86%	86%
America 38	-	-	-	-	86%	82%	86%	86%	82%	82%	82%	79%	86%	86%	86%
America 39	-	-	-	-	86%	82%	86%	86%	82%	82%	82%	79%	86%	86%	86%
America 40	-	-	-	-	86%	82%	86%	86%	82%	82%	82%	79%	86%	86%	86%
America 41	-	-	-	-	86%	82%	86%	86%	82%	82%	82%	79%	86%	86%	86%
America 42	-	-	-	-	86%	82%	86%	86%	82%	82%	82%	79%	86%	86%	86%

Фиг. 66

[illegible]

Фиг. 6в

	Антитело 1	Антитело 2	Антитело 3	Антитело 4	Антитело 5	Антитело 6	Антитело 7	Антитело 8	Антитело 9	Антитело 10	Антитело 11	Антитело 12	Антитело 13	Антитело 14	Антитело 15
Антитело 1	-	84%	81%	81%	81%	81%	81%	81%	81%	81%	84%	81%	81%	81%	81%
Антитело 2		-	75%	90%	90%	84%	90%	84%	87%	84%	87%	87%	87%	90%	87%
Антитело 3			-	71%	71%	71%	71%	71%	71%	71%	75%	71%	71%	75%	71%
Антитело 4				-	100%	87%	100%	87%	84%	87%	84%	84%	87%	87%	84%
Антитело 5					-	87%	100%	87%	84%	87%	84%	84%	87%	87%	84%
Антитело 6						-	87%	100%	90%	90%	84%	90%	90%	84%	90%
Антитело 7							-	87%	84%	87%	84%	84%	90%	84%	84%
Антитело 8								-	90%	90%	84%	90%	93%	84%	90%
Антитело 9									-	87%	90%	100%	93%	87%	90%
Антитело 10										-	84%	87%	90%	87%	87%
Антитело 11											-	90%	87%	90%	90%
Антитело 12												-	87%	87%	87%
Антитело 13													-	87%	87%
Антитело 14														-	87%
Антитело 15															-
Антитело 16															-
Антитело 17															-
Антитело 18															-
Антитело 19															-
Антитело 20															-
Антитело 21															-
Антитело 22															-
Антитело 23															-
Антитело 24															-
Антитело 24 PGL															-
Антитело 24 GL															-
Антитело 25															-
Антитело 26															-
Антитело 27															-
Антитело 28															-
Антитело 29															-
Антитело 30															-
Антитело 31															-
Антитело 32															-
Антитело 33															-
Антитело 34															-
Антитело 35															-
Антитело 36															-
Антитело 37															-
Антитело 37 GL															-
Антитело 38															-
Антитело 39															-
Антитело 40															-
Антитело 41															-
Антитело 42															-

Фиг. 7а

	Антитело 16	Антитело 17	Антитело 18	Антитело 19	Антитело 20	Антитело 21	Антитело 22	Антитело 23	Антитело 24	Антитело 24 PGL	Антитело 24 GL	Антитело 25	Антитело 26	Антитело 27	Антитело 28
Антитело 1	81%	81%	84%	81%	81%	81%	81%	75%	81%	81%	81%	78%	81%	81%	78%
Антитело 2	84%	84%	87%	84%	81%	81%	81%	75%	81%	81%	81%	78%	81%	81%	78%
Антитело 3	71%	75%	75%	71%	71%	71%	71%	65%	71%	71%	71%	71%	71%	71%	71%
Антитело 4	87%	87%	87%	87%	81%	81%	81%	75%	81%	81%	81%	78%	81%	81%	78%
Антитело 5	87%	87%	87%	87%	81%	81%	81%	75%	81%	81%	81%	78%	81%	81%	78%
Антитело 6	100%	87%	90%	100%	84%	84%	84%	78%	84%	84%	84%	81%	84%	84%	78%
Антитело 7	87%	87%	87%	87%	81%	81%	81%	75%	84%	84%	84%	81%	84%	84%	78%
Антитело 8	100%	87%	90%	100%	84%	84%	84%	78%	84%	84%	84%	81%	84%	84%	78%
Антитело 9	90%	84%	90%	90%	84%	84%	84%	78%	84%	84%	84%	81%	84%	84%	78%
Антитело 10	90%	90%	87%	90%	87%	87%	87%	81%	87%	87%	87%	84%	87%	87%	81%
Антитело 11	84%	87%	84%	84%	81%	81%	81%	75%	81%	81%	81%	78%	81%	81%	81%
Антитело 12	90%	84%	90%	90%	84%	84%	84%	78%	84%	84%	84%	81%	84%	84%	78%
Антитело 13	90%	84%	90%	90%	84%	84%	84%	78%	84%	84%	84%	81%	84%	84%	78%
Антитело 14	84%	87%	84%	84%	81%	81%	81%	75%	81%	81%	81%	78%	81%	81%	78%
Антитело 15	90%	84%	87%	90%	84%	84%	84%	78%	84%	84%	84%	81%	84%	84%	78%
Антитело 16	-	87%	90%	100%	84%	84%	84%	78%	84%	84%	84%	81%	84%	84%	78%
Антитело 17	-	-	84%	87%	84%	84%	84%	78%	84%	84%	84%	81%	84%	84%	78%
Антитело 18	-	-	-	90%	84%	84%	84%	78%	84%	84%	84%	81%	84%	84%	78%
Антитело 19	-	-	-	-	84%	84%	84%	78%	84%	84%	84%	81%	84%	84%	78%
Антитело 20	-	-	-	-	-	100%	100%	93%	100%	100%	100%	96%	100%	100%	93%
Антитело 21	-	-	-	-	-	-	-	93%	100%	100%	100%	96%	100%	100%	93%
Антитело 22	-	-	-	-	-	-	-	93%	100%	100%	100%	96%	100%	100%	93%
Антитело 23	-	-	-	-	-	-	-	-	93%	93%	93%	90%	93%	93%	87%
Антитело 24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100%	100%	96%	100%	100%	93%
Антитело 24 PGL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	96%	100%	100%	93%
Антитело 24 GL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	96%	100%	93%
Антитело 25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	96%	100%	93%
Антитело 26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	96%	100%	93%
Антитело 27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	96%	100%	93%
Антитело 28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Антитело 29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Антитело 30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Антитело 31	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Антитело 32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Антитело 33	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Антитело 34	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Антитело 35	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Антитело 36	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Антитело 37	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Антитело 37 GL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Антитело 38	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Антитело 39	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Антитело 40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Антитело 41	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Антитело 42	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Фиг. 76

	Антило 29	Антило 30	Антило 31	Антило 32	Антило 33	Антило 34	Антило 35	Антило 36	Антило 37	Антило 37 GL	Антило 38	Антило 39	Антило 40	Антило 41	Антило 42
Антило 1	81%	81%	75%	81%	81%	81%	81%	78%	75%	75%	81%	81%	78%	73%	81%
Антило 2	81%	81%	75%	81%	81%	81%	81%	78%	75%	75%	81%	81%	78%	75%	81%
Антило 3	75%	71%	71%	75%	71%	71%	75%	71%	68%	68%	71%	75%	71%	65%	71%
Антило 4	81%	81%	75%	81%	81%	81%	81%	78%	75%	75%	81%	81%	78%	75%	81%
Антило 5	81%	81%	75%	81%	81%	81%	81%	78%	75%	75%	81%	81%	78%	75%	81%
Антило 6	81%	84%	75%	84%	84%	84%	81%	78%	75%	75%	84%	84%	78%	75%	84%
Антило 7	81%	81%	75%	81%	81%	81%	81%	78%	75%	75%	84%	84%	81%	78%	84%
Антило 8	81%	84%	75%	84%	84%	84%	81%	81%	75%	75%	84%	84%	84%	78%	84%
Антило 9	81%	84%	75%	84%	84%	84%	81%	81%	78%	78%	84%	84%	84%	81%	84%
Антило 10	84%	87%	78%	84%	87%	87%	84%	84%	78%	78%	87%	84%	84%	81%	84%
Антило 11	84%	81%	78%	81%	81%	81%	84%	78%	78%	78%	81%	81%	78%	75%	81%
Антило 12	81%	84%	75%	84%	84%	84%	81%	81%	75%	75%	84%	84%	81%	78%	84%
Антило 13	81%	84%	75%	84%	84%	84%	81%	81%	75%	75%	84%	84%	81%	78%	84%
Антило 14	84%	81%	78%	81%	81%	81%	84%	78%	78%	78%	81%	81%	78%	75%	81%
Антило 15	81%	84%	75%	84%	84%	84%	81%	81%	75%	75%	84%	84%	81%	78%	84%
Антило 16	81%	84%	75%	84%	84%	84%	81%	81%	75%	75%	84%	84%	81%	78%	84%
Антило 17	87%	84%	75%	81%	84%	84%	87%	81%	75%	75%	84%	84%	81%	78%	84%
Антило 18	81%	84%	75%	84%	84%	84%	81%	81%	75%	75%	84%	84%	81%	78%	81%
Антило 19	81%	84%	75%	84%	84%	84%	81%	81%	75%	75%	84%	84%	81%	78%	84%
Антило 20	96%	100%	90%	96%	100%	100%	96%	96%	90%	90%	100%	96%	96%	93%	96%
Антило 21	96%	100%	90%	96%	100%	100%	96%	96%	90%	90%	100%	96%	96%	93%	96%
Антило 22	96%	100%	90%	96%	100%	100%	96%	96%	90%	90%	100%	96%	96%	93%	96%
Антило 23	90%	93%	84%	90%	93%	93%	90%	90%	84%	84%	93%	90%	90%	93%	90%
Антило 24	96%	100%	90%	96%	100%	100%	96%	96%	90%	90%	100%	96%	96%	93%	96%
Антило 24 PGL	96%	100%	90%	96%	100%	100%	96%	96%	90%	90%	100%	96%	96%	93%	96%
Антило 24 GL	96%	100%	90%	96%	100%	100%	96%	96%	90%	90%	100%	96%	96%	93%	96%
Антило 25	93%	96%	90%	93%	96%	96%	93%	93%	87%	87%	96%	93%	93%	90%	93%
Антило 26	96%	100%	90%	96%	100%	100%	96%	96%	90%	90%	100%	96%	96%	93%	96%
Антило 27	96%	100%	90%	96%	100%	100%	96%	96%	90%	96%	100%	96%	96%	93%	96%
Антило 28	96%	93%	96%	90%	93%	93%	96%	90%	96%	96%	96%	93%	93%	90%	93%
Антило 29	-	96%	93%	93%	96%	96%	100%	96%	93%	93%	100%	96%	96%	93%	96%
Антило 30	-	-	90%	96%	100%	100%	96%	96%	90%	90%	100%	96%	96%	93%	96%
Антило 31	-	-	-	87%	90%	90%	93%	87%	93%	93%	90%	87%	87%	84%	87%
Антило 32	-	-	-	-	96%	96%	93%	93%	87%	87%	96%	100%	93%	90%	96%
Антило 33	-	-	-	-	-	-	96%	96%	90%	90%	100%	96%	96%	93%	96%
Антило 34	-	-	-	-	-	-	96%	96%	90%	90%	100%	96%	96%	93%	96%
Антило 35	-	-	-	-	-	-	96%	96%	90%	90%	100%	96%	96%	93%	96%
Антило 36	-	-	-	-	-	-	96%	96%	90%	90%	100%	96%	96%	93%	96%
Антило 37	-	-	-	-	-	-	96%	96%	90%	90%	100%	96%	96%	93%	96%
Антило 37 GL	-	-	-	-	-	-	96%	96%	90%	90%	100%	96%	96%	93%	96%
Антило 38	-	-	-	-	-	-	96%	96%	90%	90%	100%	96%	96%	93%	96%
Антило 39	-	-	-	-	-	-	96%	96%	90%	90%	100%	96%	96%	93%	96%
Антило 40	-	-	-	-	-	-	96%	96%	90%	90%	100%	96%	96%	93%	96%
Антило 41	-	-	-	-	-	-	96%	96%	90%	90%	100%	96%	96%	93%	96%
Антило 42	-	-	-	-	-	-	96%	96%	90%	90%	100%	96%	96%	93%	96%

Фиг. 7в