



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

A61K 39/3955 (2020.08); A61P 35/00 (2020.08); C07K 16/2803 (2020.08); C12N 15/63 (2020.08); C07K 2317/21 (2020.08); C07K 2317/24 (2020.08); C07K 2317/33 (2020.08); C07K 2317/565 (2020.08); C07K 2317/76 (2020.08); C07K 2319/00 (2020.08); G01N 33/53 (2020.08)

(21)(22) Заявка: 2017137010, 21.03.2016

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
21.03.2016

Дата регистрации:
21.12.2020

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
23.03.2015 EP 15160292.7

(43) Дата публикации заявки: 23.04.2019 Бюл. № 12

(45) Опубликовано: 21.12.2020 Бюл. № 36

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 23.10.2017

(86) Заявка РСТ:
EP 2016/056104 (21.03.2016)

(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2016/150899 (29.09.2016)

Адрес для переписки:
105064, Москва, а/я 88, ООО "Патентные
поверенные Квашнин, Сапельников и
партнеры"

(72) Автор(ы):

ВИЛЛУДА Йорг (DE),
ТРАУТВАЙН Марк (US),
ГРИТЦАН Уве (DE),
ФРАЙБЕРГ Кристоф (DE),
ДИТТМЕР Франк (DE),
ШЁНФЕЛЬД Дориан (DE),
ГЛЮК Юлиан Мариус (DE),
ПИНКЕРТ Джессика (DE),
ГУТИРРЕЦ Ева-Мария (DE),
ГОЛЬФИР Свен (DE),
ХОЛЬТОН Зимон (DE),
БЕКХОФЕ, Филипп (DE),
ГЕ Йингци (DE)

(73) Патентообладатель(и):

БАЙЕРФАРМА АКЦИЕНГЕЗЕЛЬШАФТ
(DE)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: STRICKLAND L.A. et al., Preclinical
evaluation of carcinoembryonic cell adhesion
molecule (CEACAM) 6 as potential therapy target
for pancreatic adenocarcinoma, J Pathol, 2009,
vol.218, Issue 3, pp.380-390. RILEY C.J. et al.,
Design and Activity of a Murine and Humanized
Anti-CEACAM6 Single-Chain Variable Fragment
in the Treatment of Pancreatic (см. прод.)

(54) АНТИ-СЕАСАМ6 АНТИТЕЛА И ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

(57) Реферат:

Изобретение относится к области биотехнологии. Предложено антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, специфически связывающие СЕАСАМ6 человека и Масаса fascicularis. Антитела по изобретению не реагируют перекрестно в значительной степени с близкородственным человеческим СЕАСАМ1, человеческим СЕАСАМ3 и человеческим СЕАСАМ5. Также изобретение относится к

нуклеиновым кислотам, кодирующим указанные антитело или его фрагмент, содержащим их векторам и клеткам, к способам получения антител, фармацевтическим композициям. Антитела могут применяться для лечения рака и других нарушений и состояний, связанных с экспрессией СЕАСАМ6. 13 н. и 7 з.п. ф-лы, 12 ил., 32 табл., 17 пр.

(56) (продолжение):

Cancer, CANCER RESEARCH, 2009, vol.69, no.5, pp.1933-1940. US 2011212095 A1, 01.09.2011. RU 2493166 C1, 20.09.2013.

R U 2 7 3 9 1 6 3 C 2

R U 2 7 3 9 1 6 3 C 2



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.

C07K 16/28 (2006.01)*C12N 15/13* (2006.01)*C12N 15/63* (2006.01)*A61K 39/395* (2006.01)*A61P 35/00* (2006.01)*G01N 33/53* (2006.01)**(12) ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

A61K 39/3955 (2020.08); *A61P 35/00* (2020.08); *C07K 16/2803* (2020.08); *C12N 15/63* (2020.08); *C07K 2317/21* (2020.08); *C07K 2317/24* (2020.08); *C07K 2317/33* (2020.08); *C07K 2317/565* (2020.08); *C07K 2317/76* (2020.08); *C07K 2319/00* (2020.08); *G01N 33/53* (2020.08)

(21)(22) Application: **2017137010, 21.03.2016**

(24) Effective date for property rights:
21.03.2016

Registration date:
21.12.2020

Priority:

(30) Convention priority:
23.03.2015 EP 15160292.7

(43) Application published: **23.04.2019 Bull. № 12**(45) Date of publication: **21.12.2020 Bull. № 36**(85) Commencement of national phase: **23.10.2017**

(86) PCT application:
EP 2016/056104 (21.03.2016)

(87) PCT publication:
WO 2016/150899 (29.09.2016)

Mail address:
105064, Moskva, a/ya 88, OOO "Patentnye poverennye Kvashnin, Sapelnikov i partnery"

(72) Inventor(s):

**VILLUDA Jorg (DE),
TRAUTVAJN Mark (US),
GRITTSAN Uve (DE),
FRAJBERG Kristof (DE),
DITTMER Frank (DE),
SHENFELD Dorian (DE),
GLYUK Yulian Marius (DE),
PINKERT Dzhessika (DE),
GUTIRRETS Eva-Mariya (DE),
GOLFIR Sven (DE),
KHOLTON Zimon (DE),
BEKKHOFE, Filip (DE),
GE Jingsi (DE)**

(73) Proprietor(s):

**BAJER FARMA AKTSIENGEZELSHAFT
(DE)**

(54) ANTI-CEACAM6 ANTIBODIES AND USE THEREOF

(57) Abstract:

FIELD: biotechnology.

SUBSTANCE: what is presented is an antibody or its antigen-binding fragment specifically binding human CEACAM6 and *Macaca fascicularis*. According to the invention, the antibodies do not react in large extent with closely related human CEACAM1, human CEACAM3 and human CEACAM5. Invention also relates to nucleic acids coding said antibody or its

fragment, containing vectors and cells thereof, to methods for producing antibodies, pharmaceutical compositions.

EFFECT: antibodies can be used for treating cancer and other disorders and conditions associated with expression of CEACAM6.

20 cl, 12 dwg, 32 tbl, 17 ex

Настоящее изобретение обеспечивает рекомбинантные антигенсвязывающие области и антитела и функциональные фрагменты, содержащие такие антигенсвязывающие области, которые являются специфическими для человеческой CEACAM6 и CEACAM6 Масаса fascicularis (молекула клеточной адгезии, связанная с карциноэмбриональным антигеном, CD66c, перекрестно-реагирующий неспецифический антиген, NCA, NCA-50/90), и поэтому они не реагируют перекрестно в значительной степени с близкородственной человеческой CEACAM1, человеческой CEACAM3 и человеческой CEACAM5. Настоящее изобретение также относится к способам получения такого вида антител.

Антитела, соответственно, могут применяться для лечения рака и других нарушений и состояний, связанных с экспрессией CEACAM6. Настоящее изобретение также обеспечивает последовательности нуклеиновых кислот, кодирующие вышеуказанные антитела, векторы, содержащие их, фармацевтические композиции и наборы с инструкциями по применению.

Уровень техники

Терапия на основе антител является эффективным и клинически обоснованным методом лечения различных видов рака, включая солидные опухоли. Например, HERCEPTIN® успешно используется для лечения рака молочной железы, и RITUXAN® эффективен в отношении типов рака, связанных с В-клетками. В основе разработки новой успешной терапии на основе антител лежит выделение антител против белков клеточной поверхности, которые, как обнаружено, предпочтительно экспрессируются на клетках-мишенях (например, раковых клетках, иммунных клетках и т.д.), которые способны функционально модифицировать активность соответствующего рецептора.

Блокада антителами молекул иммунной контрольной точки для активации иммунных клеток и, таким образом, для иммунотерапии рака является клинически обоснованным подходом. В 2011 году CTLA-4 блокирующее антитело ипилимумаб было одобрено FDA для 2-ой линии терапии метастатической меланомы (Yervoy). Другим примером является блокада оси PD-1/PD-L1, для которой несколько препаратов либо одобрены, либо в настоящее время находятся на стадии клинического разработки, и для которой были отмечены впечатляющие клинические реакции в случае меланомы, РСС и рака легких (Henick et al., Expert Opin Ther Targets. 2014 Dec;18(12):1407-20)).

Семейство белков молекулы клеточной адгезии, связанной с карциноэмбриональным антигеном, (CEACAM) принадлежит к супергенному семейству иммуноглобулинов (Ig) и обычно имеет переменный (V)-подобный домен, идентифицируемый как N-домен. За N-доменом следует либо ни один, либо до шести константных C2-подобных доменов Ig (называемых А или В). Эти внеклеточные домены необходимы для функциональности CEACAM в качестве гомо- и гетерофильных молекул межклеточной адгезии (Obrink, Curr Opin Cell Biol. 1997 Oct; 9(5):616-26) или в качестве рецепторов патогенов человека и грызунов (Kuespert et al., Curr Opin Cell Biol. 2006 Oct; 18(5):565-71; Voges et al., PLoS One. 2012;7(6):e39908). CEACAM рецепторы ассоциируются как димеры или олигомеры и многочисленные ассоциации с другими партнерами на мембране и, следовательно, модулируют важные функции. Помимо их экспрессии в тканях человека, семейство генов CEACAM является высококонсервативным у 27 других видов млекопитающих и лучше всего описано у мышей, крыс, крупного рогатого скота, собаки, утконоса и опоссума (Kammerer and Zimmermann, BMC Biol. 2010 Feb 4; 8:12). Наиболее охарактеризованной биологической функцией CEACAM является поддержка адгезии клетка-клетка посредством их гомо- и гетерофильных взаимодействий, включая роль в дифференциации и образовании трехмерной структуры ткани, ангиогенеза, апоптоза,

подавления опухолей и метастазов. (Kuespert et al., Curr Opin Cell Biol. 2006 Oct; 18(5): 565-71). Более подробно члены семейства описаны в других обзорах (Horst and Wagener, Handb Exp Pharmacol. 2004;(165): 283-341; Gray-Owen and Blumberg, Nat Rev Immunol. 2006 Jun;6(6):433-46).

5 СЕАСАМ6 (молекула клеточной адгезии, связанная с карциноэмбриональным антигеном 6, CD66с, перекрестно-реагирующий неспецифический антиген, NCA, NCA-50/90) представляет собой гликозилфосфатидилинозитол (GPI)-связанный белок клеточной поверхности с одним N-доменом и двумя C2-подобными доменами, которые опосредуют ряд возможных цис- или транс-направленных взаимодействий белков
10 СЕАСАМ через их внеклеточные домены с множеством мембранных рецепторов, некоторые из которых были идентифицированы. (Beauchemin and Arabzadeh, Cancer Metastasis Rev. 2013 Dec;32(3-4):643-71).

СЕАСАМ6 экспрессируется в различных эпителиях нормальной ткани человека, таких как толстой кишки (Blumenthal et al., BMC Cancer, 2007, Jan 3;7:2.), легкого (Kolla et al., Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 296: L1019-L1030) и гранулоцитов (Kuroki et al., Biochem Biophys Res Commun., 1992, Jan 31, 182 (2): 501-6). В гранулоцитарной линии СЕАСАМ6 экспрессировалась на всех стадиях гранулоцитарного созревания, за исключением ранних клеток-предшественников, участвующих в дифференцировке
15 линии (Strickland et al., J Pathol. 2009 Jul;218(3):380-90); Schölzel et al., American Journal of Pathology, 156 (2), 595-605). СЕАСАМ6 не экспрессируется у грызунов. (Beauchemin et al., Exp Cell Res. 1999 Nov 1;252(2):243-9).

Экспрессия СЕАСАМ6 была описана для нескольких видов рака. При раке толстой кишки СЕАСАМ6 повышено регулируется в 55% случаев, и независимый
20 прогностический фактор позволяет разбивать пациентов на группы с низким и высоким риском (Jantscheff et al., J Clin Oncol., 2003, окт. 1, 21 (19): 3638-46). При аденокарциноме поджелудочной железы было обнаружено, что 92% (n=82) анализируемых образцов были положительными, тогда как экспрессия СЕАСАМ6 была более распространена в очагах PanIN высокой степени злокачественности, чем в очагах PanIN низкой степени злокачественности (Duxbury et al., Ann Surg. 2005 Mar, 241 (3): 491-6). Это было
25 подтверждено в другом исследовании, где >90% инвазивных аденокарцином поджелудочной железы (110 из 115 испытуемых) показали устойчивую экспрессию СЕАСАМ6 (Strickland et al., J Pathol., 2009, июль, 218 (3): 380-90). Кроме того, Blumenthal et al. обнаружили экспрессию СЕАСАМ6 в опухолях молочной железы, опухолях поджелудочной железы, аденокарциномах яичников, аденокарциноме легкого,
30 метастазах в лимфатических узлах и метастазах от опухолей молочной железы, толстой кишки и легкого. (Blumenthal et al., BMC Cancer. 2007 Jan 3;7:2).

Экспрессия СЕАСАМ6 при раке молочной железы также сообщалась другими исследователями (Maraqa et al., Clin Cancer Res. 2008 Jan 15;14(2):405-11; Poola et al., Clin Cancer Res. 2006 Aug 1;12(15):4773-83; Balk-Moller et al., Am J Pathol. 2014 Apr;184(4):1198-
35 208); Tsang et al., Breast Cancer Res Treat. 2013 Nov;142(2):311-22). Кроме того, экспрессия СЕАСАМ6 была обнаружена при множественной миеломе (Witzens-Harig et al., Blood 2013 May 30, 121 (22): 4493-503), раке желудка (Deng et al., Genet Mol Res., 2014 Sep 26, 13 (3): 7686-97) и раке головы и шеи (Cameron et al., Mol Cancer. 2012 Sep 28; 11:74).

Экспериментальные данные подтверждают роль СЕАСАМ6 как важного регулятора метастазов. Kim et al. показали, что подавление экспрессии СЕАСАМ6 в клетках LoVo
40 с использованием СЕАСАМ6-специфической миРНК или увеличение ее экспрессии в клетках HCT116, соответственно, затрудняло или увеличивало инвазию через внеклеточный матрикс (Kim et al., Clin Chim Acta. 2013 Jan 16;415:12-9). Подавление

экспрессии CEACAM6 приводит к повышенной активности промотора E-кадгерина. Blumenthal et al. показали, что CEACAM5 и CEACAM6 способствовали метастатическому распространению CRC, которое может быть заблокировано моноклональными антителами *in vivo*. (Blumenthal et al., BMC Cancer. 2007 Jan 3;7:2).

- 5 Также было показано, что CEACAM6 экспрессируется в CD133-позитивных клетках в образцах рака толстой кишки, способных образовывать обогащенные стволовыми клетками сферы толстой кишки, для которых пролиферация, клоногенный потенциал, а также *in vivo* опухолевый потенциал значительно затрудняются при ее подавлении (Gemei et al., Cancer. 2013 Feb 15;119(4):729-38). При раке молочной железы было
- 10 показано, что резистентные к тамоксифену образцы проявляют сверхэкспрессию CEACAM6, и CEACAM6 является значительным предиктором рецидива заболевания (Maraqa et al., Clin Cancer Res. 2008 Jan 15;14(2):405-11). миРНК-опосредуемое подавление CEACAM6 в MMU1-тамоксифен-резистентном производном клеток MCF7 обращало
- 15 эндокринную резистентность, анкерную независимость этих клеток и инвазивные свойства (Lewis-Wambi et al., Eur J Cancer. 2008 Aug;44(12):1770-9). При аденокарциноме легкого экспрессия CEACAM6 была в значительной степени связана с неблагоприятным клиническим исходом (Kobayashi et al., Br J Cancer. 2012 Nov 6;107(10):1745-53). При раке поджелудочной железы подавление CEACAM6 с помощью миРНК обращало
- 20 приобретенную резистентность к апоптозу опухолевых клеток поджелудочной железы Mia(AR). Сверхэкспрессия CEACAM6 в Capan2 раковых клетках поджелудочной железы увеличивала резистентность к гемцитабину, тогда как миРНК-опосредованное
- 25 подавление экспрессии CEACAM6 в клетках BxPC3 хемосенсибилизировало их к лекарственному средству путем модуляции активности AKT Src-зависимым образом (Duxbury et al., Cancer Res. 2004 Jun 1;64(11):3987-93). Эти эффекты соответствовали
- увеличению инвазивности высоко экспрессирующих CEACAM6 клеток, проявляющих активность c-src и экспрессию матричной металлопротеиназы (MMP9) (Duxbury et al., Br J Cancer. 2004 Oct 4;91(7): 1384-90).

- Т-клеточные ответы против связанных с опухолью антигенов были описаны для многих опухолей (Beckhove et al., J Clin Invest. 2004 Jul;114(1):67-76; Choi et al., Blood.
- 30 2005 Mar 1;105(5):2132-4; Sommerfeldt et al., Cancer Res. 2006 Aug 15;66(16):8258-65; Schmitz-Winnenthal et al., Cancer Res. 2005 Nov 1;65(21):10079-87.; Jäger et al., Proc Natl Acad Sci U S A. 2000 Apr 25;97(9):4760-5; Romero et al., Adv Immunol. 2006;92:187-224) и часто вызывают накопление опухоль-специфических Т-клеток памяти в лимфоидных органах или в крови (Choi et al., Blood. 2005 Mar 1;105(5):2132-4; Feuerer et al., Nat Med. 2001 Apr;
- 35 7(4):452-8; Letsch et al., Cancer Res. 2003 Sep 1;63(17):5582-6). Однако способность Т-клеток реагировать против аутологичных опухолевых клеток обычно низка (Horna and Sotomayor, Curr Cancer Drug Targets. 2007 Feb;7(1):41-53); Yang and Carbone, Adv Cancer Res. 2004;92:13-27). Многие опухоли обладают способностью блокировать эффекторные функции Т-клеток, что способствует ограниченной активности опухолевой
- 40 иммунотерапии. Т-клеточная невосприимчивость к опухолевым клеткам была продемонстрирована для широкого спектра видов рака (Pardoll, Nat Immunol. 2012 Dec; 13(12):1129-32).

- CEACAM6 также способствует регулированию CD8⁺ Т-клеточного ответа. Недавно Witzens-Narig et al. продемонстрировали для множественной миеломы, экспрессирующей
- 45 несколько членов семейства CEACAM, что лечение с помощью анти-CEACAM6 mAbs или миРНК, подавляющих CEACAM6, восстановило реакционную способность Т-клеток против злокачественных плазмочитов, указывая на роль CEACAM6 в регуляции

CD8⁺ Т-клеточного ответа (Witzens-Harig et al., Blood 2013 May 30; 121 (22): 4493-503). До сих пор рецептор для CEACAM6 на Т-клетках не был идентифицирован. Однако совместная культура CEACAM6-положительных клеток миеломы с Т-клетками приводила к модуляции событий передачи сигнала Т-клетками, включая активацию SHP фосфатаз путем лигирования CEACAM6 (Lin and Weiss, J Cell Sci. 2001 Jan;114(Pt 2):243-4; Latour et al., Mol Cell Biol. 1997 Aug;17(8):4434-41; Wen et al., J Immunol. 2010 Dec 1;185(11):6413-9). CEACAM6 не имеет собственной сигнальной способности, и ее ингибирующая способность предположительно опосредуется связыванием с рецепторами на поверхности Т-клеток. Таким рецептором может быть, например, CEACAM1, для которого был описан механизм модуляции врожденных и адаптивных иммунных ответов. CEACAM1 (CD66a) обладает цитоплазматическим концом, содержащим иммунорецепторный тирозиновый ингибирующий мотив (ITIM). CEACAM1 хранится во внутриклеточных везикулах и при активации Т-клеток быстро (от 24 ч до 72 ч) экстернализируется и экспрессируется на поверхности Т-клеток, где он опосредует блокаду эффекторных функций Т-клеток после гомо- или гетерофильного связывания с лигандами, экспрессируемыми на клетках-мишенях (Gray-Owen and Blumberg, Nat Rev Immunol. 2006 Jun;6(6):433-46). Природа этого связывания неизвестна и может быть гомо- или гетерофильным связыванием с другими CEACAM или связыванием с другими компонентами внеклеточного матрикса, рецепторами фактора роста, интегринами или кадгеринами. Сообщалось о гомофильных взаимодействиях между CEACAM1 и CEACAM1 (Ortenberg et al., Mol Cancer Ther., 2012 Jun; 11 (6): 1300-10). Гетерофильные взаимодействия CEACAM были описаны, например, между CEACAM1 и CEACAM5, CEACAM6 и CEACAM8 (Cavallaro and Christofori, Nat Rev Cancer. 2004 Feb;4(2):118-32).

Как описано выше, CEACAM6 является очень привлекательной мишенью для терапевтического вмешательства при иммунотерапии рака. Как уже отмечалось, CEACAM6 является членом семейства высоко гомологичных белков. Таким образом, антитело, подходящее для лечения человека, которое облегчает иммуносупрессию CEACAM6, должно быть способно различать CEACAM6 и другие паралоги белки, такие как CEACAM1, CEACAM3, CEACAM5, каждый из которых имеет различные функции и распределение в тканях, чтобы ограничить его способ действия и локализацию до CEACAM6 и избежать нежелательных побочных эффектов.

Поскольку CEACAM6 не только экспрессируется на опухолевых клетках, но также и на нормальных тканях (особенно гранулоцитах, но также эпителиальных клетках, например, клетках легкого и желудочно-кишечного тракта - Chan and Stanners, Mol Ther. 2004 Jun; 9 (6): 775-85; Strickland et al., J Pathol, 2009, Jul, 218 (3): 380-90), абсолютно важно иметь возможность предсказать профиль побочных эффектов терапевтического антитела. Это тем более важно, поскольку ожидаемым способом действия будет ингибирование иммуносупрессии, то есть иммуноактивация, которая может привести к серьезным опасностям (случай с CD28 суперагонистом TGN1412; Suntharalingam et al., N Engl J Med. 2006 Sep 7;355(10):1018-28). Поэтому необходимо тщательно оценивать побочные эффекты на иммунную систему, непосредственно влияющие на гранулоциты. Чтобы обеспечить разработку терапевтического антитела для человека и предсказательно протестировать переносимость перед клиническими исследованиями, антитело должно проявлять соответствующую способность к перекрестной реакции по отношению к соответствующим токсикологическим видам, в случае CEACAM6 к нечеловеческим приматам, предпочтительно *Macaca fascicularis* (яванские макаки).

В качестве предварительного условия, терапевтическое антитело должно связываться с высокой аффинностью с человеческим CEACAM6 на клетках, селективно связываться

с СЕАСАМ6 (без связывания с любыми паралогами), быть способным перекрестно реагировать с СЕАСАМ6 макак в пределах одного порядка моновалентной K_D (чтобы надежно отражать связывание на нормальных тканях в токсикологической модели на макаках, даже при низких поверхностных плотностях в условиях связывания на основе неавидности), связываться с подобным эпитопом, как на человеческой СЕАСАМ6, иметь возможность облегчить иммуносупрессию, опосредованную СЕАСАМ6, быть неиммуногенным при лечении человека (т.е. человеческим или гуманизированным антителом), и быть достаточно стабильным, чтобы обеспечить клиническую разработку, получение препарата и хранение в течение длительного периода времени в качестве фармацевтического средства. Последнее важно, как было отмечено ранее, так как физическое разрушение (особенно агрегация) может усилить иммунный ответ на терапевтический белок (Hermeling et al., *Pharm Res.* 2004 Jun;21(6):897-903), и агрегация тесно связана с разворачиванием IgG и его термической стабильностью (Vermeer and Norde, *Biophys J.* 2000 Jan;78(1):394-404).

Существует несколько анти-СЕАСАМ6 антител. Большинство из них являются антителами, не относящимися к человеку, многие из которых являются поликлональными. Специфичность и избирательность для человеческой СЕАСАМ6, а также способность перекрестно реагировать с СЕАСАМ6 макак в большинстве случаев не раскрыты или не известны.

Терапевтические антитела, направленные против СЕАСАМ6, также известны в данной области техники. Некоторые из них не являются селективными для человеческой СЕАСАМ6 (например, MN-3 от Immunomedics, Neo201/h16C3 от Neogenix, оба связываются, кроме того, с человеческой СЕАСАМ5). Однодоменное антитело 2A3 и его слитые варианты (WO 2012040824 и Niu et al., *J Control Release*, 2012, Jul 10, 161 (1): 18-24) не характеризуются селективностью и способностью к перекрестной реакции в отношении СЕАСАМ6 макак.

Селективные анти-СЕАСАМ6 антитела явным образом перекрестно реагирующие с СЕАСАМ6 макак не раскрыты (Strickland et al., *J Pathol.* 2009 Jul;218(3):380-90).

Мышечное антитело 9A6 (Genovac/Aldevron) является единственным антителом, которое, как описано, может модулировать иммуноподавляющую активность СЕАСАМ6 (Witzens-Harig et al., *Blood* 2013 May 30, 121 (22): 4493-503). 9A6 ингибирует иммуноподавляющую активность СЕАСАМ6, приводя к усилению секреции цитокинов Т-клетками *in vitro* и противоопухолевой эффективности *in vivo* (Khandelwal et al., Poster Abstract 61, Meeting Abstract from 22nd Annual International Cancer Immunotherapy Symposium October 6-8, 2014, New York City, USA). Хотя его селективность, как оказалось, является соответствующей, оно ранее не было охарактеризовано как перекрестно реагирующее с СЕАСАМ6 макак. Кроме того, его мышинная природа исключает прямое терапевтическое применение у людей.

Как показано в примерах, антитело 9A6 связывается с рекомбинантным человеческим СЕАСАМ6, но не было обнаружено связывания с рекомбинантным СЕАСАМ6 *Macaca mulatta* или *Macaca fascicularis*. Для сравнения также было протестировано Neo201-hIgG1. Это антитело проявляло высокую аффинность связывания с СЕАСАМ6 как человека, так и макак. Но Neo201 связывается с человеческой СЕАСАМ5 и СЕАСАМ6 и поэтому не является специфичным для СЕАСАМ6.

В заключение, существует высокая потребность в терапевтическом моноклональном антителе, которое имеет следующие признаки:

- i. Антитело имеет высокую аффинность связывания с человеческой СЕАСАМ6.
- ii. Антитело селективно с СЕАСАМ6, не связываясь с какими-либо паралогами,

особенно CEACAM1, CEACAM3, и CEACAM5.

iii. Антитело способно перекрестно реагировать с CEACAM6 макака в пределах одного порядка моновалентной KD

iv. Антитело является неиммуногенным для лечения человека, то есть является человеческим или гуманизированным антителом

v. Антитело способно облегчить CEACAM6-опосредованную иммуносупрессию.

Такое антитело не известно из уровня техники. 9A6, связывающееся с N-терминальным доменом 1 человеческой CEACAM6, является единственным известным анти-CEACAM6-антителом, которое способно облегчить иммуносупрессию,

опосредованную CEACAM6, но не способно перекрестно реагировать с CEACAM6 макаки, в отличие от мышинного антитела. Neo201 связывается с другим доменом вне N-терминального домена 1 CEACAM6. Терапевтическая эффективность Neo201-hIgG1 была опубликована, основываясь на ADCC (Proceedings of the 102nd Annual Meeting of the American Association for Cancer Research; 2011 Apr 2-6; Orlando, FL. Philadelphia (PA): AACR: Du et al., Cancer Res April 15, 2011; 71(8 Supplement): 4582).

Авторы настоящего изобретения предположили, что облегчение опосредованной CEACAM6 иммуносупрессии связано со связыванием с N-терминальным доменом 1. Но получение антител, связывающихся с N-терминальным доменом 1 CEACAM6, связано со сложной проблемой селективности.

Выравнивание последовательностей на Фиг. 1 показывает очень высокую степень сходства белковых последовательностей человеческой CEACAM6 и человеческой CEACAM3, человеческой CEACAM5 и человеческой CEACAM1 во всей внеклеточной области. Целевая область (домен 1 человеческой CEACAM6) особенно подобна с другими CEACAM, что также отражено в таблице 7. Паралоги человеческой CEACAM6 (например, CEACAM1, CEACAM3 и CEACAM5) намного больше подобны человеческой CEACAM6, чем ортолог яванских макаков. На самом деле, в N-терминальной области в первичной последовательности есть только 2 положения, которые идентичны у человеческой CEACAM6 и CEACAM6 яванских макаков, но отличаются от аминокислот в других человеческих паралогах (отмечены на Фиг. 1 звездочками).

Неожиданно авторы настоящего изобретения смогли найти способ получения антител, имеющих желаемую селективность и все желательные функциональные признаки.

Сущность изобретения

Настоящее изобретение относится к антителам или их антиген-связывающим фрагментам или их вариантам, которые проявляют высокую аффинность к белку человеческой CEACAM6 и CEACAM6 *Macaca fascicularis* и которые не имеют значительного перекрестного взаимодействия с близкородственным человеческим CEACAM1, человеческим CEACAM3 и человеческим CEACAM5. Это означает, что антитела или их антигенсвязывающие фрагменты антитела или их варианты являются селективными для CEACAM6. Антитела обеспечивали связывание с N-терминальным доменом 1, который является высококонсервативным среди этих белков.

Анти-CEACAM6 антитела согласно настоящему изобретению также способны изменять *in vitro* цитокиновый профиль опухоль-специфических Т-клеток в сторону более цитотоксического и/или активированного фенотипа, характеризующегося повышенной секрецией IFN-гамма и/или IL-2 и/или TNF-альфа. Поэтому антитела согласно настоящему изобретению способны облегчить CEACAM6-опосредованное иммуноподавление, и индуцировать иммуноактивацию, что в конечном итоге приводит к противоопухолевой эффективности *in vivo*.

Антитела согласно настоящему изобретению или их антиген-связывающие фрагменты антитела или их варианты нарушают взаимодействие СЕАСАМ6 и СЕАСАМ1, что может быть механизмом модуляции врожденных и адаптивных иммунных ответов.

Таким образом, антитела согласно настоящему изобретению являются подходящими для лечения рака, а также его метастаз, в частности экспрессирующих СЕАСАМ6 опухолей, таких как колоректальный рак, немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), мелкоклеточный рак легкого (SCLC), рак поджелудочной железы, рак желудка, рак молочной железы и множественная миелома.

Настоящее изобретение описывает антитела, которые отличаются от существующих анти-СЕАСАМ6 антител, поскольку они способны связываться с человеческой СЕАСАМ6 и СЕАСАМ6 *Macaca fascicularis* в пределах одного порядка моновалентной K_d (чтобы надежно отражать связывание на нормальных тканях в токсикологической модели на макаках, даже при низких поверхностных плотностях в условиях связывания на основе неавидности) и не реагируют перекрестно в значительной степени с близкородственными паралогами СЕАСАМ1, СЕАСАМ3 и СЕАСАМ5. Таким образом, эти антитела подходят для доклинических токсикологических исследований на яванских макаках для оценки их профилей безопасности. Поскольку СЕАСАМ6 не только экспрессируется на опухолевых клетках, но также и на нормальных тканях (особенно гранулоцитах, но также эпителиальных клетках, например, легкого и желудочно-кишечного тракта - Chan and Stanners, *Mol Ther.* 2004 Jun;9(6):775-85; Strickland et al., *J Pathol.* 2009 Jul;218(3):380-90), абсолютно важно иметь возможность предсказать профиль побочных эффектов терапевтического антитела. Это тем более важно, поскольку ожидаемым способом действия будет ингибирование иммуносупрессии, то есть иммуноактивация, которая может привести к серьезным опасностям (например, при исследовании CD28 суперагониста TGN1412), поэтому побочные эффекты на иммунную систему в дополнение к прямым воздействиям на гранулоциты должны быть тщательно оценены.

Весьма предпочтительные анти-СЕАСАМ6 антитела согласно настоящему изобретению приведены в Таблице 1, характеризующихся их структурными признаками.

В некоторых вариантах выполнения настоящего изобретения, анти-СЕАСАМ6 антитело согласно настоящему изобретению связывается с эпитопом человеческой СЕАСАМ6, где указанный эпитоп содержит один или более аминокислотных остатков, выбранных из группы, состоящей из Gln60, Asn61, Arg62, Ile63, Val83, Ile84, Gly85, Thr90, Ser127, Asp128 и Leu129 последовательности SEQ ID NO: 179.

В некоторых вариантах выполнения настоящего изобретения, анти-СЕАСАМ6 антитело согласно настоящему изобретению связывается с эпитопом человеческой СЕАСАМ6, где указанный эпитоп содержит аминокислотные остатки Gln60, Asn61, Arg62, Ile63, Val83, Ile84, Gly85, Thr90, Ser127, Asp128 и Leu129 последовательности SEQ ID NO: 179.

В некоторых вариантах выполнения настоящего изобретения, анти-СЕАСАМ6 антитело согласно настоящему изобретению взаимодействует с, например, связывается с, эпитопом человеческой СЕАСАМ6, где указанный эпитоп содержит один, два, три, четыре, пять, восемь, десять, пятнадцать или более аминокислотных остатков, выбранных из группы, состоящей из Pro59, Gln60, Asn61, Arg62, Ile63, Gly64, Val83, Ile84, Gly85, Thr86, Gln88, Thr90, Pro91, Ile125, Ser127, Asp128 и Leu129 последовательности SEQ ID NO: 179.

В некоторых вариантах выполнения настоящего изобретения, анти-СЕАСАМ6 антитело согласно настоящему изобретению взаимодействует с, например, связывается

с, эпитопом человеческой СЕАСАМ6, где указанный эпитоп содержит аминокислотные остатки Pro59, Gln60, Asn61, Arg62, Ile63, Gly64, Val83, Ile84, Gly85, Thr86, Gln88, Thr90, Pro91, Ile125, Ser127, Asp128 и Leu129 последовательности SEQ ID NO: 179.

Анти-СЕАСАМ6 антитело согласно настоящему может вводиться совместно с известными лекарственными средствами, и в некоторых случаях само антитело может быть модифицировано. Например, антитело может быть конъюгировано с цитотоксическим агентом, иммунотоксином, токофором или радиоизотопом для потенциального дальнейшего повышения эффективности.

Настоящее изобретение обеспечивает антитела, которые составляют инструмент для диагноза злокачественные или диспластические состояния, при которых Экспрессия СЕАСАМ6 повышена по сравнению с нормальной тканью. Предпочтительными являются анти-СЕАСАМ6 антитела, конъюгированные с обнаруживаемым маркером. Предпочтительными маркерами являются радиометка, фермент, хромофор или флуорофор.

Настоящее изобретение также относится к полинуклеотидам, кодирующим антитела согласно настоящему изобретению, или их антигенсвязывающим фрагментам, клеткам, экспрессирующим антитела согласно настоящему изобретению, или их антигенсвязывающие фрагменты, способам получения антител согласно настоящему изобретению, или их антигенсвязывающие фрагменты, способам ингибирования роста диспластических клеток с использованием антител согласно настоящему изобретению, или их антигенсвязывающих фрагментов, а также способам лечения и выявления рака с использованием антител согласно настоящему, или их антигенсвязывающих фрагментов.

Настоящее изобретение также относится к выделенным последовательностям нуклеиновых кислот, каждая из которых может кодировать вышеупомянутое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое является специфичным для эпитопа СЕАСАМ6. Нуклеиновые кислоты согласно настоящему изобретению подходят для рекомбинантного продуцирования антител или антигенсвязывающих фрагментов антител. Таким образом, настоящее изобретение также относится к векторам и клеткам-хозяевам, содержащим последовательность нуклеиновой кислоты согласно настоящему изобретению.

Композиции согласно настоящему изобретению могут быть использованы для терапевтических или профилактических применений. Следовательно, настоящее изобретение включает фармацевтическую композицию, содержащую антитело согласно настоящему изобретению или его антигенсвязывающий фрагмент и, следовательно, фармацевтически приемлемый носитель или эксципиент. Связанным объектом настоящего изобретения является способ лечения нарушения или состояния, связанного с нежелательным присутствием экспрессирующих СЕАСАМ6 клеток. В предпочтительном варианте выполнения настоящего изобретения вышеупомянутым нарушением является рак. Такой способ включает стадии введения субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества фармацевтической композиции, которая содержит антитело согласно настоящему изобретению, как описано или раскрыто в настоящей заявке.

Кроме того, настоящее изобретение относится к способам получения такого вида антител. Настоящее изобретение обеспечивает инструкции по использованию библиотеки антител для выделения одного или более членов такой библиотеки, которые специфически связываются с СЕАСАМ6. Кроме того, настоящее изобретение обеспечивает инструкцию по иммунизации мышей с образованием клеточных линий

гибридомы, которые секретируют антитела, которые специфически связываются с СЕАСАМ6 и которые являются перекрестно-реагирующими с СЕАСАМ6 *Macaca fascicularis* (яванская макака). В соответствии с настоящим изобретением также обеспечиваются инструкции по гуманизации мышиных антител, которые специфически

связываются с СЕАСАМ6.

Краткое описание чертежей

Фиг. 1: Выравнивание белковых последовательностей внеклеточных областей паралоогов человеческой СЕАСАМ6, а также ортологов СЕАСАМ6 *Macaca fascicularis* (яванская макака). Числа указывают положение аминокислот после удаления сигнальной пептидной последовательности. Позиции в N-терминальной области в первичной последовательности, идентичные в человеческой СЕАСАМ6 и СЕАСАМ6 яванской макаки, но отличающиеся от аминокислот в этом положении в других человеческих паралогах, отмечены звездочками. N-терминальный домен 1 помещен в рамку.

Фиг. 2: Аминокислотные последовательности вариабельных доменов VL и VH для ТРР-2971. Последовательности, трансплантированные в рамках человека, выделяются как подчеркнутые жирным шрифтом. CDR согласно определению Кэбота указаны курсивом. Серые заштрихованные буквы представляют собой различия в последовательностях из ТРР-3187 по сравнению с ТРР-2971.

Фиг. 3: Аминокислотные последовательности вариабельных доменов VL и VH для ТРР-3310 и ТРР-3714. Последовательности, полученные из CDR мыши ТРП-2971, выделяются как подчеркнутые жирные буквы. CDR согласно определению Кэбота указаны курсивом. Антитела ТРР-3310 и ТРР-3714 отличаются двумя аминокислотами в рамках VH, выделенными как подчеркнутые нежирные буквы.

Фиг. 4: Аминокислотные последовательности вариабельных доменов VL и VH для ТРР-3820 и ТРР-3821. Последовательности, полученные из CDR мыши ТРР-3187, выделяются как подчеркнутые жирные буквы. CDR согласно определению Кэбота указаны курсивом. Антитела ТРР-3820 и ТРР-3821 отличаются двумя аминокислотами в рамках VH, выделенными как подчеркнутые нежирные буквы.

Фиг. 5: In vitro фармакологический эффект анти-СЕАСАМ6 антитела на секрецию IFN-гамма специфичными для пептида сурвивина Т клетками и степень этой секреции. А+В. IFN-гамма ELISpot анализ специфичных для пептида сурвивина Т клеток и KS опухолевых клеток. 10,000 KS опухолевых клеток совместно культивировали вместе с 2,500 Сурвивин ТС в течение 20 ч. Концентрация антитела в сокультуре составляла 30 мкг/мл. С. IFN-гамма ELISA анализ специфичных для пептида сурвивина ТС и KS опухолевых клеток. 10,000 KS опухолевых клеток совместно культивировали вместе с 20,000 Сурвивин ТС в течение 20 ч. Концентрация антитела в сокультуре составляла 30 мкг/мл. X-ось показывает различные протестированные состояния: в А: 1 = 10,000 KS клеток; 2 = 2,500 Т клеток; 3 = без обработки антителом; 4 = контроль изотипически сходное антитело; 5 = ТРР-3470 (9А6-hIgG2) 6 = ТРР-3323; в В: 1 = 10,000 KS клеток; 2 = 2,500 Т клеток; 3 = без обработки антителом; 4 = контроль изотипически сходное антитело; 5 = ТРР-3470 (9А6-hIgG2) 6 = ТРР-3310; 7 = ТРР-3707; в С: 1 = 10,000 KS клеток; 2 = 20,000 Т клеток; 3 = без обработки антителом; 4 = контроль изотипически сходное антитело; 5 = ТРР-3470 (9А6-hIgG2) 6 = ТРР-3310; 7 = ТРР-3707; Y-ось соответствует количеству пятен IFN-гамма на лунку (в А и В) или концентрации IFN-гамма в пг/мл (в С). Звездочки показывают статистически значимые результаты в соответствии с t-критерием Студента, непарным, двухсторонним. Полосы ошибок представляют SEM.

Фиг. 6: In vitro фармакологический эффект анти-СЕАСАМ6 антитела на секрецию цитокинов (IFN-гамма, IL-2 и TNF-альфа) специфичными для пептида сурвивина Т

клетками. А. Lumineх анализ IFN-гамма. В. Lumineх анализ IL-2. С. Lumineх анализ TNF α . Lumineх анализ цитокинов специфичных для пептида сурвивина ТС и KS опухолевых клеток. 10,000 KS опухолевых клеток совместно культивировали вместе с 20,000 Сурвивин ТС в течение 20 ч. Концентрация антитела в сокультуре составляла 30 мкг/мл. Х-ось показывает различные протестированные состояния: 1 = 10,000 KS клеток; 2 = 20,000 Т клеток; 3 = без обработки антителом; 4 = контроль изотипически сходное антитело; 5 = TPP-3470 (9A6-hIgG2) 6 = TPP-3310; 7 = TPP-3707; Y-соответствует концентрации цитокинов в пг/мл.

Фиг. 7: Влияние анти-СЕАСАМ6 антител на рост опухоли *in vivo*. 2×10^6 KS клеток рака молочной железы инокулировали подкожно. На день 23 и 27 специфичные к опухолевому антигену Т клетки (специфичные для пептида сурвивина) ввели посредством внутривенной инъекции, 200 мкг анти-СЕАСАМ6 антитела или изотипически сходного контроля ввели интрапарентерально на день 22, 24, 26 и 28. Рост опухоли оценивали каждые 2-3 дня. Планки погрешностей представляют SEM. Y-ось = поверхность опухоли (мм^2); X-ось = дни; ТС = специфичные для пептида сурвивина Т клетки. 1 = PBS-обработанные; 2 = обработка Т клетками и изотипически сходным контролем антитела; 3 = обработка Т клетками и TPP-3470 (9A6-hIgG2); 4 = обработка Т клетками и TPP-3310; 5 = обработка Т клетками и TPP-3707.

Фиг. 8: Последовательности предпочтительных анти-СЕАСАМ6 антител согласно настоящему изобретению с аннотациями. Обеспечиваются белковые и ДНК последовательности тяжелой и легкой цепей IgG, а также VH и VL областей выбранных антител. Ниже приведены аннотации для важных последовательностей антител (VH и VL области в IgG полной длины, и CDR области (H-CDR1, H-CDR2, H-CDR3, L-CDR1, L-CDR2, L-CDR3)).

Фиг. 9: изображение одного N-терминального домена 1 человеческой СЕАСАМ6 (TPP-1794, белый), связанного с Fab фрагментом APP-1574 (тяжелая и легкая цепи окрашены в темно и светло серый цвет, соответственно).

Фиг. 10: Подробная информация об области контакта белка, показанная на Фиг. 9. Выбранные остатки изображены в виде палочки и окрашены как на Фиг. 9. Нумерация соответствует TPP-1794 (SEQ ID №169)

Фиг. 11: xCELLigence цитотоксический анализ с применением специфичных для пептида сурвивина CD8⁺ Т клеток.

А. 20,000 KS опухолевых клеток рака молочной железы совместно культивировали с 20,000 сурвивин специфичными Т клетками В. 40,000 НСТ-116-hC6 опухолевых клеток совместно культивировали с 20,000 сурвивин специфичными Т клетками.

Цитотоксичность контролировали в течение ~100 ч. Антитела применяли при 30 мкг/мл конечной концентрации: #1, время добавления Т клеток; #2, только опухолевые клетки; #3, без антитела; #4, контроль изотипически сходное антитело; #5, анти-PD-L1 Ab в качестве человеческого IgG2; #6, TPP-3470 9A6 Ab в качестве человеческого IgG2; #7 TPP-3310 hIgG2. Звездочки показывают статистически значимые результаты в соответствии с t-критерием Студента, непарным, двухсторонним. X, ось x, время (часы); Y, ось Y, индекс нормализованных клеток.

Фиг. 12: xCELLigence цитотоксический анализ с применением полученных у человека Т клеток рака поджелудочной железы (TIL-12).

А и В: 10,000 НСС2935 опухолевых клеток совместно культивировали с 50,000 лимфоцитарными клетками, инфильтрирующими рак поджелудочной железы (TIL-12). Цитотоксичность контролировали в течение ~150 ч. Анти-CD3 x ЕpСАМ биспецифичное

mAb (0.25 нг/мл) было добавлено в сокультуру прямо к Т клеткам против опухолевых клеток, независимых от HLA.

А: #1, добавление Т клеток; #2 только опухолевые клетки; #3, без антитела; #4, контроль изотипически сходное антитело; #5, анти-PD-L1 Ab в качестве человеческого IgG2; #6, TPR-3470; #7 TPR-3310; Антитела применяли при 30 мкг/мл.

В: Зависимость от концентрации TPR-3310-опосредованного эффекта: #1, добавление Т клеток; #2, только опухолевые клетки; #3, TPR-3310 при 0.07 мкг/мл; #4, TPR-3310 при 0.02 мкг/мл; #5, контроль изотипически сходное антитело при 50 мкг/мл; #6, TPR-3310 при 0.021 мкг/мл; #7, TPR-3310 при 0.062 мкг/мл; #8, TPR-3310 при 1.85 мкг/мл; #9, TPR-3310 при 5.5 мкг/мл; #10, TPR-3310 при 16.67 мкг/мл; #11, TPR-3310 при 50 мкг/мл;

X - x-ось. Время (часы); Y, Y-ось, индекс нормализованных клеток

Подробное описание настоящего изобретения

Настоящее изобретение основано на обнаружении новых антител, которые имеют специфическую аффинность к CEACAM6 и могут обеспечивать терапевтическое преимущество субъекту. Антитела согласно настоящему изобретению, которые могут быть человеческими, гуманизированными или химерными, могут использоваться во многих контекстах, которые более полно описаны в настоящей заявке.

Определения

Если иного не указано, все технические и научные термины, используемые в настоящей заявке, имеют значение, обычно понимаемое специалистом в области техники, к которой относится настоящее изобретение. Однако следующие ссылки могут предоставить специалисту в области техники, к которой относится настоящее изобретение, общее определение многих терминов, используемых в контексте настоящего изобретения, и на них можно ссылаться и использовать, если такие определения согласуются со значениями, обычно понимаемыми в данной области техники. Такие ссылки включают, но без ограничения к этому. Singleton et al., Dictionary of Microbiology and Molecular Biology (2nd ed. 1994); The Cambridge Dictionary of Science and Technology (Walker ed., 1988); Hale & Marham, The Harper Collins Dictionary of Biology (1991); и Lackie et al., The Dictionary of Cell & Molecular Biology (3d ed. 1999); и Cellular and Molecular Immunology, Eds. Abbas, Lichtman and Pober, 2nd Edition, W.B. Saunders Company. Любой дополнительный технический источник, доступный для специалиста в данной области техники, предоставляющий определения терминов, используемых в настоящей заявке, имеющих значение, обычно понимаемое в данной области техники, можно использовать для консультации. В целях настоящего изобретения далее приводятся определения следующих терминов. Дополнительные термины определены в другой части описания настоящего изобретения. Как используется в настоящей заявке и в прилагаемой формуле изобретения, формы единственного числа включают множественное число, если из контекста настоящего изобретения явно не следует иное. Таким образом, например, ссылка на «ген» является ссылкой на один или более генов и включает в себя его эквиваленты, известные специалистам в данной области техники, и так далее.

Термины «полипептид» и «белок» применяются в настоящей заявке взаимозаменяемо для обозначения полимера аминокислотных остатков. Термины применимы к аминокислотным полимерам, в которых один или более аминокислотных остатков представляют собой искусственный химический миметик соответствующей природной аминокислоты, а также к природным аминокислотным полимерам и неприродным аминокислотным полимерам. Если не указано иное, конкретная полипептидная последовательность также неявно охватывает их консервативно модифицированные варианты.

Аминокислоты могут упоминаться в настоящей заявке в соответствии с их общеизвестным трехбуквенным обозначением или однобуквенным обозначением, рекомендованными Комиссией по биохимической номенклатуре IUPAC-IUB. Нуклеотиды также могут упоминаться с помощью их общепринятых однобуквенных

кодов.

Как применяется в настоящей заявке, термин «CEACAM6» обозначает «молекулу клеточной адгезии, связанную с карциноэмбриональным антигеном б», также известную как «CD66с» (кластер дифференциации 66с), или перекрестно-реагирующий неспецифический антиген, или NCA, или NCA-50/90. CEACAM6 представляет собой гликозилфосфатидилинозитол (GPI)-связанный белок клеточной поверхности, участвующий в адгезии клетка-клетка. CEACAM6 экспрессируется в высокой степени на поверхности различных опухолевых клеток, таких как опухолевые клетки рака толстой кишки, поджелудочной железы, молочной железы и легких.

Эталонная последовательность для человеческой CEACAM6 доступна из базы данных UniProtKB/Swiss-Prot под номером доступа P40199.3 (SEQ ID NO: 179 = TPP-4639), включая сигнальный пептид (положения 1-34) и пропептидную цепь (положения 321-344). Наблюдался один нуклеотидный полиморфизм в положении 239 (G-V обмен). Зрелый внеклеточный домен человеческой CEACAM6 состоит из аминокислот в положении 35-320 согласно SEQ ID №179.

человеческая CEACAM6 (SEQ-ID NO: 179)

MGPPSAPPCRLHVPWKEVLLTASLLTFWNPPTTAKLTISTPFNVAEGKEVLLL
AHNLPQNRIGYSWKGERVDGNSLIVGYVIGTQQATPGPAYSGRETIYPNASLL
IQNVTQNDTGFTYTLQVIKSDLVNEEATGQFHVYPELPKPSISSNNSNPVEDKDA
VAFTCEPEVQNTTYLWWVNGQSLPVSRLQLSNGNMTLTLLSVKRNDAGSYE
CEIQNPASANRSDPVTNLNLYGPDGPTISPSKANYRPGENLNLSCHAASNPPAQ
YSWFINGTFQQSTQELFIPNITVNNSGSYMCQAHNSATGLNRTTVTMITVSGSAP
VLSAVATVGITIGVLARVALI

Белковая последовательность CEACAM6 *Macaca fascicularis* (яванские макаки) была получена авторами настоящего изобретения и представлена TPP-4189 (SEQ-ID No: 177). Зрелый внеклеточный домен CEACAM6 яванских макак состоит из аминокислот в положении 35-320 согласно SEQ-ID No: 177.

CEACAM6 *Macaco fascicularis* (яванская макака) (SEQ-ID NO: 177)

MGPPSAPPCRICVPWKEVLLTASLLTFWSPPTTAQLTIESRPFNVAEGKEVLLLA
HNLPQNTLGFNWKGERVDAKRLIVAYVIGTQQTPGPAHSGREMIYSNASLLI
QNVTQNDTGSYTLQAIKEDLVTEEATGRFWVYPELPKPYITSNNSNPVEDKDA
VDFTCEPDIHSTTYLWWVNDQSLPVSRLQLSNGNRTLTLSSVKRNDAGAYEC
EIQNPVSANLSDPVILNLYGPDVPTISPSNSNYRPGENLNLSCHAASNPTAQYS
WVFNNGTFQQSTQELFIPNITVNNSGSYMCQAYNSATGLNRTTVMMITVSGSAP
GLSAVATVGIMIGVLARVALI

Доменная организация человеческой CEACAM6 и CEACAM6 *Macaca fascicularis* (яванская макака) является следующей (на основе последовательности из базы данных UniProtKB/Swiss-Prot под номером доступа P40199.3 и SEQ-ID NO: 179 = TPP-4639 & SEQ-ID No: 177 = TPP-4189, соответственно):

Домены человеческой CEACAM6 и CEACAM6 яванских макаков	Положения в SEQ-ID NO:179 = TPP-4639 и SEQ-ID No: 177 = TPP-4189, соответственно
Домен 1 также известен как N домен также известен как N-терминальной домен 1 (Ig-подобный V-тип)	35 – 142
Домен 2 также известен как A домен (Ig-подобный C2-тип 1)	145 – 232
Домен 3 также известен как B домен (Ig-подобный C2-тип 2)	237 – 314

Белок человеческой CEACAM1 полной длины доступен из базы данных UniProtKB/Swiss-Prot под номером доступа P13688.2 (SEQ-ID No: 173 = TPP-4185). Зрелый внеклеточный домен CEACAM1 человека состоит из аминокислот в положении 35-428 согласно SEQ-ID No: 173.

человеческая CEACAM1 (SEQ-ID NO: 173)

MGHLSAPLHRVRVPWQGLLLTASLLTFWNPPTTAQLTTESMPFNVAEGKEVLL
LVHNLPPQQLFGYSWYKGERVDGNRQIVGYAIGTQQATPGPANSGRETIYPNAS
LLIQNVTQNDTGFTYTLQVIKSDLVNEEATGQFHVYPELPKPSISSNNSNPVEDKD
AVAFTCEPETQDTTYLWWINNQSLPVSRLQLSNGNRTLTLSSVTRNDTGPYEC
EIQNPVSANRSDPVTNLNVTYGPDTPTISPSDTYYRPGANLSLSCYAASNPPAQYS
WLINGTFQQSTQELFIPNITVNNSGSYTCHANNSVTGCNRTTVKTIIVTELSPVV
AKPQIKASKTTVTGDKDSVNLTCSTNDTGISIRWFFKNQSLPSSSERMKLSQGNT
TLSINPVKREDAGTYWCEVFNPIKSNQSDPIMLVNLYNALPQENGLSPGAIAGIV
IGVVALVALIAVALACFLHFGKTGRASDQRDLTEHKPSVSNHTQDHSNDPPNK
MNEVTYSTLNFEAQPTQPTSASPSLTATEIYSEVKKQ

Белок человеческой CEACAM3 полной длины доступен из базы данных UniProtKB/Swiss-Prot под номером доступа P40198.2 (SEQ-ID No: 175 = TPP-4187). Зрелый внеклеточный домен CEACAM3 человека состоит из аминокислот в положении 35-155 согласно SEQ-ID No: 175.

человеческая CEACAM3 (SEQ-ID NO: 175)

MGPPSASPHRECIPWQGLLLTASLLNFWNPPTTAKLTIESMPLSVAEGKEVLLL
VHNLPPQHLFGYSWYKGERVDGNSLIVGYVIGTQQATPGAAYSGRETIYTNASL
LIQNVTQNDIGFTYTLQVIKSDLVNEEATGQFHVYQENAPGLPVGAVAGIVTGVL
VGVALVAALVCFLLLAKTGRTSIQRDLKEQQPQALAPGRGPSHSSAFSMSPLST
AQAPLPNPRTAASIYEELLKHDTNIYCRMDHKAIEVAS

Белок человеческой CEACAM5 полной длины доступен из базы данных UniProtKB/Swiss-Prot под номером доступа P06731.3 (SEQ-ID No: 176 = TPP-4188). Зрелый

внеклеточный домен CEACAM5 человека состоит из аминокислот в положении 35-685 согласно SEQ-ID No: 176.

человеческая CEACAM5 (SEQ-ID NO: 176)

5 MESPSAPPHRWCIWQRLLLTASLLTFWNPPTTAKLTIESTPFNVAEGKEVLLL
 HNLPQHFLFGYSWYKGERVDGNRQIIGYVIGTQQATPGPAYSGREIYPNASLLIQ
 NIIQNDTGFTLHVIKSDLVNEEATGQFRVYPELPKPSISSNNSKPVEDKDAVAF
 TCEPETQDATYLWWVNNQSLPVSRLQLSNGNRTLTLFNVTRNDTASYKCETQ
 10 NPVSARRSDSVILNVLYGPDAPTISPLNTSYRSGENLNLSCHAASNPPAQYSWFV
 NGTFQQSTQELFIPNITVNNSGSYTCQAHNSDTGLNRTTVTTITVYAEPPKPFITS
 NNSNPVEDEDAVALTCEPEIQNTTYLWWVNNQSLPVSRLQLSNDNRTLTLIS
 VTRNDVGPYECGIQNKLSVDHSDPVILNVLYGPDDPTISPSYTYRPGVNLSLSC
 15 HAASNPPAQYSWLIDGNIQQHTQELFISNITEKNSGLYTCQANNSASGHSRTTV
 KTITVSAELPKPSISSNNSKPVEDKDAVAFTCEPEAQNTTYLWWVNGQSLPVSP
 RLQLSNGNRTLTLFNVTRNDARAYVCGIQNSVSANRSDPVTLDVLYGPDTPHSP
 PDSSYLSGANLNLSCHSASNPSQYSWRINGIPQQHTQVLFIKITPNNNGTYAC
 20 FVSNLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSAGATVGIMIGVLVGVALI

Термины «анти-CEACAM6 антитело» и «антитело, которое связывается с
 CEACAM6» относятся к антителу, которое способно связывать CEACAM6 с
 достаточной аффинностью, так что антитело полезно в качестве диагностического и/
 25 или терапевтического агента при нацеливании на CEACAM6. В одном варианте
 выполнения настоящего изобретения степень связывания анти-CEACAM6 антитела с
 неродственным не-CEACAM6 белком составляет менее около 5% или предпочтительно
 менее около 2% связывания антитела с CEACAM6, как измерено, например,
 поверхностным плазменным резонансом (SPR). В некоторых вариантах выполнения
 30 настоящего изобретения антитело, которое связывается с CEACAM6, имеет константу
 диссоциации (KD) ≤ 1 мкМ, ≤ 100 нМ, ≤ 10 нМ, ≤ 1 нМ, $\leq 0,1$ нМ, $\leq 0,01$ нМ или $\leq 0,001$ нМ
 (например, 10^{-8} М или менее, например, от 10^{-8} М до 10^{-13} М, например, от 10^{-9} М до
 10^{-13} М). В некоторых вариантах выполнения настоящего изобретения анти-CEACAM6
 антитело связывается с эпитопом CEACAM6, который является консервативным среди
 35 CEACAM6 у разных видов.

Термин "антитело", как применяется в описании настоящего изобретения, описывает
 иммуноглобулиновые молекулы, предпочтительно состоящие из четырех полипептидных
 цепей, двух тяжелых (H) цепей и двух легких (L) цепей, которые, как правило,
 40 связываются дисульфидными мостиками. Каждая тяжелая цепь содержит переменный
 домен тяжелой цепи (сокращаемые в настоящем изобретении как VH) и константный
 домен тяжелой цепи. Константный домен тяжелой цепи может содержать, например,
 три домена CH1, CH2 и CH3. Каждая легкая цепь содержит переменный домен легкой
 цепи (сокращаемый в настоящем изобретении как VL) и константный домен легкой
 45 цепи. Константный домен легкой цепи содержит один домен (CL). Домены VL и VH
 могут быть дополнительно подразделены на гиперпеременные участки, называемые
 участками, определяющими комплементарность (CDR), вкрапленные в области, которые
 являются более консервативными, называемые каркасными участками (FR). Каждый
 VH и VL, как правило, состоит из трех CDR и до четырех FR, расположенных от N-

конца к С-концу, например, в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4.

Как применяется в описании настоящего изобретения, термин «участки, определяющие комплементарность» (CDR; например, CDR1, CDR2 и CDR3), относится к аминокислотным остаткам варибельного домена антитела, присутствие которого необходимо для связывания антигена. Каждый варибельный домен, как правило, имеет три участка CDR, идентифицируемые как CDR1, CDR2 и CDR3. Каждый участок, определяющий комплементарность, может содержать аминокислотные остатки из "участка, определяющего комплементарность", как определено по Кэботу (например, около остатков 24-34 (L1), 50-56 (L2) и 89-97 (L3) в варибельной области легкой цепи и 31-35 (H1), 50-65 (H2) и 95-102 (H3) в варибельном домене тяжелой цепи; (Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)) и/или те остатки из "гиперварибельной петли" (например, около остатков 26-32 (L1), 50-52 (L2) и 91-96 (L3) в варибельной области легкой цепи и 26-32 (H1), 53-55 (H2) и 96-101 (H3) в варибельном домене тяжелой цепи (Chothia and Lesk; J Mol Biol 196:901-917 (1987)). В некоторых случаях участок, определяющий комплементарность, может включать аминокислоты как из участка CDR, определенного в соответствии с Кэботом, так и из гиперварибельной петли.

В зависимости от аминокислотной последовательности константного домена их тяжелых цепей интактные антитела могут быть отнесены к различным "классам". Существует пять главных классов интактных антител: IgA, IgD, IgE, IgG и IgM - и некоторые из них могут дополнительно разделяться на "подклассы" (изотипы), например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2. Предпочтительным классом иммуноглобулинов для использования в данном изобретении является IgG.

Константные домены тяжелой цепи, которые соответствуют различным классам антител, называют [альфа], [дельта], [эпсилон], [гамма] и [мю], соответственно. Структуры субъединиц и трехмерные конфигурации различных классов иммуноглобулинов известны. Как применяется в описании настоящего изобретения, антитела являются общеизвестными антителами и их функциональными фрагментами.

"Функциональный фрагмент" или "антигенсвязывающий фрагмент антитела" антитела/иммуноглобулина настоящим определен как фрагмент антитела/иммуноглобулина (например, варибельная область IgG), который сохраняет антигенсвязывающую область. "Антигенсвязывающая область" антитела, как правило, состоит из одной или более гиперварибельных областей антитела, например, CDR1, -2, и/или -3 области; однако варибельные "каркасные" области могут также играть важную роль в связывании антигена, например, обеспечивая каркас для CDR. Предпочтительно, "антигенсвязывающая область" содержит аминокислотные остатки по меньшей мере от 4-ого до 103-его варибельной области легкой цепи (VL) и от 5-ого до 109-ого варибельной области тяжелой цепи (VH), более предпочтительно от 3 до 107 VL и от 4 до 111 VH, и особенно предпочтительным являются полные цепи VL и VH (положение аминокислот 1-109 VL и 1-113 VH; нумерация в соответствии с WO 97/08320).

"Функциональные фрагменты" или "антигенсвязывающие фрагменты антитела" в соответствии с настоящим изобретением включают Fab, Fab', F(ab')₂ и фрагменты Fv; диантитела; доменные антитела (DAbs), линейные антитела; одноцепочечные молекулы антител (scFv); и мультиспецифичные, такие как би- и триспецифические, антитела, образованные из фрагментов антител (C. A. K. Borrebaeck, editor (1995) Antibody Engineering (Breakthroughs in Molecular Biology), Oxford University Press; R. Kontermann &

S. Duebel, editors (2001) *Antibody Engineering* (Springer Laboratory Manual), Springer Verlag).
 Подразумевается, что антитело, отличное от "мультиспецифического" или
 "мультифункционального" антитела, имеет идентичные сайты связывания. F(ab')₂ или
 Fab могут быть спроектированы, чтобы минимизировать или полностью удалить
 5 межмолекулярные дисульфидные взаимодействия, которые возникают между доменами
 CH 1 и CL.

Термин «Fc область» в настоящей заявке используется для определения C-
 терминальной области тяжелой цепи иммуноглобулина, которая содержит по меньшей
 мере часть константной области. Термин включает в себя природные
 10 последовательности Fc-областей и варианты Fc-областей. В одном варианте выполнения
 настоящего изобретения область Fc тяжелой цепи IgG человека простирается от Cys226
 или от Pro230 до карбоксильного конца тяжелой цепи. Однако C-терминальной лизин
 (Lys447) Fc области может быть или может отсутствовать. Если не указано иное,
 нумерация аминокислотных остатков в Fc области или константной области
 15 соответствует системе нумерации ЕС, также называемой индексом ЕС, как описано в
 Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service,
 National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991.

Варианты антител или антигенсвязывающих фрагментов антител, рассматриваемых
 в настоящем изобретении, являются молекулами, в которых сохраняется связывающая
 20 активность антитела или антигенсвязывающего фрагмента антитела.

«Связывающие белки», рассматриваемые в контексте настоящего изобретения,
 представляют собой, например, миметики антител, такие как аффитела, аднектины,
 антикарины, сконструированные белки с анкириновым повтором, авимеры, наночастицы
 (обзор Gebauer M. et al., *Curr. Opinion in Chem. Biol.* 2009; 13:245-255; Nuttall S.D. et al.,
 25 *Curr. Opinion in Pharmacology* 2008; 8:608-617).

"Человеческое" антитело или его антигенсвязывающий фрагмент настоящим
 определено как такое, которое не является химерным (например, не
 "гуманизированным") и не из (ни полностью, ни частично) видов, отличных от человека.
 Человеческое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент могут быть получены
 30 от человека или могут быть синтетическим человеческим антителом. "Синтетическое
 человеческое антитело" определяется в настоящем изобретении как антитело,
 получившее последовательность, полностью или частично, *in silico* из синтетических
 последовательностей, которые основаны на анализе известных человеческих
 последовательностей антител. Конструирование *in silico* последовательности
 35 человеческого антитела или его фрагмента может быть достигнуто, например, с
 помощью анализа базы данных человеческих антител или последовательностей
 фрагмента антител и созданием полипептидной последовательности, с использованием
 данных, полученных оттуда. Другим примером человеческого антитела или его
 антигенсвязывающего фрагмента является антитело, которое кодируется нуклеиновой
 40 кислотой, выделенной из библиотеки последовательностей антител человеческого
 происхождения (например, такой библиотеки, которая основана на антителах, взятых
 из человеческого природного источника). Примеры человеческих антител включают
 антитела, описанные в Soderlind et al., *Nature Biotech.* 2000, 18:853-856.

"Гуманизированное антитело" или его гуманизированный антигенсвязывающий
 45 фрагмент определяются в настоящем изобретении как такие, которые (i) получают
 из нечеловеческого источника (например, трансгенной мыши, которая несет
 гетерологичную иммунную систему), антитело которого происходит из
 последовательности человеческой зародышевой линии; (ii), где аминокислоты каркасной

области нечеловеческого антитела частично заменены человеческими аминокислотными последовательностями с помощью генетической инженерией или (iii) трансплантированы на гипервариабельном участке (CDR), где гипервариабельные участки CDR

вариабельного домена имеют нечеловеческое происхождение, в то время как одна или

5 более структур вариабельного домена имеют человеческое происхождение, а константный домен (если таковой имеется) имеет человеческое происхождение.

"Химерное антитело" или его антигенсвязывающий фрагмент определяется в настоящем изобретении как антитело, в котором вариабельные домены имеют нечеловеческое происхождение, а некоторые или все константные домены имеют

10 человеческое происхождение.

Термин "моноклональное антитело", как применяется в описании настоящего изобретения, относится к антителу, полученному из популяции по существу гомогенных антител, то есть, индивидуальные антитела, содержащиеся в популяции, являются идентичными антителами за исключением возможных мутаций, например, естественных

15 мутаций, которые могут присутствовать в незначительном количестве. Таким образом, термин "моноклональный" указывает на характер антител, как не являющихся смесью отдельных антител. В отличие от препаратов поликлональных антител, которые, как правило, включают различные антитела, направленные против различных детерминант (эпитопов), каждое моноклональное антитело препарата моноклональных антител

20 направлено против единственного эпитопа на антигене. В дополнение к их специфичности препараты моноклональных антител имеют преимущество в том, что они как правило, неконтаминированы другими иммуноглобулинами. Термин "моноклональный" не следует истолковывать, как требование продуцирования антитела каким-то особым методом. Термин моноклональное антитело специфически включает

25 химерные, гуманизированные и человеческие антитела.

"Выделенное" антитело представляет собой антитело, которое было идентифицировано и выделено из компонента клетки, которая экспрессировала его. Контаминирующими компонентами клетки являются материалы, которые мешать в

30 диагностическому или терапевтическому применению антитела, и могут включать ферменты, гормоны и другие белковые или небелковые растворенные вещества.

«Выделенная» нуклеиновая кислота является той, которая была идентифицирована и отделена от компонента ее естественной среды. Выделенная нуклеиновая кислота включает молекулу нуклеиновой кислоты, содержащуюся в клетках, которые обычно содержат молекулу нуклеиновой кислоты, но молекула нуклеиновой кислоты

35 присутствует внехромосомно или в хромосомном положении, отличном от ее естественного хромосомного положения.

Как использующиеся в настоящем изобретении, антитело, которое "связывается специфически с" антигеном, "является специфическим к/для" антигену/антигена или "специфически узнает" антиген, представляющий интерес, например, опухоль-

40 ассоциированную полипептидную антигенную мишень, является антителом, которое связывает антиген с достаточной аффинностью, таким образом, что антитело становится полезным как терапевтический агент в клетке-мишени или ткани-мишени, экспрессирующих антиген, и имеющее незначительную кросс-реактивность с другими белками или имеющее незначительную кросс-реактивность с такими белками как

45 ортологи и варианты (например, мутантные формы, варианты сплайсинга или протеолитически усеченные формы) вышеупомянутой антигенной мишени. Выражение "специфически узнает" или "связывается специфически с" или является "специфическим к/для" по отношению к конкретному полипептиду или эпитопу на конкретной

полипептидной цепи, как применяется в описании настоящего изобретения, может демонстрироваться, например, антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, имеющим моновалентную K_D для антигена меньше, чем около 10^{-4} М, альтернативно

5 меньше, чем около 10^{-5} М, альтернативно меньше, чем около 10^{-6} М, альтернативно меньше, чем около 10^{-7} М, альтернативно меньше, чем около 10^{-8} М, альтернативно меньше, чем около 10^{-9} М, альтернативно меньше, чем около 10^{-10} М, альтернативно меньше, чем около 10^{-11} М, альтернативно меньше, чем около 10^{-12} М, или меньше.

10 Антитело "связывается специфически с" антигеном, "специфическое к/для" антигену/антигена или "специфически узнает" антиген, если такое антитело в состоянии отличить такой антиген от одного или более ссылочного антигена(ов). В своей самой общей форме, "специфическое связывание", "связывается специфически с", является "специфическим к/для" или "специфически узнает" относится к способности антитела
15 различать между антигеном, представляющим интерес, и неродственным антигеном, как определяется, например, в соответствии с одним из нижеследующих способов. Такие способы включают, но не ограничены этим: Вестерн-блоттинг, ELISA, РИА (радиоиммуноанализ), ECL (электрогенерированная хемилюминесценция), IRMA (иммунорадиометрический анализ) и пептидное сканирование. Например, может быть
20 осуществлен стандартный анализ ELISA. Оценка может осуществляться посредством стандартного развития окрашивания (например, вторичное антитело с пероксидазой хрена и тетраметилбензидином с перекисью водорода). Реакция в определенных лунках оценивается по оптической плотности, например, при 450 нм. Типичная фоновая интенсивность (= негативной реакции) может быть 0,1 OD; типичная положительная
25 реакция может давать 1 OD. Это означает, что отношение положительное/отрицательное может быть более чем 5-кратное, 10-кратное, 50-кратное и предпочтительно более чем 100-кратное. Как правило, определение специфичности связывания осуществляется при помощи не единственного референс-антигена, но набора от около трех до пяти неродственных антигенов, таких как молочный порошок, БСА, трансферрин и т.п.

30 "Связывающая способность" относится к силе сумме общих нековалентных взаимодействий между единственным связывающим участком молекулы и ее партнером по связыванию. Если не обозначено иначе, как использующаяся в настоящем изобретении, "связывающая способность" относится ко внутренней связывающей способности, которая отражает взаимодействие 1:1 между членами пары по связыванию
35 (например, антителом и антигеном). Константа диссоциации " K_D " обычно используется, чтобы описать сродство между молекулой (такой как антитело) и его партнером по связыванию (таким как антиген), то есть, как сильно лиганд связывается с конкретным белком. Аффинности лиганд-белок зависят от нековалентных межмолекулярных взаимодействий между этими двумя молекулами. Аффинность может быть измерена
40 общепринятыми методиками, известными в данной области техники, включая описанные в настоящем изобретении. В одном варианте осуществления " k_d " или "значение k_d " в соответствии с настоящим изобретением измеряются при помощи анализа поверхностного плазменного резонанса с использованием подходящих устройств, включая, но без ограничения к этому, устройства Biacore, такие как Biacore T100, Biacore T200, Biacore 2000, Biacore 4000, Biacore 3000 (GE Healthcare Biacore, Inc.), или устройство
45 ProteOn XPR36 (Bio-Rad Laboratories, Inc.).

Как применяется в описании настоящего изобретения, термин «эпитоп» включает любую детерминанту белка, способную к специфическому связыванию с

иммуноглобулином или Т-клеточными рецепторами. Эпитопные детерминанты обычно состоит из химически активных поверхностных группировок молекул, таких как аминокислотные или углеводные боковые цепи или комбинации вышеперечисленного и обычно имеют специфические трехмерные структурные особенности, так же как

5 специфические особенности распределения заряда.

«Антитело, которое связывается с одним и тем же эпитопом» в качестве эталонного антитела или «антитело, которое конкурирует за связывание» с эталонным антителом, относится к антителу, которое блокирует связывание эталонного антитела с его антигеном в конкурентном анализе на 10%, 20%, 30%, 40%, 50% и более, и наоборот,

10 контрольное антитело блокирует связывание антитела с его антигеном в конкурентном анализе на 10%, 20%, 30%, 40%, 50% и более. Примерный конкурентный анализ представлен в настоящей заявке.

«Антитело, которое связывается с эпитопом целевого белка Z, где указанный эпитоп содержит аминокислотные остатки X1, X2, X3, ...», представляет собой антитело,

15 которое содержит атомы в пределах 5 Å, предпочтительно в пределах 4 Å, к атомам указанных аминокислотных остатков X1, X2, X3, ... целевого белка Z после связывания антитела с его целевым белком. Такие эпитопы могут быть определены с использованием рентгеновской кристаллической структуры, как показано в примере 16.

"Антителозависимая клеточная цитотоксичность" или "ADCC" относится к форме цитотоксичности, в которой секретируемый Ig, связанный с рецептором гамма Fc (FcγRs), присутствующим на специфических цитотоксических клетках (например, NK-клетках, нейтрофилах и макрофагах), позволяет этим цитотоксическим эффекторным клеткам связаться специфически с клеткой-мишенью, несущей антиген, и впоследствии убить

20 клетку-мишень, например, цитотоксинами. Чтобы оценить ADCC активность антитела, представляющего интерес, может быть осуществлен *in vitro* анализ ADCC, такой как описанный в патенте США №5500362 или патенте США 5821337 или патенте США №6737056 (Presta). Полезные эффекторные клетки для такого исследования включают РВМС и NK клетки.

"Комплементзависимая цитотоксичность" или "CDC" относятся к лизису клетки-мишени в присутствии комплемента. Активация классического пути комплемента инициируется связыванием первого компонента системы компонента (C1q) с антителами (соответствующего подкласса), которые связаны с антигеном, им распознанным. Для оценки активации компонента используют анализ CDC, например, как описано в Gazzano-Santoro et al., J. Immunol. Methods 202:163 (1996). Полипептидные варианты с измененными

35 аминокислотными последовательностями Fc-фрагмента (полипептиды с различными вариантами Fc-фрагмента) и увеличенное или уменьшенное связывание C1q описаны, например, в патенте США No. 6194551 и WO 1999/51642.

Как применяется в настоящей заявке, термин «оголенное антитело» относится к антителу, которое не конъюгировано с гетерологичной частью (например, цитотоксической частью) или радиоактивной меткой. Это оголенное антитело может присутствовать в фармацевтической композиции.

40 Термин иммуноконъюгат (взаимозаменяемо называемый "конъюгат антитело-лекарственное средство" или "ADC") относится к антителу, конъюгированному с одним или более цитотоксическим агентом, таким как химиотерапевтический агент, лекарственная субстанция, агент, ингибирующий рост, токсин (например, белковый токсин, ферментативно активный токсин бактериального, грибкового, растительного или животного происхождения или их фрагменты), или радиоактивный изотоп (то есть, радиоконъюгат). Иммуноконъюгаты использовались для местной доставки

цитотоксических веществ, таких как лекарственные средства, которые убивают или ингибируют рост или пролиферацию клеток при лечении рака (например, Liu et al, Proc Natl. Acad. Sci. (1996), 93, 8618-8623)). Иммуноконъюгаты позволяют осуществлять направленную доставку лекарственных молекул в опухоль и внутриклеточное накопление там, где системное введение неконъюгированных лекарственных средств может привести к недопустимым уровням токсичности для нормальных клеток и/или тканей. Токсины, используемые в конъюгатах антитело-токсин, включают бактериальные токсины, такие как дифтерийный токсин, растительные токсины, такие как рицин, низкомолекулярные токсины, такие как гелданамицин. Токсины могут проявить свои цитотоксические эффекты посредством механизмов, включающие связывание тубулина, связывание ДНК или ингибирование топоизомеразы.

«Процент (%) идентичности последовательности» относительно ссылочной полинуклеотидной или полипептидной последовательности, соответственно, определяют как процент остатков нуклеиновой кислоты или аминокислотных остатков, соответственно, в последовательности-кандидате, которые идентичны по остаткам нуклеиновой кислоты или аминокислотным остаткам, соответственно в ссылочной полинуклеотидной или полипептидной последовательности, соответственно, после выравнивания последовательностей и введение гэпов при необходимости, для достижения максимального процента идентичности последовательности.

Консервативные замены не рассматриваются как часть идентичности последовательности. Предпочтительным является выравнивание без гэпов. Выравнивание с целью определения процента идентичности аминокислотной последовательности может быть достигнуто различными способами, которые находятся в пределах компетентности специалистов в данной области техники, например, с использованием общедоступного программного обеспечения, такое как BLAST, BLAST 2, ALIGN или Megalign (DNASTAR). Специалисты в данной области техники могут определить соответствующие параметры для выравнивания последовательностей, включая любые алгоритмы, необходимые для достижения максимального выравнивания сравниваемых полноразмерных последовательностей.

«Гомологичность последовательности» указывает процент аминокислот, которые либо идентичны, либо представляют собой консервативные аминокислотные замены.

Термин «созревшие антитела» или «созревшие антиген-связывающие фрагменты», такие как созревшие Fab-варианты, включают производные антитела или фрагмента антитела, обладающие более сильным связыванием, т.е. связыванием с повышенной аффинностью, с данным антигеном, таким как внеклеточный домен целевого белка. Созревание представляет собой процесс идентификации небольшого числа мутаций, например, в шести CDR антитела или фрагмента антитела, приводящий к увеличению его аффинности. Процесс созревания представляет собой комбинацию методов молекулярной биологии для введения мутаций в антитело и скрининга для идентификации улучшенных связывающих.

«Антагонистическое» антитело или «блокирующее» антитело представляет собой антитело, которое значительно ингибирует (или частично или полностью) биологическую активность антигена, который оно связывает.

«Агонистическое» антитело или антитело с «агонистической активностью» представляет собой антитело, которое связывается с его мишенью и индуцирует активацию (частично или полностью) соответствующей мишени, что, например, приводит к активации сигнальных путей или биологических эффектов (либо частично, либо полностью), которые опосредованы соответствующей мишенью. «Агонистическое»

антитело или антитело с «агонистической активностью», как используется в настоящей заявке, представляет собой антитело, которое может имитировать по меньшей мере одну из функциональных активностей представляющего интерес полипептида.

5 Термин «фармацевтический состав»/«фармацевтическая композиция» относится к препарату, который находится в такой форме, чтобы обеспечить эффективную биологическую активность активного ингредиента, содержащегося в нем, и который не содержит дополнительных компонентов, которые неприемлемо токсичны для субъекта, которому подлежит введение композиции.

10 Используемый в настоящей заявке термин «вектор» относится к молекуле нуклеиновой кислоты, способной распространять другую нуклеиновую кислоту, с которой она связана. Термин включает вектор как самореплицирующуюся структуру нуклеиновой кислоты, а также вектор, включенный в геном клетки-хозяина, в которую он был введен. Некоторые векторы способны направлять экспрессию нуклеиновых кислот, с которыми они функционально связаны. Такие векторы упоминаются в
15 настоящей заявке как «экспрессионные векторы».

Термины «клетка-хозяин», «линия клеток-хозяев» и «культура клеток-хозяев» используются взаимозаменяемо и относятся к клеткам, в которые была введена экзогенная нуклеиновая кислота, включая потомство таких клеток. К клеткам-хозяевам относятся «трансформанты», «трансформированные клетки», «трансфектанты»,
20 «трансфицированные клетки» и «трансдуцированные клетки», которые включают первично трансформированную/трансфицированную/трансдуцированную клетку и потомство, полученное из нее, независимо от количества пассажей. Потомство не может быть полностью идентичным по содержанию нуклеиновой кислоты в родительской клетке, но может содержать мутации. В настоящую заявку включено мутантное
25 потомство, которое имеет ту же функцию или биологическую активность, что и скринированные или отобранные в первоначально трансформированной клетке.

Антитела согласно настоящему изобретению

Настоящее изобретение относится к антителам или их антиген-связывающим фрагментам или их вариантам, которые специфически связываются с человеческой
30 CEACAM6 и CEACAM6 *Macaca fascicularis*, и которые поэтому не реагируют перекрестно в значительной степени с близкородственной человеческой CEACAM1, человеческой CEACAM3, и человеческой CEACAM5.

Антитела согласно настоящему изобретению или их антиген-связывающие фрагменты антитела или их варианты специфически связываются со зрелым внеклеточным доменом
35 CEACAM6 и зрелым внеклеточным доменом CEACAM6 *Macaca fascicularis*, и не реагируют перекрестно в значительной степени с близкородственными зрелыми внеклеточными доменами человеческой CEACAM1, человеческой CEACAM3, и человеческой CEACAM5. Зрелые внеклеточные домены могут быть частью белков полной длины, экспрессируемых на клеточной поверхности, а также растворимых
40 белков (природного происхождения или рекомбинантно экспрессируемых).

Антитела согласно настоящему изобретению или их антиген-связывающие фрагменты антитела или их варианты специфически связываются с белками, содержащими зрелый внеклеточный домен человеческой CEACAM6 и/или зрелый внеклеточный домен
45 CEACAM6 *Macaca fascicularis*, и не реагирует перекрестно в значительной степени с белками, содержащими только близкородственные зрелые внеклеточные домены человеческой CEACAM1 и/или человеческой CEACAM3, и/или человеческой CEACAM5.

В варианте выполнения настоящего изобретения обеспечиваются антитела или их

антиген-связывающие фрагменты антитела или их варианты, которые являются специфическими для человеческой СЕАСАМ6 и СЕАСАМ6 *Macaca fascicularis*, что означает, что антитела являются перекрестно-реагирующими с человеческой СЕАСАМ6 и СЕАСАМ6 *Macaca fascicularis*.

5 В варианте выполнения настоящего изобретения обеспечиваются антитела или их антиген-связывающие фрагменты антитела или их варианты, которые являются селективными для СЕАСАМ6, что означает, что они не реагируют перекрестно в значительной степени с близкородственными СЕАСАМ1, СЕАСАМ3, и СЕАСАМ5.

10 В другом варианте выполнения настоящего изобретения обеспечиваются антитела или их антиген-связывающие фрагменты антитела или их варианты, которые связываются с человеческой СЕАСАМ6 и являются перекрестно реагирующими с СЕАСАМ6 другого вида, включая, но без ограничения к этому, макак с подобной аффинностью. Предпочтительно, указанным другим видом являются нечеловекообразная обезьяна, такая как, например, *Macaca fascicularis*, *Macaca mulatta*,
15 орангутанг, горилла и шимпанзе. Наиболее предпочтительно, антитела, или их антиген-связывающие фрагменты антитела или их варианты связываются с человеческой СЕАСАМ6 и являются перекрестно реагирующими с СЕАСАМ6 яванских макак.

Моноклональное антитело, связывающееся с антигеном 1 (Ag1), является «перекрестно-реагирующим» с антигеном 2 (Ag2), когда значения EC_{50} и/или K_d
20 находятся в подобном диапазоне для обоих антигенов. В настоящем описании моноклональное антитело, связывающееся с Ag1, является перекрестно-реагирующим с Ag2, когда отношение сродства к Ag1 к аффинности к Ag2 равно или менее 10 (≤ 10) и равно или более 0,1 ($\geq 0,1$), что означает что аффинности для Ag1 и Ag2 не отличаются более чем в 10 раз (аффинности находятся в пределах одного порядка моновалентной K_D)
25 при условии, что аффинности измеряются одним и тем же методом в тех же экспериментальных условиях для обоих антигенов.

Соответственно, антитело согласно настоящему изобретению имеет отношение аффинности для человеческой СЕАСАМ6 к аффинности для СЕАСАМ6 *Macaca fascicularis*, которое равно или менее 10 (≤ 10) и равно или более 0,1 ($\geq 0,1$), что означает,
30 что аффинности для человеческой СЕАСАМ6 и СЕАСАМ6 *Macaca fascicularis* не отличаются более чем в 10 раз (аффинности находятся в пределах одного порядка моновалентной K_D). Таким образом, антитело согласно настоящему изобретению, или его антигенсвязывающий фрагмент антитела или его вариант согласно настоящему
35 изобретению могут быть использованы в токсикологических исследованиях, проведенных на обезьянах, поскольку профиль токсичности, наблюдаемый у обезьян, будет релевантным для прогнозирования потенциальных неблагоприятных эффектов у людей.

Моноклональное антитело, связывающееся с антигеном 1 (Ag1), является «не перекрестно-реагирующим в значительной степени» с антигеном 3 (Ag3), когда
40 аффинности сильно отличаются для двух антигенов. Аффинность для Ag3 может не поддаваться измерению, если ответ на связывание (измеренный сигнал связывания в анализе) слишком низок. В настоящей заявке моноклональное антитело, связывающееся с Ag1, является «не перекрестно-реагирующим в значительной степени» с Ag3, когда
45 ответ на связывание (измеренный сигнал связывания в анализе) моноклонального антитела с Ag3 составляет менее 5%, предпочтительно менее 2% от ответа связывания того же моноклонального антитела с Ag1 в той же самой экспериментальной установке и при той же концентрации антител. На практике используемой концентрацией антитела

может быть EC_{50} или k_d , или концентрация, необходимая для достижения плато насыщения, полученного с помощью Ag1.

В соответствии с настоящим изобретением антитела или их антиген-связывающие фрагменты антитела или их варианты не реагируют в значительной степени с

человеческой CEACAM1, человеческой CEACAM3, и человеческой CEACAM5. Предпочтительный вариант выполнения настоящего изобретения имеет аффинность для человеческой CEACAM6 и CEACAM6 *Mascaca fascicularis*, которая составляет ≤ 400 нМ, предпочтительно ≤ 200 нМ, альтернативно предпочтительно ≤ 100 нМ, определенную как моновалентную аффинность к рекомбинантной CEACAM6 (смотрите Пример 2),

как показано в Таблице 13, Таблице 18 и Таблице 20. В соответствии с настоящим изобретением антитела или их антиген-связывающие фрагменты антитела или их варианты связываются с доменом 1 человеческой CEACAM6 (представлен аминокислотами 35-142 согласно SEQ-ID NO: 179) и доменом 1 CEACAM6 *Mascaca fascicularis* (представлен аминокислотами 35-142 согласно SEQ-ID NO: 177) (аффинности находятся в пределах одного порядка величины моновалентной K_D). Домен 1 CEACAM6 также известен как N домен.

В варианте выполнения настоящего изобретения обеспечиваются антитела или их антиген-связывающие фрагменты антитела или их варианты, которые специфически связываются с доменом 1 человеческой CEACAM6 (представлен аминокислотами 35-142 согласно SEQ-ID NO: 179) и специфически связывается с доменом 1 CEACAM6 *Mascaca fascicularis* (представлен аминокислотами 35-142 согласно SEQ-ID NO: 177) с аффинностями (моновалентная K_D), которые находятся в пределах одного порядка величины. Весьма предпочтительными являются антитела или их антиген-связывающие фрагменты антитела или их варианты, которые имеют аффинность к обоим, домену 1 человеческой CEACAM6 и домену 1 CEACAM6 *Mascaca fascicularis*, равную $K_D \leq 100$ нМ.

Антитела согласно настоящему изобретению или их антиген-связывающие фрагменты антитела или их варианты специфически связываются с белками, содержащими домен 1 человеческой CEACAM6 (представлен аминокислотами 35-142 согласно SEQ-ID NO: 179) и/или домен 1 CEACAM6 *Mascaca fascicularis* (представлен аминокислотами 35-142 согласно SEQ-ID NO: 177).

Антитела согласно настоящему изобретению или их антиген-связывающие фрагменты антитела или их варианты специфически связываются с белками, содержащими домен 1 человеческой CEACAM6 (представлен аминокислотами 35-142 согласно SEQ-ID NO: 179) и/или домен 1 CEACAM6 *Mascaca fascicularis* (представлен аминокислотами 35-142 согласно SEQ-ID NO: 177), и не реагируют перекрестно в значительной степени с близкородственной человеческой CEACAM1, человеческой CEACAM3, и человеческой CEACAM5.

Антитела согласно настоящему изобретению или их антиген-связывающие фрагменты антитела или их варианты специфически связываются с белками, содержащими домен 1 человеческой CEACAM6 (представлен аминокислотами 35-142 согласно SEQ-ID NO: 179) и/или домен 1 CEACAM6 *Mascaca fascicularis* (представлен аминокислотами 35-142 согласно SEQ-ID NO: 177), и не реагируют перекрестно в значительной степени с белками, содержащими только близкородственные зрелые внеклеточные домены человеческой CEACAM1, и/или человеческой CEACAM3, и/или человеческой CEACAM5.

В варианте выполнения настоящего изобретения обеспечиваются антитела или их

антиген-связывающие фрагменты или их варианты, которые специфически связываются со зрелым внеклеточным доменом CEACAM6 и зрелым внеклеточным доменом CEACAM6 *Macaca fascicularis*, и конкурентоспособны для связывания с антителом 9A6 (Genovac/Aldevron) на человеческой CEACAM6 и не реагируют перекрестно в

5 значительной степени с близкородственными зрелыми внеклеточными доменами человеческой CEACAM1, человеческой CEACAM3, и человеческой CEACAM5.

В варианте выполнения настоящего изобретения обеспечиваются антитела или их антиген-связывающие фрагменты или их варианты, которые специфически связываются с доменом 1 человеческой CEACAM6 (представлен аминокислотами 35-142 согласно

10 SEQ-ID NO: 179) и доменом 1 CEACAM6 *Macaca fascicularis* (представлен аминокислотами 35-142 согласно SEQ-ID NO: 177), и конкурентоспособны для связывания с антителом 9A6 (Genovac/Aldevron) на человеческой CEACAM6.

В варианте выполнения настоящего изобретения обеспечиваются антитела или их антиген-связывающие фрагменты антитела или их варианты, которые специфически

15 связываются с человеческой CEACAM6 и CEACAM6 *Macaca fascicularis*, и которые препятствуют взаимодействию CEACAM6 CEACAM1. Антитело препятствует взаимодействию CEACAM6 и CEACAM1, когда сигнал связывания предварительно образованного комплекса антитело-CEACAM6 уменьшен на более 20%, предпочтительно на более 50% по сравнению со сигналом связывания белка CEACAM6

20 самого по себе, в типичном анализе связывания с CEACAM1, который приведен в примерах. Вмешательство во взаимодействие CEACAM6 и CEACAM1 может быть механизмом модуляции врожденных и адаптивных иммунных ответов.

В варианте выполнения настоящего изобретения обеспечиваются антитела или их антиген-связывающие фрагменты антитела или их варианты, которые специфически

25 связываются с человеческой CEACAM6 и CEACAM6 *Macaca fascicularis*, и которые имеют иммуномодулирующую активность. «Иммуномодуляция» представляет собой регулировку иммунного ответа на желаемый уровень, как при иммуноусилении, иммуносупрессии или индукции иммунологической толерантности. Лекарственное средство «иммуномодулирующее антитело» представляет собой агент, модифицирующий

30 иммунный ответ, который стимулирует или подавляет иммунный ответ для лечения заболевания, например, рака, или противовоспалительное средство. Настоящее изобретение обеспечивает анти-CEACAM6 иммуномодулирующее антитело, как показано в Примере 11, которое блокирует CEACAM6, которая является подавляющим

35 иммунные клетки лигандом на раковых клетках и возможно других клетках, включая компоненты иммунных систем, что приводит к изменению профиля экспрессии иммунного маркера и статуса активации Т клеток в направлении повторной активации противоопухолевых Т клеток и эффективного противоопухолевого иммунного ответа. Антитело, связывающееся с доменом 1 CEACAM6, является предпочтительным.

В варианте выполнения настоящего изобретения обеспечиваются антитела или их антиген-связывающие фрагменты антитела или их варианты, которые специфически

40 связываются с человеческой CEACAM6 и CEACAM6 *Macaca fascicularis*, и которые способны ослаблять CEACAM6-опосредованное иммуноподавление специфичных к опухолевому антигену Т клеток, как измерено посредством секреции IFN-гамма специфичными к опухолевому антигену Т клетками или числа IFN-гамма, секретируемого

45 Т клетками. Анти-CEACAM6 антитело способно ослаблять CEACAM6-опосредованное иммуноподавление специфичных к опухолевому антигену Т клеток, если антитело в сокультуре опухоль-специфичных Т клеток с опухолевыми клетками дает в >1.2, предпочтительно в >1,5 раз увеличение секреции IFN-гамма по сравнению с

контрольными образцами. Предпочтительно специфичные для опухолевого антигена Т клетки представляют собой CD8⁺ Т клетки. Предпочтительным является антитело, которое не реагирует перекрестно в значительной степени с близкородственными SEACAM1, SEACAM3, и SEACAM5, и которое связывается с доменом 1 SEACAM6. Это в качестве примера показано блокадой SEACAM6 антителами согласно настоящему изобретению в сокультуре специфичных для пептида сурвивина CD8⁺ Т клеток с KS опухолевыми клетками, что дает увеличение в >1,5 раз секреции IFN-гамма по сравнению с контрольными образцами, которые были обработаны изотипически сходным контролем (Фиг. 5 и Фиг. 6).

В варианте выполнения настоящего изобретения обеспечиваются антитела или их антиген-связывающие фрагменты антитела или их варианты, которые специфически связываются с человеческой SEACAM6 и SEACAM6 *Macaca fascicularis*, и которые способны изменять цитокиновый профиль специфичных к опухолевому антигену Т клеток в направлении более цитотоксичного и/или активированного фенотипа, характеризующегося увеличенной секрецией IFN-гамма и/или IL-2 и/или TNF-альфа.

Предпочтительно специфичными для опухолевого антигена Т клетками являются CD8⁺ Т клетки, и фенотип характеризуется увеличенной секрецией IFN-гамма и IL-2 и TNF-альфа. Анти-SEACAM6 антитело способно изменять цитокиновый профиль специфичных к опухолевому антигену Т клеток в направлении более цитотоксического и/или активированного фенотипа, если антитело в сокультуре опухоль-специфичных CD8⁺ Т клеток с опухолевыми клетками дает увеличение в >1.2, предпочтительно в >1,5 раз секреции IFN-гамма и/или IL-2 и/или TNF-альфа по сравнению с контрольными образцами, которые были обработаны изотипически сходным контролем. Блокада SEACAM6 антителами согласно настоящему изобретению в сокультуре специфичных для пептида сурвивина Т клеток с KS опухолевыми клетками дает увеличение в >1,5 раза секреции IFN-гамма, IL-2 и TNF-альфа по сравнению с контрольными образцами, которые были обработаны изотипически сходным контролем (Фиг. 6).

В варианте выполнения настоящего изобретения обеспечиваются антитела или их антиген-связывающие фрагменты антитела или их варианты, которые связываются с широким диапазоном различных клеточных линий, экспрессирующих SEACAM6, включая, но без ограничения к этому, показанные в примерах. Эти примеры включают клеточные линии человека из опухолей различного происхождения (например, NSCLC, SCLC, CRC, PancCA, BreastCA, GastricCA, множественная миелома, рак шейки матки, рак кожи, которые представляют собой рак, ранее описанный в литературе как SEACAM6-положительный (смотрите введение или обзор Beauchimen and Arabzadeh, Cancer Metastasis Rev. 2013 Dec;32(3-4):643-71).

В варианте выполнения настоящего изобретения обеспечиваются антитела, или их антиген-связывающие фрагменты антитела или их варианты, которые безопасны для введения человеку. Предпочтительно антитела являются химерными, гуманизированными или человеческими. Высоко предпочтительными являются гуманизированные или человеческие антитела.

Тем не менее, в некоторых анализах предпочтительной является экспрессия антитела согласно настоящему, как мышинового IgG; иммуногистохимия с образцами человека, например, может быть легче проанализирована с использованием мышинных антител или химерных антител человека-мыши.

В другом варианте выполнения настоящего изобретения обеспечиваются антитела, которые составляют инструмент для диагностики злокачественных или диспластических

состояний, при которых экспрессия СЕАСАМ6 повышена по сравнению с нормальной тканью, или где СЕАСАМ6 является слущивающимся из клеточной поверхности и становится обнаруживаемым в сыворотке. Обеспечиваются анти-СЕАСАМ6 антитела, конъюгированные с детектируемым маркером. Предпочтительными маркерами являются радиометка, фермент, хромофор или флуорофор.

Во всем этом документе делается ссылка на следующие предпочтительные анти-СЕАСАМ6 антитела согласно настоящему изобретению, как показано в таблице 1.

10

15

20

25

30

35

40

45

Таблица 1: Белковые последовательности предпочтительных антител согласно настоящему изобретению

		SEQ ID NO: VH белок	SEQ ID NO: HCDR1	SEQ ID NO: HCDR2	SEQ ID NO: HCDR3	SEQ ID NO: VL белок	SEQ ID NO: LCDR1	SEQ ID NO: LCDR2	SEQ ID NO: LCDR3	SEQ ID NO: IgG Тяжелая цепь	SEQ ID NO: IgG Легкая цепь
	TPP-2971	mIgG1	3	4	5	6	7	8	9	10	
	TPP-3308	hIgG2 - chim	33	34	35	36	37	38	39	40	43 44
	TPP-3310	hIgG2	47	48	49	50	51	52	53	54	57 58
	TPP-3714	hIgG2	119	120	121	122	123	124	125	126	129 130
	TPP-3187	mIgG1	23	24	25	26	27	28	29	30	
	TPP-3323	hIgG2 - chim	75	76	77	78	79	80	81	82	85 86
	TPP-3820	hIgG2	133	134	135	136	137	138	139	140	143 144
	TPP-3821	hIgG2	147	148	149	150	151	152	153	154	157 158
	TPP-3186	mIgG1	13	14	15	16	17	18	19	20	
	TPP-3322	hIgG2 - chim	61	62	63	64	65	66	67	68	71 72
	TPP-3707	hIgG2	105	106	107	108	109	110	111	112	115 116
	TPP-3705	hIgG2	91	92	93	94	95	96	97	98	101 102

Последовательности предпочтительных антител согласно настоящему изобретению или их антигенсвязывающих фрагментов, приведенные в Таблице 1, дополнительно

приводятся и поясняются на Фиг. 8.

TPP-3308 представляет собой антитело, содержащее область тяжелой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 43, и область легкой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 44.

5 TPP-3310 представляет собой антитело, содержащее область тяжелой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 57, и область легкой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 58.

TPP-3714 представляет собой антитело, содержащее область тяжелой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 129, и область легкой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 130.

TPP-3323 представляет собой антитело, содержащее область тяжелой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 85, и область легкой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 86.

15 TPP-3820 представляет собой антитело, содержащее область тяжелой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 143, и область легкой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 144.

TPP-3821 представляет собой антитело, содержащее область тяжелой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 157, и область легкой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 158.

20 TPP-3322 представляет собой антитело, содержащее область тяжелой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 71, и область легкой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 72.

TPP-3707 представляет собой антитело, содержащее область тяжелой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 115, и область легкой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 116.

TPP-3705 представляет собой антитело, содержащее область тяжелой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 101, и область легкой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 102.

В другом предпочтительном варианте выполнения настоящего изобретения антитела или антиген-связывающие фрагменты содержат CDR последовательности тяжелой и легкой цепи, которые на по меньшей мере 50%, 55%, 60%, 70%, 80%, 90, или 95% идентичны по меньшей мере одной, предпочтительно соответствующей, CDR последовательности антитела "TPP-2971", "TPP-3186", "TPP-3187", "TPP-3308", "TPP-3310", "TPP-3322", "TPP-3323", "TPP-3705", "TPP-3707", "TPP-3714", "TPP-3820", "TPP-3821" или на по меньшей мере 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 92% или 95% идентичны VH или VL последовательности "TPP-2971", "TPP-3186", "TPP-3187", "TPP-3308", "TPP-3310", "TPP-3322", "TPP-3323", "TPP-3705", "TPP-3707", "TPP-3714", "TPP-3820", "TPP-3821", соответственно.

В другом предпочтительном варианте выполнения настоящего изобретения антитело согласно настоящему изобретению или его антиген-связывающий фрагмент содержит по меньшей мере одну CDR последовательность или по меньшей мере одну последовательность вариабельной тяжелой цепи или последовательность вариабельной легкой цепи, как показано в Таблице 1.

В предпочтительном варианте выполнения настоящего изобретения антитело согласно настоящему изобретению или его антиген-связывающий фрагмент содержит антиген-связывающую область тяжелой цепи, которая содержит SEQ ID NO: 4 (H-CDR1), SEQ ID NO: 5 (H-CDR2) и SEQ ID NO: 6 (H-CDR3), и содержит антиген-связывающую область легкой цепи, которая содержит SEQ ID NO: 8 (L-CDR1), SEQ ID NO: 9 (L-CDR2)

ID NO: 67 (L-CDR2) и SEQ ID NO: 68 (L-CDR3).

В предпочтительном варианте выполнения настоящего изобретения антитело согласно настоящему изобретению или его антиген-связывающий фрагмент содержит антиген-связывающую область тяжелой цепи, которая содержит SEQ ID NO: 14 (H-CDR1), SEQ ID NO: 15 (H-CDR2) и SEQ ID NO: 16 (H-CDR3), и содержит антиген-связывающую область легкой цепи, которая содержит SEQ ID NO: 18 (L-CDR1), SEQ ID NO: 19 (L-CDR2) и SEQ ID NO: 20 (L-CDR3).

В предпочтительном варианте выполнения настоящего изобретения антитело согласно настоящему изобретению или его антиген-связывающий фрагмент содержит антиген-связывающую область тяжелой цепи, которая содержит SEQ ID NO: 106 (H-CDR1), SEQ ID NO: 107 (H-CDR2) и SEQ ID NO: 108 (H-CDR3), и содержит антиген-связывающую область легкой цепи, которая содержит SEQ ID NO: 110 (L-CDR1), SEQ ID NO: 111 (L-CDR2) и SEQ ID NO: 112 (L-CDR3).

В предпочтительном варианте выполнения настоящего изобретения антитело согласно настоящему изобретению или его антиген-связывающий фрагмент содержит антиген-связывающую область тяжелой цепи, которая содержит SEQ ID NO: 92 (H-CDR1), SEQ ID NO: 93 (H-CDR2) и SEQ ID NO: 94 (H-CDR3), и содержит антиген-связывающую область легкой цепи, которая содержит SEQ ID NO: 96 (L-CDR1), SEQ ID NO: 97 (L-CDR2) и SEQ ID NO: 98 (L-CDR3).

Антитела различаются по последовательности не только в пределах их областей, определяющих комплементарность (CDR), но также в пределах каркасного участка (FR). Эти различия последовательностей кодируются в разных V-генах. гамети́ческий набор антител человека был полностью секвенирован. Существует около 50 функциональных генов зародышевой линии VH, которые могут быть сгруппированы в шесть подсемейств в соответствии с гомологией последовательностей VH1, VH2, VH3, VH4, VH5 и VH6 (Tomlinson et al., 1992, J. Mol. Biol., 227, 776-798; Matsuda & Honjo, 1996, Advan. Immunol., 62, 1-29). Около 40 функциональных VL kappa genes, содержащих семь подсемейств, известны (Cox et al., 1994, Eur. J. Immunol. 24, 827-836; Barbie & Lefranc, 1998, Exp. Clin. Immunogenet. 15, 171-183): Vkappa1, Vkappa2, Vkappa3, Vkappa4, Vkappa5, Vkappa6 и Vkappa7. В настоящей заявке раскрываются тяжелые цепи антител согласно настоящему изобретению, которые относятся к подсемейству VH2 человека, и легкие цепи антител согласно настоящему изобретению, которые принадлежат к подсемейству Vkappa1 человека, соответственно. Известно, что каркасные последовательности антител, принадлежащих к одному и тому же подсемейству, тесно связаны между собой, например, антитела, содержащие член подсемейства VH3 человека, все обладают сравнимой стабильностью (Honegger et al., 2009, Protein Eng Des Sel. 22(3): 121-134). В данной области хорошо известно, что CDR из антител могут быть трансплантированы на разных каркасах, сохраняя при этом особые признаки соответствующего исходного антитела. CDR были успешно трансплантированы на каркасах, принадлежащих к другому виду, а также к на каркасах того же вида, принадлежащего к другому подсемейству. В еще одном варианте выполнения настоящего изобретения антитело или его антиген-связывающий фрагмент согласно настоящему изобретению содержит по меньшей мере одну CDR-последовательность антитела согласно настоящему изобретению, как показано в таблице 1, и последовательность каркаса вариабельной цепи человека.

В предпочтительном варианте выполнения настоящего изобретения антитело или его антиген-связывающий фрагмент согласно настоящему изобретению содержит вариабельную легкую цепь или антиген-связывающую область вариабельной цепи,

и последовательности вариабельной легкой цепи, как представлено SEQ ID NO: 65 (VL).

В весьма предпочтительном варианте выполнения настоящего изобретения антитело согласно настоящему изобретению или его антиген-связывающий фрагмент содержит последовательность вариабельной тяжелой цепи, как представлено SEQ ID NO: 105 (VH), и последовательности вариабельной легкой цепи, как представлено SEQ ID NO: 109 (VL).

В весьма предпочтительном варианте выполнения настоящего изобретения антитело согласно настоящему изобретению или его антиген-связывающий фрагмент содержит последовательность вариабельной тяжелой цепи, как представлено SEQ ID NO: 91 (VH), и последовательности вариабельной легкой цепи, как представлено SEQ ID NO: 95 (VL).

В некоторых вариантах выполнения настоящего изобретения, анти-CEACAM6 антитело согласно настоящему изобретению или его антиген-связывающий фрагмент антитела, или его вариант связывается с эпитопом человеческой CEACAM6, где указанный эпитоп содержит один или более аминокислотных остатков, выбранных из группы, состоящей из Gln60, Asn61, Arg62, Ile63, Val83, Ile84, Gly85, Thr90, Ser127, Asp128 и Leu129 последовательности SEQ ID NO: 179.

В некоторых вариантах выполнения настоящего изобретения, анти-CEACAM6 антитело согласно настоящему изобретению или его антиген-связывающий фрагмент антитела, или его вариант связывается с эпитопом человеческой CEACAM6, где указанный эпитоп содержит аминокислотные остатки Gln60, Asn61, Arg62, Ile63, Val83, Ile84, Gly85, Thr90, Ser127, Asp128 и Leu129 последовательности SEQ ID NO: 179.

В некоторых вариантах выполнения настоящего изобретения, анти-CEACAM6 антитело согласно настоящему изобретению или его антиген-связывающий фрагмент антитела, или его вариант взаимодействует с, например, связывается с, эпитопом человеческой CEACAM6, где указанный эпитоп содержит один, два, три, четыре, пять, восемь, десять, пятнадцать или более аминокислотных остатков, выбранных из группы, состоящей из Pro59, Gln60, Asn61, Arg62, Ile63, Gly64, Val83, Ile84, Gly85, Thr86, Gln88, Thr90, Pro91, Ile125, Ser127, Asp128 и Leu129 последовательности SEQ ID NO: 179.

В некоторых вариантах выполнения настоящего изобретения, анти-CEACAM6 антитело согласно настоящему изобретению или его антиген-связывающий фрагмент антитела, или его вариант взаимодействует с, например, связывается с, эпитопом человеческой CEACAM6, где указанный эпитоп содержит аминокислотные остатки Pro59, Gln60, Asn61, Arg62, Ile63, Gly64, Val83, Ile84, Gly85, Thr86, Gln88, Thr90, Pro91, Ile125, Ser127, Asp128 и Leu129 последовательности SEQ ID NO: 179.

В некоторых вариантах выполнения настоящего изобретения, анти-CEACAM6 антитело согласно настоящему изобретению или его антиген-связывающий фрагмент антитела, или его вариант связывается с эпитопом человеческой CEACAM6, где указанный эпитоп содержит один или более аминокислотных остатков, выбранных из группы, состоящей из Gln60, Asn61, Arg62, Ile63, Val83, Ile84, Gly85, Thr90, Ser127, Asp128 и Leu129 последовательности SEQ ID NO: 179, и где указанный антиген или его антиген-связывающий фрагмент антитела или его вариант связывается с белком человеческой CEACAM6, содержащим Ile63Leu и мутацию, и не связывается с белком человеческой CEACAM6, содержащим Ile63Phe мутацию (нумерация согласно SEQ-ID: 179).

В некоторых вариантах выполнения настоящего изобретения, анти-CEACAM6 антитело согласно настоящему изобретению или его антиген-связывающий фрагмент антитела, или его вариант связывается с эпитопом человеческой CEACAM6, где указанный эпитоп содержит аминокислотные остатки Gln60, Asn61, Arg62, Ile63, Val83, Ile84, Gly85, Thr90, Ser127, Asp128 и Leu129 последовательности SEQ ID NO: 179, и где

указанный антиген или его антиген-связывающий фрагмент антитела или его вариант связывается с белком человеческой CEACAM6, содержащим Ile63Leu мутацию, и не связывается с белком человеческой CEACAM6, содержащим Ile63Phe мутацию (нумерация согласно SEQ-ID: 179).

5 В некоторых вариантах выполнения настоящего изобретения, анти-CEACAM6 антитело согласно настоящему изобретению или его антиген-связывающий фрагмент антитела, или его вариант взаимодействует с, например, связывается с, эпитопом человеческой CEACAM6, где указанный эпитоп содержит один, два, три, четыре, пять, восемь, десять, пятнадцать или более аминокислотных остатков, выбранных из группы,
10 состоящей из Pro59, Gln60, Asn61, Arg62, Ile63, Gly64, Val83, Ile84, Gly85, Thr86, Gln88, Thr90, Pro91, Ile125, Ser127, Asp128 и Leu 129 последовательности SEQ ID NO: 179, и где указанный антиген или его антиген-связывающий фрагмент антитела или его вариант связывается с белком человеческой CEACAM6, содержащим Ile63Leu мутацию, и не связывается с белком человеческой CEACAM6, содержащим Ile63Phe мутацию
15 (нумерация согласно SEQ-ID: 179).

В некоторых вариантах выполнения настоящего изобретения, анти-CEACAM6 антитело согласно настоящему изобретению или его антиген-связывающий фрагмент антитела, или его вариант взаимодействует с, например, связывается с, эпитопом человеческой CEACAM6, где указанный эпитоп содержит аминокислотные остатки
20 Pro59, Gln60, Asn61, Arg62, Ile63, Gly64, Val83, Ile84, Gly85, Thr86, Gln88, Thr90, Pro91, Ile125, Ser127, Asp128 и Leu129 последовательности SEQ ID NO: 179, и где указанный антиген или его антиген-связывающий фрагмент антитела или его вариант связывается с белком человеческой CEACAM6, содержащим Ile63Leu мутацию, и не связывается с белком человеческой CEACAM6, содержащим Ile63Phe мутацию (нумерация согласно
25 SEQ-ID: 179).

В некоторых вариантах выполнения настоящего изобретения, анти-CEACAM6 антитело согласно настоящему изобретению или его антиген-связывающий фрагмент антитела, или его вариант связывается с эпитопом человеческой CEACAM6, где указанный эпитоп содержит один или более аминокислотных остатков, выбранных из
30 группы, состоящей из Gln60, Asn61, Arg62, Ile63, Val83, Ile84, Gly85, Thr90, Ser127, Asp128 и Leu129 последовательности SEQ ID NO: 179, и где указанный антиген или его антиген-связывающий фрагмент антитела или его вариант конкурирует за связывание с CECEAM6 с антителом, содержащим последовательность вариабельной тяжелой цепи, как представлено SEQ ID NO: 47 (VH), и последовательности вариабельной легкой цепи, как представлено SEQ ID NO: 51 (VL).
35

В некоторых вариантах выполнения настоящего изобретения, анти-CEACAM6 антитело согласно настоящему изобретению связывается с эпитопом человеческой CEACAM6, где указанный эпитоп содержит аминокислотные остатки Gln60, Asn61, Arg62, Ile63, Val83, Ile84, Gly85, Thr90, Ser127, Asp128 и Leu129 последовательности SEQ
40 ID NO: 179, и где указанный антиген или его антиген-связывающий фрагмент антитела или его вариант конкурирует за связывание с CECEAM6 с антителом, содержащим последовательность вариабельной тяжелой цепи, как представлено SEQ ID NO: 47 (VH), и последовательности вариабельной легкой цепи, как представлено SEQ ID NO: 51 (VL).

В некоторых вариантах выполнения настоящего изобретения, анти-CEACAM6 антитело согласно настоящему изобретению взаимодействует с, например, связывается с, эпитопом человеческой CEACAM6, где указанный эпитоп содержит один, два, три, четыре, пять, восемь, десять, пятнадцать или более аминокислотных остатков, выбранных из группы, состоящей из Pro59, Gln60, Asn61, Arg62, Ile63, Gly64, Val83, Ile84,
45

Gly85, Thr86, Gln88, Thr90, Pro91, Ile125, Ser127, Asp128 и Leu129 последовательности SEQ ID NO: 179, и где указанный антиген или его антиген-связывающий фрагмент антитела или его вариант конкурирует за связывание с CECEAM6 с антителом, содержащим последовательность вариабельной тяжелой цепи, как представлено SEQ ID NO: 47 (VH), и последовательности вариабельной легкой цепи, как представлено SEQ ID NO: 51 (VL).

В некоторых вариантах выполнения настоящего изобретения, анти-CEACAM6 антитело согласно настоящему изобретению взаимодействует с, например, связывается с, эпитопом человеческой CEACAM6, где указанный эпитоп содержит аминокислотные остатки Pro59, Gln60, Asn61, Arg62, Ile63, Gly64, Val83, Ile84, Gly85, Thr86, Gln88, Thr90, Pro91, Ile125, Ser127, Asp128 и Leu129 последовательности SEQ ID NO: 179, и где указанный антиген или его антиген-связывающий фрагмент антитела или его вариант конкурирует за связывание с CECEAM6 с антителом, содержащим последовательность вариабельной тяжелой цепи, как представлено SEQ ID NO: 47 (VH), и последовательности вариабельной легкой цепи, как представлено SEQ ID NO: 51 (VL).

В некоторых вариантах выполнения настоящего изобретения, анти-CEACAM6 антитело согласно настоящему изобретению или его антиген-связывающий фрагмент антитела, или его вариант связывается с эпитопом человеческой CEACAM6, где указанный эпитоп содержит один или более аминокислотных остатков, выбранных из группы, состоящей из Gln60, Asn61, Arg62, Ile63, Val83, Ile84, Gly85, Thr90, Ser127, Asp128 и Leu129 последовательности SEQ ID NO: 179, и где указанный антиген или его антиген-связывающий фрагмент антитела или его вариант конкурирует за связывание с CECEAM6 с антителом, содержащим последовательность вариабельной тяжелой цепи, как представлено SEQ ID NO: 47 (VH), и последовательности вариабельной легкой цепи, как представлено SEQ ID NO: 51 (VL), и где указанный антиген или его антиген-связывающий фрагмент антитела или его вариант связывается с белком человеческой CEACAM6, содержащим Ile63Leu мутацию, и не связывается с белком человеческой CEACAM6, содержащим Ile63Phe мутацию (нумерация согласно SEQ-ID: 179).

В некоторых вариантах выполнения настоящего изобретения, анти-CEACAM6 антитело согласно настоящему изобретению связывается с эпитопом человеческой CEACAM6, где указанный эпитоп содержит аминокислотные остатки Gln60, Asn61, Arg62, Ile63, Val83, Ile84, Gly85, Thr90, Ser127, Asp128 и Leu129 последовательности SEQ ID NO: 179, и где указанный антиген или его антиген-связывающий фрагмент антитела или его вариант конкурирует за связывание с CECEAM6 с антителом, содержащим последовательность вариабельной тяжелой цепи, как представлено SEQ ID NO: 47 (VH), и последовательности вариабельной легкой цепи, как представлено SEQ ID NO: 51 (VL) и где указанный антиген или его антиген-связывающий фрагмент антитела или его вариант связывается с белком человеческой CEACAM6, содержащим Ile63Leu мутацию, и не связывается с белком человеческой CEACAM6, содержащим Ile63Phe мутацию (нумерация согласно SEQ-ID: 179).

В некоторых вариантах выполнения настоящего изобретения, анти-CEACAM6 антитело согласно настоящему изобретению взаимодействует с, например, связывается с, эпитопом человеческой CEACAM6, где указанный эпитоп содержит один, два, три, четыре, пять, восемь, десять, пятнадцать или более аминокислотных остатков, выбранных из группы, состоящей из Pro59, Gln60, Asn61, Arg62, Ile63, Gly64, Val83, Ile84, Gly85, Thr86, Gln88, Thr90, Pro91, Ile125, Ser127, Asp128 и Leu129 последовательности SEQ ID NO: 179, и где указанный антиген или его антиген-связывающий фрагмент антитела или его вариант конкурирует за связывание с CECEAM6 с антителом,

содержащим последовательность вариабельной тяжелой цепи, как представлено SEQ ID NO: 47 (VH), и последовательности вариабельной легкой цепи, как представлено SEQ ID NO: 51 (VL) и где указанный антиген или его антиген-связывающий фрагмент антитела или его вариант связывается с белком человеческой CEACAM6, содержащим Ile63Leu мутацию, и не связывается с белком человеческой CEACAM6, содержащим Ile63Phe мутацию (нумерация согласно SEQ-ID: 179).

В некоторых вариантах выполнения настоящего изобретения, анти-CEACAM6 антитело согласно настоящему изобретению взаимодействует с, например, связывается с, эпитопом человеческой CEACAM6, где указанный эпитоп содержит аминокислотные остатки Pro59, Gln60, Asn61, Arg62, Ile63, Gly64, Val83, Ile84, Gly85, Thr86, Gln88, Thr90, Pro91, Ile125, Ser127, Asp128 и Leu129 последовательности SEQ ID NO: 179, и где указанный антиген или его антиген-связывающий фрагмент антитела или его вариант конкурирует за связывание с CEACAM6 с антителом, содержащим последовательность вариабельной тяжелой цепи, как представлено SEQ ID NO: 47 (VH), и последовательности вариабельной легкой цепи, как представлено SEQ ID NO: 51 (VL) и где указанный антиген или его антиген-связывающий фрагмент антитела или его вариант связывается с белком человеческой CEACAM6, содержащим Ile63Leu мутацию, и не связывается с белком человеческой CEACAM6, содержащим Ile63Phe мутацию (нумерация согласно SEQ-ID: 179).

Антителом согласно настоящему изобретению может быть IgG (иммуноглобулин G например, IgG1 IgG2, IgG3, IgG4) или IgA, IgD, IgE, IgM, тогда как фрагментом антитела может быть Fab, Fab', F(ab')₂, Fab'-SH или scFv, например. Фрагментом антитела согласно настоящему изобретению, соответственно, может быть, или он может содержать, антиген-связывающая область, которая работает одним или более путями, как описано в настоящей заявке.

В предпочтительном варианте выполнения настоящего изобретения антитела или антиген-связывающие фрагменты антител согласно настоящему изобретению являются моноклональными.

В некоторых вариантах выполнения настоящего изобретения антитела согласно настоящему изобретению или их антигенсвязывающие фрагменты, или нуклеиновые кислоты, кодирующие их, выделяют. Выделенный биологический компонент (такие как молекула нуклеиновой кислоты или белок, такое как антитело) является компонентом, который был по существу отделен или очищен от других биологических компонентов в клетке организма, в котором компонент естественно существует, например, другая хромосомная и внехромосомная ДНК и РНК, белки и органеллы. Термин также охватывает нуклеиновые кислоты и белки, полученные посредством рекомбинантной экспрессии в клетке-хозяине, а также нуклеиновые кислоты, синтезированные химическим путем.

Получение антитела

Антитело согласно настоящему исследованию можно получить из библиотеки рекомбинантных антител, которая основана на аминокислотных последовательностях, которые были выделены из антител большого числа здоровых добровольцев, например, с использованием технологии n-CoDeR®, полные CDR человека рекомбинируются в новые молекулы антител (Carlson & Söderlind, Expert Rev Mol Diagn. 2001 May; 1(1): 102-8). Или альтернативно, например, библиотеки антител, как библиотека фаговых отображений полностью человеческого антитела, описанная в Hoet RM et al., Nat Biotechnol 2005; 23(3):344-8), могут быть использованы для выделения CEACAM6-

специфичных антител. Антитела или фрагменты антител, выделенные из библиотек антител человека, считаются человеческими антителами или фрагментами человеческого антитела.

Человеческие антитела могут быть дополнительно получены путем введения иммуногена трансгенному животному, которое было модифицировано для получения интактных человеческих антител или интактных антител с переменными областями человека в ответ на провокацию антигеном. Такие животные обычно содержат все или часть локусов иммуноглобулина человека, которые заменяют эндогенные локусы иммуноглобулина или которые присутствуют внехромосомно или интегрированы случайным образом в хромосомы животного. Например, может быть проведена иммунизация мышей, созданных методами генетической инженерии, среди прочего, иммунизация мышей hMAb (например, VelocImmune mouse® или XENOMOUSE®).

Другие антитела могут быть получены с применением гибридной технологии (например смотрите **Köhler** and Milstein Nature. 1975 Aug 7; 256(5517):495-7), с получением, например, мышиного, крысиного, или кроличьего антител, которые могут быть превращены в химерные или гуманизированные антитела. Гуманизированные антитела и способы их получения приводятся, например, в Almagro and Fransson, Front. Biosci. 13: 1619-1633 (2008), и дополнительно описаны, например, в Riechmann et al., Nature 332: 323-329 (1988); Queen et al., Proc. Natl Acad. Sci. USA 86:10029-10033 (1989); патентах США №5,821,337, 7,527,791, 6,982,321, и 7,087,409; Kashmiri et al., Methods 36:25-34 (2005) (описывается трансплантация определяющей специфичности области (SDR); Padlan, Mol. Immunol. 28:489-498 (1991) (описывается "перекладка"); Dall'Acqua et al., Methods 36:43-60 (2005) (описывается "FR шаффлинг"); и Osbourn et al., Methods 36:61-68 (2005) и Klimka et al., Br. J. Cancer, 83:252-260 (2000) (описывается подход «направленная селекция» для FR шаффлинга).

Приведены примеры получения антител с использованием библиотеки рекомбинантных антител и иммунизации мышей в сочетании с последующей гуманизацией.

Объектом настоящего изобретения является способ получения антител, специфически связывающихся с человеческой CEACAM6 и CEACAM6 *Macaca fascicularis*, которое не реагирует перекрестно в значительной степени с человеческой CEACAM1, человеческой CEACAM3, и человеческой CEACAM5. В варианте выполнения настоящего изобретения обеспечивается способ получения анти-CEACAM6 антитела, отличающийся тем, что он включает стадии иммунизации животного, предпочтительно мыши, доменом 1 CEACAM6 яванских макак (представлен аминокислотами 35-142 согласно SEQ-ID NO: 177), определяющим аминокислотную последовательность антител, специфически связывающихся с человеческой CEACAM6 и CEACAM6 яванских макак, с последующей необязательной гуманизацией или генерацией химерного антитела, и экспрессии указанных антител. Экспрессионной системой может быть рекомбинантная или бесклеточная экспрессионная система. Подходящими клетками-хозяевами для рекомбинантной экспрессии являются прокариотические и эукариотические клетки. Предпочтительными являются млекопитающие экспрессионные системы.

Пептидные варианты

Антитела или антиген-связывающие фрагменты согласно настоящему изобретению не ограничиваются конкретными пептидными последовательностями, представленными в настоящей заявке. Напротив, изобретение также охватывает варианты этих полипептидов. Ссылаясь на текущее раскрытие и общедоступные технологии и ссылки, квалифицированный специалист может получить, протестировать и использовать

функциональные варианты антител, раскрытых в настоящей заявке, в то время как эти варианты, имеющие способность связываться с СЕАСАМ6, входят в объем настоящего изобретения.

Вариант может включать, например, антитело, которое имеет по меньшей мере один измененный домен/положение области, определяющей комплементарность (CDR) (гипервариабельной) и/или каркасной последовательности (FR) (вариабельная) по отношению к пептидной последовательности, раскрытой в настоящей заявке.

Изменяя один или более аминокислотных остатков в области CDR или FR, квалифицированный специалист обычно может получить мутированные или разнообразные последовательности антител, которые можно скринировать по отношению к антигену, для новых или улучшенных свойств, например.

Другим предпочтительным вариантом выполнения настоящего изобретения является антитело или его антиген-связывающий фрагмент, в котором VH и VL последовательности выбираются, как показано в Таблице 1. Квалифицированный специалист может использовать данные в таблице 1 для разработки пептидных вариантов, которые входят в объем настоящего изобретения. Предпочтительно, чтобы варианты были сконструированы путем изменения аминокислот в пределах одной или более областей CDR; вариант может также иметь одну или более измененных каркасных областей. Изменения также могут быть сделаны в каркасных областях. Например, домен FR пептида может быть изменен там, где есть отклонение в остатке по сравнению с последовательностью зародышевой линии.

Альтернативно, специалист в данной области техники мог сделать такой же анализ, сравнивая аминокислотные последовательности, раскрытые в настоящем изобретении, с известными последовательностями того же класса таких антител с использованием, например, процедуры, описанной в Knappik A., et al, JMB 2000, 296:57-86.

Кроме того, варианты могут быть получены с использованием одного антитела в качестве отправной точки для оптимизации с помощью диверсификации одного или более аминокислотных остатков в антителе, предпочтительно аминокислотных остатков в одном или более CDR, и с помощью скрининга получающейся коллекции вариантов антител для вариантов с улучшенными свойствами. Особенно предпочтительным является диверсификация одного или более аминокислотных остатков в CDR3 VL и/или VH. Диверсификация может быть осуществлена с помощью синтеза коллекции молекул ДНК, с использованием технологии тринуклеотидного мутагенеза (TRIM) Virnekas B. et al., Nucl. Acids Res. 1994, 22:5600.). Антитела или их антигенсвязывающие фрагменты включают молекулы с модификациями/вариациями, включая, но не ограничиваясь этим, например, модификации, приводящие к измененному периоду полураспада (например, модификацией Fc-участка или присоединением дополнительных молекул, таких как ПЭГ), измененной аффинности связывания или измененной активности ADCC или CDC.

Консервативные аминокислотные варианты

Полипептидные варианты могут быть сделаны так, чтобы сохранить общую молекулярную структуру пептидной последовательности антитела, описанной в настоящем изобретении. Учитывая свойства отдельных аминокислот, некоторые рациональные замены специалистом в данной области техники будут признаны полезными. Аминокислотные замены, а именно "консервативные замены", могут быть сделаны, например, на основе подобия полярности, заряда, растворимости, гидрофобности, гидрофильности и/или амфипатической природе вовлекаемых остатков.

Например, (а) неполярные (гидрофобные) аминокислоты включают аланин, лейцин,

изолейцин, валин, пролин, фенилаланин, триптофан и метионин; (b) полярные нейтральные аминокислоты включают глицин, серин, треонин, цистеин, тирозин, аспарагин и глутамин; (c) положительно заряженные (основные) аминокислоты включают аргинин, лизин и гистидин; и (d) отрицательно заряженные (кислые) аминокислоты включают аспарагиновую кислоту и глутаминовую кислоту. Замены, как правило, могут делаться внутри групп (a)-(d). Кроме того, глицин и пролин могут быть заменять друг друга на основе их способности разрушить α -спирали. Похожим образом некоторые аминокислоты, такие как аланин, цистеин, лейцин, метионин, глутаминовая кислота, глутамин, гистидин и лизин более часто находятся в α -спирали, в то время как валин, изолейцин, фенилаланин, тирозин, триптофан и треонин чаще находятся в β -складчатых структурах. Глицин, серин, аспарагиновая кислота, аспарагин и пролин обычно находятся в петлях. Некоторые предпочтительные замены могут быть сделаны среди следующих групп: (i) S и T; (ii) P и G; и (iii) A, V, L и I. С учетом известного генетического кода и рекомбинантных и синтетических методик ДНК специалист в данной области техники с легкостью может сконструировать ДНК, кодирующую консервативные аминокислотные варианты.

Варианты гликозилирования

Когда антитело содержит Fc-область, углевод, присоединенный к ней, может быть изменен. Нативные антитела, продуцируемые клетками млекопитающих, обычно включают разветвленный 2-антеннарный олигосахарид, который обычно присоединяется посредством N-связывания с Asn297, используя ЕС нумерацию по Кэботу доменов CH2 Fc области; смотрите, например, Wright et al. Trends Biotechnol. 15: 26-32 (1997).

В некоторых вариантах выполнения настоящего изобретения, антитело, представленное в настоящей заявке, изменяется для увеличения или уменьшения степени, до которой антитело гликозилировано. Добавление или делеция сайтов гликозилирования к антителу может быть удобно осуществлено путем изменения экспрессионной системы (например, клетки-хозяина) и/или путем изменения аминокислотной последовательности, так что создается или удаляется один или более сайтов гликозилирования

В одном варианте выполнения настоящего изобретения агликозильные антитела, имеющие пониженную эффекторную функцию, или производные антитела, получают экспрессией в прокариотическом хозяине. Подходящие прокариотические хозяева включают, но без ограничения к этому, E. coli, Bacillus subtilis, Salmonella typhimurium и различные виды в пределах рода Pseudomonas, Streptomyces, и Staphylococcus.

В одном варианте выполнения настоящего изобретения обеспечиваются варианты антител с пониженной эффекторной функцией, которые характеризуются модификацией в консервативном N-связанном сайте в доменах CH2 области Fc указанного антитела. В одном варианте выполнения настоящего изобретения модификация включает мутацию в сайте гликозилирования тяжелой цепи для предотвращения гликозилирования в сайте. Таким образом, в одном предпочтительном варианте выполнения настоящего изобретения агликозильные антитела или производные антитела получают мутацией сайта гликозилирования тяжелой цепи, т.е. мутацией N297, с использованием EU нумерации по Кэботу, и экспрессией в соответствующей клетке-хозяине.

В другом варианте выполнения настоящего изобретения агликозильные антитела или производные антител имеют уменьшенную эффекторную функцию, где модификация в консервативном N-связанном сайте в доменах CH2 области Fc указанного антитела или производного антитела включает удаление гликанов CH2 домена, - т.е.,

дегликозилирование. Эти агликозильные антитела могут быть получены обычными способами и затем дегликозилируются ферментативно. Способы ферментативного дегликозилирования антител хорошо известны из уровня техники (например, Winkelhake & Nicolson (1976), J Biol Chem. 251(4): 1074-80).

5 В другом варианте выполнения настоящего изобретения дегликозилирование может быть достигнуто посредством применения ингибитора гликозилирования туникамицина (Nose & Wigzell (1983), Proc Natl Acad Sci USA, 80(21):6632-6). То есть модификацией является предотвращение гликозилирования в консервативном N-связанном сайте в СН2-доменах Fc-области указанного антитела.

10 В одном варианте выполнения настоящего изобретения, обеспечиваются варианты антитела, имеющие углеводную структуру, которая не содержит фукозу, присоединенную (напрямую или косвенно) к Fc области. Например, количество фукозы в таком антителе может составлять от 1% до 80%, от 1% до 65%, от 5% до 65% или от 20% до 40%. Количество фукозы определяют путем вычисления среднего количества фукозы в сахарной цепи при Asn297 по отношению к сумме всех гликоструктур, присоединенных к Asn 297 (например, комплексной, гибридной и высокоманнозной структуры), как измерено масс-спектрометрией MALDI-TOF, как описанные в WO 2008/077546, например. Asn297 относится к аспарагиновому остатку, расположенному около положения 297 в области Fc (Eu-нумерация остатков Fc-области); однако Asn297 также может
15 располагаться около ± 3 аминокислот выше или ниже по ходу транскрипции от положения 297, то есть между положениями 294 и 300 из-за незначительных вариаций последовательности антител. Такие варианты фукозилирования могут иметь улучшенную ADCC функцию.

Примерные публикации, относящиеся к "дефукозилированным" или "фукоза-
25 дефицитным" вариантам антител, включают: Okazaki et al. J Mol. Biol. 336: 1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004).

Примеры клеточных линий, способных продуцировать дефукозилированные антитела включают Lec13 CHO клетки, дефицитные по фукозилированию белка (Ripka et al. Arch. Biochem. Biophys. 249:533-545 (1986); и WO 2004/056312), и нокаутные клеточные линии,
30 такие как ген альфа-1,6-фукозилтрансферазы, FUT8, нокаутные CHO клетки (смотрите, например, Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004); Kanda, Y. et al., Biotechnol. Bioeng., 94(4):680-688 (2006)).

Варианты антител дополнительно снабжены разветвленными пополам олигосахаридами, например, в которых 2-антенарный олигосахарид, присоединенный
35 к Fc-области антитела, делят пополам GlcNAc. Такие варианты антител могут иметь уменьшенное фукозилирование и/или улучшенную ADCC функцию. Примеры таких вариантов антител описаны, например, в WO 2003/011878; патенте США №6,602,684; и US 2005/0123546.

Также обеспечиваются варианты антител с по меньшей мере одним галактозным
40 остатком в олигосахариде, присоединенном к области Fc. Такие варианты антител могут иметь улучшенную CDC функцию. Такие варианты антител описаны, например, в WO 1997/30087; WO 1998/58964; и WO 1999/22764.

Варианты Fc области

В некоторых вариантах выполнения настоящего изобретения, одна или более
45 аминокислотных модификаций (например, замещение) могут быть введены в Fc область антитела (например, Fc область человеческого IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4), обеспеченного согласно настоящему изобретению, с получением, таким образом, варианта Fc области.

В некоторых вариантах выполнения настоящего изобретения изобретение охватывает

вариант антитела, который обладает некоторыми, но не всеми эффекторными функциями, которые делают его желательным кандидатом для применений, в которых период полураспада антитела *in vivo* имеет важное значение, но некоторые эффекторные функции (такие как комплемент и ADCC) не нужны или вредны. Анализы цитотоксичности *in vitro* и/или *in vivo* могут быть проведены для подтверждения снижения/истощения активности CDC и/или ADCC. Например, анализы связывания Fc-рецептора (FcR) могут быть проведены, чтобы гарантировать, что антитело не обладает FcγR-связыванием (следовательно, вероятно, не обладает активностью ADCC), но сохраняет способность FcRn-связывания. В некоторых вариантах выполнения настоящего изобретения в области Fc производятся изменения, которые приводят к изменению (то есть либо улучшенному, либо уменьшенному) C1q связывания и/или комплементзависимой цитотоксичности (CDC).

В некоторых вариантах выполнения настоящего изобретения, настоящее изобретение охватывает вариант антитела, который обладает увеличенным или уменьшенным периодом полураспада. Антитела с увеличенными периодами полураспада и улучшенным связыванием с неонатальным Fc рецептором (FcRn), которые отвечают за передачу материнских IgG плоду (Guyer et al., J Immunol. 117:587 (1976) и Kim et al., J Immunol. 24:249 (1994)), описаны в US 2005/0014934 (Hinton et al.). Эти антитела содержат Fc область с одним или более замещениями в ней, которые улучшают связывание Fc области с FcRn.

Конъюгаты антитело-лекарственное средство (ADC)

Настоящее изобретение также обеспечивает конъюгаты антитело-лекарственное средство (ADC, иммуноконъюгаты), содержащие анти-CEACAM6 антитело, конъюгированное с одним или более цитотоксичными агентами, такими как химиотерапевтические вещества или лекарственные средства, ингибиторы роста, токсины (например, белковые токсины, ферментативно активные токсины бактериального, грибкового, растительного, человеческого или животного происхождения, или их фрагменты), или радиоактивные изотопы.

В одном варианте выполнения настоящего изобретения, иммуноконъюгат представляет собой конъюгат антитело-лекарственное средство (ADC), в котором антитело конъюгировано с одним или более лекарственными средствами, включая, но без ограничения к этому, майтанзиноид (смотрите Патенты США №5,208,020, 5,416,064 и европейский патент EP 0425235); ауристатин, такой как монометилауристатиновые составляющие лекарственного средства DE и DF (MMAE и MMAF) (смотрите Патенты США №5,635,483 и 5,780,588, и 7,498,298); доластатин; калихемицин или его производные; антрациклин, такой как дауномицин или доксорубицин; метотрексат; виндезин; таксан, такой как доцетаксел, паклитаксел, ларотаксел, тезетаксел и ортатаксел; трихотецен; и CC1065.

В другом варианте выполнения настоящего изобретения, иммуноконъюгат содержит антитело, как описано в настоящей заявке, конъюгировано с ферментативно активным токсином или его фрагментом, включая, но без ограничения к этому, дифтерийную цепь А, несвязывающие активные фрагменты дифтерийного токсина, цепь А экзотоксина (из *Pseudomonas aeruginosa*), цепь А рицина, цепь А абрина, цепь А модецина, альфа-сарцин, белки *Aleurites fordii*, белки диантина, белки *Phytolacca americana* (P API, P APII, и PAP-S), ингибитор из *Momordica charantia*, курцин, кротин, ингибитор из *Saponaia officinalis*, гелонин, митогеллин, рестриктоцин, феномицин, эномицин и трихотецены.

В другом варианте выполнения настоящего изобретения, иммуноконъюгат содержит антитело, как описано в настоящей заявке, конъюгированное с радиоактивным атомом

с образованием радиоконъюгата. Множество радиоактивных изотопов доступны для получения радиоконъюгатов. Примеры включают ^{227}Th , ^{225}Ac , ^{211}At , ^{131}I , ^{125}I , ^{90}Y , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{153}Sm , ^{212}Bi , ^{32}P , ^{212}Pb и радиоактивные изотопы Lu. Когда радиоконъюгат применяется для обнаружения, он может содержать радиоактивный атом для сцинтиграфических исследований, например $\text{Tc}99\text{m}$, или спиновую метку для ядерно-магнитного резонанса (ЯМР), включая, такие как иод-123 снова, иод-131, индий-111, фтор-19, углерод-13, азот-15, кислород-17, гадолиний, марганец или железо.

Конъюгаты антитела и цитотоксического агента могут быть получены с использованием множества бифункциональных связывающих белок агентов, таких как N-сукцинимидил-3-(2-пиридилдитио) пропионат (SPDP), сукцинимидил-4-(N-малеимидометил)циклогексан-1-карбоксилат (SMCC), иминотиолан (IT), бифункциональные производные сложных имидозэфиров (такие как диметиладипимидат HCl), активные сложные эфиры (такие как дисукцинимидилсуберат), альдегиды (такие как глутаральдегид), бис-азидосоединения (такие как бис(п-азидобензоил)гександиамин), производные бис-диазония (такие как бис-(п-диазонийбензоил)-этилендиамин), диизоцианаты (такие как толуол 2,6-диизоцианат) и бис-активные соединения фтора (такие как 1,5-дифтор-2,4-динитробензол).

Линкер может быть «расщепляемым линкером», облегчающим высвобождение цитотоксического лекарственного средства в клетке. Например, кислотнолабильный линкер, чувствительный к пептидазе линкер, фотолабильный линкер, диметил-линкер или дисульфидсодержащий линкер (Chari et al., Cancer Res. 52: 12 7-131 (1992)).

Иммуноконъюгаты или ADC в контексте настоящего изобретения явно рассматриваются как, но без ограничения к этому, как конъюгаты, полученные с помощью сшивающих реагентов, включая, но без ограничения к этому, BMPS, EMCS, GMBS, HBVS, LC-SMCC, MBS, MPBH, SBAP, SIA, SIAB, SMCC, SMPB, SMPH, сульфо-EMCS, сульфо-GMBS, сульфо-KMUS, сульфо-MBS, сульфо-SIAB, сульфо-SMCC и сульфо-SMPB и SVSB (сукцинимидил-(4-винилсульфон)бензоат), которые являются коммерчески доступными (например, от Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL., U.S.A.).

ДНК молекулы согласно настоящему изобретению

Настоящее изобретение также относится к ДНК молекулам, которые кодируют антитело согласно настоящему изобретению или его антиген-связывающий фрагмент. ДНК последовательности, применяемые для экспрессированных антител, приведены в Таблице 32. Эти последовательности оптимизированы в определенных случаях для экспрессии у млекопитающих. Молекулы ДНК в соответствии с настоящим изобретением не ограничены последовательностями, раскрытыми в настоящем изобретении, но также и включают их варианты. Варианты ДНК в пределах изобретения могут быть описаны в отношении их физических свойств при гибридизации. Специалист в данной области техники понимает, что ДНК может использоваться для идентификации ее комплементарной цепи и, так как ДНК является двухцепочечной, ее эквивалента или гомолога, используя методики гибридизации нуклеиновой кислоты. Также понятно, что гибридизация может произойти при меньше чем 100%-ая комплементарность. Однако, учитывая соответствующий выбор условий, могут использоваться методики гибридизации для дифференциации среди последовательностей ДНК на основе их структурным родством с конкретным зондом. Для руководства относительно таких условий см. Sambrook et al., 1989 supra and Ausubel et al., 1995 (Ausubel, F.M., Brent, R., Kingston, R.E., Moore, D.D., Sedman, J.G., Smith, J.A., & Struhl, K. eds. (1995). Current Protocols in Molecular Biology. New York: John Wiley and Sons).

Структурное сходство между двумя полинуклеотидными последовательностями

может быть выражено как функция "жесткости" условий, при которых эти две последовательности гибридизуются друг с другом. Как применяется в описании настоящего изобретения, термин "жесткость" относится к степени, с которой условия ограничивают гибридизацию. Жесткие условия сильно ограничивают гибридизацию, и только наиболее структурно родственные молекулы гибридизуются друг с другом в таких условиях. С другой стороны нежесткие условия способствуют гибридизации молекул, демонстрирующих меньшую степень структурной родственности. Жесткость гибридизации, поэтому, прямо коррелирует со структурными взаимосвязями двух последовательностей нуклеиновой кислоты.

Жесткость гибридизации является функцией многих факторов, включая общую концентрацию ДНК, ионную силу, температуру, размер зонда и присутствие агентов, которые разрушают водородную связь. Факторы, стимулирующие гибридизацию, включают высокие концентрации ДНК, высокую ионную силу, низкие температуры, более длинные зонды и отсутствие агентов, которые разрушают водородные связи.

Гибридизация, как правило, выполняется в две фазы: фаза "связывание" и фаза "отмывание".

Функционально эквивалентные варианты ДНК

Еще один класс вариантов ДНК в объеме настоящего изобретения может быть описан в отношении продукта, который они кодируют. Эти функционально эквивалентные полинуклеотиды характеризуются тем фактом, что они кодируют те же самые последовательности пептида, из-за вырожденности генетического кода.

Попятно, что варианты молекул ДНК, обеспеченные в настоящем изобретении, могут быть сконструированы несколькими различными способами. Например, они могут быть сконструированы как полностью синтетические ДНК. Методы эффективного синтеза олигонуклеотидов в диапазоне от 20 до около 150 нуклеотидов легко доступны. См. Ausubel et al, section 2.11, Supplement 21 (1993). Перекрывающиеся олигонуклеотиды могут быть синтезированы и собраны способом, о котором впервые сообщил Khorana et al, J. Mol. Biol. 72:209-217 (1971); см. также Ausubel et al., supra, Section 8.2. Синтетические ДНК предпочтительно конструируются с удобными сайтами рестрикции, спроектированными на 5' и 3' концах гена, для облегчения клонирования в соответствующий вектор.

Как было показано, метод генерирования вариантов должен начинаться с одной из ДНК, раскрытых в настоящем изобретении, и затем проводиться сайт-направленный мутагенез. См. Ausubel et al., supra, chapter 8, Supplement 37 (1997). В типичном методе целевая ДНК клонируется в одноцепочечную ДНК бактериофага в качестве носителя. Одноцепочечная ДНК изолируется и гибридизуется с олигонуклеотидом, содержащим желаемую нуклеотидную замену(ы). Комплементарная цепь синтезируется, и двухцепочечный фаг вводится в хозяина. Часть получающегося потомства будет содержать ожидаемый мутант, что может быть подтверждено с использованием секвенирования ДНК. Кроме того, доступны различные способы, которые увеличивают вероятность, что потомства фагов будет ожидаемый мутантом. Эти способы известны специалистам в данной области техники, и наборы коммерчески доступны для получения таких мутантов.

Рекомбинантные конструкции ДНК и экспрессия

Настоящее изобретение дополнительно обеспечивает рекомбинантные конструкции ДНК, содержащие одну или более нуклеотидных последовательностей в соответствии с настоящим изобретением (смотрите Таблицу 32). Рекомбинантные конструкции в соответствии с настоящим изобретением используются в соединении с вектором, таким

как плаزمиды, фагмиды, фаг или вирусный вектор, в который вставлена молекула ДНК, кодирующая антитело в соответствии с настоящим изобретением или его антиген-связывающий фрагмент или его вариант.

Антитело, антиген-связывающая часть или его вариант, обеспеченные в настоящем изобретении, могут быть получены рекомбинантной экспрессией последовательностей нуклеиновой кислоты, кодирующих легкие и тяжелые цепи или их части в клетке-хозяине. Для экспрессии антитела, антиген-связывающей части или его варианта рекомбинантно клетка-хозяин может быть трансфицирована одним или более рекомбинантными экспрессионными векторами, несущими фрагменты ДНК, кодирующие легкие и/или тяжелые цепи или их части таким образом, что легкие и тяжелые цепи экспрессируются в клетке-хозяине. Стандартные методологии рекомбинантных ДНК используются для приготовления и/или получения нуклеиновых кислот, кодирующих тяжелые и легкие цепи, для инкорпорации этих нуклеиновых кислот в рекомбинантные экспрессионные вектора и для введения векторов в клетки-хозяев так, как описано в Sambrook, Fritsch and Maniatis (eds.), *Molecular Cloning; A Laboratory Manual, Second Edition*, Cold Spring Harbor, N.Y., (1989), Ausubel, F.M. et al. (eds.) *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing Associates, (1989) и в патенте США No. 4816397 от Boss et al.

Кроме того, последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующие вариабельные домены тяжелых и/или легких цепей, могут быть превращены, например, в полинуклеотидные последовательности, кодирующие полноразмерные цепи антитела, Fab фрагменты или scFv. Фрагмент ДНК, кодирующий VL- или VH может быть функционально связан, (таким образом, что аминокислотные последовательности, закодированные двумя фрагментами ДНК, оказались в одной рамке считывания) к другому фрагменту ДНК, кодирующему, например, константный домен антитела или гибкий линкер. Последовательности человеческих константных доменов тяжелой цепи и легкой цепи известны специалистам в данной области техники (см., например, Kabat, E.A., et al. (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242) и фрагменты ДНК, охватывающие эти области, могут быть получены стандартной амплификацией с помощью ПЦР.

Чтобы создать полинуклеотидную последовательность, которая кодирует scFv, нуклеиновые кислоты, кодирующие VH и VL, могут быть функционально связаны с другим фрагментом, кодирующим гибкий линкер, таким образом, чтобы последовательности VH и VL могли бы быть экспрессированы как белок с непрерывной единственной цепью с областями VL и VH, соединенными гибким линкером (см., например, Bird et al. (1988) *Science* 242:423-426; Huston et al. (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883; McCafferty et al, *Nature* (1990) 348:552-554).

Для экспрессии антител, антигенсвязывающих частей или их производных могут использоваться стандартные методы экспрессии рекомбинантных ДНК (см., например, Goeddel; *Gene Expression Technology. Methods in Enzymology* 185, Academic Press, San Diego, Calif. (1990)). Например, ДНК, кодирующая требуемый полипептид, может быть вставлена в экспрессионный вектор, который затем трансфицируется в подходящую клетку-хозяина. Подходящими клетками-хозяевами являются прокариотические и эукариотические клетки. Примерами для прокариотических клеток-хозяев, являются, например, бактерии, примерами для эукариотических клеток-хозяев являются дрожжевые, клетки насекомых или млекопитающих. В некоторых вариантах осуществления ДНК, кодирующие тяжелые и легкие цепи, вставляются в отдельные векторы. В других вариантах осуществления ДНК, кодирующие тяжелые и легкой цепи,

вставляются в один и тот же вектор. Подразумевается, что конструкция экспрессионного вектора, включая выбор регуляторных последовательностей определяется такими факторами, как выбор клетки-хозяина, уровень экспрессии требуемого белка и будет ли экспрессия конститутивной или индуцибельной.

5 Поэтому, вариантом выполнения настоящего изобретения также являются клетки-хозяева, содержащие вектор или молекулу нуклеиновой кислоты, причем клеткой-хозяином может быть клетка-хозяин высшего эукариота, такая как клетка млекопитающего, клетка-хозяин низшего эукариота, такая как дрожжевая клетка, и может быть прокариотическая клетка, такая как бактериальная клетка.

10 Другим вариантом выполнения настоящего изобретения является способ применения клетки-хозяина для получения антитела или антиген-связывающих фрагментов, включающий культивирование клетки-хозяина в подходящих условиях и выделение указанного антитела.

15 Поэтому другим вариантом выполнения настоящего изобретения является получение антител согласно настоящему изобретению с помощью клеток-хозяев согласно настоящему изобретению и очистка этих антител до по меньшей мере 95% гомогенности по массе.

Бактериальная экспрессия

20 Полезные экспрессионные векторы для использования в бактериях конструируются путем инсерции структурной последовательности ДНК, кодирующей требуемый белок, вместе с подходящими сигналами иницирования трансляции и терминации в функционирующую рамку считывания с функциональным промотором. Вектор должен содержать один или более фенотипически селективируемые маркеры и сайт инициации репликации, чтобы гарантировать поддержания вектора и, если требуется, обеспечить 25 амплификацию в клетке-хозяине. Подходящие прокариотические хозяева для трансформации включают *E. coli*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhimurium* и различные виды в родах *Pseudomonas*, *Streptomyces* и *Staphylococcus*.

30 Бактериальные векторы могут базироваться, например, на бактериофагах плаزمиды или фагмиды. Эти векторы могут содержать селективируемый маркер и бактериальный сайт инициации репликации, полученный из коммерчески доступных плазмид, как правило, содержащих элементы известного вектора для клонирования pBR322 (ATCC 37017). После трансформации подходящего штамма хозяина и роста штамма-хозяина до соответствующей плотности клеток селективируемый промотор дерепрессируется/индуцируется подходящим способом (например, изменением температуры или 35 химической индукцией), и клетки культивируются в течение дополнительного периода. Клетки, как правило, отделяются центрифугированием, разрушаются физическими или химическими средствами и получающийся первичный экстракт сохраняется для дополнительной очистки.

40 В бактериальных системах целый ряд экспрессионных векторов могут быть преимущественно выбраны в зависимости от предполагаемого применения предназначенного для экспрессии белка. Например, если должно быть произведено большое количество такого белка для генерации антител или для скрининга библиотеки пептидов, например, могут быть желательными векторы, которые направляют экспрессию высоких уровней продуктов в виде гибридных белков, которые являются 45 легко очищаемыми. Антитела в соответствии с настоящим изобретением или их антигенсвязывающий фрагмент включают очищенные природные продукты, продукты химических синтетических процессов и продукты, полученные с помощью рекомбинантных методик из прокариотического хозяина, включая, например, *E. coli*,

Bacillus subtilis, *Salmonella typhimurium* и различные виды в пределах родов *Pseudomonas*, *Streptomyces* и *Staphylococcus*, предпочтительно из клеток *E. coli*.

Поэтому вариантом выполнения настоящего изобретения является экспрессионный вектор, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты кодирующую новые антитела согласно настоящему изобретению.

Антитела согласно настоящему изобретению или их антигенсвязывающие фрагменты или их варианты включают естественно очищенные продукты, продукты методик химического синтеза, и продукты, полученные рекомбинантными методиками из прокариотического хозяина, включая, например, *E. coli*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhimurium* и различные виды в пределах родов *Pseudomonas*, *Streptomyces*, и *Staphylococcus*, предпочтительно, из клеток *E. coli*.

Экспрессия у млекопитающих

Предпочтительные регуляторные последовательности для экспрессии в клетках-хозяевах млекопитающих включают вирусные элементы, которые направляют высокие уровни экспрессии белка в клетках млекопитающих, такие как промоторы и/или энхансеры, полученные из цитомегаловируса (CMV) (такие как промотор/энхансер CMV), вакуолизирующего обезьяньего вируса 40 (SV40) (например, промотор/энхансер SV40), аденовируса (например, основной поздний промотор аденовируса (AdMLP)) и полиомы. Экспрессия антитела может быть конститутивной или регулируемой (например, индуцируемой добавлением или удалением индукторов малой молекулы, таких как тетрациклин в сочетании с системой Тет). Для дальнейшего описания вирусных регуляторных элементов и их последовательностей смотрите, например, патент США 5,168,062 от Stinski, патент США 4,510,245 от Bell et al. и патент США 4,968,615 от Schaffner et al. Рекомбинантные экспрессионные векторы могут также включать точки начала репликации и селективные маркеры (смотрите например, патенты США 4,399,216, 4,634,665 и 5,179,017). Подходящие селективные маркеры включают гены, которые придают устойчивость к лекарственным средствам, как например G418, пурамицин, гигромицин, бластицидин, цеоцин/блеомицин или метотрексат, или селективный маркер, которые используют ауксотрофии, как например глютаминсинтетаза (Bebington et al., *Biotechnology* (N Y). 1992 Feb; 10(2): 169-75), на клетке-хозяине, в которую был введен вектор. Например, ген дигидрофолатредуктазы (DHFR) придает устойчивость к метотрексату, ген neo обеспечивает устойчивость к G418, ген *bsd* из *Aspergillus terreus* придает устойчивость к бластицидину, пурамицин-N-ацетилтрансферазу придает устойчивость к пурамицину, продукт гена *Sh ble* придает устойчивость к цеоцину, а устойчивость к гигромицину обеспечивается геном устойчивости к гигромицину *E. coli* (*hyg* или *hph*). Выбираемые маркеры, такие как DHFR или глютаминсинтетаза, также полезны для методов амплификации в сочетании с МТХ и MSX.

Трансфекцию экспрессирующего вектора в клетку-хозяина можно проводить с использованием стандартных методов, таких как электропорация, нуклеофекция, кальций-фосфатная преципитация, липофекция, трансфекция на основе поликатиона, такая как трансфекция на основе поликатиона, такая как трансфекция на основе полиэтиленимина (PEI) и трансфекция DEAE-декстраном.

Подходящие клетки-хозяева млекопитающих для экспрессии антител, их антигенсвязывающих фрагментов или их вариантов, обеспечиваемые согласно настоящему изобретению, включают яичник китайского хомячка (CHO клетки), такие как CHO-K1, CHO-S, CHO-K1SV [включая *dhfr*- CHO клетки, описанные в Urlaub and Chasin, (1980) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216-4220 и Urlaub et al., *Cell*. 1983 Jun; 33(2):405-12, с применением DHFR селективируемого маркера, например, как описано в R.J. Kaufman

and P.A. Sharp (1982) Mol. Biol. 159:601-621; и другие нокаутные клетки, примеры которых приведены в Fan et al., Biotechnol Bioeng. 2012 Apr; 109(4):1007-15], NS0 миеломные клетки, COS клетки, HEK293 клетки, НКВ11 клетки, ВНК21 клетки, САР клетки, EB66 клетки, и SP2 клетки.

5 Экспрессия также может быть временной или полустабильной в системах экспрессии, таких как HEK293, HEK293T, HEK293-EBNA, HEK293E, HEK293-6E, HEK293-Freestyle, НКВ11, Expi293F, 293EBNALT75, CHO Freestyle, CHO-S, CHO-K1, CHO-K1SV, CHOEBNALT85, CHOS-XE, CHO-3E7 или САР-T-клетки (например, Durocher et al., Nucleic Acids Res. 2002 Jan 15; 30(2):E9).

10 В некоторых вариантах выполнения настоящего изобретения экспрессионный вектор сконструирован таким образом, что экспрессированный белок секретируется в культуральную среду, в которой растут клетки-хозяева. Антитела, их антигенсвязывающие фрагменты или их варианты могут быть выделены из культуральной среды с использованием стандартных способов очистки белка.

15 Очистка

Антитела в соответствии с настоящим изобретением или их антигенсвязывающий фрагмент могут быть выделены и очищены из рекомбинантных клеточных культур известными методами включающими, но не ограниченными этим: осаждением сульфатом аммония или этанолом, экстракцией кислотой, хроматография с использованием белка
20 А, хроматография с использованием белка G, анионная или катионная ионообменная хроматография, хроматография на фосфоцеллюлозе, гидрофобная хроматография, аффинная хроматография, хроматография на гидроксипатите и хроматография с использованием белка лектина. Высокоэффективная жидкостная хроматография ("ВЭЖХ") может также использоваться для очистки. См., например, Colligan, Current
25 Protocols in Immunology или Current Protocols in Protein Science, John Wiley & Sons, NY, N.Y., (1997-2001), например, Chapters 1, 4, 6, 8, 9, 10, каждый из которых полностью включен в настоящее изобретение посредством ссылки.

Антитела в соответствии с настоящим изобретением или их антигенсвязывающий фрагмент включают естественно очищенные продукты (очищенные природные
30 продукты), продукты химических синтетических процессов и продукты, произведенные рекомбинантными методиками из эукариотического хозяина, включая, например, клетки дрожжей, высших растений, насекомых и млекопитающих, предпочтительно из клеток млекопитающих. В зависимости от хозяина, использованного в рекомбинантном технологическом процессе, антитело в соответствии с настоящим изобретением или
35 его антигенсвязывающий фрагмент может быть гликозилированным или может быть негликозилированным, причем гликозилированный предпочтительный. Такие способы описаны во многих стандартных лабораторных руководствах, таких как Sambrook, supra, Sections 17.37-17.42; Ausubel, supra, Sections 10, 12, 13, 16, 18 и 20.

В предпочтительных вариантах осуществления антитело очищалось (1) больше чем
40 95% по массе антитела как определяется, например, по методу Лоури, спектроскопией в УФ и видимой областях спектра или капиллярным SDS гель-электрофорезом (например, на устройстве Caliper LabChip GXII, GX 90 или Biorad Bioanalyzer), и в дополнительно предпочтительных вариантах осуществления больше чем 99% по массе, (2) до степени, достаточной, чтобы получить по меньшей мере 15 остатков N-
45 терминальных или внутренней аминокислотной последовательности, или (3) до гомогенности, определенной с помощью SDS-PAGE в восстанавливающих или невосстанавливающих условиях с использованием Кумасси-синего или, предпочтительно окрашиванием серебром. Выделенное встречающееся в природе антитело включает

антитело в рекомбинантных клетках, так как по меньшей мере один компонент природного окружения антитела не будет присутствовать. Как правило, однако выделенное антитело будет получено по меньшей мере одностадийной очисткой.

Терапевтические способы

- 5 Терапевтические способы включают введение субъекту, нуждающемуся в лечении, терапевтически эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента или его варианта, предусмотренного настоящим изобретением. «Терапевтически эффективное» количество согласно настоящему изобретению определяется как количество антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, 10 которое является достаточным количеством, чтобы уменьшить пролиферацию СЕАСАМ6-положительной клетки или уменьшить размер СЕАСАМ6-экспрессирующей опухоли в обработанной области субъекта - либо в виде разовой дозы, либо в соответствии с режимом множественного введения доз, отдельно или в комбинации с другими агентами, что приводит к ослаблению неблагоприятного состояния, но которое 15 является токсикологически приемлемым. Субъектом может быть человек или не принадлежащее к человеку животное (например, кролик, крыса, мышь, собака, обезьяна или другой примат нижнего порядка).

В варианте выполнения настоящего изобретения обеспечиваются антитело или его антиген-связывающий фрагмент для применения в качестве лекарственного средства.

- 20 В варианте выполнения настоящего изобретения обеспечиваются антитело или его антиген-связывающий фрагмент для применения в качестве лекарственного средства для лечения рака. В предпочтительном варианте выполнения настоящего изобретения раком является опухоль, и в весьма предпочтительном варианте выполнения настоящего изобретения раком является солидная опухоль.

- 25 Вариантом выполнения настоящего изобретения является применение антитела или его антиген-связывающего фрагмента для получения лекарственного средства для лечения заболевания.

- Вариантом выполнения настоящего изобретения является применение антитела или его антиген-связывающего фрагмента для получения лекарственного средства для 30 лечения рака. В предпочтительном варианте выполнения настоящего изобретения раком является опухоль, и в весьма предпочтительном варианте выполнения настоящего изобретения раком является солидная опухоль.

- Антитела в соответствии с настоящим изобретением или их антигенсвязывающие фрагменты могут использоваться в качестве терапевтического или диагностического 35 инструмента во множестве ситуаций с нежелательной экспрессией СЕАСАМ6, например, при расстройствах клеточной пролиферации, таком как рак или фиброзные заболевания. Расстройства и состояния, особенно подходящие для лечения с антителом в соответствии с настоящим изобретением, являются солидными опухолями, такими как раковые опухоли молочной железы, дыхательных путей, мозга, репродуктивных органов, 40 пищеварительного тракта, мочевых путей, глаза, печени, кожи, головы и шеи, щитовидной железы, паращитовидной железы и их отдаленных метастазов. Эти расстройства также включают лимфомы, саркомы и лейкомии.

- Опухоли пищеварительного тракта включают, но без ограничения к этому, рак анального канала, рак толстой кишки, рак толстой и прямой кишки, рак пищевода, 45 рак желчного пузыря, рак желудка, рак поджелудочной железы, рак прямой кишки, рак тонкого кишечника и рак слюнных желез.

Примеры рака пищевода включают, но без ограничения к этому, карциномы и аденокарциномы пищевода, а также плоскоклеточный рак, лейомиосаркому,

злокачественную меланому, рабдомиосаркому и лимфому.

Примеры рака желудочно-кишечного тракта включают, но без ограничения к этому аденокарциному желудка интестинального типа и диффузного типа.

Примеры рака поджелудочной железы включают, но без ограничения к этому протоковую аденокарциному, железисто-плоскоклеточный рак и эндокринные опухоли поджелудочной железы.

Примеры рака молочной железы включают, но не ограничены этим: инвазивную протоковую карциному, инвазивную дольковую карциному, протоковую карциному *in situ* и дольковую карциному *in situ*.

Примеры раковых образований в дыхательных путях включают, но не ограничены этим: мелкоклеточную и немелкоклеточную карциному легких, также как аденому бронха и плевролегочную бластому.

Примеры мозговых раковых образований включают, но не ограничены этим: глиому ствола мозга и гипоталамуса, церебеллярную и церебральную астроцитому, глиобластому, медуллобластому, эпендимому, также как нейроэктодермальную и шишковидную опухоль.

Опухоли мужских репродуктивных органов включают, но без ограничения к этому, рак предстательной железы и рак яичка. Опухоли женских репродуктивных органов включают, но без ограничения к этому, рак эндометрия, рак шейки матки, рак яичников, рак влагалища и рак наружных половых органов, а также саркому матки.

Примеры рака яичников включают, но без ограничения к этой, серозную опухоль, эндометриоидную опухоль, муцинозную цистаденокарциному, гранулезотектаклеточную опухоль, опухоль из клеток Сертоли и арренобластому.

Примеры рака шейки матки включают, но без ограничения к этому, плоскоклеточный рак, аденокарциному, аденосквамозную карциному, мелкоклеточную карциному, нейроэндокринную опухоль, стекловидно-клеточную карциному и аденокарциному селезенки.

Опухоли мочевых путей включают, но не ограничены этим: рак мочевого пузыря, пениса, почек, почечной лоханки, мочеточника, уретральный и наследственные и спорадические папиллярные почечные раковые образования.

Примеры рака почки включают в себя, но без ограничения к этому, почечно-клеточную карциному, карциному уротелиальных клеток, опухоль юкстагломерулярных клеток (ренинома), ангиомиолипому, почечную онкоцитому, карциному Беллини канальцев, светлоклеточную саркому почек, мезобластную нефрому и опухоль Вильмса.

Примеры рака мочевого пузыря включают, но без ограничения к этому переходноклеточный рак, плоскоклеточный рак, аденокарциному, саркому и мелкоклеточную карциному.

Раковые опухоли в глазе включают, но не ограничены этим, внутриглазную меланому и ретинобластому.

Примеры раковых опухолей печени включают, но не ограничены этим, гепатоцеллюлярную карциному (карциномы клеток печени с или без фиброламеллярным вариантом), холангиокарциному (карцинома внутрипеченочной желчной протоки), и смешанную гепатоцеллюлярную холангиокарциному.

Рак кожи включает, но не ограничен этим: плоскоклеточную карциному, саркому Капоши, злокачественную меланому, рак кожи клеток Меркеля и немеланомный рак кожи.

Рак головы и шеи включают, но не ограничен этим: рак гортани, подглоточный рак, рак ротоглотки, рак губы и рак полости рта и плоскоклеточный рак.

Лимфомы включают, но не ограничены этим: СПИД-ассоциированную лимфому, неходжкинскую лимфому, Т-клеточную лимфому кожи, лимфому Беркита, болезнь Ходжкина и лимфому центральной нервной системы.

Саркомы включают, но не ограничены этим: саркому мягкой ткани, остеогенную саркому, злокачественную фиброзную гистиоцитому, лимфосаркому и рабдомиосаркому.

Лейкемии включают, но не ограничены этим: острую миелоидную лейкемию, острой лимфобластную лейкемию, хронический лимфолейкоз, хроническую гранулоцитную лейкемию и лейкоз ворсистых клеток.

В предпочтительном варианте выполнения настоящего изобретения, антитела согласно настоящему изобретению или их антигенсвязывающие фрагменты являются подходящими для терапевтического или диагностического способа для лечения или диагностики раковых заболеваний, содержащихся в группе, состоящей из колоректального рака, немелкоклеточного рака легких (NSCLC), мелкоклеточного рака легких (SCLC), рака поджелудочной железы, рака желудка, рака молочной железы и множественной миеломы.

Кроме того, антитела согласно настоящему изобретению или их антигенсвязывающие фрагменты также могут применяться в качестве терапевтического или диагностического инструмента для множества других нарушений, в которых CEACAM6 участвует, таких как, но без ограничения к этому легочная инфекция, например, грипп, болезнь Крона, воспалительное заболевание кишечника, псориаз, кистозный фиброз легких, профилактика бактериальной стыковки с GI-intract, травма, кровотечение, хирургия, инсульт, инфаркт миокарда, сепсис, пневмония, вакцинация от инфекции и рака, хроническая вирусная инфекция.

Нарушения, упомянутые выше, были хорошо охарактеризованы у людей, но также существуют с аналогичной этиологией у других животных, включая млекопитающих, и могут подлежать лечению путем введения фармацевтических композиций согласно настоящему изобретению.

Антитело в соответствии с настоящим изобретением или его антиген-связывающий фрагмент, или его вариант может быть введено совместно с известными медикаментами, и в некоторых случаях антитело могло быть само модифицировано. Например, антитело может быть конъюгировано с цитотоксическим агентом или радиоизотопом для возможного дополнительного увеличения эффективности.

Антитела в соответствии с настоящим изобретением могут быть введены как единственный фармацевтический агент или в сочетании с одним или более дополнительными терапевтическими агентами, если комбинация не вызывает неприемлемых побочных эффектов. Эта комбинированная терапия включает введение единственной дозы лекарственной формы, которые содержит антитело в соответствии с настоящим изобретением и один или более дополнительные терапевтические агенты, так же как введение антитела в соответствии с настоящим изобретением и каждого дополнительного терапевтического агента в его собственной отдельной лекарственной форме. Например, антитело в соответствии с настоящим изобретением и терапевтический агент могут быть введены пациенту совместно в виде единственном пероральной лекарственной формы, такой как таблетка или капсула, или каждое вещество можно введено в отдельных лекарственных формах.

Если используются отдельные лекарственные формы, антитело в соответствии с настоящим изобретением и один или более дополнительных терапевтических агентов могут быть введены по существу в одно и то же время (например, одновременно) или ступенчато в отдельные моменты времени (например, последовательно).

В частности, антитела, согласно настоящему изобретению или их антигенсвязывающие фрагменты или их варианты, могут быть использованы в фиксированной или отдельной комбинации с другими противоопухолевыми агентами, такими как алкилирующие агенты, антиметаболиты, растительные противоопухолевые агенты, агенты гормональной терапии, топоизомеразные ингибиторы, иммунологические средства, антитела, лекарственные средства на основе антител, модификаторы биологического ответа, антиангиогенные соединения, клеточная терапия и другие противоопухолевые препараты, включая без ограничения к этому, производные камптотецина, киназные ингибиторы, нацеленные лекарственные средства.

В связи с этим ниже приведен неограниченный список примеров вторичных агентов, которые могут использоваться в комбинации с антителами согласно настоящему изобретению:

Алкилирующие агенты включают, но не ограничены этим: N-оксид азотистого иприта, циклофосфамид, ифосфамид, тиотепа, ранимустин, нимустин, темозоломид, алтретамин, апазиковон, бросталлицин, бендамустин, кармустин, эстрамустин, фотемустин, глүфосфамид, мафосфамид, бендамустин и митолактол; скоординированные платиной алкилирующие агенты включают, но не ограничены этим, цисплатин, карбоплатин, эптаплатин, лобаплатин, недаплатин, оксалиплатин и сатртаплатин;

Антиметаболиты включают, но не ограничены этим, метотрексат, 6-меркаптопурин, рибозид, меркаптопурин, 5-фторурацил сам по себе или в комбинации с лейковорином, тегафур, доксифлуридин, кармофур, цитарабин, цитарабин оксфосфат, еноцитабин, гемцитабин, флударабин, 5-азациитидин, капецитабин, кладрибин, клофарибин, децитабин, эфлорнитин, этинилцитидин, цитозин арабинозид, гидроксимочевина, мелфалан, неларабин, нолатрексед, оксфосфит, преметрексед двунатриевый, пентостаин, пелитрексол, ралтитрексид, триапин, триметрексед, видарабин, винкристин и винорелбин;

Агенты гормональной терапии включают, но не ограничены этим: эксестан, лупрон, анастрозол, доксеркальциферол, фадрозол, форместан, ингибиторы 11 β -гидроксистероид-дегидрогеназы 1 типа, ингибиторы 17 α -гидроксилазы/17,20-лиазы, такие как абиратерона ацетат, ингибиторы 5- α -редуктазы, такие как финастерид и эпристерид, антиэстрогены, такие как тамоксифена цитрат и фулвестрант, Трелстар, торемифен, ралоксифен, лазофоксифен, летрозол, антиандрогены, такие как бикалутамид, флутамид, мифепристон, нилутамид, касодекс и антипрогестероны, и их комбинации;

Выделенные из растений противоопухолевые вещества включают, например, выбранные из ингибиторов митоза, например эпотилоны, такие как сагопилон, иксабепилон и эпотилон В, винбластин, винфлунин, доцетаксел и паклитаксел;

Цитотоксические агенты, ингибирующие топоизомеразу, включает, но не ограничены этим: акларубицин, доксорубицин, амонафид, белотекан, камптотецин, 10-гидроксикамптотецин, 9-аминокамптотецин, дифломотекан, иринотекан, топотекан, эдотекарин, эпимбицин, этопозид, эксатекан, гиматекан, луртотекан, митоксантрон, пирамбицин, пиксантрон, рубитекан, собузоксан, тафлупозид и их комбинации;

Иммунологические препараты включают интерфероны, такие как интерферон альфа, интерферон альфа-2а, интерферон альфа-2b, интерферон бета, интерферон гамма-1а и интерферон гамма-n1 и другие иммуностимулирующие агенты, такие как L19-IL2 и другие производные IL2, филграстим, лентинан, сизофилан, ТераЦис, убенимекс, алдеслейкин, алемтузумаб, ВАМ-002, дакарбазин, даклизумаб, денилейкин, гемтузумаб, озогамин, ибритумомаб, имиквмод, ленограстим, лентинан, вакцина против меланомы

(Corixa), молграмостим, сарграмостим, тазонермин, теклейкин, тималазин, тозитумомаб, вимлизин, эпратузумаб, митумомаб, ореговомаб, пемтумомаб и провенге; ALNX6000, урелумаб, PF-005082566, галунизертиб, AZ10606120, NF340, BMS-777607;

Иммунологические средства также включают лекарственные средства, направленные на модуляторы и соингибиторные рецепторы контрольной точки иммунного ответа, включая, но без ограничения к этому, CTLA-4, PD1, PD-L1, B7-H3 рецептор, B7-H4 рецептор, BTLA, TIM3, LAG3, KIRDL, 2B4, VISTA, CD244, CD160, TIGIT, CEACAM1, CEACAM5, HHLA2. В частности некоторыми из этих лекарственных средств являются ипилимумаб, тремелиумаб, ниволумаб, пембролизумаб, пидилизумаб, AMP-224, AMP-514, PDR001, MDX1105, BMS-936,559, атезолизумаб, Medi4736, авелумаб, MSB0010718C, MGA271, IMP321, BMS-986,016, бавитуксимаб, MNRP1685A, Целекоксиб, PF-04418948, RQ-15986;

Иммунологические средства также включают активаторы костимулирующих рецепторов, включая лекарственные средства, направленные на, но без ограничения к этому, CD28, ICOS, 4-1BB, OX40, CD27, KIRDS, GITR, HVEM, TNFRSF25, CD40L, TMIGD2, TIM-1, CEACAM1, CEACAM5. Среди этих лекарственных средств присутствуют CP-870893, Лукатумумаб, дацетузумаб, анти-OX40, MEDI0562, MEDI6469, MEDI6383, CDX-1127, TRX518, варлилумаб;

Иммунологические средства также включают средства, которые модулируют активность Treg, включая средства, направленные на, но без ограничения к этому, FOXP3, CD25, CCR4. К этим агентам относится даклизумаб;

Иммунологические средства также включают средства, которые модулируют активность супрессорных клеток миелоидного происхождения, включая средства, направленные на, но без ограничения к этому, CSF1R. Примером является эмактузумаб, таладафил;

Иммунологические средства также включают средства, которые модулируют врожденный иммунный ответ, включая средства, направленные на толл-подобные рецепторы, включая, но без ограничения к этому, TLR3, TLR4, TLR7, TLR8, TLR9, NGK2A, NKG2D. Этими лекарственными средствами являются, например, имиквимод, CPG7909 (PF-3512676, CPG2006); MGN1703, SD-101, хилтонол (поли ICLC), анти-NGK2A (IPH2201), OM-174, 852A, VTX-2337, IMO-2055;

Иммунологические средства также включают лекарственные средства, которые модулируют врожденный иммунный ответ, включая лекарственные средства, направленные на, но без ограничения к этому, CSF-1, CSF1R, KIR, ILTs, LIRs, MICA, MICB, CD244, CCL2, CD47. В частности некоторыми из этих лекарственных средств являются анти-KIR (IPH2101; IPH2101; 1-7F9); лирилумаб (IPH2012; BMS-986,015); карлумаб (CNT0888), IMC-CS4, FPA008, PLX3397, ARRY-382, CC-90002, анти-CD47 (Hu5F9-G4), BLZ945;

Иммунологические средства также включают средства для перенацеливания иммунных клеток, включая, но без ограничения к этому, биспецифичные антитела, переориентирующие антитела с двойной аффинностью, например, против B7-H3, привлекающий Т-клетки биспецифический активатор, например, CD19хCD3; например, Removab анти-EPSCAMхCD3хFC, NK клетка-нацеливающие средства;

Иммунологические средства также включают средства, которые модулируют микроокружение опухоли и улучшают инфильтрацию иммунных клеток и ответ, включая вакцины и адъюванты, и которые не ограничиваются GVAX, FVAX;

В этом отношении вакцины включают вакцины на основе дендритных клеток, вирусные вакцины, вакцины на основе мРНК, вакцины на основе мультипептидов;

Иммунологические средства также включают средства для улучшенной инфильтрации иммунных клеток, включая, но без ограничения к этому, IFN-g, IL15, IL21, IL2, CXCR4, CXCL12. Некоторыми из этих лекарственных средств являются дененикокин (BMS982, 470), ALT-803, hetIL15, улокуплумаб, BKT140, CXCR2-специфичное моноклональное антитело, AD3100, маравирокс, PF-4136309;

Иммунологические средства также включают средства или способы воздействия, которые улучшают примирование и активацию APC и T клеток, включая лекарственные средства, направленные на, но без ограничения к этому, m-TOR GSK3бета ингибиторы, загруженные носители для лекарственных средств (например, терапевтическая противораковая вакцина «Провендж»), радиотерапию, дистанционную лучевую терапию;

Иммунологические средства также включают модуляторы кинуренинового пути, включая лекарственные средства, направленные на, но без ограничения к этому, IDO1, IDO2, TDO. Среди этих лекарственных средств присутствуют INCB024360, Индоксимод (NLG8189; 1-метил-D-триптофан, D-1MT), GDC-0919, NLG919, LM10;

Иммунологические средства также включают модуляторы аденозинового пути, включая лекарственные средства, направленные на, но без ограничения к этому CD39, CD73, A2A рецептор, A2B рецептор. Такие лекарственные средства включают Compound, NCX-4016, AT38, SCH58261, SCH420814, PSB1115, ARL67176, AMPCP;

Иммунологические средства также включают модулятор пути TGFbeta/ALK5.

Такие лекарственные средства включают OY2157299, EW-7187;

Иммунологические средства также включают Sting активаторы;

Модификаторы биологического ответа являются агентами, которые модифицируют защитные механизмы живых организмов или биологические ответы, такие как выживание, рост или дифференцировка клеток ткани, для придания им

противоопухолевой активности; такие агенты включают, например, крестин, лентинан, сизофиран, пицбанил, промун и убенимекс;

Анти-ангиогенные соединения включают, но не ограничены этим, ацитретин, афлиберцепт, ангиостатин, аплидин, асентар, акситиниб, бевацизумаб, бриваниб аланинат, силенгид, комбретастатин, эндостатин, фенретинид, галофугинон, пазопаниб, ранибизумаб, ребимастат, рецентин, регорафениб, ремоваб, ревлимид, сорафениб, скваламин, сунитиниб, телатиниб, талидомид, украин, ваталаниб и витаксин;

Анти-ангиогенные соединения также включают ингибиторы VEGF, включая, но без ограничения к этому, сорафениб, регорафениб, бевацизумаб, сунитиниб, рецентин, акситиниб, афлиберцепт, телатиниб, бриваниб аланинат, ваталаниб, пазопаниб и ранибизумаб;

Лекарственные средства на основе антител включают, но без ограничения к этому, трастузумаб, цетуксимаб, бевацизумаб, ритуксимаб, тицилимумаб, ипилимумаб, тремелимумаб, пембролизумаб, ниволумаб, пидилизумаб, RG-7446/ MPDL3280A, BMS-936559 (MDX1105), дурвалумаб (Medi-4736), MSB-0010718C, люмиликсимаб, катумаксомаб, атасисепт, ореговомаб, панитумумаб и алектумумаб;

Лекарственные средства на основе антител также включают торий-нацеленные конъюгаты, но без ограничения к этому, нацеленные на мезотелин, C4.4A, FGFR2, HER2, PSMA;

Лекарственные средства на основе антител также включают торий-нацеленные конъюгаты, но без ограничения к этому, нацеленные на мезотелин, C4.4A, FGFR2, HER2, PSMA, CEACAM6;

Лекарственные средства на основе антител также включают биспецифичные (или мультиспецифичные) форматы антител, включая, но без ограничения к этому,

биспецифичные (или мультиспецифичные) IgG и биспецифичные (или мультиспецифичные) форматы антител, а также слитые белки и их конъюгаты (например, CrossMab, DAF (2in1), DAF(4in1), DutaMab, DT-IgG, KiH объединенный IgG, объединенный с заряженной парой IgG, KiH-commonLC, обмен Fab-фрагментами, SEEDbody, Triomab, LUZ-Y, Fcab,

5 **ѐѐ-mAb**, ортогональный Fab, DVD-IgG, IgG(H)-scFv, scFv-(H)IgG, IgG(L)-scFv, scFv-(L) IgG, IgG(L,H)-Fv, IgG(H)-V, V(H)-IgG, IgG(L)-V, V(L)-IgG, KiH-IgG-scFab, 2scFv-IgG, IgG-2scFv, scFv4-Ig, Zyboby, DVI-IgG (4in1), ди-нанотело, BiTE, диатело, DART, DART-Fc, TandAb, scДиатело, scДиатело-CH3, Диатело-CH3, Тройное тело, миниантитело, Минитело, TriBi минитело, scFv-CH3 KiH, Fab-scFv, scFv-CH-CL-scFv, F(ab')2, F(ab')2-10 scFv2, scFv-LiH, Fab-scFv-Fc, тетравалентный HCAB, scДиатело-Fc, Диатело-Fc, тандем scFv-Fc, интратело, Dock и Lock слитый белок, ImmTAC, HSAbody, scДиатело-HAS, тандем scFv-токсин, IgG-IgG, Cov-X-тело, scFv1-PEG-scFv2 и другие);

Лекарственные средства на основе антител также включают рекомбинантные белки, полученные рекомбинантными технологиями с антитело-подобными связывающими15 свойствами, такие как, но без ограничения к этому, молекулы DARPIN;

Клеточная терапия включает, но не ограничивается ими, инфильтрирующий опухоль лимфоцит, выделенный у больных раком, как например Ex vivo стимулированные Т клетки, например, Сипулейцел-Т;

Клеточная терапия включает, но не ограничивается ими, инфильтрирующий опухоль20 лимфоцит, выделенный у больных раком, как например Сипулейцел-Т и генно-инженерные Т-клетки, несущие химерные антигеновые рецепторы (CAR), такие как, например, CD19-CAR-Т-клетки; CAR-HER2-Т-клетки;

Другие противоопухолевые агенты включающие, например, алитретиноин, амплиген, атрасентан бексаротен, бортезомиб, бозентан, кальцитриол, эксизулинд, фотемустин,25 ибандроновая кислота, милтефозин, митоксантрон, L-аспарагиназа, прокарбазин, дакарбазин, гидроксикарбамид, пегаспаргаза, пентостатин, тазаротен, велкад, нитрат галлия, канфосфамид, даринапарзин и третиноин, PI3065, TG100-115;

ингибиторы EGFR (HER1) такие как, например, цетуксимаб, панитумумаб, вектибикс, гефитиниб, эрлотиниб и Зактима;

30 ингибиторы HER2 такие как, например, лапатиниб, тратузумаб и пертузумаб;

ингибиторы mTOR такие как, например, темсиролимус, сиролимус/рапамицин и эверолимус;

ингибиторы c-Met;

PI3K ингибиторы, такие как PI3K ингибитор 1 (2-амино-N-[7-метокси-8-(3-морфолин-4-илпропокси)-2,3-дигидроимидазо[1,2-с]квиназолин-5-ил]пиримидин-5-карбоксамида35 дигидрохлорид (смотрите соединение Примеров 1 и 2 в WO 2012/136553)

и АКТ ингибиторы;

ингибиторы CDK (циклин-зависимой киназы), такие как росковитин и флавопиридол;

40 Ингибиторы контрольной точки сборки митотического веретена и таргетированные антимиотические агенты, такие как ингибиторы PLK, ингибиторы Auroга (например, Гесперидин), ингибиторы контрольной точки киназы и ингибиторы KSP;

BRAFV600E ингибиторы, такие как вемурафениб, дабрафениб;

Ингибиторы HDAC такие как, например, панобиностат, вориностат, MS275, белиностат и LBH589;

45 ингибиторы HSP90 и HSP70;

Протеасомные ингибиторы, такие как бортезомиб и карфилзомиб;

Ингибиторы сериновой/треониновой киназы, включающие ингибиторы MEK и ингибиторы Raf, такие как сорафениб;

Ингибиторы фарнезилтрансферазы такие как, например, типифарниб;

Ингибиторы тирозинкиназы включающие, например, дасатиниб, нилотибиб, регорафениб, бозуганиб, сорафениб, бевацизумаб, сунитиниб, цедираниб, акситиниб, афлиберцепт, телатиниб, иматиниба мезилат, бриванид аланинат, пазопаниб, ранибизумаб, ваталаниб, цетуксимаб, панитумумаб, вектибикс, gefitinib, эрлотиниб, лапатиниб, трастузумаб, пертузумаб и ингибиторы c-Kit;

Агонисты рецептора витамина D;

Ингибиторы белка Bcl-2, такие как обатоклакс, натрий облимерсен и госсипол;

Антагонисты рецептора кластера дифференцировки 20, как например, ритуксимаб;

Ингибиторы рибонуклеотид редуктазы, как например, гемцитарабин;

Агонисты лиганда рецептора 1 некроза опухоли, вызывающие апоптоз, такой как, например, мапатумумаб;

Связанные с фактором некроза опухоли индуцирующие апоптоз агонисты лиганда рецептора 2, такие как, например, лексатумумаб, конатумумаб, CS-1008, PRO95780;

Антагонисты рецептора 5-гидрокситриптамина такие как, например, rEV598, ксалипруд, палоносетрона гидрохлорид, гранисетрон, зиндол и AB-1001;

Антагонисты рецептора 5-гидрокситриптамина такие как, например, rEV598, ксалипруд, палоносетрона гидрохлорид, гранисетрон, зиндол и AB-1001;

Ингибиторы интегринов, включающие ингибиторы α -5-бета-1-интегрина такие как, например, E7820, JSM 6425, волоциксимаб и эндостатин;

Антагонисты андрогенового рецептора включающие, например, нандролон деканоат, флюоксиместерон, Андронид, Prost-aids, андромустин, бикалутамид, флутамид, апоципротерон, апофлутамид, хормадина ацетат, андрокур, таби, ципротерона ацетат и нилутамид;

Ингибиторы ароматазы такие как, например, анастрозол, летрозол, тестолактон, эксеместан, аминоглутетимид и форместан;

Ингибиторы матриксной металлопротеиназы;

Кроме того, антитела согласно настоящему изобретению могут быть объединены со способами воздействия, которые вызывают иммуногенетическую клеточную смерть включая, но без ограничения к этому, ультрафиолетовый свет, окисляющие обработки, термический шок, нацеленную и ненацеленную радиотерапию, шиконин, высоко гидростатическое давление, онколитические вирусы и фотодинамическую терапию;

Кроме того, антитела согласно настоящему изобретению могут быть объединены с агентами, которые вызывают иммуногенетическую клеточную смерть включая, но без ограничения к этому, сунитиниб, JAK2 ингибиторы, антрациклины, доксорубицин, митоксантрон, оксалиплатин, и циклофосфамид, нацеленные и ненацеленные микротрубки-дестабилизирующие лекарственные средства (такие как например, ауристатины и майтанзиноиды);

Соединения согласно настоящему изобретению также могут применяться для лечения рака вместе с радиотерапией и/или хирургическим вмешательством;

Кроме того, антитела согласно настоящему изобретению могут применяться, как таковые или в композициях, в исследовании и диагностики, или в качестве аналитических контрольных стандартов, и тому подобное, которые хорошо известны из уровня техники;

Способы диагностики

Анти-CEACAM6 антитела или их антигенсвязывающие фрагменты могут применяться для обнаружения присутствия CEACAM6-экспрессирующих опухолей. Присутствие CEACAM6-содержащих клеток или сливающихся CEACAM6 в различных

биологических образцах, включая сыворотку и образцы биопсии ткани, может быть обнаружено анти-СЕАСАМ6 антителами. Кроме того, анти-СЕАСАМ6 антитела могут применяться в различных методиках визуализации, таких как иммуносцинтиграфия с ^{99}Tc (или другим изотопом) конъюгированным антителом. Например, протокол визуализации, подобный описанному с ^{111}In конъюгированным анти-PSMA антителом, может применяться для обнаружения карциномы поджелудочной железы или яичника (Sodee et al., Clin. Nuc. Med. 21: 759-766, 1997). Другим методом обнаружения, который может быть использован, является позитронно-излучающая томография с помощью конъюгированного антитела согласно настоящему изобретению с подходящим изотопом (смотрите Herzog et al., J. Nucl. Med. 34:2222-2226, 1993).

Фармацевтические композиции и введение

Для лечения любого из вышеупомянутых расстройств, могут быть составлены фармацевтические композиции для использования в соответствии с настоящим изобретением в обычной манере с использованием одного или более физиологически приемлемого носителя или вспомогательного вещества. Антитело в соответствии с настоящим изобретением или антигенсвязывающий фрагмент могут быть введены с помощью любых подходящих средств, которые могут варьироваться в зависимости от типа расстройства, которое подвергается лечению. Возможные способы введения лекарственного средства включают парентеральный (например, внутримышечный, внутривенный, внутриартериальный, внутрибрюшинный или подкожный), внутрилегочный и интраназальный, и, при необходимости, для местной иммуносупрессивной терапии внутриочаговое введение. Кроме того, антитело в соответствии с настоящим изобретением вводится посредством импульсной инфузии, например, уменьшая дозы антитела. Предпочтительно, дозирование осуществляется в виде инъекций, наиболее предпочтительно внутривенных или подкожных инъекций, что частично зависит от того, будет ли введение короткое или хроническое. Количество, которое будет введено, будет зависеть от множества факторов, таких как клинические симптомы, масса человека, вводятся ли другие лекарственные средства. Специалист в данной области техники понимает, что способ введения изменяется в зависимости от расстройства или патологического состояния, которое собираются лечить.

Вариантом выполнения настоящего изобретения являются фармацевтические композиции, которые содержат анти-СЕАСАМ6 антитела или их антигенсвязывающие фрагменты или их варианты, сами по себе или в комбинации с по меньшей мере одним другим агентом, таким как стабилизирующее соединение, которое может вводиться в любом стерильном, биосовместимом фармацевтическом носителе, включая, но без ограничения к этому, солевой раствор, буферизированный солевой раствор, декстрозу и воду. Другим вариантом выполнения настоящего изобретения являются фармацевтические композиции СЕАСАМ6-связывающего антитела или его антигенсвязывающего фрагмента и дополнительное фармацевтически активное соединение, которое является подходящим для СЕАСАМ6-связанных заболеваний, таких как рак. Любая из этих молекул может быть введена отдельно пациенту или в сочетании с другими веществами, лекарствами или гормонами в фармацевтических композициях, где они смешаны с вспомогательным веществом(ами) или фармацевтически приемлемыми носителями. В одном варианте осуществления настоящего изобретения фармацевтически приемлемый носитель является фармацевтически инертным.

Настоящее изобретение также касается введения фармацевтических композиций. Такое введение осуществляется перорально или парентерально. Способы парентеральной доставки включают: местное, внутриартериальное (непосредственно

к опухоли), внутримышечное, подкожное, внутримедуллярное, интратекальное, внутрижелудочковое, внутривенное, внутрибрюшинное или интраназальное введение. В дополнение к активным ингредиентам эти фармацевтические композиции могут содержать подходящие фармацевтически приемлемые носители, содержащие

5 вспомогательные вещества и вспомогательные средства, которые облегчают процессинг активных соединений в препараты, которые могут использоваться фармацевтически. Более подробная информация о методиках для составления и введения может быть найдена в последнем издании Remington's Pharmaceutical Sciences (Ed. Maack Publishing Co, Easton, Pa.).

10 Фармацевтические композиции для перорального введения могут быть составлены с использованием фармацевтически приемлемых носителей, известных специалистам в данной области техники, в дозировках, подходящих для перорального введения. Такие носители позволяют фармацевтическим композициям быть сформулированными в виде таблеток, пилюль, драже, капсул, жидкостей, гелей, сиропов, паст, суспензий и т.п., для

15 проглатывания пациентом.

Фармацевтические препараты для перорального использования могут быть получены путем комбинирования активных соединений с твердым вспомогательным веществом, при необходимости размалывая (гранулируя) получающуюся смесь, и перерабатывая смесь гранул после добавления подходящих вспомогательных средств при

20 необходимостью, чтобы получить таблетки или ядро драже. Подходящими вспомогательными веществами являются углеводные или белковые наполнители, такие как сахара, включая лактозу, сахарозу, маннит или сорбит; крахмал из кукурузы, пшеницы, риса, картофеля или других растений; целлюлозы, такие как метил целлюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза, или натрий карбоксиметилцеллюлоза; и камеди,

25 включая гуммиарабик и трагакантовую камедь; и белки, такие как желатин и коллаген. При необходимости могут быть добавлены вещества для улучшения распадаемости таблеток или солюбилизующие агенты, такие как поперечно сшитый поливинилпирролидон, агар, альгиновая кислота или ее соль, такая как альгинат натрия.

Ядра драже снабжаются подходящими покрытия, такими как концентрированные

30 растворы сахаров, которые могут также содержать гуммиарабик, тальк, поливинилпирролидон, гель карбопола, полиэтиленгликоль и/или диоксид титана, глазировочные растворы, и подходящие органические растворители или смеси растворителей. Красители или пигменты могут быть добавлены к таблеткам или покрытиям драже для идентификации продукта или характеристики количества

35 активного соединения, то есть дозировку.

Фармацевтические препараты, которые могут использоваться перорально, включают твердые капсулы, приготовленные из желатина, так же как мягкие, герметические капсулы, приготовленные из желатина и покрытия такого как глицерин или сорбит. Твердые капсулы могут содержать активные ингредиенты, смешанные с наполнителем

40 или связующими веществами, такими как лактоза или крахмалы, лубрикантами, такими как тальк или стеарат магния, и при необходимости, стабилизаторами. В мягких капсулах активные соединения могут быть растворены или диспергированы в подходящих жидкостях, таких как жирные масла, жидкий парафин или жидкий полиэтиленгликоль с или без стабилизаторов.

45 Фармацевтические композиции для парентерального введения включают водные растворы активных соединений. Для инъекции фармацевтические композиции в соответствии с настоящим изобретением могут быть составлены в водных растворах, предпочтительно в физиологически совместимых буферах, таких как раствор Хэнка,

раствор Рингера или забуференный физиологический раствор. Водные инъекционные суспензии могут содержать вещества, которые увеличивают вязкость суспензий, такие как карбоксиметилцеллюлоза натрия, сорбит или декстран. Дополнительно, суспензии активных соединений могут быть получены в виде соответствующих масляных инъекционных суспензий. Подходящие липофильные растворители или носители включают жирные масла, такие как кунжутное масло или синтетические сложные эфиры жирных кислот, такие как этилолеат или триглицериды или липосомы. При необходимости, суспензии могут также содержать подходящие стабилизирующие агенты или агенты, которые повышают растворимость соединений, что позволяет получить препарат высококонцентрированных растворов.

Для местного или назального введения используются в композиции пенетранты, соответствующие конкретному барьеру, через который должен быть пройден. Такие пенетранты известны специалистам в данной области техники.

Фармацевтические композиции в соответствии с настоящим изобретением могут производиться способом, который известен специалистам в данной области техники, например, посредством обычного смешивания, растворения, гранулирования, создания драже, отмачивания, эмульгирования, заключения в капсулу, включения или процессов лиофилизации.

Фармацевтическая композиция может обеспечиваться в виде соли и может быть сформирована с кислотами, включая, но не ограничиваясь этим: хлористоводородную, серную, уксусную, молочную, винную, яблочную, янтарную и т.д. Соли имеют тенденцию быть более растворимыми в водных или других протонных растворителях, которые являются соответствующими формами свободного основания. В других случаях предпочтительными препаратами могут быть лиофилизированные порошки в 1 мМ - 50 мМ гистидина или фосфата или Трис, 0,1%-2% сахарозы и/или 2%-7% маннита в интервале рН от 4,5 до 7,5, которые объединяются с буфером перед использованием.

После того, как фармацевтические композиции, содержащие соединение в соответствии с настоящим изобретением, введенные в приемлемый носитель, были приготовлены, они могут быть помещаться в соответствующий контейнер и маркироваться для лечения указанного состояния. Для введения антител против СЕАСАМ6 или их антиген-связывающего фрагмента, такая маркировка должна включать количество, частоту и способ введения.

Наборы

Настоящее изобретение также касается фармацевтических упаковок и наборов, содержащих один или более контейнеров, заполненных одним или более ингредиентами вышеупомянутых композиций в соответствии с настоящим изобретением. Ассоциированным с таким контейнером(ами) может быть уведомление в форме, предписанной правительственным агентством, регулирующим изготовление, применение или продажу фармацевтических препаратов или биологических продуктов, выражающее одобрение этого агентства изготовление, применение или продажу продукта для введения человеку.

Терапевтически эффективная доза

Фармацевтические композиции, подходящие для использования в настоящем изобретении, включают композиции, в которых активные ингредиенты содержатся в эффективном количестве, чтобы достигнуть намеченной цели, то есть лечения конкретного болезненного состояния, характеризуемого экспрессией СЕАСАМ6.

Определение эффективной дозы находится в компетенции специалистов в данной области техники.

Определение терапевтически эффективного количества нового антитела согласно настоящему изобретению или его антиген-связывающего фрагмента или его варианта в основном будет зависеть от конкретных особенностей пациента, способа введения и природы расстройства, которое собираются лечить. Общее руководство может быть найдено, например, в публикациях Международной конференции по вопросам гармонизации (International Conference on Harmonization) и в REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, chapters 27 and 28, pp. 484-528 (18th ed., Alfonso R. Gennaro, Ed., Easton, Pa.: Mack Pub. Co., 1990). Более тщательное определение терапевтически эффективного количества будет зависеть от таких факторов как токсичность и эффективность лекарства. Токсичность может быть определена с использованием способов, известных специалистам в данной области техники и, которые можно найти в вышеупомянутых ссылках. Эффективность может быть определена с использованием тех же руководств в сочетании со способами, описанными ниже в Примерах.

Для любого соединения терапевтически эффективная доза может быть оценена первоначально либо в тестах на клеточной культуре, например, неопластических клетках, либо в моделях на животных, обычно мышах, кроликах, собаках, свиньях или обезьянах. Животная модель также используется, чтобы оценить желательный диапазон концентрации и способ введения. Такая информация может затем использоваться для определения полезных доз способа введения для людей.

Терапевтически эффективная доза относится к тому количеству антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые облегчают симптомы или состояние. Терапевтическая эффективность и токсичность таких соединений могут быть определены стандартными фармацевтическими процедурами на клеточных культурах или экспериментальных животных, например, ED50 (доза, терапевтически эффективная у 50% популяции) и LD50 (доза, смертельная для 50% популяции). Отношение доз терапевтического и токсического эффектов представляет собой терапевтический индекс, и он может быть выражен как отношение ED50/LD50. Предпочтительными являются фармацевтические композиции, которые показывают большие терапевтические индексы. Данные, полученные из опытов на клеточной культуре и исследований на животных, используются для определения диапазона дозировок для использования у людей. Дозировка таких композиций находится предпочтительно в пределах диапазона концентраций в кровотоке, которые включает ED50 с минимальной или отсутствующей токсичностью. Дозировка изменяется в пределах этого диапазона в зависимости от используемой лекарственной формы, чувствительности пациента и способа введения.

Точная дозировка выбирается лечащим врачом в зависимости от пациента, которого собираются лечить. Дозировка и введение приспособляются, чтобы обеспечить достаточные уровни активного компонента или поддерживать желаемый эффект. Дополнительные факторы, которые могут быть приняты во внимание, включают серьезность стадии заболевания, например, размер опухоли и местоположение; возраст, массу и пол пациента; диету, время и частоту введения, сочетание(я) лекарств, чувствительности реакции и переносимость/ответ на терапию. Долго действующие фармацевтические композиции могут вводиться каждые 3-4 дня, каждую неделю или один раз каждые две недели в зависимости от периода полураспада и уровня клиренса конкретной композиции.

Нормальное количество на дозу могут изменяться от 0,1 до 100000 микрограмм, до суммарной дозы около 1 г в зависимости от пути введения. Руководство относительно конкретных дозировок и способов доставки обеспечивается в литературе. См. патенты США No. 4657760; 5206344 или 5225212. Специалисты в данной области техники будут

использовать различные композиции полинуклеотидов с большей вероятностью, чем композиции белков или их ингибиторов. Точно так же доставка полинуклеотидов или полипептидов будет специфической для конкретных клеток, состояний, местоположений и т.д. Предпочтительными специфическими активностями для радиоактивно меченных антител могут колебаться от 0,1 до 10 мКи/мг белка ((Riva et al., Clin. Cancer Res. 5:3275-3280, 1999; Ulaner et al, 2008 Radiology 246(3): 895-902).

Другим предпочтительным вариантом выполнения настоящего изобретения является:

1. Выделенное антитело ли его антиген-связывающий фрагмент, специфически связывающееся с человеческой CEACAM6 и CEACAM6 *Macaca fascicularis*.

2. Выделенное антитело ли его антиген-связывающий фрагмент, специфически связывающееся со зрелым внеклеточным доменом человеческой CEACAM6 (представлен аминокислотами в положении 35-320 согласно SEQ-ID No: 179) и со зрелым внеклеточным доменом CEACAM6 *Macaca fascicularis* (представлен аминокислотами в положении 35-320 согласно SEQ-ID No: 177).

3. Выделенное антитело ли его антиген-связывающий фрагмент, специфически связывающееся с доменом 1 человеческой CEACAM6 (представлена аминокислотами 35-142 согласно SEQ-ID NO: 179), и с доменом 1 CEACAM6 *Macaca fascicularis* (представлен аминокислотами 35-142 согласно SEQ-ID NO: 177).

4. Выделенное антитело ли его антиген-связывающий фрагмент, специфически связывающееся с белком, содержащим домен 1 человеческой CEACAM6 (представлен аминокислотами 35-142 согласно SEQ-ID NO: 179), и белком, содержащим домен 1 CEACAM6 *Macaca fascicularis* (представлен аминокислотами 35-142 согласно SEQ-ID NO: 177).

5. Антитело или его антиген-связывающий фрагмент по любому из предшествующих вариантов выполнения настоящего изобретения 1-4, которое не реагирует перекрестно в значительной степени с человеческой CEACAM1, человеческой CEACAM3, и человеческой CEACAM5.

6. Антитело или его антиген-связывающий фрагмент по любому из предшествующих вариантов выполнения настоящего изобретения 1-5 способное связываться с человеческой CEACAM6 и CEACAM6 *Macaca fascicularis*, или его зрелый внеклеточный домен, или его домен 1, и аффинности находятся в пределах одного порядка моновалентной K_D .

7. Антитело или его антиген-связывающий фрагмент по любому из предшествующих вариантов выполнения настоящего изобретения, которое является конкурентоспособным для связывания с 9A6 антителом (Genovac/Aldevron) на человеческой CEACAM6.

8. Антитело или его антиген-связывающий фрагмент по любому из предшествующих вариантов выполнения настоящего изобретения, которое препятствует взаимодействию CEACAM6 и CEACAM1.

9. Антитело или его антиген-связывающий фрагмент по любому из предшествующих вариантов выполнения настоящего изобретения, которое способно изменять цитокиновый профиль специфичных к опухолевому антигену Т клеток в направлении более активированного фенотипа, характеризующегося увеличением секреции IFN-гамма, предпочтительно в $\geq 1,5$ раз (1,5 раз или более) по сравнению с контрольными образцами.

10. Антитело или его антиген-связывающий фрагмент по любому из предшествующих вариантов выполнения настоящего изобретения, которое способно индуцировать иммуномодуляцию.

11. Антитело или его антиген-связывающий фрагмент по любому из предшествующих вариантов выполнения настоящего изобретения, которое способно понижать СЕАСАМ6-опосредованное иммуноподавление специфичных к опухолевому антигену Т клеток, как измерено либо секрецией IFN-гамма специфичных к опухолевому антигену Т клеток, либо числом IFN-гамма-секретирующих активированных Т клеток.

12. Антитело или его антиген-связывающий фрагмент по любому из предшествующих вариантов выполнения настоящего изобретения, которое способно изменять цитокиновый профиль специфичных к опухолевому антигену Т клеток в направлении более цитотоксичного/или активированного фенотипа, характеризующегося увеличением секреции IFN-гамма и/или IL-2 и/или TNF-альфа, предпочтительно в $\geq 1,5$ раз (1,5 раз или более), увеличением секреции IFN-гамма и/или IL-2 и/или TNF-альфа по сравнению с контрольными образцами.

13. Антитело или его антиген-связывающий фрагмент по любому из предшествующих вариантов выполнения настоящего изобретения, которое связывается с эпитопом человеческой СЕАСАМ6, где указанный эпитоп содержит один или более аминокислотных остатков, выбранных из группы, состоящей из Gln60, Asn61, Arg62, Ile63, Val83, Ile84, Gly85, Thr90, Ser127, Asp128 и Leu129 последовательности SEQ ID NO: 179.

14. Антитело или его антиген-связывающий фрагмент согласно варианту выполнения настоящего изобретения 13, который связывается с эпитопом человеческой СЕАСАМ6, где указанный эпитоп содержит аминокислотные остатки Gln60, Asn61, Arg62, Ile63, Val83, Ile84, Gly85, Thr90, Ser127, Asp128 и Leu129 последовательности SEQ ID NO: 179.

15. Антитело или его антиген-связывающий фрагмент согласно варианту выполнения настоящего изобретения 13 или 14, которое связывается с белком человеческой СЕАСАМ6, содержащим Ile63Leu мутацию, и которое не связывается с белком человеческой СЕАСАМ6, содержащим Ile63Phe мутацию, согласно нумерации SEQ ID NO: 179.

16. Антитело или его антиген-связывающий фрагмент по любому из предшествующих вариантов выполнения настоящего изобретения, содержащее:

i. антиген-связывающую область тяжелой цепи, которая содержит H-CDR1, содержащий SEQ ID NO: 48, H-CDR2, содержащий SEQ ID NO: 49, и H-CDR3, содержащий SEQ ID NO: 50, и антиген-связывающую область легкой цепи, которая содержит L-CDR1, содержащий SEQ ID NO: 52, L-CDR2, содержащий SEQ ID NO: 53, и L-CDR3, содержащий SEQ ID NO: 54, или

ii. антиген-связывающую область тяжелой цепи, которая содержит H-CDR1, содержащий SEQ ID NO: 106, H-CDR2, содержащий SEQ ID NO: 107, и H-CDR3, содержащий SEQ ID NO: 108, и антиген-связывающую область легкой цепи, которая содержит L-CDR1, содержащий SEQ ID NO: 110, L-CDR2, содержащий SEQ ID NO: 111, и L-CDR3, содержащий SEQ ID NO: 112, или

iii. антиген-связывающую область тяжелой цепи, которая содержит H-CDR1, содержащий SEQ ID NO: 4, H-CDR2, содержащий SEQ ID NO: 5, и H-CDR3, содержащий SEQ ID NO: 6, и антиген-связывающую область легкой цепи, которая содержит L-CDR1, содержащий SEQ ID NO: 8, L-CDR2, содержащий SEQ ID NO: 9, и L-CDR3, содержащий SEQ ID NO: 10, или

iv. антиген-связывающую область тяжелой цепи, которая содержит H-CDR1, содержащий SEQ ID NO: 34, H-CDR2, содержащий SEQ ID NO: 35, и H-CDR3, содержащий SEQ ID NO: 36, и антиген-связывающую область легкой цепи, которая содержит L-CDR1, содержащий SEQ ID NO: 38, L-CDR2, содержащий SEQ ID NO: 39, и L-CDR3,

содержащий SEQ ID NO: 40, или

v. антиген-связывающую область тяжелой цепи, которая содержит H-CDR1, содержащий SEQ ID NO: 120, H-CDR2, содержащий SEQ ID NO: 121, и H-CDR3, содержащий SEQ ID NO: 122, и антиген-связывающую область легкой цепи, которая
5 содержит L-CDR1, содержащий SEQ ID NO: 124, L-CDR2, содержащий SEQ ID NO: 125, и L-CDR3, содержащий SEQ ID NO: 126, или

vi. антиген-связывающую область тяжелой цепи, которая содержит H-CDR1, содержащий SEQ ID NO: 24, H-CDR2, содержащий SEQ ID NO: 25, и H-CDR3, содержащий
10 SEQ ID NO: 26, и антиген-связывающую область легкой цепи, которая содержит L-CDR1, содержащий SEQ ID NO: 28, L-CDR2, содержащий SEQ ID NO: 29, и L-CDR3, содержащий SEQ ID NO: 30, или

vii. антиген-связывающую область тяжелой цепи, которая содержит H-CDR1, содержащий SEQ ID NO: 76, H-CDR2, содержащий SEQ ID NO: 77, и H-CDR3, содержащий
15 SEQ ID NO: 78, и антиген-связывающую область легкой цепи, которая содержит L-CDR1, содержащий SEQ ID NO: 80, L-CDR2, содержащий SEQ ID NO: 81, и L-CDR3, содержащий SEQ ID NO: 82, или

viii. антиген-связывающую область тяжелой цепи, которая содержит H-CDR1, содержащий SEQ ID NO: 134, H-CDR2, содержащий SEQ ID NO: 135, и H-CDR3, содержащий
20 SEQ ID NO: 136, и антиген-связывающую область легкой цепи, которая содержит L-CDR1, содержащий SEQ ID NO: 138, L-CDR2, содержащий SEQ ID NO: 139, и L-CDR3, содержащий SEQ ID NO: 140, или

ix. антиген-связывающую область тяжелой цепи, которая содержит H-CDR1, содержащий SEQ ID NO: 148, H-CDR2, содержащий SEQ ID NO: 149, и H-CDR3, содержащий
25 SEQ ID NO: 150, и антиген-связывающую область легкой цепи, которая содержит L-CDR1, содержащий SEQ ID NO: 152, L-CDR2, содержащий SEQ ID NO: 153, и L-CDR3, содержащий SEQ ID NO: 154, или

x. антиген-связывающую область тяжелой цепи, которая содержит H-CDR1, содержащий SEQ ID NO: 14, H-CDR2, содержащий SEQ ID NO: 15, и H-CDR3, содержащий
30 SEQ ID NO: 16, и антиген-связывающую область легкой цепи, которая содержит L-CDR1, содержащий SEQ ID NO: 18, L-CDR2, содержащий SEQ ID NO: 19, и L-CDR3, содержащий SEQ ID NO: 20, или

xi. антиген-связывающую область тяжелой цепи, которая содержит H-CDR1, содержащий SEQ ID NO: 62, H-CDR2, содержащий SEQ ID NO: 63, и H-CDR3, содержащий
35 SEQ ID NO: 64, и антиген-связывающую область легкой цепи, которая содержит L-CDR1, содержащий SEQ ID NO: 66, L-CDR2, содержащий SEQ ID NO: 67, и L-CDR3, содержащий SEQ ID NO: 68, или

xii. антиген-связывающую область тяжелой цепи, которая содержит H-CDR1, содержащий SEQ ID NO: 92, H-CDR2, содержащий SEQ ID NO: 93, и H-CDR3, содержащий
40 SEQ ID NO: 94, и антиген-связывающую область легкой цепи, которая содержит L-CDR1, содержащий SEQ ID NO: 96, L-CDR2, содержащий SEQ ID NO: 97, и L-CDR3, содержащий SEQ ID NO: 98.

17. Антитело или его антиген-связывающий фрагмент по любому из предшествующих вариантов выполнения настоящего изобретения, содержащее:

i. вариабельную последовательность тяжелой цепи, как представлено SEQ ID NO: 47, и вариабельную последовательность легкой цепи, как представлено SEQ ID NO: 51,
45 или

ii. вариабельную последовательность тяжелой цепи, как представлено SEQ ID NO: 105, и вариабельную последовательность легкой цепи, как представлено SEQ ID NO:

109, или

iii. вариабельную последовательность тяжелой цепи, как представлено SEQ ID NO: 3, и вариабельную последовательность легкой цепи, как представлено SEQ ID NO: 7, или

5 iv. вариабельную последовательность тяжелой цепи, как представлено SEQ ID NO: 33, и вариабельную последовательность легкой цепи, как представлено SEQ ID NO: 37, или

v. вариабельную последовательность тяжелой цепи, как представлено SEQ ID NO: 119, и вариабельную последовательность легкой цепи, как представлено SEQ ID NO: 123, или

vi. вариабельную последовательность тяжелой цепи, как представлено SEQ ID NO: 23, и вариабельную последовательность легкой цепи, как представлено SEQ ID NO: 27, или

vii. вариабельную последовательность тяжелой цепи, как представлено SEQ ID NO: 75, и вариабельную последовательность легкой цепи, как представлено SEQ ID NO: 79, или

viii. вариабельную последовательность тяжелой цепи, как представлено SEQ ID NO: 133, и вариабельную последовательность легкой цепи, как представлено SEQ ID NO: 137, или

ix. вариабельную последовательность тяжелой цепи, как представлено SEQ ID NO: 147, и вариабельную последовательность легкой цепи, как представлено SEQ ID NO: 151, или

x. вариабельную последовательность тяжелой цепи, как представлено SEQ ID NO: 13, и вариабельную последовательность легкой цепи, как представлено SEQ ID NO: 17, или

xi. вариабельную последовательность тяжелой цепи, как представлено SEQ ID NO: 61, и вариабельную последовательность легкой цепи, как представлено SEQ ID NO: 65, или

xii. вариабельную последовательность тяжелой цепи, как представлено SEQ ID NO: 91, и вариабельную последовательность легкой цепи, как представлено SEQ ID NO: 95.

18. Антитело по любому из предшествующих вариантов выполнения настоящего изобретения, которое представляет собой IgG антитело.

19. Антитело согласно варианту выполнения настоящего изобретения 18, содержащее:

i. область тяжелой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 57, и область легкой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 58, или

ii. область тяжелой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 115, и область легкой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 116, или

iii. область тяжелой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 43, и область легкой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 44, или

iv. область тяжелой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 129, и область легкой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 130, или

v. область тяжелой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 85, и область легкой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 86, или

vi. область тяжелой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 143, и область легкой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 144, или

vii. область тяжелой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 157, и область легкой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 158, или

viii. область тяжелой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 71, и область легкой цепи,

соответствующую SEQ ID NO: 72, или

ix. область тяжелой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 101, и область легкой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 102.

20. Антиген-связывающий фрагмент согласно вариантам выполнения настоящего изобретения 1-17, который представляет собой scFv, Fab, Fab' фрагмент или F(ab')₂ фрагмент.

21. Антитело или его антиген-связывающий фрагмент по любому из предшествующих вариантов выполнения настоящего изобретения, которое представляет собой моноклональное антитело или антиген-связывающий фрагмент.

22. Антитело или его антиген-связывающий фрагмент по любому из предшествующих вариантов выполнения настоящего изобретения, которое представляет собой человеческое, гуманизованное или химерное антитело или его антиген-связывающий фрагмент.

23. Конъюгат антитело-лекарственное средство, содержащий антитело или его антиген-связывающий фрагмент по любому из вариантов выполнения настоящего изобретения 1-22.

24. Выделенная последовательность нуклеиновой кислоты, которая кодирует антитело или его антиген-связывающий фрагмент по любому из вариантов выполнения настоящего изобретения 1-22.

25. Вектор, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты согласно варианту выполнения настоящего изобретения 24.

26. Выделенная клетка, экспрессирующая антитело или его антиген-связывающий фрагмент по любому из вариантов выполнения настоящего изобретения 1-22 и/или содержащая нуклеиновую кислоту согласно варианту выполнения настоящего изобретения 24 или вектор согласно варианту выполнения настоящего изобретения 25.

27. Выделенная клетка согласно варианту выполнения настоящего изобретения 26, где указанной клеткой является прокриотическая или эукариотическая клетка.

28. Способ получения антитела или его антиген-связывающего фрагмента по любому из вариантов выполнения настоящего изобретения 1-22, включающий культивирование клетки согласно варианту выполнения настоящего изобретения 27 и очистку антитела или его антиген-связывающего фрагмента.

29. Антитело или его антиген-связывающий фрагмент по любому из вариантов выполнения настоящего изобретения 1-22 или конъюгат антитело-лекарственное средство согласно варианту выполнения настоящего изобретения 23 для применения в качестве лекарственного средства.

30. Антитело или его антиген-связывающий фрагмент по любому из вариантов выполнения настоящего изобретения 1-22 или конъюгат антитело-лекарственное средство согласно варианту выполнения настоящего изобретения 23 для применения в качестве диагностического средства.

31. Антитело или его антиген-связывающий фрагмент по любому из вариантов выполнения настоящего изобретения 1-22 или конъюгат антитело-лекарственное средство согласно варианту выполнения настоящего изобретения 23 для применения в качестве лекарственного средства для лечения рака.

32. Антитело или его антиген-связывающий фрагмент по любому из вариантов выполнения настоящего изобретения 1-22 или конъюгат антитело-лекарственное средство согласно варианту выполнения настоящего изобретения 23 для получения лекарственного средства для лечения заболевания.

33. Антитело или его антиген-связывающий фрагмент по любому из вариантов

выполнения настоящего изобретения 1-22 или конъюгат антитело-лекарственное средство согласно варианту выполнения настоящего изобретения 23 для получения лекарственного средства для лечения рака.

34. Фармацевтическая композиция, содержащая антитело или его антиген-связывающий фрагмент по любому из вариантов выполнения настоящего изобретения 1-22 или конъюгат антитело-лекарственное средство согласно варианту выполнения настоящего изобретения 23.

35. Комбинация фармацевтической композиции согласно варианту выполнения настоящего изобретения 34 и одного или более терапевтически активных соединений.

36. Способ лечения заболевания или состояния, связанных с нежелательным присутствием СЕАСАМ6, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества фармацевтической композиции согласно варианту выполнения настоящего изобретения 34 или комбинацию согласно варианту выполнения настоящего изобретения 35.

37. Способ получения анти-СЕАСАМ6 антител, специфически связывающихся с человеческой СЕАСАМ6 и СЕАСАМ6 *Macaca fascicularis*, где способ включает иммунизацию животного, предпочтительно мыши, белком, содержащим домен 1 СЕАСАМ6 яванской макаки, представленный аминокислотами 35-142 согласно SEQ-ID NO: 177, определяющим аминокислотную последовательность антител, специфически связывающихся с человеческой СЕАСАМ6 и СЕАСАМ6 яванских макак, с последующей необязательной гуманизацией или генерацией химерного антитела, и рекомбинантной экспрессией указанных антител.

Примеры

Настоящее изобретение далее описывается посредством следующих примеров.

Примеры приведены исключительно для иллюстрации изобретения со ссылкой на конкретные варианты осуществления. Эти примеры, иллюстрирующие некоторые конкретные объекты настоящего изобретения, не вносят ограничения или не ограничивают объем раскрытого изобретения.

Все примеры были выполнены с использованием стандартных методов, которые хорошо известны и являются стандартными для специалистов в данной области техники, за исключением случаев, иное описано подробно. Стандартные методы молекулярной биологии следующих примеров могут быть выполнены как описано в стандартных лабораторных руководствах, таких как Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd Ed.; Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1989.

Пример 1: Последовательности и инструменты получения СЕАСАМ6 макак
Обзор белковых последовательностей антигенов и применяемых ссылочных соединений приводится в Таблице 2:

Таблица 2: Название, белок-ID и SEQ-ID, применяемые в этом исследовании

Название	Белок-ID	Описание	SEQ-ID
человеческая CEACAM6	TPP-4639	полной длины	SEQ-ID NO:179
CEACAM6 Масаса fascicularis	TPP-4189	полной длины	SEQ-ID NO:177
человеческая CEACAM1	TPP-4185	полной длины	SEQ-ID NO:173
человеческая CEACAM3	TPP-4187	полной длины	SEQ-ID NO:175
человеческая CEACAM5	TPP-4188	полной длины	SEQ-ID NO:176
человеческая CEACAM8	TPP-4190	полной длины	SEQ-ID NO:178

Название	Белок-ID	Описание	SEQ-ID
человеческая CEACAM19	TPP-4186	полной длины	SEQ-ID NO:174
человеческая CEACAM6	TPP-1436	внеклеточный (зрелая форма) (R&D Systems 3934-CM)	SEQ-ID NO:162
человеческая CEACAM1	TPP-1437	внеклеточный (зрелая форма) (R&D Systems 2244-CM)	SEQ-ID NO:163
человеческая CEACAM3	TPP-2755	внеклеточный (зрелая форма) (Sino Biological Inc. 11933-H08H)	SEQ-ID NO:172
человеческая CEACAM5	TPP-1438	внеклеточный (зрелая форма) (R&D Systems 4128-CM)	SEQ-ID NO:164
Macaca mulatta CEACAM6-Xa-Fc-His	TPP-1306	внеклеточный (зрелая форма), слитый с Xa-Fc-His	SEQ-ID NO:161
Человеческая CEACAM6-Xa-Fc-His	TPP-1790	внеклеточный (зрелая форма), слитый с Xa-Fc-His	SEQ-ID NO:165
Человеческая CEACAM6-Dom1-MacMul-Xa-Fc-His	TPP-1791	внеклеточный (зрелая форма), слитый с Xa-Fc-His, Домен 1 замещен на соответствующий домен Macaca mulatta	SEQ-ID NO:166
Человеческая CEACAM6-Dom2-MacMul-Xa-Fc-His	TPP-1792	внеклеточный (зрелая форма), слитый с Xa-Fc-His, Домен 2 замещен на соответствующий домен Macaca mulatta	SEQ-ID NO:167
Человеческая CEACAM6-Dom3-MacMul-Xa-Fc-His	TPP-1793	внеклеточный (зрелая форма), слитый с Xa-Fc-His, Домен 3 замещен на соответствующий домен Macaca mulatta	SEQ-ID NO:168
Человеческая CEACAM6	APP-320	Внеклеточный (зрелая форма), полученный расщеплением Factor Xa TPP-1790	
Человеческая	TPP-1794	Домен 1, слитый с His	SEQ-ID NO:169

Название	Белок-ID	Описание	SEQ-ID
CEACAM6-Домен 1-His		(экспрессированный в E. coli)	
CEACAM6 Масаса fascicularis-Xa-Fc-His	TPP-2443	внеклеточный (зрелая форма), слитый с Xa-Fc-His	SEQ-ID NO:170
CEACAM6 Масаса fascicularis	APP-319	внеклеточный (зрелая форма), полученный расщеплением Factor Xa TPP-2443	
CEACAM6 Масаса fascicularis-Домен 1-Xa-Fc-His	TPP-2452	Домен 1, слитый с Xa-Fc-His	SEQ-ID NO:171
CEACAM6 Масаса fascicularis-Домен 1	APP-325	Домен 1, полученный расщеплением Factor Xa TPP-2452	
Neo201 (человеческий IgG1)	TPP-1173	на основе US20130189268	SEQ-ID NO:1 и SEQ-ID NO:2
Neo201 (человеческий IgG2)	TPP-3688	на основе US20130189268	SEQ-ID NO:89 и SEQ-ID:90
9A6 (мышинный IgG1)	TPP-1744	на основе Genovac/Aldevron (GM-0509)	
9A6 (химерный hIgG1)	TPP-1745	на основе Genovac/Aldevron (GM-0509)	
9A6 (химерный hIgG2)	TPP-3470	на основе Genovac/Aldevron (GM-0509)	

Белковые последовательности для человеческой CEACAM были получены из базы данных UniProtKB/TrEMBL: человеческая CEACAM6 (P40199), человеческая CEACAM1 (P13688), человеческая CEACAM3 (P40198), человеческая CEACAM5 (P06731), человеческая CEACAM8 (P31997), человеческая CEACAM 19 (Q7Z692). Также была доступна белковая последовательность (макаки-резус) CEACAM6 *Masaca mulatta* (F6YVW1). Последовательность белка *Masaca fascicularis* (яванские макаки) CEACAM6 была выведена из общедоступных нуклеотидных последовательностей путем: а) применения общих правил интрона/экзон слайсинга; б) сравнения с различными белковыми последовательностями обезьян/приматов и с) консервативности геномной структуры между человеком/ приматом/обезьяной. CEACAM6 яванских макак представлен TPP-4189.

Рекомбинантные внеклеточные домены CEACAM были получены из коммерческих источников или получены на месте. С этой целью внеклеточные домены были C-терминально дополнены сайтом расщепления Factor Xa, человеческим Fc фрагментом IgG1, а также His Tag, и экспрессировались в клетках HEK293 с использованием

стандартных методик временной трансфекции. Белки очищали от супернатанта клеточной культуры с помощью белка-А и эксклюзионной хроматографии по размеру. В случаях, когда Fc-часть необходимо удалить, белки отщепляли с помощью Factor Xa в соответствии с рекомендациями производителя (например, Factor Xa протеаза от Hematologic Technologies Inc. HTI No. HCXA-0060) и затем очищали с помощью белка-А и эксклюзионной хроматографии по размеру. В случаях, в которых биотинилированные белки необходимы, применяли коммерческий набор для биотинилирования (например, EZ-Link амин-PEG3-биотин от Pierce #21347), и степень биотинилирования определяли коммерческими наборами (например, Biotin Quantitation Kit от Pierce #28005).

Одиночный N-терминальный домен 1 человеческой CEACAM6 был получен как 6х His слитая белковая конструкция в E. coli BL21 DE3 с использованием pET28 вектора (Novagen). После индукции всю ночь с IPTG при 37°C рекомбинантный белок выделяют и повторно подвергают рефолдингу из телец включения. До рефолдинга тельца включения промыли в буфере Tris pH 8,5, содержащем 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, 0,1% Tween20, и солибилизировали в том же буфере, содержащем 8 M мочевины и без детергента. Раствор медленно разбавляли (1:10) в 50 mM CHES, pH 9,2, содержащем 500 mM аргинина, и инкубировали при 4°C в течение 16 часов. Очистка была достигнута путем стандартной хроматографии на никеле-NTA и эксклюзионной хроматографии по размерам в 30 mM Tris-буфере с pH 8,5, 150 mM NaCl на Superdex 75.

9A6 мышинное антитело IgG1 (GM-0509) было получено у Genovac и химеризовано с человеческим IgG1 и человеческим IgG2. Основой для белковой последовательности Neo201 как либо человеческого IgG1, либо человеческого IgG2 был источник US 20130189268. Все антитела экспрессировали в клетках HEK293 с использованием стандартных методик временной трансфекции и очищали от супернатанта клеточной культуры с помощью белка-А и эксклюзионной хроматографии по размеру.

Подходящие клеточные линии HeLa, экспрессировали различные рецепторы человеческой CEACAM полной длины. Поэтому были трансфицированы последовательности следующих рецепторов: человеческая CEACAM1 (TRP-4185), человеческая CEACAM3 (TRP-4187), человеческая CEACAM5 (TRP-4188), человеческая CEACAM6 (TRP-4639), человеческая CEACAM8 (TRP-4190), человеческая CEACAM19 (TRP-4186) или CEACAM6 яванских макаков (TRP-4189). Клеточная линия HeLa не эндогенно экспрессирует любой из этих рецепторов на поверхности, что было подтверждено FACS-анализом, и поверхностная экспрессия может быть обнаружена только после трансфекции соответствующего рецептора CEACAM. Вкратце, экспрессионные конструкции клонировали в векторы на основе UCOE (EMD Millipore Corporation) и трансфицировали в клетках HeLa. После селекции с помощью гигромицина, подходящие стабильные клоны были скринированы с помощью Вестерн-блоттинга полного клеточного лизата, а также FACS окрашивания клеточной поверхности, применяя подходящие антитела (человеческая CEACAM1: #MAB22441 от R&D Systems; человеческая CEACAM5: #MAB41281 от R&D Systems; человеческая CEACAM6: #MAB3934 от R&D Systems; человеческая CEACAM8: ab90294 от abcam; человеческая CEACAM 19: #NBP1-70494 от Novus; человеческая CEACAM3: AF4166 от R&D Systems; CEACAM6 яванских макаков: Neo201-hIgG1).

Пример 2: характеристика иммуномодуляции 9A6-mIgG1 антитела

9A6 антитело было описано в литературе как иммуномодулирующее (Witzens-Harig et al., Blood 2013 May 30; 121(22): 4493-503). Антитело было охарактеризовано в отношении его аффинности, его селективности в отношении других человеческих CEACAM, и перекрестной реакционной способности с CEACAM6 обезьян, его

специфического связывания с определенным доменом на CEACAM6, и его селективности в отношении других человеческих CEACAM.

Измерения аффинности с применением поверхностного плазмонного резонанса (SPR)

5 Эксперименты поверхностного плазмонного резонанса (SPR) для количественного анализа связывания выполнялись либо с использованием Biacore T100, Biacore T200, либо Biacore 4000 (GE Healthcare Biacore, Inc.), оснащенного Series S Sensor Chips CM5 (GE Healthcare Biacore, Inc.). Анализы связывания проводили при 25°C с помощью буфера для анализа HBS-EP + (10 mM HEPES, pH 7,4, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA, 0,05%
10 поверхностно-активного вещества P20). Антитела были захвачены анти-hIgG иммобилизованного антитела, ковалентно иммобилизованного на поверхности сенсорного чипа с помощью химии связывания аминов. Реагенты для связывания амина (1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимид гидрохлорид (EDC), N-гидроксисукцинимид (NHS), этаноламин-HCl, pH 8,5) использовали из набора Amine
15 Coupling Kit (GE Healthcare, код продукта BR-1000-50). Анти-hIgG, анти-mIgG иммобилизованные антитела и иммобилизационный буфер (10 mM ацетата натрия, pH 5,0) использовали из наборов Human Antibody Capture Kit (GE Healthcare, BR-1008-39) и Mouse Antibody Capture Kit (GE Healthcare, BR-1008-38), соответственно. Поверхность сенсорного чипа активировалась свежеприготовленным раствором 0,2 М EDC и 0,05
20 М NHS, пропускаемым через поверхность сенсорного чипа в течение 420 с при скорости потока 10 мкл/мин с последующей инъекцией анти-hIgG или анти-mIgG иммобилизованного антитела (растворенное до 25 мкг/мл в иммобилизационном буфере) в течение 180 с при скорости потока 5 мкл/мин. Избыток активированных групп блокировали одномолярным раствором этаноламина, инжестированным со скоростью потока 10 мкл/мин в течение 420 с.

Антигены CEACAM использовали в качестве аналита для определения значений K_D . Антитела захватывали в течение 20 с при скорости потока 10 мкл/мин перед каждой инъекцией аналита. Для определения кинетической аффинности различные концентрации между 1,56 и 200 нМ белка человеческой CEACAM1, человеческой CEACAM3,
30 человеческой CEACAM5, человеческой CEACAM6, CEACAM6 яванских макаков, домена 1 CEACAM6 яванских макаков в буфере для анализа (смотрите выше) инжестировали к захваченным антителам при скорости потока 60 мкл/мин в течение 3 минут, и диссоциацию контролировали в течение 10 минут.

Полученные сенсограммы были двуссылочными, то есть коррекция исходной ячейки
35 в строке с последующим вычитанием выборки буфера. Значения K_D рассчитывались на основе соотношения констант скорости диссоциации (k_d) и ассоциации (k_a), которые были получены с помощью глобально подобранных сенсограмм с моделью связывания Ленгмюра первого порядка 1:1, реализованной в программном обеспечении Biacore Evaluation (Biacore T100/T200/4000 Evaluation Software, GE Healthcare Biacore, Inc.).
40

"сэндвич" эксперименты конкуренции посредством SPR

"Сэндвич" эксперименты конкуренции посредством SPR осуществляли как указано выше с небольшими изменениями. Во-первых, каждое антитело, подлежащее анализу, было ковалентно иммобилизовано на поверхности сенсора через аминное связывание (подробности смотрите выше). Чтобы проверить, конкурирует ли другое антитело за
45 связывание с определенным антигеном CEACAM, соответствующий антиген захватывают инжестированием над иммобилизованным антителом, а второе антитело, которое должно быть протестировано на конкуренцию, сразу же затем инжестировали.

Если второе антитело связывается с антигеном, связанным первым антителом (+), оба антитела не проявляют конкуренции и наоборот, если связывание не наблюдается при инъекции второго антитела (-), оба антитела конкурируют за подобный эпитоп.

Исследования на основе картирования доменов с применением ELISA

5 Чтобы выяснить конкретную информацию об эпитопе, были сконструированы, экспрессированы и очищены несколько конструкций химерных доменов. Вкратце, последовательность человеческой CEACAM6 дикого типа была С-терминально слита с фрагментом Fc человеческого IgG1, экспрессирована в клетках HEK293, и очищена от супернатанта с помощью белка-A и эксклюзионной хроматографии по размеру
10 (TPP-1790). Для создания разных доменных химер человеческую последовательность одного одиночного домена была, следовательно, заменена соответствующей последовательностью *Macaca mulatta* (F6YVW1) в Fc-слитой человеческой CEACAM6. Это создало три различные доменные химеры hDom1-hDom2-mDom3 (TPP-1793), hDom1-mDom2-hDom3 (TPP-1792) и mDom1-hDom2-hDom3 (TPP-1791), вместе с Fc-слитой
15 конструкцией *Macaca mulatta* в качестве контроля (TPP-1306). Кроме того, для химер, одиночный домен 1 человеческой CEACAM6 был получен, как описано выше, из *E. coli* (TPP-1794).

Картирование доменной специфичности антитела осуществляли с применением анализа ELISA:

20 Для анализа ELISA Fc-слитые доменные химеры и одиночный домен 1 наносили на пластины Nunc MaxiSorb и блокировали с помощью раствора SmartBlock. После инкубации с серией концентраций IgG (1 нМ - 1000 нМ) в течение 1 ч, пластины промывали с помощью PBS/T. Анализ связанных конструкций IgG с доменом CEACAM6 был достигнут за счет обнаружения с помощью античеловеческий IgG (Fab
25 специфичного)-пероксидаза антитела (A0293, Sigma). Обнаружение флуоресценции проводили с помощью AmplexRed (A12222, Invitrogen) в соответствии со стандартными протоколами.

Анализ связывания на основе ELISA

Анализы ELISA использовали для характеристики связывания антител с различными
30 паралогами и ортологами CEACAM. Черные 384-луночные планшеты покрывали 25 мкл/лунка различных белковых препаратов CEACAM при 2 мкг/мл в буфере для покрытия (Candor) в течение 1 часа при 37°C. После промывки PBS/0,05% Tween-20 лунки блокировали с помощью 100% Smart Block (Candor) в течение одного часа при 37°C. После трех промывок с PBS/0,05% Tween-20 добавляли серию разведений антитела
35 в PBS/0.05% Tween-20/10% Smart Block в диапазоне от 2 мкг/мл до 2 нг/мл, и планшеты инкубировали в течение 1 часа при комнатной температуре. После трех промывок с PBS/0,05% Tween-20 добавляли соответствующее вторичное антитело. Для обнаружения белков с человеческим Fc, таким как TPP-1173, использовали анти-человеческий IgG HRP (Sigma АО 170) при разведении 1:10.000. Для обнаружения белков с мышинным Fc,
40 таким как TPP-1744, использовали анти-мышинный IgG HRP (ThermoScientific 31432) при разведении 1:10.000. PBS/0,05% Tween-20/10% Smart Block использовали в качестве буфера для разбавления. Планшеты инкубировали в течение 1 часа при комнатной температуре. После трех промывок пластины были проявлены с помощью Amplex Red (Life Technologies), и флуоресценция считывалась на длине волны излучения 590 нм.
45 Программное обеспечение GraphPad Prism 6.0 использовалось для расчета значений EC50 с использованием четырехпараметрической нелинейной кривой.

Результаты

Чтобы измерить моновалентное сродство 9A6 к человеческой CEACAM6 и оценить

его перекрестную реакционную способность по отношению к CEACAM6 макака, эксперименты SPR проводились, как описано выше. Результаты показаны в таблице 3:

Таблица 3: SPR анализ: моновалентной K_D (в нМ)

	Обозначение	Рекомбинантная человеческая CEACAM6 (R&D Systems; TPP-1436)	Рекомбинантная CEACAM6 масаса mulatta (TPP-1306)
9A6-mIgG1	TPP-1744	22	-
Neo201-hIgG1	TPP-1173	10	23

“-“: связывание не обнаружено

Как показано, 9A6-mIgG1 может связываться с высокой аффинностью (22 нМ) с рекомбинантной человеческой CEACAM6. Однако никакого связывания с CEACAM6 Масаса mulatta не обнаружено. Для сравнения также был протестирован Neo201-hIgG1. Это антитело проявляло высокую аффинность, связываясь с CEACAM6 как человека, так и макака. Таким образом, 9A6 демонстрирует высокую аффинность связывания с человеческой CEACAM6, но оно не является перекрестно реакционно способным с CEACAM6 макака.

Для картирования связывающего домена 9A6 на CEACAM6 связывание на разных химерах человека/обезьяны оценивали с помощью ELISA, как описано выше. Чтобы иметь возможность сравнить с Neo201-hIgG1 (TPP-1173), 9A6 был химеризован с человеческим IgG1 (TPP-1745). Результаты показаны в таблице 4:

Таблица 4: Анализ картирования доменов посредством анализа связывания ELISA

	TPP-#	Происхождение домена 1	Происхождение домена 2	Происхождение домена 3	9A6-hIgG1 (TPP-1745)	Neo201-hIgG1 (TPP-1173)
hWT	1790	человек	человек	человек	+	+
DOM1 MM	1791	M. mulatta	человек	человек	-	+
DOM2 MM	1792	человек	M. mulatta	человек	+	+
DOM3 MM	1793	человек	человек	M. mulatta	+	+
hDOM1	1794	человек	-	-	+	-
MM WT	1306	M. mulatta	M. mulatta	M. mulatta	-	+

“+” означает обнаружение связывания; “-” означает, что связывание не обнаружено

9A6 способен связываться с человеческой CEACAM6 дикого типа и с химерами, использующими домен 2 или 3 CEACAM6 *Macaca mulatta*. Однако он не связывается с химерой, использующей Домен 1 из CEACAM6 *Macaca mulatta* или CEACAM6 *Macaca mulatta* дикого типа. В соответствии с этим он способен связываться с одиночным доменом 1 человеческой CEACAM6. Напротив, Neo201-hIgG1 связывается со всеми протестированными формами, за исключением одиночного домена 1 человеческой CEACAM6. В заключение 9A6 связывается с N-терминальным доменом 1 человеческой CEACAM6.

Для обоснования результатов был проведен эксперимент на конкурирование за связывание, как указано выше. Результаты показаны в таблице 5.

Таблица 5: "сэндвич" эксперименты конкуренции посредством SPR на рекомбинантной человеческой CEACAM6 (R&D Systems, TPP-1436)

	9A6-mIgG1 (TPP-1744)	Neo201-hIgG1 (TPP-1173)
9A6-mIgG1 (TPP-1744)	-	+
Neo201-hIgG1 (TPP-1173)	+	-

Если второе антитело связывается с антигеном, связанным первым антителом (+), оба антитела не проявляют конкуренции, и наоборот, если не наблюдается связывания при введении второго антитела (-), оба антитела конкурируют за аналогичный эпитоп.

Как видно из таблицы 5, 9A6-mIgG1 и Neo201-hIgG1 не конкурируют друг с другом за связывание с человеческой CEACAM6. Это согласуется с опубликованным эпитопом Neo201, находящимся за пределами домена 1.

Чтобы проанализировать селективность 9A6 в отношении различных ортологов CEACAM6 и обеспечить сравнение с Neo201-hIgG1, 9A6 подвергали химеризации с hIgG1 (TPP-1745). В эксперименте по связыванию ELISA, проведенном, как описано выше, значения EC_{50} , перечисленные в таблице 6, были получены:

Таблица 6: Анализ селективности/перекрестной реакционной способности посредством ELISA связывания - EC_{50} значения в нМ

	TPP-	Человеческая CEACAM6 (TPP-1436)	Человеческая CEACAM3 (TPP-2755)	Человеческая CEACAM5 (TPP-1438)	CEACAM6 (APP-319) яванских макак
9A6-hIgG1	TPP-1745	0.09	-	-	-
Neo201-hIgG1	TPP-1173	0.11	-	0.09	1.35

"-" означает $EC_{50} > 10$ нМ

Высокая аффинность связывания 9A6 с человеческой CEACAM6 была подтверждена. В соответствии с экспериментами SPR с использованием CEACAM6 резус-макак, 9A6 также не связывается с CEACAM6 яванских макак. Это, однако, селективно для CEACAM6, поскольку не наблюдалось связывание с человеческой CEACAM3 или CEACAM5.

Напротив, Neo201-hIgG1 демонстрирует сходную высокую аффинность связывания с человеческой CEACAM6 и даже перекрестно реагирует с CEACAM6 яванских макак. Это происходит при уменьшенной селективности, так как он демонстрирует также высокую аффинность связывания с человеческой CEACAM5.

Пример 3: Выравнивание белковых последовательностей CEACAM

Зрелая внеклеточная форма человеческой CEACAM6 (аминокислоты 35-320 UniProtKB/Swiss-Prot: P40199.3) состоит из разных доменов: N-терминальной домен 1

(по данным www.uniprot.org аминокислоты 35-142 от UniProtKB/Swiss-Prot: P40199.3), домен 2 (в соответствии с www.uniprot.org аминокислоты 145-232 от UniProtKB/Swiss-Prot: P40199.3) и домен 3 (согласно www.uniprot.org аминокислоты 237- 314 от UniProtKB/Swiss-Prot: P40199.3). Поскольку целью было идентифицировать селективное антитело с высоким сродством к N-терминальному домену 1 CEACAM6, которое при этом является перекрестно-реагирующим с CEACAM6 яванских макак, была оценена вероятность объединения желаемых свойств в одной молекуле.

С этой целью белковая последовательность N-терминального домена 1 человеческой CEACAM6 сравнивалась с другими белками с использованием алгоритма Blastp (NCBI), используя стандартные установки для идентификации наиболее релевантных гомологов CEACAM6. (Частично) зрелые внеклеточные домены человеческой CEACAM6 (аминокислоты 35-320 из UniProtKB/Swiss-Prot: P40199.3), человеческой CEACAM 1 (аминокислоты 35-428 UniProtKB/Swiss-Prot: P13688.2), человеческой CEACAM3 (аминокислоты 35-155 из UniProtKB/Swiss-Prot: P40198.2), человеческой CEACAM5 (аминокислоты 35-417 из UniProtKB/Swiss-Prot: P06731.3) и CEACAM6 яванских макак (*Macaca fascicularis*) (аминокислоты 35-320 из TPP-4189) были выровнены с использованием "Global Alignment - Wilbur and Lipman (fast)" в программном обеспечении Phylosopher (Genedata). Выравнивание показано на Фиг. 1. Идентичность последовательности в процентах N-терминального домена 1 человеческой CEACAM6 с другими N-терминальными доменами (в соответствии с выравниванием) определялась с использованием программного обеспечения Vector NTI (Life Technologies). Эти результаты показаны в таблице 7.

Таблица 7: Процент идентичностей белковых последовательностей N-терминальных доменов различных CEACAM с N-терминальным доменом 1 человеческой CEACAM6.

	Идентичность последовательности N-терминальных доменов с N-терминальным доменом 1 человеческой CEACAM6
Человеческая CEACAM6	(100%)
Человеческая CEACAM3	90%
Человеческая CEACAM1	90%
Человеческая CEACAM5	89%
CEACAM6 яванских макак	81%

Выравнивание последовательностей на Фиг. 1 показывает очень высокую степень подобия белковых последовательностей человеческой CEACAM6 и человеческой CEACAM3, человеческой CEACAM5 и человеческой CEACAM1 по всей внеклеточной области. Целевая область (домен 1 человеческой CEACAM6) особенно подобна другим CEACAM, что также отображено в Таблице 7.

Паралоги человеческой CEACAM6 намного более подобны человеческой CEACAM6, чем ортологу яванских макак. На самом деле, существует только 2 положения в N-терминальной области в первичной последовательности, которые идентичны в человеческой CEACAM6 и CEACAM6 яванских макак, но отличны от аминокислот в этом положении в других паралогах человека (отмечены на Фиг. 1 звездочками).

В заключение: очень сложно идентифицировать антитело с высокой аффинностью с N-терминальным доменом 1 человека CEACAM6, которое является селективным, но все же перекрестно-реакционноспособным с CEACAM6 макак.

Пример 4: антитела, полученные фаговым отображением

Для идентификации человеческого анти-CEACAM6 антитела различные отборы из Fab-фаговой библиотеки FAB-300 от DYAX были осуществлены, по существу, как описано ранее (Hoet et al., 2005; Huang et al., 2006). Как показано в Таблице 8, различные стратегии с до 4 серий отбора фагов применялись с использованием биотинилированной Fc-меченной рекомбинантной человеческой CEACAM6 и CEACAM6 яванских макак (TPP-1436 и TPP-2443), нанесенной на streptavidin-шарики, и опухолевой клеточной линии человека KPL-4 (Kurebayashi et al., Br J Cancer. 1999 Feb; 79 (5-6): 707-17), которая экспрессирует большое количество эндогенного целевого белка на поверхности клетки. Кроме того, истощение связывающего против CEACAM5 (TPP-1438; hC5) и CEACAM1 (TPP-1437; hC1) (нецелевание) или рекомбинантного человеческого IgG1-Fc (Fc) было включено, как указано, перед каждым отбором на белковые мишени. Например, в стратегии A после истощения на шариках, покрытых человеческой CEACAM1 (hC1), первая серия пэннинга была сделана на человеческой CEACAM6 (hC6). Полученный выход был разделен, и одна часть была использована для второй и третьей серий отбора на человеческой CEACAM6. Другая часть была использована для второй серии пэннинга на клетках KPL-4, третьей серии на человеческой CEACAM6 и финальной четвертой серии пэннинга на клетках KLP-4. В стратегии C проводили стадию оценки специфичности с использованием мышиного mAb 9A6-mIgG1 (TPP-1744).

Таблица 8: Стратегия фагового отбора: человеческий hC6 = TPP-1790; cynoC6 яванских макак = TPP-2443, hC1 = TPP-1438, hC5 = TPP-1437, Fc = рекомбинантный человеческий IgG1 Fc (R&D Systems #110-HG-100)

Стратегия:	A		B		C		D
серия 1	hC6		hC6		hC6		cynoC6
серия 2	hC6	KPL-4	hC6	KPL-4	hC6	KPL-4	hC6
серия 3	hC6	hC6	hC6	hC6	hC6	hC6	cynoC6
серия 4	-	KPL-4	-	KPL-4	-	KPL-4	hC6
истощение	hC1		hC1 и hC5		hC1		Fc
Оценка специфичности	-		-		9A6		-

Пулы фагов, обогащенные различными сериями отбора, подвергали скринингу для связывания с целевыми и нецелевыми с помощью Fab-фагового анализа ELISA, как описано (Hoet et al., Nat Biotechnol, 2005 Mar, 23 (3): 344-8) или FACS-анализа на клетках, экспрессирующих CEACAM6. Пулы фагов с благоприятным профилем были выбраны для удаления гена III и последующего ELISA-скрининга растворимого Fab в ELISA. ДНК полученных sFab-попаданий была секвенирована, а уникальные представители охарактеризованы на связывание клеток с помощью FACS-анализа на клетках KPL-4 (таблица 9). В некоторых вариантах фаговое связывающее согласно изобретению непосредственно повторно клонировали в IgG.

Таблица 9: FACS-титрование уникальных sFab-попований:

Белок-ID (как hlgG1)	FACS-титрование как sFab на KPL-4 клетках
TPP-1667	++
TPP-1668	+
TPP-1669	+
TPP-1670	+
TPP-1672	+
TPP-1673	+
TPP-1674	+
TPP-1676	+
TPP-1677	0
TPP-1678	0
TPP-1679	+++
TPP-1680	+
TPP-1684	0
TPP-1686	+

+++ : >1000 событий при ~2.2 мкг/мл sFab

++ : >100 событий при ~2.2 мкг/мл sFab

+: >100 событий при ~6.7 мкг/мл sFab

0: ниже пороговой величины

Связывание выбранных фаговых отображений, очищенных фрагментов Fab (смотрите перечень в Таблице 9) с биотинилированными вариантами человеческой CEACAM1 (TPP-1437), человеческой CEACAM5 (TPP-1438) и человеческой CEACAM6 (TPP-1436) было проанализировано с помощью биослойной интерферометрии с использованием устройства Octet RED384 (Pall ForteBio Corp.). Биотинилированные антигены загружали в биосенсоры Стрептавидина (SA) (ForteBio Part номер 18-5019) и после базовой стадии уравнивания в буфере для анализа (PBS, дополненная 0,1% (мас./об.) BSA, 0,02% (об./об.) Tween20 и 0,05% (об./об.) азида натрия, ForteBio Part номер 18-5032), связывание Fabs, разбавленных в буфере для анализа, до конечной концентрации 200 нМ контролировали в течение 300 секунд с последующей фазой диссоциации, равной 300 секунд.

Соответствующие очищенные Fab фрагменты из Таблицы 9 также проявляли связывание с человеческой CEACAM6, но не с человеческой CEACAM5 или человеческой CEACAM1.

Чтобы проанализировать, конкурируют ли Fab с 9A6 за связывание с человеческой CEACAM6, был проведен конкурентный эксперимент. Здесь биотинилированная человеческая CEACAM6 (TPP-1436) загружался на биосенсоры SA, и ответы связывания Fab сравнивали с ответами связывания Fab, полученными с загруженной CEACAM6, насыщенной 9A6-mIgG1 (TPP-1744) (как описано в примере 1). Если ответ связывания в присутствии 9A6 значительно снижается или исключается, это свидетельствует о том,

что тестируемый Fab связывается с эпитопом, подобным эпитопу 9A6.

Неожиданно, все протестированные Fab были способны конкурировать с 9A6 за связывание с человеческой CEACAM6.

Fab последовательности были реформатированы в формат человеческой IgG1 для дальнейшей характеристики.

Аффинности (моновалентная K_D) реформатированных антител в отношении рекомбинантной человеческой CEACAM6 (TRP-1436) были определены посредством SPR, аналогично экспериментальным методикам, описанным в Примере 2.

Сенсорграммы были либо оценены глобально подобранными сенсограммами с моделью связывания Ленгмюра первого порядка 1:1, либо анализом статической стабильности, осуществленным в программном обеспечении Biacore Evaluation (Biacore T200/4000 Evaluation Software). Результаты показаны в Таблице 10:

Таблица 10: SPR анализ: моновалентная K_D (в нМ)

Белок-ID	K_D (в нМ)
TRP-1667	(750)
TRP-1668	(550)
TRP-1669	(185)
TRP-1670	(340)
TRP-1672	(580)
TRP-1673	(515)
TRP-1674	(600)
TRP-1676	(1980)
TRP-1677	(580)
TRP-1678	(300)
TRP-1679	76
TRP-1680	(870)
TRP-1684	(480)
TRP-1686	(310)
TRP-2968	слабое

значения в скобках: не точно определены в данных экспериментальных условиях, но достаточны для сравнения друг с другом

Как очевидно из Таблицы 10, антитела показали довольно низкие моновалентные аффинности, причем самым низким значением (самая высокая аффинность) является 76 нМ для TRP-1679. Три IgG, проявляющие самые высокие моновалентные аффинности, были проанализированы в отношении их селективности и перекрестной реакционной способности с CEACAM6 яванских макак в эксперименте связывания ELISA (проводили аналогично протоколу, приведенному в Примере 2)

Таблица 11: Анализ селективности/перекрестной реакционной способности путем связывания ELISA: EC₅₀ значения в нМ

TPP-	Человеческая СЕАСАМ6 (TPP-1436)	Человеческая СЕАСАМ3 (TPP-2755)	Человеческая СЕАСАМ5 (TPP-1438)	СЕАСАМ6 (APP-319) яванских макак
TPP-1679	0.16	2.24	0.86	-
TPP-1669	0.22	-	1.01	-
TPP-1678	0.19	-	-	42.74

“-“ означает EC₅₀ > 10 нМ (в случае СЕАСАМ6 яванских макак > 100 нМ)

Подводя итог, были получены антитела с довольно плохими моновалентными аффинностями. Это может быть компромиссное ухудшение из-за отсутствия связывания к другим паралограм. Тем не менее, профиль селективности часто является недостаточным (смотрите TPP-1679 и TPP-1669 в таблице 11). Из всех протестированных антител TPP-1678 является единственной с очень несущественной перекрестной реакционной способностью с рекомбинантной СЕАСАМ6 яванских макак (смотрите Таблица 11).

В заключение не было получено никаких терапевтически полезных анти-СЕАСАМ6 антител с использованием фагового отображения без дальнейшего созревания.

Пример 5: Созревание антител, полученных в результате фагового отображения

Чтобы получить антитела с желаемыми профилями аффинности, селективности и перекрестной реакционной способности, некоторые антитела, полученные в результате фагового отображения, были антителами с созревшей аффинностью.

Поэтому, все CDR аминокислотные положения TPP-1669, TPP-1678 и TPP-1679 были рандомизированы по отдельности. Полученные варианты были экспрессированы и оценены на связывания с несколькими членами семейства СЕАСАМ (человеческая СЕАСАМ6, СЕАСАМ6 яванских макак, человеческая СЕАСАМ3 и человеческая СЕАСАМ5) путем связывания ELISA в клеточных супернатантах.

Для TPP-1669 индивидуальные мутации, усиливающие связывание с СЕАСАМ6 яванских макак без одновременного усиления связывания с другими членами семейства СЕАСАМ человека, не могли быть идентифицированы.

Для TPP-1679 было идентифицировано несколько отдельных мутаций, которые усиливали связывание с человеческой СЕАСАМ6 без сопутствующего усиления связывания с другими членами семейства СЕАСАМ человека, и была создана библиотека рекомбинаций, содержащая все возможные пермутации. Соответствующие варианты были экспрессированы в виде изотипов человеческого IgG2, очищены и оценены на связывание с многими членами семейства СЕАСАМ с помощью SPR, аналогично экспериментальным методикам, описанным в Примере 2. Таблица 12 суммирует свойства выбранных антител, полученных этим способом.

Таблица 12: SPR анализ: моновалентная K_D (в нМ)

	Человеческая CEACAM6 (R&D Systems; TPP-1436)	СЕАСАМ6 яванских макак (APP- 319; (TPP- 2443 отщеплен)	Человеческая CEACAM5 (R&D Systems; TPP-1438)	Человеческая CEACAM3 (Sino Biological; TPP-2755)	Человеческая CEACAM1 (R&D Systems; TPP-1437)
TPP-3399	9	-	слабое	слабое	-
TPP-3400	6	слабое	слабое	-	-
TPP-3401	16	-	(94)	-	-
TPP-3402	18	-	(172)	-	-
TPP-3403	13	слабое	(144)	-	-
TPP-3404	11	(363)	(138)	-	-
TPP-3405	14	(522)	(126)	слабое	-
TPP-3406	(15)	-	-	-	-
TPP-3407	(12)	-	-	слабое	-
TPP-3408	(27)	-	-	-	-

значения в скобках: не точно определены в данных экспериментальных условиях

“-”: связывание не определено в данных экспериментальных условиях

“слабое ”: если не более двух самых высоких анализируемых концентраций аналитов (то есть 100 и 200 нМ) привели к сигналу связывания между трех раз от отношения сигнал/шум и 20% от теоретического максимума связывания ($R_{\max_{\text{теоретическ}}}$)

Результаты, полученные в Таблице 12, показывают, что улучшение аффинности и селективности вполне возможно. Однако это также подчеркивает проблему получения перекрестно-реактивных связующих с СЕАСАМ6 яванских макаков, которые по меньшей мере находятся в одном порядке величины относительно моновалентной аффинности к человеческой СЕАСАМ6.

Для TPP-1678 было идентифицировано несколько отдельных мутаций, которые улучшали связывание с человеческой СЕАСАМ6 и СЕАСАМ6 яванских макаков без большего сопутствующего усиленного связывания с другими членами семейства СЕАСАМ человека, и была создана библиотека рекомбинации, содержащая несколько пермутаций. Соответствующие варианты были экспрессированы в виде изотипов человеческого IgG2, очищены и оценены на связывание с несколькими членами семейства СЕАСАМ с помощью SPR аналогично экспериментальным методикам, описанным в примере 2 (суммированы в таблице 13).

Связывающие характеристики этих антител также определяли с помощью связывания

ELISA (моновалентное связывание, биотинилированные белки CEACAM): Разведение 1: 440 анти-человеческого IgG (Sigma, I2136) в буфере для покрытия (Candor) использовали для покрытия черных 384-луночных планшетов Maxisorp (Nunc) в течение 1 часа при 37°C. После одной промывки PBS/0,05% Tween-20 планшеты блокировали 100% SmartBlock (Candor) в течение 1 часа при 37°C. После трех промывок на планшет добавляли 2 мкг/мл соответствующих антител в PBS/0,05% Tween-20/10% SmartBlock. Планшеты инкубировали в течение 1 часа при комнатной температуре. После трех промывок добавляли серию разведений соответствующих биотинилированных белков CEACAM в PBS/0,05% Tween-20/10% SmartBlock, и планшеты инкубировали в течение одного часа при комнатной температуре. После трех промывок добавляли 1 мкг/мл стрептавидин-пероксидазы (Sigma, S5512) в PBS/0,05% Tween-20/10% SmartBlock, и планшеты инкубировали в течение 30 минут при комнатной температуре. После трех промывок планшеты проявляли с помощью Amplex Red (Life Technologies), и флуоресценция считывалась при длине волны излучения 590 нм. Программное обеспечение GraphPad Prism 6.0 использовалось для расчета значений EC₅₀ с использованием четырехпараметрической нелинейной кривой.

Варианты с существенно улучшенным профилем связывания, селективности и перекрестной реакционной способности были идентифицированы как суммировано в таблице 13 и таблице 14 для выбранных антител, полученных этим способом.

Таблица 13: SPR анализ: моновалентная K_D (в нМ)

	Человеческая CEACAM6 (R&D Systems; TPP-1436)	CEACAM6 макак (APP-319; (TPP-2443 cleaved)	Человеческая CEACAM5 (R&D Systems; TPP-1438)	Человеческая CEACAM3 (Sino Biological; TPP-2755)	Человеческая CEACAM1 (R&D Systems; TPP-1437)
TPP-3705	28	32	-	-	-
TPP-3707	28	32	-	-	-
TPP-3708	3	5	-	слабое	(158)
TPP-3709	8	20	-	-	(408)

значения в скобках: не точно определены в данных экспериментальных условиях

“-”: связывание не обнаружено в данных экспериментальных условиях

“слабое ”: если не более двух самых высоких анализируемых концентраций аналитов (то есть 100 и 200 нМ) привели к сигналу связывания между трех раз от отношения сигнал/шум и 20% от теоретического максимума связывания (R_{max}_{теоретическ.})

Таблица 14: анализ селективности/перекрестной реакционной способности посредством связывания ELISA: EC₅₀ значения в нМ

TPP-	Человеческая CEACAM6 (R&D Systems TPP-1436 биотинили- рованный)	СЕАСАМ6 яванских макак (APP-319- биотинили- рованный)	Человеческая CEACAM1 (R&D Systems TPP-1437 биотинили- рованный)	Человеческая CEACAM3 (Sino Biological Inc. TPP- 2755 биотинили- рованный)	Человеческая CEACAM5 (R&D Systems TPP-1438 биотинили- рованный)
TPP-3705	0.18	0.12	~ 3.82 x 10 ⁶ (неточная подгонка)	113.04	-
TPP-3707	0.19	0.11	~ 8.94 x 10 ⁵ (неточная подгонка)	139.18	-
TPP-3708	0.02	0.03	9.64	1.04	-
TPP-3709	0.04	0.07	36.53	4.68	-
TPP-3470 (9A6- hIgG2)	0.08	-	-	-	-

“-“ означает, что связывание не обнаружено вплоть до самых высоких протестированных концентраций (150 нг/мл для человеческой CEACAM6 и CEACAM6 яванских макак; 2000 нг/мл для человеческой CEACAM1, человеческой CEACAM3, человеческой CEACAM5)

В заключение, используя предшественник TPP-1678, удалось получить несколько высокоаффинных человеческих антител к человеческому CEACAM6, которые действительно перекрестно реагируют с CEACAM6 яванских макак и являются селективными по отношению к CEACAM6: связывание TPP-3707 с человеческой CEACAM6 происходит примерно в 730 раз лучше, чем с человеческой CEACAM3 (620-кратное для TPP-3705), судя по сравнению их соответствующих значений EC₅₀.

Пример 6: Получение антитела посредством мышинной иммунизации

Для получения мышинных моноклональных антител против CEACAM6 были проведены две различные стратегии иммунизации на основе последовательности иммуногенов, применяемых к Balb/c мышам (стратегия А и В в таблице 15). В рамках каждой стратегии мышей иммунизировали либо через лапу, либо путем внутрибрюшинного применения антигенов в ходе 5 серий инъектирования, как показано в таблице 15. Стратегия А была сосредоточена на иммунизации с помощью домена 1 CEACAM6 яванских макак, тогда как стратегия В была основана на сочетании внеклеточной CEACAM6 полной длины человека и яванских макак в качестве

иммуногенов.

Иммунизация с помощью лапы основывалась на 5 инъекциях 1 мкг антигена один раз в неделю. Иммунизация по внутрибрюшному пути была основана на 4 инъекциях 10 мкг антигена, а затем одна внутривенная бустер-инъекция.

Таблица 15: Схема иммунизации

	Стратегия А		Стратегия В	
	иммунизация в лапу	Внутрибрюшная иммунизация	иммунизация в лапу	Внутрибрюшная иммунизация
1 ^{ая} инъекция	супоС6-D1 (APP-325)	супоС6-D1 (APP-325)	hC6 (APP-320)	hC6 (APP-320)
2 ^{ая} инъекция	супоС6-D1 (APP-325)	супоС6-D1 (APP-325)	СупоС6 (APP-319)	СупоС6 (APP-319)
3 ^{ая} инъекция	супоС6-D1 (APP-325)	супоС6-D1 (APP-325)	hC6 (APP-320)	hC6 (APP-320)
4 ^{ая} инъекция	супоС6-D1 (APP-325)	супоС6-D1 (APP-325)	СупоС6 (APP-319)	СупоС6 (APP-319)
5 ^{ая} инъекция	супоС6-D1 (APP-325)	супоС6-D1*(APP-325)	hC6 (APP-320) + СупоС6 (APP-319)	hC6 (APP-320) + СупоС6 (APP-319)*

*: внутривенная бустер-инъекция

Через четыре дня после последней инъекции клетки лимфатических узлов или селезенка мышей сливали в соответствии со стандартными методами (например, Köhler and Milstein Nature. 1975 Aug 7, 256 (5517): 495-7). Скрининг полученных гибридомных клонов проводили в ELISA с использованием биотинилированных антигенов и белков вне мишени (как указано в таблице 16). Более подробно микротитровальные планшеты были покрыты козьими антимышиными антителами всю ночь при 4°C. Планшеты на следующий день промывали и блокировали 5% BSA в течение 2 ч при комнатной температуре, а затем проводили еще одну стадию промывки. 20 мкл супернатантов гибридомы инкубировали с биотинилированными антигенами в течение 1 часа при комнатной температуре, и смеси переносили в покрытые лунки, с последующей стадией инкубации (1 ч при комнатной температуре). После промывки планшета анти-стрептавидин-HRP конъюгаты добавляли в течение 30 мин при комнатной температуре. Наконец, лунки промывали, и цветовая реакция была запущена путем добавления 50 мкл ТМВ и записана в планшетном ридере.

Таблица 16: Перечень белков, применяемых при ELISA-скрининг гибридом (целевые и нецелевые)

Целевые (все биотинилированные)	нецелевые(все биотинилированные)
Человеческая CEACAM-6 (TRP-1436)	hCEACAM1 (TRP-1437)
CEACAM6 яванских макак -Fc (TRP-2443)	hCEACAM5 (TRP-1438)
CEACAM6 яванских макак (APP-319) Fc отщеплен	

Удивительно, но только стратегия А привела к тому, что клоны показали благоприятный профиль в отношении перекрестной реакционной способности, а также селективности человеческой CEACAM6 и CEACAM6 яванских макак. Кроме того, некоторые виды специфических клонов были получены из обеих стратегий.

Кандидаты, выбранные положительно по ELISA, субклонировали за по меньшей мере 3 цикла клонирования и продуцировались в больших количествах из асцитной жидкости по хроматографии белка А.

Антитела из мышиноного иммунизации также характеризовались на связывание с CEACAM6 в клеточном контексте. HeLa-клетки, сверхэкспрессирующие человеческую CEACAM6 или CEACAM6 яванских макак, использовали в экспериментах FACS с супернатантами из гибридомы или очищенных mIgs (смотрите Пример 1).

Нетрансфицированные клетки HeLa служили отрицательным контролем. Таблица 17 обобщает профиль идентифицированных кандидатов из ELISA и FACS-анализа:

Таблица 17: Суммирование качественных результатов для связывания антител, полученных из мышиной гибридомы, с человеческой CEACAM6 и CEACAM6 яванских макак из ELISA (с использованием биотинилированных TRP-1436, TRP-2443 и APP-319) и FACS-анализа (с использованием трансфицированных клеток HeLa, смотрите Пример 1: TRP- 4639 и TRP-4189)

Белок-ID	Человеческая CEACAM6	CEACAM6 яванских макак
TRP-2969	связывание не обнаружено	связывание
TRP-2970	связывание не обнаружено	связывание
TRP-2971	связывание	связывание
TRP-3100	связывание	связывание
TRP-3187	связывание	связывание
TRP-3101	связывание	связывание
TRP-3186	связывание	связывание

Полученные мышинные антитела были более охарактеризованы в отношении их моновалентных аффинностей (K_D), их селективности по отношению к другим паралограм человека и степени их перекрестной реакционной способности к CEACAM6 яванских макак с помощью SPR-анализа в виде очищенных mIgG.

SPR проводили аналогично экспериментальным методикам, описанным в Примере 2.

Результаты суммированы в Таблице 18:

Таблица 18: SPR анализ: моновалентная K_D (в нМ)

	Человеческая CEACAM6 (R&D Systems; TPP-1436)	CEACAM6 яванских макак (APP-319; (TPP-2443 отщеплены)	CEACAM6 яванских макак Домен 1 (APP-325; TPP-2452 отщеплен)	Человеческая CEACAM5 (R&D Systems; TPP-1438)	Человеческая CEACAM3 (Sino Biological; TPP-2755)	Человеческая CEACAM1 (R&D Systems; TPP-1437)
TPP-2969	72	(109)	51	-	-	-
TPP-2970	72	56	47	-	-	-
TPP-2971	61	25	30	-	-	-
TPP-3100	79	n.t.	52	-	-	n.t.
TPP-3101	69	n.t.	13	(300)	слабое	n.t.
TPP-3186	74	n.t.	53	-	-	n.t.
TPP-3187	68	n.t.	42	-	-	n.t.

значения в скобках: не точно определены в данных экспериментальных условиях

“-”: связывание не обнаружено в данных экспериментальных условиях

“слабое ”: если не более двух самых высоких анализируемых концентраций аналитов (то есть 100 и 200 нМ) привели к сигналу связывания между трех раз от отношения сигнал/шум и 20% от теоретического максимума связывания ($R_{\text{max теоретическ.}}$)

n.t. – не протестировано

Наблюдались нерешенные расхождения для TPP-2969 и TPP-2970: при первоначальном анализе ELISA и FACS они были представлены специфическими для CEACAM6 яванских макак, тогда как в более позднем эксперименте SPR они проявляли также связывание с рекомбинантной человеческой CEACAM6.

5 Подводя итог: иммунизация мышей с помощью N-концевого домена 1 CEACAM6 яванских макак (APP-325) неожиданно дала некоторые антитела (например, TPP-3186, TPP-2971, TPP-3187), которые действительно являются перекрестно реакционно способными в отношении человеческой CEACAM6-CEACAM6 яванских макак и в то же время селективными в отношении других человеческих паралогов. Аффинности
10 находятся в подходящем диапазоне для терапевтических целей, но их мышинное происхождение и связанные с ним иммуногенные факторы исключают терапевтические применения у людей.

Пример 7: Гуманизация антител

Чтобы получить антитела, подходящие для терапевтических применений у людей,
15 выбранные мышинные антитела были гуманизированы.

Выбранные последовательности антител, полученных из мышинной гибридомы, определяли путем секвенирования кДНК антител соответствующих линий клеток гибридомы (см. Таблицу 17). Согласно результатам для последовательностей, TPP-3100 и TPP-3186 идентичны. TPP-3101 дал последовательность одной тяжелой цепи, но двух
20 легких цепей. TPP-2971 и TPP-3187 были очень похожи. Они отличались четырьмя аминокислотами (см. Фиг. 2).

Дешифрованные мышинные последовательности VH и VL антитела TPP-2971 и TPP-3187 были гуманизированы путем трансплантации CDR согласно определению Кэбота в каркасные структуры зародышевой линии человека. В качестве исключения HCDR2
25 был частично трансплантирован. Поскольку эта CDR является очень длинной (16 аминокислот) согласно определению Кэбота, трансплантировали только первые 9 аминокислот. Эти аминокислоты представляют собой часть HCDR2, которая идентична HCDR2 в соответствии с определением Chothia (для определений CDR согласно Kabat and Chothia смотрите: Andre C.R. Martin, "Protein sequence and structure analysis of antibody
30 variable domains" in Antibody Engineering (Springer Lab Manuals), Eds.: Duebel, S. and Kontermann, R., Springer-Verlag, Heidelberg).

Каркасы человеческих зародышевых линий были выбраны на основе поисков подобия частей FW1, FW2, FW3 и FW4 мышинного каркаса с набором человеческих VH и VL, а также последовательностей J-элемента зародышевой линии. Мышинные CDR были
35 трансплантированы в наилучшим образом совпадающие последовательности зародышевой линии (за исключением CDR), которыми были IGKV1-9*01 и IGKJ2*01 для VL (Идентичности 69.6%, FW1; 86.7%, FW2; 71.9%, FW3; 80.0%, FW4) и IGHV2-70*01 и IGHJ6*01 для VH ((Идентичности: 73.3% (TPP-2971) и 70.0% (TPP-3187), FW1; 85.7%, FW2; 71.9%, FW3; 90.9%, FW4)). Последовательности зародышевой линии, применяемые
40 в поисках сходства, были получены из набора данных VBASE2 (Retter I, Althaus HH, **Münch R, Müller W**: VBASE2, an integrative V gene database. Nucleic Acids Res. 2005 Jan 1; 33(Database issue): D671-4). Названия, присвоенные наиболее близким последовательностям зародышевой линии, были взяты из системы IMGT (Lefranc, M.-P., Giudicelli, V., Ginestoux, C., Jabado-Michaloud, J., Folch, G., Bellahcene, F., Wu, Y., Gemrot, E., Brochet, X., Lane, J., Regnier, L., Ehrenmann, F., Lefranc, G. and Duroux, P. IMGT®, the
45 international ImMunoGeneTics information system®. Nucl. Acids Res, 37, D1006-D1012 (2009); doi:10.1093/nar/gkn838)).

Были созданы два варианта гуманизированных последовательностей, полученных

из TPP-2971: TPP-3310 и TPP-3714. В VH TPP-3310 J элемент оставался неизменным по сравнению с мышинным родоначальником, тогда как в VH TPP-3714 J элемент был сделан полностью подобным человеческой зародышевой линии (см. Фиг. 3). В гуманизированных последовательностях не обнаружено сайтов гликозилирования или неспаренных цистеинов.

Кроме того, были созданы два варианта гуманизированных последовательностей, полученных из TPP-3187: TPP-3820 и TPP-3821 (см. Фиг. 4). По сравнению с TPP-3714, VH в TPP-3820 содержала треонин вместо серина в положении 30 в HFW1 и глицин вместо аланина в положении 46 в HFW2, тогда как VL содержала два аспарагиновых остатка вместо двух сериновых остатков в положениях 92 и 93 в LCDR3. Эти четыре аминокислотные замены отражают различия между последовательностями мышинного родоначальника TPP-3187 и TPP-2971.

Вариабельный домен VH в TPP-3821 идентично TPP-3714, тогда как VL содержала два аспарагиновых остатка вместо двух сериновых остатков в положениях 92 и 93 в LCDR3 по сравнению с TPP-3714. Эти две аминокислотные замены отражают различия в CDR между последовательностями мышинного родоначальника TPP-3187 и TPP-2971. В последовательностях TPP-3820 и TPP-3821 не обнаружено сайтов гликозилирования или неспаренных остатков цистеина.

Определение аффинности и «сэндвич» конкурентные эксперименты химеризованных и гуманизированных антител выполнялись посредством SPR аналогично экспериментальным методикам, описанным в Примере 2, и результаты приведены в Таблице 19 и Таблице 20:

Таблица 19: "сэндвич" эксперименты конкуренции посредством SPR на рекомбинантной человеческой CEACAM6 (R&D Systems, TPP-1436)

	TPP-3308 (hlgG2 химера TPP-2971)	TPP-3322 (hlgG2 химера TPP-3186)	TPP-3323 (hlgG2 химера TPP-3187)	TPP-3470 (hlgG2 химера 9A6)
TPP-3308 (hlgG2 химера TPP-2971)	-	-	-	-
TPP-3322 (hlgG2 химера TPP-3186)	-	-	-	-
TPP-3323 (hlgG2 химера TPP-3187)	-	-	-	-
TPP-3470 (hlgG2 химера 9A6)	-	-	-	-

Если второе антитело связывается с антигеном, связанным первым антителом (+), оба антитела не проявляют конкуренции и наоборот, если не наблюдается связывания при введении второго антитела (-), оба антитела конкурируют за подобный эпитоп.

Таблица 20: SPR анализ: моновалентная K_D (в нМ)

	Человеческая CEACAM6 (R&D Systems; TPP-1436)	СЕАСАМ6 яванских макак (APP-319; (TPP-2443 отщеплен)	Человеческая CEACAM5 (R&D Systems; TPP-1438)	Человеческая CEACAM3 (Sino Biological; TPP-2755)	Человеческая CEACAM1 (R&D Systems; TPP-1437)
TPP-3310	13	31	-	-	-
TPP-3714	13	27	-	-	-
TPP-3820	27	54	-	-	-
TPP-3821	24	49	-	-	-

“-“ означает, что связывание не обнаружено в данных экспериментальных условиях

Анализ селективности и перекрестной реакционной способности проводили путем связывания ELISA (моновалентные, биотинилированные белки CEACAM) по аналогии с протоколом, представленным в примере 5. Полученные результаты суммированы в таблице 21.

Таблица 21: Анализ селективности/перекрестной реакционной способности посредством связывания ELISA: EC_{50} значения в нМ

TPP-	Человеческая CEACAM6 (R&D Systems TPP-1436 биотинили- рованный)	СЕАСАМ6 яванских макак (APP-319- биотинили- рованный)	Человеческая CEACAM1 (R&D Systems TPP-1437 биотинили- рованный)	Человеческая CEACAM3 (Sino Biological Inc. TPP- 2755 биотинили- рованный)	Человеческая CEACAM5 (R&D Systems TPP-1438 биотинили- рованный)
TPP-3310	0.09	0.07	-	-	-
TPP-3714	0.09	0.07	-	-	-
TPP-3470 (hIgG2 химера 9A6	0.08	-	-	-	-

“-“ означает, что связывание не обнаружено вплоть до самых высоких протестированных концентраций (150 нг/мл для человеческой CEACAM6 и CEACAM6 яванских макак; 2000 нг/мл для человеческой CEACAM1, человеческой CEACAM3, человеческой CEACAM5)

Результаты в Таблице 19 показывают, что TPP-2971, TPP-3186 и TPP-3187 конкурируют за один и тот же или подобный эпитоп человеческой CEACAM6, как 9A6-hIgG2. Результаты в Таблице 20 и Таблице 21 подчеркивают высокую аффинность связывания с человеческой CEACAM6 и CEACAM6 яванских макак с истинной перекрестной реакционной способностью, будучи селективными по отношению к CEACAM6 и не связываются с паралогами CEACAM6.

В заключение, гуманизация была полностью успешной, при этом антитела проявляли еще более высокую аффинность, чем их мышинные предшественники, что позволяет терапевтическое применение у людей.

Пример 8: Селективное связывание CEACAM6 на клетках

Чтобы продемонстрировать связывание и селективность анти-CEACAM6 антитела к аутентичным антигенам, антитела были протестированы на связывание с нативным CEACAM6 на поверхности клеток различных клеточных линий с помощью экспериментов FACS.

CEACAM6 селективность протестировали на панели HeLa-клеток, которые были трансфицированы различными CEACAM-рецепторами (человеческая CEACAM1, человеческая CEACAM3, человеческая CEACAM5, человеческая CEACAM6, человеческая CEACAM8, человеческая CEACAM19 и CEACAM6 яванских макак - смотрите Пример 1) по сравнению со связыванием клеток HeLa дикого типа, которые, как было показано, являются CEACAM6 отрицательными. Значения EC₅₀ определили для связывания с клетками HeLa, трансфицированными человеческой CEACAM6 и CEACAM6 яванских макак. Результаты показаны в Таблице 22.

Для FACS экспериментов клетки HeLa дикого типа культивировали в RPMI-1640, 10% FCS, тогда как трансфицированные CEACAM-рецептором HeLa клетки получили, кроме того, 0.5% гентамицина (сток 10 мг/мл, Fa. PAA) и 200 мкг/мл гигромицина В (сток 50 мг/мл, Invitrogen). Клетки промыли 3 раза с PBS без Ca²⁺/Mg²⁺ и отсоединили от культурального планшета неферментативно с помощью EDTA буфера диссоциации (Gibco). Клетки промыли в холодном FACS буфере (PBS без Ca²⁺/Mg²⁺ и инактивированный нагреванием 3% FCS), и подсчитали с применением

подсчитывающего устройства (Invitrogen). 10⁵ клеток на лунку нанесли на планшет и инкубировали с соответствующим первичным антителом (5 мкг/мл) в течение 1 ч при 4°C на встряхивателе для планшета. Затем клетки промыли (400 g, 5') с FACS буфером 2 раза, ресуспендировали в 100 мкл, содержащих вторичное антитело (PE-анти-мышинный или анти-человеческий IgG, 1:150 разбавление, Dianova #115-115-164, #109-115-098) и инкубировали в течение еще одного часа при 4°C на встряхивателе для планшета. После 2 промывок клетки ресуспендировали в 100 мкл FACS буфера и проанализировали на устройстве FACS Canto II (Beckton Dickinson) или FACS Array (Beckton Dickinson).

Для анализа EC₅₀ первичные антитела применяли при увеличении концентраций в диапазоне от 0,1 нМ до 100 нМ. Значения половины максимального связывания (EC₅₀) определялась путем нанесения среднего сигнала интенсивности флуоресценции по отношению к концентрации (логарифмическая шкала). Построение кривой по данным осуществляли с использованием программного обеспечения для анализа призмы Graph Pad.

**Таблица 22: Специфическое связывание с трансфицированной
CEACAM-рецептором панелью клеточной линии HeLa.**

Тестируе мое антитело	Вид, изотип	HeLa дико- го типа	HeLa Чело- вечес- кой CEA CAM1 TPP- 4185	HeLa Чело- вечес- кой CEA CAM3 TPP- 4187	HeLa Чело- вечес- кой CEA CAM5 TPP- 4188	HeLa Чело- вечес- кой CEA CAM6 TPP- 4639	HeLa Чело- вечес- кой CEA CAM8 TPP- 4190	HeLa Чело- вечес- кой CEA CAM 19 TPP- 4186	HeLa CEA CAM6 яванских макак TPP-4189
						EC ₅₀ [нМ]			EC ₅₀ [нМ]
TPP-2971	mIgG1		-	-	-	+ 0.5	-		++ 0.5
TPP-3100	mIgG1		-	-	-	++ 0.35	-		++ 3
TPP-3186	mIgG1		-	-	-	++ 0.5	-		++ 0.5
TPP-3187	mIgG1		-	-	-	++ 0.35	-		++ 4
TPP-3322	Hu/ mIgG1	-	-	-	-	+ 0.6	-		++ 0.8
TPP-3323	Hu/ mIgG1	-	-	-	-	+ 0.6	-		++ 0.8
TPP-3308	Hu/ mIgG1	-	-	-	-	+ 0.45	-		++ 0.6
TPP-3820	hIgG2	-	-	-	-	+++ (+) 1	-	-	1

Тестируе мое антитело	Вид, изотип	HeLa дико- типа	HeLa Чело- вечес- кой CEA CAM1 TPP- 4185	HeLa Чело- вечес- кой CEA CAM3 TPP- 4187	HeLa Чело- вечес- кой CEA CAM5 TPP- 4188	HeLa Чело- вечес- кой CEA CAM6 TPP- 4639	HeLa Чело- вечес- кой CEA CAM8 TPP- 4190	HeLa Чело- вечес- кой CEA CAM 19 TPP- 4186	HeLa CEA CAM6 яванских макак TPP-4189
						EC ₅₀ [нМ]			EC ₅₀ [нМ]
TPP-3821	hIgG2	-	-	-	-	+++ (+) 1	-	-	1
TPP-3310	hIgG2	-	-	-	-	+++ (+) 0.6	-	-	1,5
TPP-3714	hIgG2	-	-	-	-	+++ (+) 1	-	-	1
TPP-3707	hIgG2	-	+	+	-	+++ 19	-	-	4
TPP-3470 (9A6- hIgG2)	hIgG2					1			>100
анти- CEACAM 6 клон 9A6 (Genovac #GM0509)	mIgG1	-	-	-	-	+++	-	-	

Определения -, +, ++, +++ как определено из сдвига среднего log флуоресценции FACS:

- = нет сдвига; + = сдвиг log, по сравнению с контрольным антителом, среднее 10-100;

++ = 2 log сдвиг, среднее 100-1,000; +++ = 3 log сдвиг, среднее 1,000-10,000

Анти-CEACAM6 антитела также были протестированы на их связывание с различными линиями раковых клеток, которые эндогенно экспрессируют CEACAM6 по FACS анализу. Клеточные линии культивировали согласно протоколам, предоставленным американской коллекцией тканевых культур (ATCC). Наблюдаемый сигнал связывания был специфическим, так как несвязывающийся изотипический контроль не приводил к сдвигу сигнала флуоресценции. Значения половины максимального связывания (EC50) находятся в низком наномолярном диапазоне (Таблица 23).

Таблица 23: Связывание анти-СЕАСАМ6 антитела с эндогенно СЕАСАМ6 положительными линиями опухолевых клеток (EC₅₀ значения)

Клеточная линия*	TPP-3310	TPP-3470 (9A6-hIgG2)
	EC ₅₀ [нМ]	EC ₅₀ [нМ]
PaTu-8902	0.15	0.2
SNU-C1	0.5	0.8
KS	0.8	1.0
NCI-H1993	0.8-1.6	1.6
T84	0.3	0.35

*Все клеточные линии из общественного банка тканей, такого как американская коллекция тканевых культур и т.д., за исключением клеточной линии рака молочной железы K.S, любезно предоставленной доктором Brigitte **Gückel** (University of **Tübingen**).

В заключение, для мышинных TPP-2971, TPP-3100, TPP-3186 и TPP-3187 антител, а также человеческих TPP-3820, TPP-3821, TPP-3310, TPP-3714 и TPP-3707 антител, селективное связывание с человеческой аутентичной СЕАСАМ6 клеточной поверхностью было продемонстрировано (нет связывания с другими паралогами). Связывание этих антител с человеческой СЕАСАМ6 сопоставимо с 9А6 на клеточных линиях, экспрессирующих человеческую СЕАСАМ6. Для TPP-3310 подобное связывание как 9А6-hIgG2 с эндогенно экспрессируемой СЕАСАМ6 на линиях опухолевых клеток человека было продемонстрировано.

Антитела согласно настоящему изобретению также связываются с СЕАСАМ6 яванских макаков с сопоставимой силой как с человеческим рецептором в диапазоне EC₅₀ связывания от однозначного числа до субнанолярной аффинности, тогда как отсутствие связывания 9А6 с СЕАСАМ6 яванских макаков на клеточной поверхности было обнаружено до 100 нМ. Это результат показывает действительную перекрестную реакционную способность с человеческой СЕАСАМ6 и СЕАСАМ6 яванских макаков для антитела согласно настоящему изобретению, тогда как 9А6 действительно преимущественной связывается с человеческой СЕАСАМ6.

Пример 9: Анализ термостабильности

Термостабильность IgG исследовали с использованием дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC) с использованием системы VP-Capillary DSC (MicoCal Inc.) с объемом ячейки 0,137 мл. Все образцы разбавляли в DPBS pH 7,4 до конечной концентрации 0,5 мг/мл, и буферный контроль без белка использовали в качестве эталона. Образцы отсканировали от 20 до 120°C со скоростью сканирования 120°C/ч. Полученные термограммы были скорректированы путем вычитания контрольных сканирований буфера и нормализованы для концентрации белка с использованием программы анализа данных Origin 7.0 (OriginLab Corp.). Температуры плавления были получены путем подгонки данных DSC к нелинейной регрессии («Non-2-state: Cursor init»), представлена Origin.

Таблица 24: Термостабильность Fab домена

	Термическая стабильность Fab домена
TPP-3310	88.2 °C
TPP-3714	88.5 °C */95.1 °C *
TPP-3400	74.7 °C
TPP-3707	80.6 °C
TPP-3470 (9A6-hIgG2)	80.2 °C

* Fab разворачивается несовместно

Все измеренные IgG демонстрируют высокую термостабильность в Fab-домене. Термостабильность TPP-3310 и TPP-3714 значительно выше и значительно превышают термостабильность TPP-3470 (9A6-hIgG2). Это удивительно, поскольку высокая стабильность была связана с антителами, обладающими каркасом VH3 (Honegger et al., 2009, Protein Eng Des Sel. 22(3): 121-134).

Высокая термостабильность свидетельствует о лучшей фармацевтической пригодности TPP-3310 и TPP-3174 по сравнению с TPP-3470 (9A6-hIgG2) (лучшая стабильность, меньшая склонность к агрегации, меньший риск иммуногенности).

Пример 10: Вмешательство в взаимодействие между CEACAM6 и CEACAM1

Было высказано предположение, что CEACAM1 может быть связующим партнером для CEACAM6 в транс на активированных Т-клетках (Witzens-Harig et al., Blood 2013 May 30; 121(22):4493-503): транс и цис-гомофильные и гетерофильные взаимодействия между CEACAM были описаны, например, между CEACAM1 и CEACAM5 или CEACAM6 и CEACAM8. CEACAM1 отображается на активированных Т-клетках, лигирование и фосфорилирование CEACAM1 рекрутируют SH2-домен-содержащий белок тирозинфосфатазу 1 (SHP1). SHP1 дефосфорилирует ZAP70, что приводит к ингибированию передачи сигналов TCR. Таким образом, дотирование CEACAM1 приводит к раннему ингибированию активации Т-клеток в течение 10 минут после активации.

Более того, сообщалось о роли CEACAM5 в ингибировании реакций природных клеток -киллеров (NK) на клетки колоректального рака (Zheng et al., PLoS One. 2011; 6 (6):e21146), которые могут быть основаны на его гетерофильном связывании с ингибирующее CEACAM1, экспрессируемой на NK-клетках.

Поэтому прямое взаимодействие CEACAM6-CEACAM1 тестировали с использованием рекомбинантных белков в связывании ELISA. После предварительных экспериментов было обнаружено умеренное, но специфическое взаимодействие между CEACAM1 и CEACAM6, был использован следующий протокол: черные 384-луночные планшеты Maxisorb (Nunc) были покрыты 1 мкг/мл CEACAM1 (R&D Systems, TPP-1437) в буфере для покрытия (Candor) в течение 1 часа при 37°C или оставались непокрытыми в качестве контроля. После одной промывки PBS/0,05% Tween-20 лунки блокировали 100% Smart Block (Candor) в течение 1 часа при 37°C. В отдельных планшетах серии разведения антител, представляющих интерес, в PBS/0,05% Tween-20, 10% SmartBlock инкубировали с 2 мкг/мл CEACAM6-Fc (TPP-1790) в течение 1 часа при комнатной температуре. Блокированные планшеты промывали три раза и добавляли предварительно сформированные антитела-CEACAM6-комплексы. Планшеты инкубировали в течение 1 часа при комнатной температуре. После трех промывок

добавляли анти-человеческий IgG HRP (Sigma A1070) при 1: 10000, и планшеты инкубировали в течение 1 часа при комнатной температуре. После трех промывок планшеты проявляли с помощью Amplex Red (Life Technologies), и флуоресценция считывалась при длине волны излучения 590 нм.

Таблица 25: Конкурентный ELISA для антител, конкурирующих со связыванием человеческой CEACAM6-Fc (TRP-1790) с пассивно покрытой человеческой CEACAM1 (TRP-1437).

	Конкурирование за связывание человеческой CEACAM6-Fc с человеческая CEACAM1
TRP-3400	+
TRP-3310	+
TRP-3714	+
TRP-3323	+
TRP-3705	+
TRP-3707	+
TRP-3470 (9A6-hIgG2)	+
TRP-3688 (Neo201-hIgG2)	-

"+" означает конкуренцию

"-" означает отсутствие конкуренции

Как показано в Таблице 25, возможно конкурировать со взаимодействием CEACAM6 с CEACAM1 со всеми протестированными антителами, за исключением TRP-3688 (Neo201-hIgG2).

В заключение это наблюдение согласуется с гипотезой: а) CEACAM1 на активированных Т-клетках является возможным партнером по взаимодействию для CEACAM6, приводя к ингибированию Т-клеток; б) N-терминальный домен D1 CEACAM6 участвует в взаимодействии между CEACAM1 и CEACAM6, и с) антитела, согласно настоящему изобретению, способны вмешиваться в взаимодействие CEACAM6-CEACAM1.

Пример 11: Ингибирование иммуноподавляющей активности CEACAM6 in vitro
Иммуноподавляющая функция CEACAM6 на опухолевых клетках изучалась недавно in vitro (Witzens-Harig et al., Blood 2013 May 30; 121(22):4493-503) и in vivo (Khandelwal et al., Poster Abstract 61, Meeting Abstract from 22nd Annual International Cancer Immunotherapy Symposium October 6-8, 2014, New York City, USA). Было показано, что коммерчески доступное антитело 9A6 (Genovac/Aldevron) способно ингибировать иммуноподавляющую активность CEACAM6, что приводит к усиленной секреции цитокинов Т-клетками in vitro и противоопухолевой эффективности in vivo.

Для изучения влияния антитела согласно настоящему изобретению на иммуноподавляющую активность CEACAM6 были проведены эксперименты на основе сокультуры модельной линии опухолевых клеток с модельным клоном опухолевый антиген-специфические Т-клетки:

Т-клетки, специфичные для опухолевых антигенов, были получены с помощью методики, описанной в Brackertz et al (Brackertz et al., Blood Cancer J. 2011 Mar; 1(3):e11).

Вкратце, сурвивин-специфические CD8⁺ Т-клетки выделяли из периферических мононуклеарных клеток с помощью специфичной для CD8 магнитно-активированной клеточной сортировки. Отобранные HLA-A2-CD8⁺ Т-клетки повторно стимулировали

5 аллогенными HLA-A2⁺ дендритными клетками, нагруженными 10 мкг HLA-ограниченного пептидного эпитопа Сурвивин₉₅₋₁₀₄ (ELTLGEFLKL). После стимуляции пролиферирующие Т-клетки окрашивали мультимерами HLA-A2/Сурвивин₉₅₋₁₀₄ (A * 02: 01 391 LMLGEFLKL Сурвивин 96-104 с маркировкой APC, ProImmune Limited, # F391-4A-E), отсортировали по FACS и клонировали при ограничении разбавления на
10 96-луночных планшетах.

Размножение клонов Т-клеток осуществляли путем культивирования клонов 2×10⁵ Т-клеток и питающих клеток, состоящих из 5×10⁷ облученных РВМС (30 Гр) и 1×10⁷ облученных LCL (эти линии лимфобластоида В, которые были получены путем
15 трансдукции EBV В-клеток периферической крови от здоровых доноров с EBV-инфицированной клеточной линией обезьян (B95/8, АТТС), как описано в Brackertz et al., Blood Cancer J. 2011 Mar; 1(3):e11 и Dissertation Andreas Moosmann, Ludwig-Maximilians-University Munich, Germany, 2002) от разных доноров (100-150 Гр) в 40 мл среды RPMI-1640 с глутамином (Sigma-Aldrich), 10% сывороткой человека (сыворотка человека АВ, Valley Biomedical, Inc, # HP1022), 1% пенициллина/стрептомицина (Life Technologies) при
20 37°С и 5% CO₂. Размножение произошло в присутствии 50 Ед/мл IL-2 (Proleukin, Novartis, №1003780), 2,5 нг/мл IL-15 (rhIL-15-CF R&D # 247_IL-025/CF) и 30 нг/мл античеловеческого CD3 антитела (ОКТ3 eBiosciences 16-0037-85) в течение 14 дней. Клеточную линию рака молочной железы человека KS (полученная от доктора Бригитте
25 Гюкель (Университет Тюбингена, Германия)) культивировали в DMEM (Sigma-Aldrich) с 10% FCS (FBS Superior, Biochrom) и 1% пенициллина/стрептомицина при 37°С и 5% CO₂.

Для анализа модулирующей активности анти-СЕАСАМ6 антитела на иммуноподавляющую функцию СЕАСАМ6 in vitro клон специфических для пептида
30 сурвивина CD8⁺ Т-клеток был совместно культивирован вместе с СЕАСАМ6⁺, HLA-A2⁺ и сурвивин⁺ клеточной линией рака молочной железы KS, и секрецию IFN-гамма как показатель активности Т-клеток измеряли либо посредством IFN-гамма ELISpot, либо IFN-гамма ELISA.

35 Для совместной культуры опухолевые клетки KS отделяли неферментативно с использованием PBS-EDTA в течение 5 мин, центрифугировали, промывали и подсчитывали. Концентрацию клеток доводили до 1×10⁵ клеток/мл в X-Vivo-20 (Lonza), и клетки предварительно обрабатывали анти-СЕАСАМ6 антителом или изотипически сходным контролем антител в течение 10 мин на льду. После стадии инкубации 100000
40 клеток-мишеней KS высевали непосредственно трижды на пластины IFN-гамма-ELISpot или U-96-Well ELISA соответственно. В то же время, специфичные для пептида сурвивина Т клетки собирали, промывали с X-Vivo-20 и высевали по номерам клеток, указанным на клетках-мишенях KS. Со-культуру опухолевых клеток, анти-СЕАСАМ6 антитела и Т-клеток инкубировали в течение 20-40 ч при 37°С. IFN-гамма ELISpot (MABTECH: ELISpot Assay для человеческого интерферона гамма # 3420-3PT, антитела mAB 1-D1K анти-IFNγ, mAB 7-B6-1-биотин, Steptavivin-ALP, BCIP/NBT плюс субстрат для ELISpot # 3650-10) и IFN-гамма-ELISA (BD человеческий ИФН-гамма ELISA №555142) были
45 разработаны в соответствии с инструкциями производителя. Планшеты ELISpot

подсчитывали с помощью С.Т.Л. Планшетный ридер ELISpot и оптическую плотность для планшета ELISA измеряли с помощью планшетного ридера Тесал Infinite M200. Эксперимент считался действительным, если положительный контроль TPP-3470 (9A6-hIgG2) был статистически значимым по сравнению с контролем изотипически сходного антитела.

Совместная культура опухолевых клеток KS со специфическими для пептида сурвивина CD8⁺ Т-клетками в присутствии анти-СЕАСАМ6-антитела приводила к статистически значимому увеличению продуцирования IFN-гамма Т-клетками (фиг. 5) по сравнению с образцами, не обработанными анти-СЕАСАМ6 антителом или обработанными изотипически сходным контролем антитела.

В заключение было показано, что перекрестно-реакционноспособные антитела яванских макаков TPP-3310, TPP-3707 и TPP-3323 способны облегчить СЕАСАМ6-опосредованное иммуноподавление специфичных к опухолевому антигену Т клеток в той же степени, что и TPP-3470 (9A6-hIgG2), как измерено либо секрецией IFN-гамма специфичными для пептида сурвивина CD8⁺ Т-клетками, либо количеством IFN-гамма, секретируемого активированными Т-клетками.

Пример 12: Анализ профиля цитокинов/хемокинов, секретируемых Т-клетками, обработанными анти-СЕАСАМ6-антителом

Чтобы изучить влияние анти-СЕАСАМ6 антитела на профиль цитокинов/хемокинов Т-клеток человека в отношении улучшенной цитотоксичности и эффективного противоопухолевого иммунного ответа, анализ мультиплексных цитокинов на основе люминесценции на основе экспериментов по совместному культивированию модельной линии опухолевых клеток и модели клона специфичных к опухолевому антигену Т-клеток осуществили.

Клон специфичных для пептида сурвивина CD8⁺ Т клеток получили и размножили *in vitro*, как описано в Примере 11. Культуру опухолевых клеток и ELISA сокультивировали, как описано в Примере 11.

Через 20 ч планшеты с сокультурами центрифугировали в течение 10 мин при 1400 об/мин и собирали супернатант. Мультиплексный анализ проводили с использованием MILLIPLEX Human Cytokine/Chemokine Magnetic Bead Panel - Premixed 38 Plex analytes (Merck Millipore #HCYTMA6-60K-PX38) в системе BioPlex100 (Bio-Rad) в соответствии с инструкциями производителя. Стандартные кривые и концентрации были рассчитаны с помощью Bio-Plex Manager 6.0. Эксперимент считался действительным, если положительный контроль TPP-3470 (9A6-hIgG2) был >1,5 раза увеличен по сравнению с контролем изотипически сходного антитела.

Блокада СЕАСАМ6 антителами, согласно настоящему изобретению, в со-культуре специфичных для пептида сурвивина Т клеток с опухолевыми клетками KS дает >1,5-кратное увеличение секреции IFN-гамма, IL-2 и TNF-альфа по сравнению с контрольными образцами, которые были обработаны изотипически сходным контролем (Фиг. 6).

В заключение, перекрестные реакционноспособные антитела TPP-3310 и TPP-3707 яванских макаков способны изменять цитокиновый профиль специфичных для пептида сурвивина CD8⁺ Т-клеток на более цитотоксический и активированный фенотип, характеризующийся повышенной секрецией IFN-гамма, IL-2 и TNF-альфа, как измерено мультиплексным анализом на основе Luminescence, в той же степени, что и TPP-3470 (9A6-hIgG2).

Пример 13: Противоопухолевая эффективность в адоптивной KS модели переноса Т клеток

Противоопухолевая эффективность анти-СЕАСАМ6 антитела (9А6, Genovac/Aldevron) изучалась *in vivo* в адоптивных системах переноса Т-клеток человека, в которых опухолевый антиген-специфические человеческие Т-клетки размножаются *in vitro* и совместно вводятся с анти-СЕАСАМ6 антителом голым мышам, несущим ксенотрансплантированные опухоли человека (Khandelwal et al., Poster Abstract 61, Meeting Abstract from 22nd Annual International Cancer Immunotherapy Symposium October 6-8, 2014, New York City, USA).

Чтобы изучить влияние антител согласно настоящему изобретению на противоопухолевую эффективность, провели следующий эксперимент на основе адоптивной модели переноса Т клеток:

Клон специфичных для пептида сурвивина CD8⁺ Т клеток получили и размножили *in vitro*, как описано в Примере 11.

Шести-восьминедельным самкам мышей NOD-Scid (NOD.CB17-Prkdc^{scid}/J; Charles River, France) вводили подкожно 2×10^6 KS опухолевых клеток (см. Пример 11). Рандомизацию мышей проводили на 16-й день, и мыши с поверхностью опухоли ниже 40 мм² исключались (= опухоль не принималась). Мышей (n=8-10 мышей на группу) обрабатывали на 23 и 27 день с помощью внутривенного адоптивного переноса 5×10^6 клонов специфичных для пептида сурвивина Т-клеток. 200 мкг анти-СЕАСАМ6 антитела TRP-3740, TRP-3707, TRP-3310 или соответствующего изотипически сходного контрольного антитела вводили интраперитонеально в дни 22, 24, 26 и 28. Контрольной группе вводили PBS вместо Т-клеток и антител. Подкожно выращенные опухоли измеряли с помощью суппорта и затем вычисляли поверхность, используя формулу «длина × ширина». Только те эксперименты считались действительными, когда контрольная группа мышей, обработанная средой, демонстрировала устойчивое и значительное увеличение площади опухоли и объема опухоли на протяжении всей продолжительности исследования. Исход эксперимента может зависеть от параметров, которые трудно контролировать: не только *in vivo* рост клеточных линий KS оказался переменным, но и выживаемость Т-клеток у мышей, а также инфильтрация Т-клеток в опухоли проявляли значительные вариации.

Адоптивный перенос специфичных для пептида сурвивина Т клеток в комбинации с тестируемым анти-СЕАСАМ6 антителом приводил к уменьшенной опухолевой нагрузке по сравнению с Т-клетками, инъецированными с подходящим по изотипу контролем, или контрольной группой PBS (Фиг. 7). Аналогичную эффективность наблюдали с использованием TRP-3740 (9А6-hIgG2).

В заключение, перекрестно реакционно-способные антитела яванских макаков TRP-3310 и TRP-3707 проявили противоопухолевую эффективность в той же степени, что и TRP-3470 (9А6-hIgG2) в адоптивной модели переноса Т-клеток с использованием специфических для пептида сурвивина CD8⁺ Т клеток и KS опухолей.

Пример 14: Линии опухолевых клеток и опухолевые ткани, которые являются СЕАСАМ6 положительными

СЕАСАМ6 экспрессируется в различных раковых опухолях, которые являются потенциальными целевыми показаниями для лечения иммуномодулирующими антителами СЕАСАМ6. Поэтому раковые клеточные линии различного происхождения и которые представляют разные виды рака, были протестированы на экспрессию СЕАСАМ6 путем анализа FACS. Результаты показаны в таблице 26.

Линии клеток рака, которые были приобретены в общественных банках тканей,

таких как американская коллекция культур тканей (АТСС) и т.д., были культивированы в соответствии с инструкциями поставщика.

Клетки промыли 3 раза с PBS без $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ и отделяли от культурального планшета неферментативно с буфером для диссоциации EDTA (Gibco). Клетки промыли в холодном
5 буфере FACS (PBS без $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ и инактивированный нагреванием 3% FCS) и подсчитывали с использованием счетчика клеток (Invitrogen). 10^5 клеток на лунку высевали и инкубировали с мышинным моноклональным антителом 9A6 (TPP-1744, 5 мкг/мл) или очищенным NA/LE мышинным IgG1 в качестве антитела изотипического
10 контроля (BD Pharmingen # 553447) в течение 1 часа при 4°C на встряхивателе для планшетов. Затем клетки промыли (400 g, 5') с FACS буфером 2 раза, ресуспендировали в 100 мкл, содержащих PE-меченное анти-мышинное вторичное антитело (1:150 разбавление, Dianova #115-115-164), и инкубировали в течение еще 1 часа при 4°C на встряхивателе для планшетов. После 2 промывок клетки ресуспендировали в 100 мкл
15 FACS буфера и проанализировали на устройстве FACS Canto II (Beckton Dickinson) или FACS Array (Beckton Dickinson). Наблюдаемый сигнал связывания был специфичен, поскольку несвязывающийся изотипический контроль не приводил к сдвигу сигнала флуоресценции (Таблица 26).

Таблица 26: Результаты человеческой линии раковых клеток, скринированной FACS, на связывание CEACAM6 специфичного антитела 9A6 mIgG1 (TRP-1744) и, таким образом, экспрессию CEACAM6

Клеточная линия*	Происхождение рака	Тип	экспрессия на поверхности CEACAM6
MCF7	молочная железа	аденокарцинома	+
MCF7/AdrVp (MDR молочная железа CA)	молочная железа	аденокарцинома	+
KS	молочная железа	злокачественный выпот, пациент с раком молочной железы	+++
BT-20	молочная железа	аденокарцинома, ER отрицательная	-
BT-474	молочная железа	карцинома из эпителия протоков;	+++
HCC38	молочная железа	первичная карцинома из эпителия протоков	-
MDA-MB-361	молочная железа	аденокарцинома, полученная из метастатического сайта: мозг	+++
MDA-MB-453	молочная железа	метастатическая карцинома, полученная из метастатического сайта: выпот в полость перикарда	-
MFM-223	молочная железа	эпителиально подобная, карцинома из эпителия протоков	+/-
MX-1	молочная железа	инфильтрирующая карцинома из эпителия протоков, ER-отрицательная	-

Клеточная линия*	Происхождение рака	Тип	экспрессия на поверхности CEACAM6
SUM 149	молочная железа	инвазивная карцинома из эпителия протоков, ER-PR-воспалительный рак молочной железы	-
SUM 159	молочная железа	Er-, PR- анаплазированная карцинома молочной железы	-
T-47D	молочная железа	карцинома из эпителия протоков, из метастатического сайта: плевральный выпот	+
ZR-75-1	молочная железа	карцинома из эпителия протоков, из метастатического сайта: асцит	++
HPAC	поджелудочная железа	аденокарцинома	++++
SW1990	поджелудочная железа	аденокарцинома, из метастатического сайта: селезенка	-
PaTu 8902	поджелудочная железа	аденокарцинома	+ - ++
AsPC-1	поджелудочная железа	аденокарцинома, из метастатического сайта: асцит	+++
DAN-G	поджелудочная железа	аденокарцинома	+
MIA PaCa-2	поджелудочная железа		-
Panc1	поджелудочная железа	дуктальная эпителиоидная карцинома поджелудочной железы	- -
BxPc3	поджелудочная железа	аденокарцинома	+++

Клеточная линия*	Происхождение рака	Тип	экспрессия на поверхности CEACAM6
5 Саран-2	поджелудочная железа	аденокарцинома	-
10 PC3.gd.neo (PaCa)	предстательная железа	аденокарцинома, метастатического кость из сайта:	-
HPAFII (PaCa)	поджелудочная железа	аденокарцинома	+++
15 SW 1463	прямая кишка	эпителии, тип Дюка C, колоректальная аденокарцинома	+/-
20 SNU-C1	толстая кишка	аденокарцинома, метастатического брюшина из сайта:	++
HT55	толстая кишка	эпителий	+++
25 Colo 201	толстая кишка	тип Дюка D, аденокарцинома, метастатического асцит из сайта:	-
Colo320DM	толстая кишка	Тип Дюка D, колоректальная аденокарцинома	-
30 CaCo-2	толстая кишка	аденокарцинома	+--+
SW403	толстая кишка	Тип Дюка C, аденокарцинома	-
35 HCC2998	толстая кишка	аденокарцинома	++
RKO	толстая кишка		-
40 KM-12	толстая кишка	аденокарцинома	++
CL-34	толстая кишка	аденокарцинома	+
45 COLO 205	толстая кишка	Тип Дюка D, аденокарцинома	'+/-

Клеточная линия*	Происхождение рака	Тип	экспрессия на поверхности CEACAM6
5 HCT 116	толстая кишка		-
SW480	толстая кишка	Тип Дюка В, колоректальная аденокарцинома	- -
10 WiDr	толстая кишка	аденокарцинома	++
DLD-1	толстая кишка	Тип Дюка С, аденокарцинома	-
15 SW 620	толстая кишка	Тип Дюка С, аденокарцинома, метастатического лимфатического узла: из сайта:	-
SW1116	толстая кишка	аденокарцинома	+++
20 T-84	толстая кишка	толстая кишка, метастазы из легких	+ - ++
LoVo	толстая кишка	аденокарцинома	++
25 HCT15	толстая кишка	Тип Дюка С, аденокарцинома	-
HT29	толстая кишка	аденокарцинома	++
30 LS174T	толстая кишка	Тип Дюка В, аденокарцинома	+/-
EKVX	легкое	аденокарцинома	-
35 A549	легкое		+++
NCI-H1688	легкое	SCLC	+
40 Calu-1	легкое	эпидермоидный рак, K-ras положительная	-
Calu-3	легкое	аденокарцинома	+
HCC827	легкое	аденокарцинома	++
45 LXF-289	легкое	аденокарцинома	-

Клеточная линия*	Происхождение рака	Тип	экспрессия на поверхности CEACAM6
NCI-H1299	легкое	из метастатического сайта: лимфатический узел	-
NCI-H1437	легкое	аденокарцинома, из метастатического сайта. плевральный выпот	+++
NCI-H146 (SCLC)	легкое	полученная из метастатического сайта (костный мозг)	+/-
NCI-H1581	легкое	крупноклеточная NSCLC	-
NCI-H1975	легкое	аденокарцинома	-
NCI-H1993	легкое	аденокарцинома, из метастатического сайта: лимфатический узел	+++
NCI-H2228	легкое	аденокарцинома	++
NCI-H226	легкое	плоскоклеточный рак, мезотелиома, из метастатического сайта: плевральный выпот	-
NCI-H23	легкое	аденокарцинома	-
NCI-H292	легкое	мукоэпидермоидная легочная карцинома	-
NCI-H322	легкое	бронхоальвеолярная карцинома	-
NCI-H358	легкое	бронхоальвеолярная карцинома, из метастатического сайта альвеола	-
NCI-H441	легкое	папиллярная аденокарцинома	++
NCI-H460	легкое	крупноклеточная карцинома легкого из метастатического сайта: плевральный выпот	-
NCI-H520	легкое	плоскоклеточный рак	-

Клеточная линия*	Происхождение рака	Тип	экспрессия на поверхности CEACAM6
NCI-H522	легкое	аденокарцинома K-ras, мутированная p53	-
NCI-H661	легкое	крупноклеточная карцинома легкого, из метастатического сайта: лимфатический узел	-
NCI-H69 (SCLC)	легкое		-
NCI-H82 (SCLC)	легкое	из метастатического сайта: плевральный выпот	-
SW 900	легкое	плоскоклеточный рак	-
HCC-2935	легкое	аденокарцинома	++++
HCC-1395	легкое	первичная карцинома из эпителия протоков	-
RPMI-8226	миелома	плазмодитомы; множественная миелома (IgG lambda-тип) В лимфоцит; лимфобласт	+
SKMM2	миелома		-
L-363	миелома	плазматочный лейкоз	-
JJN-3	миелома	плазматочный лейкоз	-
KMS-12-BM	миелома		-
KMS-12-PE	миелома		-
LP-1	миелома		-
MOLP-2	миелома		
MOLP-8	миелома		-
SNU-1	желудочный	из метастатического сайта : асцит	+++
Hela	шейка матки	аденокарцинома	-

Клеточная линия*	Происхождение рака	Тип	экспрессия на поверхности CEACAM6
DMS-153 (SCLC)	легкое	из метастатического сайта : печень	-
MeWo	кожа	фибробласт, злокачественная меланома, из метастатического сайта: лимфатический узел	-

Определения -, +, ++, +++ как определено из сдвига среднего log флуоресценции FACS:
 - = нет сдвига; + = сдвиг log, по сравнению с контрольным антителом, среднее 10-100;
 ++ = 2 log сдвиг, среднее 100-1,000; +++ = 3 log сдвиг, среднее 1,000-10,000; ++++ = 4 log сдвиг; среднее >10000

* Все клеточные линии из общественного банка тканей, такого как американская коллекция тканевых культур и т.д., за исключением линии клеточной линии рака молочной железы KS, любезно предоставленной Dr. **Gückel (Tübingen)**; B. Gueckel, Cancer Cell International 2004, 4 (Suppl 1):S38).

В заключение, CEACAM6 экспрессируется в клеточных линиях, которые представляют различные виды рака (например, колоректальный рак, немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), мелкоклеточный рак легкого (SCLC), рак поджелудочной железы, рак желудка, рак молочной железы и множественная миелома), которые представляют собой потенциальные целевые показатели для лечения иммуномодулирующими антителами CEACAM6 и другими модификаторами ответа (например, пептиды, малые молекулы, искусственные "скаффолд" связующие и т.д.).

Пример 15: Связывание с одиночным доменом 1 человеческой CEACAM6 и CEACAM6 яванских макак

Чтобы проверить, могут ли антитела согласно настоящему изобретению связываться с выделенным одиночным доменом 1 человеческой CEACAM6 и CEACAM6 яванских макак, проводились SPR эксперименты, как в примере 1.

Одиночный N-терминальный домен 1 CEACAM6 яванских макак (TPP-2453) получили, как описано в Примере 1, аналогично TPP-1794:

Наименование	Белок-ID	Описание	SEQ-ID
CEACAM6 Масаса fascicularis-Домен 1-His	TPP-2453	Домен 1, слитый с His (экспрессированный в E. coli)	SEQ-ID NO:180

SEQ-ID NO:180 (TPP-2453)

MQLTIESRPFNVAEGKEVLLLAHNLPQNTLGFNWKGERVDAKRLIVAYVIGT
 QQTPGPAHSGREMIYSNASLLIQNVTQNDTGSYTLQAIKEDLVTEEATGRFWV
 YPELGSGSHNNNNNNNN

Аффинности (моновалентная K_D) антител согласно настоящему изобретению к рекомбинантному одиночному домену 1 человеческой CEACAM6 и CEACAM6 яванских макак, определяли посредством SPR аналогично экспериментальным методикам, описанным в примере 1, и показаны в Таблице 27.

Таблица 27: SPR анализ: моновалентная K_D (в нМ)

Тестируемое антитело	Изотип	Рекомбинантный одиночный домен 1 человеческой CEACAM6 (TPP-1794) K_D [нМ]	Рекомбинантный одиночный домен 1 CEACAM6 <i>Mascas fascicularis</i> (TPP-2453) K_D [нМ]
TPP-2971	Мышиный IgG1	11	5.3

TPP-3186	Мышиный IgG1	15	8.7
TPP-3187	Мышиный IgG1	12	6.9
TPP-3308	Человеческий IgG2 химера	9.5	5.4
TPP-3310	Человеческий IgG2	3.7	3.4
TPP-3322	Человеческий IgG2 химера	12	8.8
TPP-3323	Человеческий IgG2 химера	9	6.9
TPP-3705	Человеческий IgG2	6.7	2.7
TPP-3707	Человеческий IgG2	6.4	2.4
TPP-3714	Человеческий IgG2	3.7	3.2
TPP-3820	Человеческий IgG2	5.1	5.2
TPP-3821	Человеческий IgG2	4.5	4.7
TPP-1745	Человеческий IgG1	3.3	-

"-": связывание не обнаружено

В заключении, антитела согласно настоящему изобретению связываются с N-терминальным доменом CEACAM6 как человека, так и яванских макаков со сравнимыми аффинностями.

Пример 16: рентгеновская кристаллическая структура одиночного N-терминального домена 1 человеческой CEACAM6 в комплексе с Fab фрагментом APP-1574

Кристаллическая структура одиночного N-терминального домена 1 человеческой CEACAM6 (TPP-1794; SEQ ID NO 169), связанного с Fab фрагментом, относящимся к TPP-3310 (называемый APP-1574), была определена.

Чтобы облегчить получение Fab фрагмента TPP-3310 получили в качестве варианта человеческого IgG1 (назвали TPP-5468, смотрите Таблицу 28). Папаиновое расщепление

TPP-5468 и последующая очистка приводят к APP-1574. Этот Fab фрагмент содержит переменные домены (VH и VL) TPP-3310 (смотрите Таблицу 28).

Таблица 28: Аминокислотные последовательности IgG и Fab, применяемые для определения кристаллической структуры

Белок	Тяжелая цепь	Легкая цепь
TPP-5468	SEQ ID NO: 181	SEQ ID NO:182
APP-1574	SEQ ID NO: 183	SEQ ID NO: 184

Как подробно описано в Примере 1, домен 1 CEACAM6 был экспрессирован и подвергся рефолдингу из *E. coli*. Fab-фрагмент антитела был получен путем расщепления антитела папаином, с последующим образованием комплекса. Кристаллография белка затем применялась для получения атомного разрешения для одиночного N-терминального домена 1 человеческой CEACAM6, связанного с APP-1574 Fab, для определения эпитопа.

Получение белка

Одиночный N-терминальный домен 1 человеческой CEACAM6 (TPP-1794; SEQ-ID 169) был получен в виде конструкции 6x His слитого белка, как описано в Примере 1. Белок концентрировали до 6.7 мг/мл до образования комплекса.

Соответствующий Fab-фрагмент TPP-5468 (человеческий IgG1) был получен посредством расщепления протеазой папаин. 1 мг антитела смешали с 50 мкл иммобилизованного папаина (ThermoFisher #20341) буферном растворе для гидролиза (20 mM Na-фосфат pH 7.0, 10 mM EDTA, 20 mM цистеин-HCl) и инкубировали в течение 4 ч при 37°C при непрерывном перемешивании. Иммобилизованный папаин удалили центрифугированием, и полученные Fc-фрагменты и нерасщепленные IgG удалили пропусканием над MabSelectSURE (GE Healthcare, #11-0034-89 AC). Fab-фрагмент в проходящем потоке далее очистили посредством эксклюзионной хроматографии по размеру в 30 mM Tris буфера pH 8.5, 150 mM NaCl на Superdex 75 и концентрировали до 7.2 мг/мл.

Для образования комплекса, очищенный Fab-фрагмент и N-терминальный домен 1 человеческой CEACAM6 смешали при соотношении 1 Fab к 1.4 N-терминального домена 1 человеческой CEACAM6 для 1 N-терминального домена 1 человеческой CEACAM6 в течение 1 ч при 4°C. Полученный белковый комплекс выделили посредством эксклюзионной хроматографии по размеру в 30 mM Tris буфера pH 8.5, 150 mM NaCl на Superdex 75 и затем концентрировали до 21.2 мг/мл до кристаллизации.

Кристаллизация и определение структуры

Комплекс одиночного N-терминального домена 1 человеческой CEACAM6 и Fab фрагмента APP-1574 концентрировали до 21.2 мг/мл, центрифугировали при 20,000 g в течение 10 минут и скринировали для кристаллизации. Кристаллы для сбора данных выращивали посредством диффузии паров висячей капли при 20°C. Подробно, 0.2 мкл комплекса смешали с 0.2 мкл резервуарного раствора, содержащего 100 mM три натрия цитрата pH 4.9, 19% (мас./об.) PEG 4000 и 10% (об./об.) изопропанола. Каплю затем уравновесили относительно 80 мкл того же резервуарного раствора. Перед сбором данных кристаллы охладил жидким азотом.

Данные дифракции были собраны на пучке 14-1 в источнике BESSY II Synchrotron Source (Helmholtz Zentrum Berlin) и обработаны с использованием XDS (Kabsch, W. XDS. Acta Cryst. D66, 125-132 (2010). Данные комплекса N-терминальный домен 1 человеческой CEACAM6 -Fab-фрагмент APP-1574 обрабатывали до 2,7 Å в пространственной группе

P1 с размерами ячеек $a=64.7 \text{ \AA}$, $b=65.2 \text{ \AA}$, $c=78.6 \text{ \AA}$, альфа $=66.1^\circ$, бета $=87.2^\circ$ и гамма $=88.5^\circ$. Структура комплекса была разрешена путем молекулярного замещения с использованием PHASER (McCoу AJ et al, J Appl Cryst (2007). 40, 658-674) с собственными структурами N-терминального домена 1 человеческой CEACAM6 и Fab в качестве
 5 моделей для поиска. Окончательная модель была построена в COOT (Emsley, P. et al, Acta Cryst D66, 486-501 (2010)) и улучшена с применением CCP4 (Winn, M. D. et al. Acta. Cryst. D67, 235-242 (2011)).

Эпитоп определяли в виде остатков одиночного N-терминального домена 1 человеческой CEACAM6, которые содержат атомы в пределах $5 \text{ \AA}$ до любого атома
 10 в Fab-фрагменте APP-1574, как идентифицировано NCONT в программном обеспечении CCP4 ((Winn, M. D. et al. Acta. Cryst. D67, 235-242 (2011)) и перечислено в Таблице 29). В асимметричной единице (наименьшей уникальной единице в кристалле) имеется два экземпляра комплекса N-терминальный домен 1 человеческой CEACAM6 - Fab-фрагмент APP-1574. Только остатки, контактирующие с антителом, которые являются общими
 15 для обеих копий перечислены в качестве остатков эпитопа.

Эпитоп

Кристаллическая структура комплекса одиночный N-терминальный домен 1 человеческой CEACAM6 - Fab фрагмент APP-1574 была использована для
 20 идентификации эпитопа Fab-фрагмента APP-1574 на CEACAM6. Поверхность взаимодействия на одиночно N-терминальном домене 1 человеческой CEACAM6 Fab-фрагментом APP-1574 образована несколькими непрерывными и прерывистыми (то есть несмежными) последовательностями; а именно остатки Pro59, Gln60, Asn61, Arg62, Ile63, Gly64, Val83, Ile84, Gly85, Thr86, Gln88, Thr90, Pro91, Ile125, Ser127, Asp128 и Leu129 (нумерация согласно SEQ-ID:179; TPP-4639), как подробно раскрыто в Таблице 29.

В очень близком прямом контакте находятся остатки, имеющие по меньшей мере
 25 один атом, который удален от антитела на $3,6 \text{ \AA}$ или менее. Этими остатками являются: Gln60, Asn61, Arg62, Ile63, Val83, Ile84, Gly85, Thr90, Ser127, Asp128 и Leu129 (нумерация согласно SEQ-ID:179; TPP-4639).

Эти остатки образуют примерный трехмерный конформационный эпитоп, который
 30 распознается Fab-фрагментом APP-1574 (Фиг. 9 и 10).

Таблица 29: Взаимодействия между одиночным N-терминальным доменом 1 человеческой CEACAM6 и Fab APP-1574

N-терминальный домен 1 человеческой CEACAM6 (TPP-1794; SEQ-ID 169)		Fab APP-1574		
Аминокислота	Номер как в SEQ-ID 169 (номер как в SEQ-ID NO: 179 в скобках)	Аминокислота	Номер	Цепь
Pro	26 (59)	Tyr	32	H
Gln	27 (60)	Tyr	32	H
Asn	28 (61)	Trp	55	H
		Asn	56	H
		Tyr	32	H
		Asn	58	H
Arg	29 (62)	Trp	55	H
		Tyr	32	H
		Gly	33	H
Ile	30 (63)	Ser	101	H
		Gly	33	H
		Trp	54	H

5

10

15

20

25

30

35

40

45

		Leu	102	H
		Ser	101	H
		Pro	103	H
		Trp	55	H
Gly	31 (64)	Leu	102	H
Val	50 (83)	Ser	101	H
		Leu	102	H
		Tyr	104	H
Ile	51 (84)	Gly	33	H
		Tyr	32	H
Gly	52 (85)	Ile	34	H
		Gly	33	H
		Ser	101	H
		Tyr	32	H
		Thr	31	H
Thr	53 (86)	Ser	101	H
		Ile	34	H
		Arg	99	H
Gln	55 (88)	Tyr	49	L
Thr	57 (90)	Tyr	49	L
		Asn	53	L
Pro	58 (91)	Asn	53	L
Ile	92 (125)	Leu	102	H
Ser	94 (127)	Tyr	94	L
		Trp	54	H
		Tyr	60	H
		Trp	55	H
		Asn	56	H
		Asn	58	H
Asp	95 (128)	Tyr	94	L
		Tyr	60	H

Leu	96 (129)	Tyr	94	L
		Ser	92	L
		Ser	93	L
		Tyr	91	L
		Pro	103	H

Остатки N-терминального домена 1 CEACAM6 пронумерованы как в SEQ ID NO 169. Остатки антитела пронумерованы на основе их линейной аминокислотной последовательности (SEQ ID NO: 183 и SEQ ID NO: 184), и соответствующие цепи помечены ("H" для тяжелой цепи, "L" для легкой цепи). Остатки одиночного N-терминального домена 1 CEACAM6, как показано в настоящей заявке, имеют по меньшей мере один атом с 5 Å до любого атома в Fab фрагменте APP-1574, для учета потенциальных взаимодействий, опосредованных водой

При тщательном анализе эпитопа становится очевидным, что изолейцин-63 (согласно SEQ ID NO: 179) человеческой CEACAM6 является центральной частью эпитопа. Боковая цепь изолейцина имеет хорошую форму, комплементарную с APP-1574. Моделирование показывает, что лейцин в этом положении в CEACAM6 яванских макаков может быть стерически размещен и не будет нарушать взаимодействие. Это объясняет сохраняющуюся активность связывания с CEACAM6 яванских макаков и является основой перекрестной реакционной способности для человека-яванских макаков. Напротив, фенилаланин в этом положении (как в человеческой CEACAM1, человеческой CEACAM3 и человеческой CEACAM5) не может быть стерически размещен и приводит к потере активности связывания. Это является основанием для селективности CEACAM6.

Таким образом, распознавание изолейцина-63 (согласно SEQ ID NO: 179) представляет собой самый значительный «настройщик селективности» между целевыми CEACAM. Режим распознавания APP-1574 человеческой CEACAM6 оптимально использует разницу ключевых остатков между целевыми и нецелевыми. Предыдущий анализ структуры Fab-фрагмента TRP-1679 (профиль селективности которого недостаточен, смотрите Пример 4) в комплексе с N-терминальным доменом 1 также идентифицировал изолейцин-63 (согласно SEQ ID NO: 179) в качестве потенциального настройщика селективности (данные не показаны). Однако, поскольку механизм молекулярного распознавания по TRP-1679 отличается, в связи с чем изолейцин-63 (по SEQ ID NO: 179) расположен на периферии участка связывания, его трудно было использовать.

Таким образом, связывания, кроме того, с другими остатками, образующими эпитоп (таблица 29), также оптимально используя связывание с определяющим селективность и перекрестную реакционно-способность остатком изолейцина-63 (в соответствии с SEQ ID NO: 179) CEACAM6 и все еще позволяя размещение лейцина в этом положении, но не фенилаланина, будут CEACAM6 селективными, но в то же время перекрестно реакционно-способными с человеческой CEACAM6 - CEACAM6 яванских макаков.

Мутагенез

Чтобы обосновать выводы и предсказания структурного анализа в исследованиях связывания, были получены следующие мутанты N-терминального домена 1 человеческой CEACAM6:

Таблица 30: Аминокислотные последовательности белков, применяемые при исследованиях мутационного связывания

Белок	Белок-ID	Аминокислотная последовательность
Человеческая СЕАСАМ6-Домен 1-His дикого типа	TPP-1794; SEQ-ID NO:169	MKLTIESTPF NVAEGKEVLL LAHNLPQNRI GYSWYKGERV DGNSLIVGYV IGTQQATPGP AYSGRETIYP NASLLIQNVT QNDTGFYTLQ VIKSDLVNEE ATGQFHVYPG SGSHHHHHHH H
Человеческая СЕАСАМ6-Домен 1-His - I30L (I63L согласно SEQ-ID	TPP-8697 SEQ-ID NO:185	MKLTIESTPF NVAEGKEVLL LAHNLPQNRL GYSWYKGERV DGNSLIVGYV IGTQQATPGP AYSGRETIYP NASLLIQNVT QNDTGFYTLQ VIKSDLVNEE ATGQFHVYPG SGSHHHHHHH H
NO: 179)		
Человеческая СЕАСАМ6-Домен 1-His - I30F (I63F согласно SEQ- ID NO : 179)	TPP-8698 SEQ-ID NO:186	MKLTIESTPF NVAEGKEVLL LAHNLPQNRFL GYSWYKGERV DGNSLIVGYV IGTQQATPGP AYSGRETIYP NASLLIQNVT QNDTGFYTLQ VIKSDLVNEE ATGQFHVYPG SGSHHHHHHH H

Белки экспрессировались в *E. coli*, подвергали рефолдингу и очищали, как описано в Примере 1. Сравнительную активность связывания с белком домена 1 дикого типа и двумя одиночными мутациями определяли методом ELISA. 1,5 мкг/мл растворов белка в PBS наносили на ночь на 384 планшеты Nunc MaxiSorp (Sigma, P6491). Планшеты промывали с PBS/T и блокированными Smart block (CANDOR Bioscience GmbH, 113125). Затем на лунки наносили серию разбавлений TPP-3310, TPP-1679 и антитела изотопического контроля. После промывания PBS/T связные антитела были обнаружены с помощью античеловеческого IgG Fc POD (Sigma, A0170) и 10 мкМ раствора Amplex Red (Thermo, A12222). Сигналы положительного связывания были обнаружены с помощью флуоресценции (Ex. 535 нм/Em. 590 нм). Таблица 32 показывает активность связывания для TPP-3310 с белком домена 1 дикого типа и мутацию изолейцин 63 (как в SEQ ID NO: 179) на лейцин (как в яванских макаках). Мутация аминокислоты в положении 63 (как в SEQ ID NO: 179) на фенилаланин (как в человеческой СЕАСАМ1, человеческой СЕАСАМ3 и человеческой СЕАСАМ5) приводит к полной потере связывающей способности. В качестве контроля для демонстрации эффективного рефолдинга белков N-терминального домена 1 СЕАСАМ6 использовали TPP-1679 (см. Пример 4), для которого наблюдалось связывание в той же степени со всеми антигенами, протестированными в Таблице 31.

Таблица 31: Активность связывания на мутантах N-терминального домена 1 CEACAM6

	Человеческая CEACAM6-Домен 1-His дикого типа TPP-1794; SEQ-ID NO:169	Человеческая CEACAM6-Домен 1-His I30L (I63L согласно SEQ-ID NO: 179) TPP-8697; SEQ-ID NO:185	Человеческая CEACAM6-Домен 1-His I30F (I63F согласно SEQ-ID NO: 179) TPP-8698; SEQ-ID NO:186
Антитело			
TPP-3310	+	+	-
TPP-1679	+	+	+
Изотопический контроль	-	-	-

"+" означает обнаружение связывания;

"-" означает, что связывание не обнаружено.

В заключение, действительно перекрестно реагирующее антитело TPP-3310 с человеческой CEACAM6 - CEACAM6 яванских макак, которое в то же время является селективным по отношению к другим паралограм человека, было толерантно к I63L замещению (согласно SEQ ID: 179) (что соответствует CEACAM6 яванских макак), но не I63F замещению (согласно SEQ ID: 179) (соответствующий остаток в человеческих паралограмах CEACAM1, CEACAM3 и CEACAM5) в контексте N-терминального домена 1 человеческой CEACAM6, согласуется с результатами, полученными из рентгеновской кристаллографии, обосновывая наш прогноз.

Пример 17: Анализ опосредованной Т клетками цитотоксичности в присутствии CEACAM6 антител

Влияние анти-CEACAM6 антитела на опосредованную Т-клетку цитотоксичность изучали в экспериментах по цитотоксичности с сокультурами CEACAM6 - положительных опухолевых клеток и Т-клеток, полученных из разных источников.

Этими Т-клетками были либо CD8⁺ сурвивин Т-клетки, либо Т-клетки, полученные из рака поджелудочной железы. Для этих экспериментов по уничтожению опухолевых клеток использовалась система анализа цитотоксичности на основе полного сопротивления (xCELLigence).

Специфичный для пептида сурвивина CD8⁺ Т-клеточный клон был получен и размножен *in vitro*, как описанные в примере 11. Инфильтрирующие рак поджелудочной железы линии лимфоцитов (TIL) были выделены из свежей первичной культуры опухолевой ткани в результате хирургического вмешательства. Вкратце, свежий первичный тканевый материал разрезали на мелкие кусочки и культивировали в небольших чашках в среде X-Vivo-15 (Lonza), содержащей 2% человеческого сывороточного альбумина, 2,5 мкг/мл Fungizone, 20 мкг/мл гентамицина, 1% пенициллина/Стрептомицин с 6000 IU/IL-2 в течение 10-18 дней. Затем клетки из супернатанта собирали и либо замораживали, либо использовали непосредственно для «протокола быстрого роста» (REP). Для быстрого роста TIL замороженные TIL осторожно оттаивали и культивировали с 0,6*10⁶ клеток/мл в течение 1 дня в полной лимфоцитарной среде CLM RPMI-1640 (Life Technologies # 21875034), 10% человеческой

АВ-сыворотки (MILAN Analytica # 000083), 1% пенициллина/стрептомицина (Life Technologies # 15140122), 1% мл HEPES (Life Technologies # 15630056), 0,01% β-меркаптоэтанола (сток 50 мМ) (Life Technologies # 31350010)) с 6000 IU/мл IL-2. TIL собирали и обогащали при соотношении 1:100 с 60 мкг облученного питающего РВМС от 3 разных доноров в среде 400 мл REP (50% CLM смешивали с 50% свободной от сыворотки AIM-V среды (Gibco # 12055091), содержащей 3000 IU/мл IL-2 и 30 нг/мл антитела ОКТ-3 (eBioscience # 16-0037-85)) в колбах G-REX-100 (Wilson Wolf # 80500S).

Клетки культивировали и расщепляли, как описано в Jin et al., J Immunother. 2012 Apr; 35(3):283-92. Через 14 дней клетки собирали и замораживали в аликвотах. Перед анализом цитотоксичности с соультурой отдельные аликвоты TIL осторожно оттаивали и культивировали с $0,6 \cdot 10^6$ клеток/мл в течение 2 дней в CLM, содержащем 6000 IU/мл IL-2, и 1 день в CLM без IL-2.

Опухолевые клетки культивировали согласно стандартным протоколам и инструкциям поставщика

Опосредованную Т-клетками цитотоксичность анализировали на основе анализа цитотоксичности на основе полного сопротивления (xCELLigence). В этой системе для анализа, свободной от метки, цитотоксичность измеряют непосредственно и непрерывно в течение длительного периода времени около 100-150 ч (в реальном времени).

Адгезивные опухолевые клетки прикрепляются к микроэлектродам на дне 96-луночного Е-планшета (E-Plate VIEW 96 PET, ACEA Biosciences #ID: H000568), что изменяет электрическое сопротивление этих электродов. Это контролируется как увеличение безразмерного «индекса ячейки». После прилипания опухолевых клеток (~24 ч) к лункам добавляют антитела и Т-клетки, что, если Т-клетки проявляют цитотоксическую активность, приводит к лизису опухолевых клеток и отрыву от электродов. Этот отрыв изменяет сопротивление лунок и измеряется как уменьшение «индекса ячейки» или «индекса нормализованных клеток», который является «индексом ячейки», нормализованным к моменту времени добавления Т клеток. Т-клетки сами по себе не влияют на электрическое сопротивление электродов, и поэтому измеряется только цитолиз опухолевых клеток. (Peper et al, J Immunol Methods. 2014 Mar; 405:192-8)

В первых экспериментах установили, что уничтожение опухолевых клеток, наблюдаемое в этой системе анализа, зависит от дозы Т-клеток и работает для разных отношений опухолевые клетки: Т-клетки и разных источников Т-клеток (специфичные для пептида сурвивина CD8⁺ Т-клетки, TIL пациентов с раком поджелудочной железы).

Затем изучили влияние анти-СЕАСАМ6 антител на цитолитическую эффективность сурвивин-специфичных Т-клеток. Таким образом, СЕАСАМ6 положительные КС рака молочной железы или СЕАСАМ6 трансфицированные НСТ-116 (НСТ116-hC6) рака толстой кишки добавляли на 96-луночный планшет в течение 24 ч до того, как специфичные для пептида сурвивина Т клетки были добавлены при разных соотношениях клеток вместе с анти-СЕАСАМ6 mAbs.

Сокультивирование проводилась в течение периода времени ~100 ч. В этих экспериментах наблюдали улучшенную зависимость от Т-клеток цитотоксичность в присутствии анти-СЕАСАМ6 антитела TRP-3310 и TRP-3470 ~21% на обеих клеточных линиях. Результаты отображаются в Фиг. 11 А и В), например, для одного клеточного отношения. Примечательно, что специфичные для пептида сурвивина CD8⁺ Т-клетки уже сами по себе демонстрируют высокий цитотоксический эффект 45-62%, что, скорее всего, связано с преактивацией культивируемых Т-клеток и, таким образом, рассматривается как фоновый цитолиз. Таким образом, увеличение секреции IFN-гамма,

наблюдаемое в предыдущих анализах ELISA, приводит к цитотоксическому эффекту в течение примерно 24 часов сокультивирования. Был сделан вывод, что обработка CEACAM6-положительных опухолевых клеток анти-CEACAM6-антителом приводит к улучшенному опосредованному специфичными для пептида сурвивина CD8⁺ Т-клетками уничтожению обеих линий опухолевых клеток.

В последующих экспериментах протестировали влияние антител CEACAM6 на цитолитическую активность полученных у пациентов TIL клеток рака поджелудочной железы. Поэтому на 96-луночный планшет добавляли клеточную линию CEACAM6-положительных клеток рака легких HCC2935 и культивировали в течение 24 часов. Затем добавляли TIL при различных соотношениях в присутствии антитела CEACAM6 (30 мкг/мл) и биспецифического антитела анти-CD3 × анти-EPSCAM IgG (0,25 нг/мл) (Marmé et al., Int J Cancer. 2002 Sep 10; 101(2):183-9; Salnikov et al., J Cell Mol Med. 2009 Sep; 13(9B):4023-33), чтобы обеспечить убийство клеток HLA-независимое, опосредованное Т-клетками уничтожение опухолевых клеток. В присутствии анти-CEACAM6 антител TRP-3310 и TRP-3470 наблюдали полное падение сопротивления, которое не наблюдалась при введении изотопически подобного контрольного антитела. Падение сопротивления интерпретируется как полное цитолитическое уничтожение целевой клеточной линии HCC2935. В дополнительном эксперименте можно продемонстрировали, что влияние CEACAM6 антитела TRP-3310 является зависимым от дозы, и значение IC₅₀ 0,62-0,21 мкг/мл было определено. На Фиг. 12 показаны примерные результаты для TIL-12.

Таким образом, эти эксперименты показывают, что антитела CEACAM6 согласно настоящему изобретению могут эффективно блокировать иммуноподавляющий рецептор CEACAM6 и улучшать цитотоксическую эффективность не только модельных Т-клеток, но и лимфоцитов, инфильтрующих опухоли, полученные пациентов, против CEACAM6-положительных опухолевых клеток.

Таблица 32: Корреляция SEQ ID NO с TPP-ID и связанными признаками последовательностей (тяжелая и легкая цепь антитела, переменные области, области, определяющие комплементарность (CDR)) для белков (PRT) и нуклеиновых кислот (ДНК)

"TPP ID"	"Название последовательности"	"Область последовательности"	"Тип последовательности"	"SEQ ID"
TPP-1173	h16C3-hIgG1	Тяжелая цепь	PRT	SEQ ID NO:1
TPP-1173	h16C3-hIgG1	Легкая цепь	PRT	SEQ ID NO:2
TPP-2971	792.15H12C9	VH	PRT	SEQ ID NO:3
TPP-2971	792.15H12C9	HCDR1	PRT	SEQ ID NO:4
TPP-2971	792.15H12C9	HCDR2	PRT	SEQ ID NO:5
TPP-2971	792.15H12C9	HCDR3	PRT	SEQ ID NO:6
TPP-2971	792.15H12C9	VL	PRT	SEQ ID NO:7
TPP-2971	792.15H12C9	LCDR1	PRT	SEQ ID NO:8
TPP-2971	792.15H12C9	LCDR2	PRT	SEQ ID NO:9
TPP-2971	792.15H12C9	LCDR3	PRT	SEQ ID NO:10
TPP-3186	792.11G2D10	VH	PRT	SEQ ID NO:13
TPP-3186	792.11G2D10	HCDR1	PRT	SEQ ID NO:14
TPP-3186	792.11G2D10	HCDR2	PRT	SEQ ID NO:15
TPP-3186	792.11G2D10	HCDR3	PRT	SEQ ID NO:16
TPP-3186	792.11G2D10	VL	PRT	SEQ ID NO:17
TPP-3186	792.11G2D10	LCDR1	PRT	SEQ ID NO:18
TPP-3186	792.11G2D10	LCDR2	PRT	SEQ ID NO:19
TPP-3186	792.11G2D10	LCDR3	PRT	SEQ ID NO:20
TPP-3187	792.15C4F4	VH	PRT	SEQ ID NO:23
TPP-3187	792.15C4F4	HCDR1	PRT	SEQ ID NO:24
TPP-3187	792.15C4F4	HCDR2	PRT	SEQ ID NO:25

"TPP ID"	"Название последовательности"	"Область последовательности"	"Тип последовательности"	"SEQ ID"
TPP-3187	792.15C4F4	HCDR3	PRT	SEQ ID NO:26
TPP-3187	792.15C4F4	VL	PRT	SEQ ID NO:27
TPP-3187	792.15C4F4	LCDR1	PRT	SEQ ID NO:28
TPP-3187	792.15C4F4	LCDR2	PRT	SEQ ID NO:29
TPP-3187	792.15C4F4	LCDR3	PRT	SEQ ID NO:30
TPP-3308	TPP-2971X1-hIgG2Kappa	VH	PRT	SEQ ID NO:33
TPP-3308	TPP-2971X1-hIgG2Kappa	HCDR1	PRT	SEQ ID NO:34
TPP-3308	TPP-2971X1-hIgG2Kappa	HCDR2	PRT	SEQ ID NO:35
TPP-3308	TPP-2971X1-hIgG2Kappa	HCDR3	PRT	SEQ ID NO:36
TPP-3308	TPP-2971X1-hIgG2Kappa	VL	PRT	SEQ ID NO:37
TPP-3308	TPP-2971X1-hIgG2Kappa	LCDR1	PRT	SEQ ID NO:38
TPP-3308	TPP-2971X1-hIgG2Kappa	LCDR2	PRT	SEQ ID NO:39
TPP-3308	TPP-2971X1-hIgG2Kappa	LCDR3	PRT	SEQ ID NO:40
TPP-3308	TPP-2971X1-hIgG2Kappa	VH	ДНК	SEQ ID NO:41
TPP-3308	TPP-2971X1-hIgG2Kappa	VL	ДНК	SEQ ID NO:42
TPP-3308	TPP-2971X1-hIgG2Kappa	Тяжелая цепь	PRT	SEQ ID NO:43
TPP-3308	TPP-2971X1-hIgG2Kappa	Легкая цепь	PRT	SEQ ID NO:44
TPP-3308	TPP-2971X1-hIgG2Kappa	Тяжелая цепь	ДНК	SEQ ID NO:45
TPP-3308	TPP-2971X1-hIgG2Kappa	Легкая цепь	ДНК	SEQ ID NO:46
TPP-3310	TPP-2971HU1-	VH	PRT	SEQ ID NO:47

"TPP ID"	"Название последовательности"	"Область последовательности"	"Тип последовательности"	"SEQ ID"
	hIgG2Kappa			
TPP-3310	TPP-2971HU1-hIgG2Kappa	HCDR1	PRT	SEQ ID NO:48
TPP-3310	TPP-2971HU1-hIgG2Kappa	HCDR2	PRT	SEQ ID NO:49
TPP-3310	TPP-2971HU1-hIgG2Kappa	HCDR3	PRT	SEQ ID NO:50
TPP-3310	TPP-2971HU1-hIgG2Kappa	VL	PRT	SEQ ID NO:51
TPP-3310	TPP-2971HU1-hIgG2Kappa	LCDR1	PRT	SEQ ID NO:52
TPP-3310	TPP-2971HU1-hIgG2Kappa	LCDR2	PRT	SEQ ID NO:53
TPP-3310	TPP-2971HU1-hIgG2Kappa	LCDR3	PRT	SEQ ID NO:54
TPP-3310	TPP-2971HU1-hIgG2Kappa	VH	ДНК	SEQ ID NO:55
TPP-3310	TPP-2971HU1-hIgG2Kappa	VL	ДНК	SEQ ID NO:56
TPP-3310	TPP-2971HU1-hIgG2Kappa	Тяжелая цепь	PRT	SEQ ID NO:57
TPP-3310	TPP-2971HU1-hIgG2Kappa	Легкая цепь	PRT	SEQ ID NO:58
TPP-3310	TPP-2971HU1-hIgG2Kappa	Тяжелая цепь	ДНК	SEQ ID NO:59
TPP-3310	TPP-2971HU1-hIgG2Kappa	Легкая цепь	ДНК	SEQ ID NO:60
TPP-3322	TPP-3186X1-hIgG2	VH	PRT	SEQ ID NO:61
TPP-3322	TPP-3186X1-hIgG2	HCDR1	PRT	SEQ ID NO:62
TPP-3322	TPP-3186X1-hIgG2	HCDR2	PRT	SEQ ID NO:63
TPP-3322	TPP-3186X1-hIgG2	HCDR3	PRT	SEQ ID NO:64

"TPP ID"	"Название последовательности"	"Область последовательности"	"Тип последовательности"	"SEQ ID"
TPP-3322	TPP-3186X1-hIgG2	VL	PRT	SEQ ID NO:65
TPP-3322	TPP-3186X1-hIgG2	LCDR1	PRT	SEQ ID NO:66
TPP-3322	TPP-3186X1-hIgG2	LCDR2	PRT	SEQ ID NO:67
TPP-3322	TPP-3186X1-hIgG2	LCDR3	PRT	SEQ ID NO:68
TPP-3322	TPP-3186X1-hIgG2	VH	ДНК	SEQ ID NO:69
TPP-3322	TPP-3186X1-hIgG2	VL	ДНК	SEQ ID NO:70
TPP-3322	TPP-3186X1-hIgG2	Тяжелая цепь	PRT	SEQ ID NO:71
TPP-3322	TPP-3186X1-hIgG2	Легкая цепь	PRT	SEQ ID NO:72
TPP-3322	TPP-3186X1-hIgG2	Тяжелая цепь	ДНК	SEQ ID NO:73
TPP-3322	TPP-3186X1-hIgG2	Легкая цепь	ДНК	SEQ ID NO:74
TPP-3323	TPP-3187X1-hIgG2	VH	PRT	SEQ ID NO:75
TPP-3323	TPP-3187X1-hIgG2	HCDR1	PRT	SEQ ID NO:76
TPP-3323	TPP-3187X1-hIgG2	HCDR2	PRT	SEQ ID NO:77
TPP-3323	TPP-3187X1-hIgG2	HCDR3	PRT	SEQ ID NO:78
TPP-3323	TPP-3187X1-hIgG2	VL	PRT	SEQ ID NO:79
TPP-3323	TPP-3187X1-hIgG2	LCDR1	PRT	SEQ ID NO:80
TPP-3323	TPP-3187X1-hIgG2	LCDR2	PRT	SEQ ID NO:81
TPP-3323	TPP-3187X1-hIgG2	LCDR3	PRT	SEQ ID NO:82

"TPP ID"	"Название последовательности"	"Область последовательности"	"Тип последовательности"	"SEQ ID"
TPP-3323	TPP-3187X1-hIgG2	VH	ДНК	SEQ ID NO:83
TPP-3323	TPP-3187X1-hIgG2	VL	ДНК	SEQ ID NO:84
TPP-3323	TPP-3187X1-hIgG2	Тяжелая цепь	PRT	SEQ ID NO:85
TPP-3323	TPP-3187X1-hIgG2	Легкая цепь	PRT	SEQ ID NO:86
TPP-3323	TPP-3187X1-hIgG2	Тяжелая цепь	ДНК	SEQ ID NO:87
TPP-3323	TPP-3187X1-hIgG2	Легкая цепь	ДНК	SEQ ID NO:88
TPP-3688	h16C3-hIgG2Kappa	Тяжелая цепь	PRT	SEQ ID NO:89
TPP-3688	h16C3-hIgG2Kappa	Легкая цепь	PRT	SEQ ID NO:90
TPP-3705	090E-M007-A09-Mat1-hIgG2-hIgG2Kappa	VH	PRT	SEQ ID NO:91
TPP-3705	090E-M007-A09-Mat1-hIgG2-hIgG2Kappa	HCDR1	PRT	SEQ ID NO:92
TPP-3705	090E-M007-A09-Mat1-hIgG2-hIgG2Kappa	HCDR2	PRT	SEQ ID NO:93
TPP-3705	090E-M007-A09-Mat1-hIgG2-hIgG2Kappa	HCDR3	PRT	SEQ ID NO:94
TPP-3705	090E-M007-A09-Mat1-hIgG2-hIgG2Kappa	VL	PRT	SEQ ID NO:95
TPP-3705	090E-M007-A09-Mat1-	LCDR1	PRT	SEQ ID NO:96

"TPP ID"	"Название последовательности"	"Область последовательности"	"Тип последовательности"	"SEQ ID"
	hIgG2-hIgG2Kappa			
TPP-3705	090E-M007-A09-Mat1-hIgG2-hIgG2Kappa	LCDR2	PRT	SEQ ID NO:97
TPP-3705	090E-M007-A09-Mat1-hIgG2-hIgG2Kappa	LCDR3	PRT	SEQ ID NO:98
TPP-3705	090E-M007-A09-Mat1-hIgG2-hIgG2Kappa	VH	ДНК	SEQ ID NO:99
TPP-3705	090E-M007-A09-Mat1-hIgG2-hIgG2Kappa	VL	ДНК	SEQ ID NO:100
TPP-3705	090E-M007-A09-Mat1-hIgG2-hIgG2Kappa	Тяжелая цепь	PRT	SEQ ID NO:101
TPP-3705	090E-M007-A09-Mat1-hIgG2-hIgG2Kappa	Легкая цепь	PRT	SEQ ID NO:102
TPP-3705	090E-M007-A09-Mat1-hIgG2-hIgG2Kappa	Тяжелая цепь	ДНК	SEQ ID NO:103
TPP-3705	090E-M007-A09-Mat1-hIgG2-hIgG2Kappa	Легкая цепь	ДНК	SEQ ID NO:104
TPP-3707	090E-M007-A09-Mat2-hIgG2-hIgG2Kappa	VH	PRT	SEQ ID NO:105
TPP-3707	090E-M007-A09-Mat2-	HCDR1	PRT	SEQ ID NO:106

"TPP ID"	"Название последовательности"	"Область последовательности"	"Тип последовательности"	"SEQ ID"
	hIgG2-hIgG2Kappa			
TPP-3707	090E-M007-A09-Mat2-hIgG2-hIgG2Kappa	HCDR2	PRT	SEQ ID NO:107
TPP-3707	090E-M007-A09-Mat2-hIgG2-hIgG2Kappa	HCDR3	PRT	SEQ ID NO:108
TPP-3707	090E-M007-A09-Mat2-hIgG2-hIgG2Kappa	VL	PRT	SEQ ID NO:109
TPP-3707	090E-M007-A09-Mat2-hIgG2-hIgG2Kappa	LCDR1	PRT	SEQ ID NO:110
TPP-3707	090E-M007-A09-Mat2-hIgG2-hIgG2Kappa	LCDR2	PRT	SEQ ID NO:111
TPP-3707	090E-M007-A09-Mat2-hIgG2-hIgG2Kappa	LCDR3	PRT	SEQ ID NO:112
TPP-3707	090E-M007-A09-Mat2-hIgG2-hIgG2Kappa	VH	ДНК	SEQ ID NO:113
TPP-3707	090E-M007-A09-Mat2-hIgG2-hIgG2Kappa	VL	ДНК	SEQ ID NO:114
TPP-3707	090E-M007-A09-Mat2-hIgG2-hIgG2Kappa	Тяжелая цепь	PRT	SEQ ID NO:115
TPP-3707	090E-M007-A09-Mat2-	Легкая цепь	PRT	SEQ ID NO:116

"TPP ID"	"Название последовательности"	"Область последовательности"	"Тип последовательности"	"SEQ ID"
	hIgG2-hIgG2Kappa			
TPP-3707	090E-M007-A09-Mat2-hIgG2-hIgG2Kappa	Тяжелая цепь	ДНК	SEQ ID NO:117
TPP-3707	090E-M007-A09-Mat2-hIgG2-hIgG2Kappa	Легкая цепь	ДНК	SEQ ID NO:118
TPP-3714	TPP-2971HU2-hIgG2Kappa	VH	PRT	SEQ ID NO:119
TPP-3714	TPP-2971HU2-hIgG2Kappa	HCDR1	PRT	SEQ ID NO:120
TPP-3714	TPP-2971HU2-hIgG2Kappa	HCDR2	PRT	SEQ ID NO:121
TPP-3714	TPP-2971HU2-hIgG2Kappa	HCDR3	PRT	SEQ ID NO:122
TPP-3714	TPP-2971HU2-hIgG2Kappa	VL	PRT	SEQ ID NO:123
TPP-3714	TPP-2971HU2-hIgG2Kappa	LCDR1	PRT	SEQ ID NO:124
TPP-3714	TPP-2971HU2-hIgG2Kappa	LCDR2	PRT	SEQ ID NO:125
TPP-3714	TPP-2971HU2-hIgG2Kappa	LCDR3	PRT	SEQ ID NO:126
TPP-3714	TPP-2971HU2-hIgG2Kappa	VH	ДНК	SEQ ID NO:127
TPP-3714	TPP-2971HU2-hIgG2Kappa	VL	ДНК	SEQ ID NO:128
TPP-3714	TPP-2971HU2-hIgG2Kappa	Тяжелая цепь	PRT	SEQ ID NO:129
TPP-3714	TPP-2971HU2-hIgG2Kappa	Легкая цепь	PRT	SEQ ID NO:130
TPP-3714	TPP-2971HU2-hIgG2Kappa	Тяжелая цепь	ДНК	SEQ ID NO:131

"TPP ID"	"Название последовательности"	"Область последовательности"	"Тип последовательности"	"SEQ ID"
TPP-3714	TPP-2971HU2-hIgG2Кappa	Легкая цепь	ДНК	SEQ ID NO:132
TPP-3820	3187HU1-hIgG2Кappa	VH	PRT	SEQ ID NO:133
TPP-3820	3187HU1-hIgG2Кappa	HCDR1	PRT	SEQ ID NO:134
TPP-3820	3187HU1-hIgG2Кappa	HCDR2	PRT	SEQ ID NO:135
TPP-3820	3187HU1-hIgG2Кappa	HCDR3	PRT	SEQ ID NO:136
TPP-3820	3187HU1-hIgG2Кappa	VL	PRT	SEQ ID NO:137
TPP-3820	3187HU1-hIgG2Кappa	LCDR1	PRT	SEQ ID NO:138
TPP-3820	3187HU1-hIgG2Кappa	LCDR2	PRT	SEQ ID NO:139
TPP-3820	3187HU1-hIgG2Кappa	LCDR3	PRT	SEQ ID NO:140
TPP-3820	3187HU1-hIgG2Кappa	VH	ДНК	SEQ ID NO:141
TPP-3820	3187HU1-hIgG2Кappa	VL	ДНК	SEQ ID NO:142
TPP-3820	3187HU1-hIgG2Кappa	Тяжелая цепь	PRT	SEQ ID NO:143
TPP-3820	3187HU1-hIgG2Кappa	Легкая цепь	PRT	SEQ ID NO:144
TPP-3820	3187HU1-hIgG2Кappa	Тяжелая цепь	ДНК	SEQ ID NO:145
TPP-3820	3187HU1-hIgG2Кappa	Легкая цепь	ДНК	SEQ ID NO:146
TPP-3821	3187HU2-hIgG2Кappa	VH	PRT	SEQ ID NO:147
TPP-3821	3187HU2-hIgG2Кappa	HCDR1	PRT	SEQ ID NO:148
TPP-3821	3187HU2-hIgG2Кappa	HCDR2	PRT	SEQ ID NO:149

"TPP ID"	"Название последовательности"	"Область последовательности"	"Тип последовательности"	"SEQ ID"
TPP-3821	3187HU2-hIgG2Kappa	HCDR3	PRT	SEQ ID NO:150
TPP-3821	3187HU2-hIgG2Kappa	VL	PRT	SEQ ID NO:151
TPP-3821	3187HU2-hIgG2Kappa	LCDR1	PRT	SEQ ID NO:152
TPP-3821	3187HU2-hIgG2Kappa	LCDR2	PRT	SEQ ID NO:153
TPP-3821	3187HU2-hIgG2Kappa	LCDR3	PRT	SEQ ID NO:154
TPP-3821	3187HU2-hIgG2Kappa	VH	ДНК	SEQ ID NO:155
TPP-3821	3187HU2-hIgG2Kappa	VL	ДНК	SEQ ID NO:156
TPP-3821	3187HU2-hIgG2Kappa	Тяжелая цепь	PRT	SEQ ID NO:157
TPP-3821	3187HU2-hIgG2Kappa	Легкая цепь	PRT	SEQ ID NO:158
TPP-3821	3187HU2-hIgG2Kappa	Тяжелая цепь	ДНК	SEQ ID NO:159
TPP-3821	3187HU2-hIgG2Kappa	Легкая цепь	ДНК	SEQ ID NO:160
TPP-1306	macaca mulatta CEACAM6-Xa-Fc-His	Цепь 1	PRT	SEQ ID NO:161
TPP-1436	Ceacam6	Цепь 1	PRT	SEQ ID NO:162
TPP-1437	Ceacam1	Цепь 1	PRT	SEQ ID NO:163
TPP-1438	Ceacam5	Цепь 1	PRT	SEQ ID NO:164
TPP-1790	hCeacam6-WT-Fc-6xHis	Цепь 1	PRT	SEQ ID NO:165
TPP-1791	hCeacam6-Dom1-MacMul-Xa-Fc-His	Цепь 1	PRT	SEQ ID NO:166

"TPP ID"	"Название последовательности"	"Область последовательности"	"Тип последовательности"	"SEQ ID"
TPP-1792	hCeacam6-Dom2-MacMul-Xa-Fc-His	Цепь 1	PRT	SEQ ID NO:167
TPP-1793	hCeacam6-Dom3-MacMul-Xa-Fc-His	Цепь 1	PRT	SEQ ID NO:168
TPP-1794	hCeacam6-Dom1-8xHis (E.coli)	Цепь 1	PRT	SEQ ID NO:169
TPP-2443	супо CEACAM6-Xa-Fc-His	Цепь 1	PRT	SEQ ID NO:170
TPP-2452	CEACAM6 яванских макак-Dom1-Xa-Fc-His	Цепь 1	PRT	SEQ ID NO:171
TPP-2755	человеческая CEACAM3	Цепь 1	PRT	SEQ ID NO:172
TPP-4185	CEACAM1	Цепь 1	PRT	SEQ ID NO:173
TPP-4186	CEACAM19	Цепь 1	PRT	SEQ ID NO:174
TPP-4187	CEACAM3	Цепь 1	PRT	SEQ ID NO:175
TPP-4188	CEACAM5	Цепь 1	PRT	SEQ ID NO:176
TPP-4189	CEACAM6_ma cfa	Цепь 1	PRT	SEQ ID NO:177
TPP-4190	CEACAM8	Цепь 1	PRT	SEQ ID NO:178
TPP-4639	CEACAM6	Цепь 1	PRT	SEQ ID NO:179
TPP-2453	CEACAM6 Macaca fascicularis-Домен 1-His	Цепь 1	PRT	SEQ-ID NO:180
TPP-5468	TPP-2971HU1-hIgG1Kappa	Тяжелая цепь	PRT	SEQ-ID NO:181

"TPP ID"	"Название последовательности"	"Область последовательности"	"Тип последовательности"	"SEQ ID"
TPP-5468	TPP-2971HU1-hIgG1Kappa	Легкая цепь	PRT	SEQ-ID NO:182
APP-1574	Папаин-отщепленный Fab фрагмент TPP-5468	Тяжелая цепь	PRT	SEQ-ID NO:183
APP-1574	Папаин-отщепленный Fab фрагмент TPP-5468	Легкая цепь	PRT	SEQ-ID NO:184
TPP-8697	Человеческая CEACAM6-Домен 1-His - I30L	Цепь 1	PRT	SEQ-ID NO:185
TPP-8698	Человеческая CEACAM6-Домен 1-His - I30F	Цепь 1	PRT	SEQ-ID NO:186

Перечень последовательностей

<110> Bayer Pharma AG
 <120> АНТИ-СЕАСАМ6 АНТИТЕЛА И ИХ ПРИМЕНЕНИЯ
 <130> ВНС 14 1 064
 <160> 186
 <170> PatentIn version 3.5
 <210> 1
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> TPP-1173, h16C3-hIgG1, тяжелая цепь
 <400> 1
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Leu Ile Ser Thr Tyr Ser Gly Asp Thr Lys Tyr Asn Gln Asn Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Val Asp Lys Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

RU 2739163 C2

				85					90				95				
	Ala	Arg	Gly	Asp	Tyr	Ser	Gly	Ser	Arg	Tyr	Trp	Phe	Ala	Tyr	Trp	Gly	
				100					105				110				
	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	
5			115					120					125				
	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	
			130					135					140				
	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	
	145						150					155				160	
10	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	
					165					170					175		
	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	
					180					185				190			
	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	
15			195					200					205				
	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	
			210					215					220				
	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	
	225						230					235				240	
20	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	
					245					250					255		
	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	
					260					265					270		
	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	
25			275					280					285				
	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	
			290					295					300				
	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	
	305					310					315					320	
30	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	
					325					330					335		
	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	
					340					345				350			
	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	
35			355					360					365				
	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	
			370				375					380					
	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	
	385					390					395					400	
40	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	
					405					410					415		
	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	
					420					425				430			
	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	
45			435					440					445				
	Pro	Gly															
			450														
	<210>	2															

<211> 214
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 5 <223> TPP-1173, h16C3-hIgG1, легкая цепь
 <400> 2
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Gly Ala
 10 20 25 30
 Leu Asn Trp Tyr Gln Arg Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Gly Ala Ser Asn Leu Ala Thr Gly Met Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 15 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Val Leu Ser Ser Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
 25 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 30 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210
 35 <210> 3
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 40 <223> TPP-2971, 792.15H12C9, VH
 <400> 3
 Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Ile Leu Gln Pro Ser Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Gly Ile Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Ser Gly Lys Asp Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asn Asp Asn Lys Tyr Tyr Asn Thr Ala

	50		55		60												
	Leu	Lys	Ser	Arg	Leu	Thr	Ile	Ser	Lys	Asp	Thr	Ser	Asn	Asn	Gln	Val	
	65					70				75						80	
	Phe	Leu	Lys	Ile	Ala	Ser	Val	Asp	Thr	Ala	Asp	Thr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	
5				85					90						95		
	Cys	Ala	Arg	Ile	Ser	Leu	Pro	Tyr	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	
				100				105						110			
	Thr	Leu	Thr	Val	Ser	Ser											
				115													
10	<210>	4															
	<211>	7															
	<212>	PRT															
	<213>	Искусственная последовательность															
	<220>																
15	<223>	TPP-2971, 792.15H12C9, HCDR1															
	<400>	4															
	Thr	Tyr	Gly	Ile	Gly	Val	Gly										
	1			5													
	<210>	5															
20	<211>	16															
	<212>	PRT															
	<213>	Искусственная последовательность															
	<220>																
	<223>	TPP-2971, 792.15H12C9, HCDR2															
25	<400>	5															
	His	Ile	Trp	Trp	Asn	Asp	Asn	Lys	Tyr	Tyr	Asn	Thr	Ala	Leu	Lys	Ser	
	1				5				10					15			
	<210>	6															
	<211>	8															
30	<212>	PRT															
	<213>	Искусственная последовательность															
	<220>																
	<223>	TPP-2971, 792.15H12C9, HCDR3															
	<400>	6															
35	Ile	Ser	Leu	Pro	Tyr	Phe	Asp	Tyr									
	1			5													
	<210>	7															
	<211>	107															
	<212>	PRT															
40	<213>	Искусственная последовательность															
	<220>																
	<223>	TPP-2971, 792.15H12C9, VL															
	<400>	7															
	Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Gln	Lys	Phe	Met	Ser	Thr	Ser	Val	Gly	
45	1			5					10					15			
	Asp	Arg	Val	Ser	Ile	Thr	Cys	Lys	Ala	Ser	Gln	Asn	Val	Gly	Thr	Ala	
				20				25					30				
	Val	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	

35 40 45
 Tyr Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Met Gln Ser
 5 65 70 75 80
 Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Leu
 85 90 95
 Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
 100 105
 10 <210> 8
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 15 <223> TPP-2971, 792.15H12C9, LCDR1
 <400> 8
 Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Ala Val Ala
 1 5 10
 <210> 9
 20 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> TPP-2971, 792.15H12C9, LCDR2
 25 <400> 9
 Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr
 1 5
 <210> 10
 <211> 9
 30 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> TPP-2971, 792.15H12C9, LCDR3
 <400> 10
 35 Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Leu Thr
 1 5
 <210> 11
 <211> 129
 <212> PRT
 40 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> TPP-2971, 792.15H12C9, тяжелая цепь
 <400> 11
 Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Ile Leu Gln Pro Ser Gln
 45 1 5 10 15
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Gly Ile Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Ser Gly Lys Asp Leu Glu

RU 2739163 C2

	35		40		45												
	Trp	Leu	Ala	His	Ile	Trp	Trp	Asn	Asp	Asn	Lys	Tyr	Tyr	Asn	Thr	Ala	
	50						55					60					
	Leu	Lys	Ser	Arg	Leu	Thr	Ile	Ser	Lys	Asp	Thr	Ser	Asn	Asn	Gln	Val	
5	65					70					75					80	
	Phe	Leu	Lys	Ile	Ala	Ser	Val	Asp	Thr	Ala	Asp	Thr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	
				85						90					95		
	Cys	Ala	Arg	Ile	Ser	Leu	Pro	Tyr	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	
				100					105					110			
10	Thr	Leu	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Ser	Val	Tyr	Pro	
			115					120					125				
	Leu																
	<210>	12															
	<211>	122															
15	<212>	PRT															
	<213>	Искусственная последовательность															
	<220>																
	<223>	TPP-2971, 792.15H12C9, легкая цепь															
	<400>	12															
20	Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Gln	Lys	Phe	Met	Ser	Thr	Ser	Val	Gly	
	1				5					10					15		
	Asp	Arg	Val	Ser	Ile	Thr	Cys	Lys	Ala	Ser	Gln	Asn	Val	Gly	Thr	Ala	
				20					25					30			
	Val	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	
25			35					40					45				
	Tyr	Ser	Ala	Ser	Asn	Arg	Tyr	Thr	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Thr	Gly	
	50						55					60					
	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Asn	Met	Gln	Ser	
	65				70						75				80		
30	Glu	Asp	Leu	Ala	Asp	Tyr	Phe	Cys	Gln	Gln	Tyr	Ser	Ser	Tyr	Pro	Leu	
				85						90					95		
	Thr	Phe	Gly	Ala	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Leu	Lys	Arg	Ala	Asp	Ala	Ala	
				100					105					110			
	Pro	Thr	Val	Ser	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Ser							
35			115					120									
	<210>	13															
	<211>	118															
	<212>	PRT															
	<213>	Искусственная последовательность															
40	<220>																
	<223>	TPP-3186, 792.11G2D10, VH															
	<400>	13															
	Gln	Val	Thr	Leu	Lys	Glu	Ser	Gly	Pro	Gly	Ile	Leu	Gln	Pro	Ser	Gln	
	1				5					10					15		
45	Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Ser	Phe	Ser	Gly	Phe	Ser	Leu	Ser	Thr	Tyr	
				20					25					30			
	Gly	Ile	Gly	Val	Gly	Cys	Ile	Arg	Gln	Pro	Ser	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	
				35				40					45				

Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asn Asp Asn Lys Tyr Tyr Asn Thr Ala
50 55 60
Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Asn Asn Gln Val
65 70 75 80
5 Phe Leu Lys Ile Ala Ser Val Asp Thr Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95
Cys Ala Arg Ile Ser Leu Pro Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Thr Leu Thr Val Ser Ser
10 115
<210> 14
<211> 7
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность
15 <220>
<223> TPP-3186, 792.11G2D10, HCDR1
<400> 14
Thr Tyr Gly Ile Gly Val Gly
1 5
20 <210> 15
<211> 16
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность
<220>
25 <223> TPP-3186, 792.11G2D10, HCDR2
<400> 15
His Ile Trp Trp Asn Asp Asn Lys Tyr Tyr Asn Thr Ala Leu Lys Ser
1 5 10 15
<210> 16
30 <211> 8
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> TPP-3186, 792.11G2D10, HCDR3
35 <400> 16
Ile Ser Leu Pro Tyr Phe Asp Tyr
1 5
<210> 17
<211> 107
40 <212> PRT
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> TPP-3186, 792.11G2D10, VL
<400> 17
45 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60
5 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Asn Met Gln Ser
65 70 75 80
Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
10 100 105
<210> 18
<211> 11
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность
15 <220>
<223> TPP-3186, 792.11G2D10, LCDR1
<400> 18
Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Ala Val Ala
1 5 10
20 <210> 19
<211> 7
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность
<220>
25 <223> TPP-3186, 792.11G2D10, LCDR2
<400> 19
Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr
1 5
<210> 20
30 <211> 9
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> TPP-3186, 792.11G2D10, LCDR3
35 <400> 20
Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Leu Thr
1 5
<210> 21
<211> 129
40 <212> PRT
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> TPP-3186, 792.11G2D10, тяжелая цепь
<400> 21
45 Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Ile Leu Gln Pro Ser Gln
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Tyr
20 25 30

Gly Ile Gly Val Gly Cys Ile Arg Gln Pro Ser Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asn Asp Asn Lys Tyr Tyr Asn Thr Ala
50 55 60
5 Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Asn Asn Gln Val
65 70 75 80
Phe Leu Lys Ile Ala Ser Val Asp Thr Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95
Cys Ala Arg Ile Ser Leu Pro Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
10 100 105 110
Thr Leu Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro
115 120 125
Leu
<210> 22
15 <211> 122
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> TPP-3186, 792.11G2D10, легкая цепь
20 <400> 22
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Ala
20 25 30
25 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Asn Met Gln Ser
30 65 70 75 80
Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Ala Asp Ala Ala
100 105 110
35 Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser
115 120
<210> 23
<211> 118
<212> PRT
40 <213> Искусственная последовательность
<220>
<223> TPP-3187, 792.15C4F4, VH
<400> 23
Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Ile Leu Gln Pro Ser Gln
45 1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Thr Thr Tyr
20 25 30
Gly Ile Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Ser Gly Lys Gly Leu Glu

35 40 45
 Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asn Asp Asn Lys Tyr Tyr Asn Thr Ala
 50 55 60
 Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Asn Asn Gln Val
 5 65 70 75 80
 Phe Leu Lys Ile Ala Ser Val Asp Thr Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Ile Ser Leu Pro Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 10 Thr Leu Thr Val Ser Ser
 115
 <210> 24
 <211> 7
 <212> PRT
 15 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> TPP-3187, 792.15C4F4, HCDR1
 <400> 24
 Thr Tyr Gly Ile Gly Val Gly
 20 1 5
 <210> 25
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 25 <220>
 <223> TPP-3187, 792.15C4F4, HCDR2
 <400> 25
 His Ile Trp Trp Asn Asp Asn Lys Tyr Tyr Asn Thr Ala Leu Lys Ser
 1 5 10 15
 30 <210> 26
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 35 <223> TPP-3187, 792.15C4F4, HCDR3
 <400> 26
 Ile Ser Leu Pro Tyr Phe Asp Tyr
 1 5
 <210> 27
 40 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> TPP-3187, 792.15C4F4, VL
 45 <400> 27
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Ala

20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
5 50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Met Gln Ser
65 70 75 80
Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Tyr Pro Leu
85 90 95
10 Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105
<210> 28
<211> 11
<212> PRT
15 <213> Искусственная последовательность
<220>
<223> TPP-3187, 792.15C4F4, LCDR1
<400> 28
Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Ala Val Ala
20 1 5 10
<210> 29
<211> 7
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность
25 <220>
<223> TPP-3187, 792.15C4F4, LCDR2
<400> 29
Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr
1 5
30 <210> 30
<211> 9
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность
<220>
35 <223> TPP-3187, 792.15C4F4, LCDR3
<400> 30
Gln Gln Tyr Asn Asn Tyr Pro Leu Thr
1 5
<210> 31
40 <211> 129
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> TPP-3187, 792.15C4F4, тяжелая цепь
45 <400> 31
Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Ile Leu Gln Pro Ser Gln
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Thr Thr Tyr

RU 2739163 C2

		20		25		30											
		Gly	Ile	Gly	Val	Gly	Trp	Ile	Arg	Gln	Pro	Ser	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu
		35		40		45											
		Trp	Leu	Ala	His	Ile	Trp	Trp	Asn	Asp	Asn	Lys	Tyr	Tyr	Asn	Thr	Ala
5		50		55		60											
		Leu	Lys	Ser	Arg	Leu	Thr	Ile	Ser	Lys	Asp	Thr	Ser	Asn	Asn	Gln	Val
		65		70		75										80	
		Phe	Leu	Lys	Ile	Ala	Ser	Val	Asp	Thr	Ala	Asp	Thr	Ala	Thr	Tyr	Tyr
				85		90										95	
10		Cys	Ala	Arg	Ile	Ser	Leu	Pro	Tyr	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr
				100		105										110	
		Thr	Leu	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Ser	Val	Tyr	Pro
				115		120										125	
		Leu															
15		<210>	32														
		<211>	122														
		<212>	PRT														
		<213>	Искусственная последовательность														
		<220>															
20		<223>	TPP-3187, 792.15C4F4, легкая цепь														
		<400>	32														
		Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Gln	Lys	Phe	Met	Ser	Thr	Ser	Val	Gly
		1		5		10									15		
		Asp	Arg	Val	Ser	Ile	Thr	Cys	Lys	Ala	Ser	Gln	Asn	Val	Gly	Thr	Ala
25				20		25									30		
		Val	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
				35		40									45		
		Tyr	Ser	Ala	Ser	Asn	Arg	Tyr	Thr	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Thr	Gly
				50		55									60		
30		Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Asn	Met	Gln	Ser
				65		70										80	
		Glu	Asp	Leu	Ala	Asp	Tyr	Phe	Cys	Gln	Gln	Tyr	Asn	Asn	Tyr	Pro	Leu
				85		90										95	
		Thr	Phe	Gly	Ala	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Leu	Lys	Arg	Ala	Asp	Ala	Ala
35				100		105										110	
		Pro	Thr	Val	Ser	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Ser						
				115		120											
		<210>	33														
		<211>	118														
40		<212>	PRT														
		<213>	Искусственная последовательность														
		<220>															
		<223>	TPP-3308, TPP-2971X1-hIgG2Kappa, VH														
		<400>	33														
45		Gln	Val	Thr	Leu	Lys	Glu	Ser	Gly	Pro	Gly	Ile	Leu	Gln	Pro	Ser	Gln
		1		5		10									15		
		Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Ser	Phe	Ser	Gly	Phe	Ser	Leu	Ser	Thr	Tyr
				20		25										30	

Gly Ile Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Ser Gly Lys Asp Leu Glu
35 40 45
Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asn Asp Asn Lys Tyr Tyr Asn Thr Ala
50 55 60
5 Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Asn Asn Gln Val
65 70 75 80
Phe Leu Lys Ile Ala Ser Val Asp Thr Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95
Cys Ala Arg Ile Ser Leu Pro Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
10 100 105 110
Thr Leu Thr Val Ser Ser
115
<210> 34
<211> 7
15 <212> PRT
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> TPP-3308, TPP-2971X1-hIgG2Kappa, HCDR1
<400> 34
20 Thr Tyr Gly Ile Gly Val Gly
1 5
<210> 35
<211> 16
<212> PRT
25 <213> Искусственная последовательность
<220>
<223> TPP-3308, TPP-2971X1-hIgG2Kappa, HCDR2
<400> 35
His Ile Trp Trp Asn Asp Asn Lys Tyr Tyr Asn Thr Ala Leu Lys Ser
30 1 5 10 15
<210> 36
<211> 8
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность
35 <220>
<223> TPP-3308, TPP-2971X1-hIgG2Kappa, HCDR3
<400> 36
Ile Ser Leu Pro Tyr Phe Asp Tyr
1 5
40 <210> 37
<211> 107
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность
<220>
45 <223> TPP-3308, TPP-2971X1-hIgG2Kappa, VL
<400> 37
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Ala
20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
5 Tyr Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Met Gln Ser
65 70 75 80
10 Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105
<210> 38
<211> 11
15 <212> PRT
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> TPP-3308, TPP-2971X1-hIgG2Kappa, LCDR1
<400> 38
20 Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Ala Val Ala
1 5 10
<210> 39
<211> 7
<212> PRT
25 <213> Искусственная последовательность
<220>
<223> TPP-3308, TPP-2971X1-hIgG2Kappa, LCDR2
<400> 39
Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr
30 1 5
<210> 40
<211> 9
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность
35 <220>
<223> TPP-3308, TPP-2971X1-hIgG2Kappa, LCDR3
<400> 40
Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Leu Thr
1 5
40 <210> 41
<211> 354
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность
<220>
45 <223> TPP-3308, TPP-2971X1-hIgG2Kappa, VH
<400> 41
caggtcacac tgaagagag cggcctggc atcctgcagc ccagccagac cctgagcctg 60
acctgcagct tcagcggctt cagcctgagc acctacggca tcggcgtggg ctggatcaga 120

cagcccagcg gcaaggacct ggaatggctg gccacatct ggtggaacga caacaagtac 180
tacaacaccg ccctgaagtc ccggtgacc atcagcaagg acaccagcaa caaccaggtg 240
ttcctgaaga tcgccagcgt ggacaccgcc gataccgcc cctactactg cgcccggatc 300
agcctgccct acttcgacta ctggggccag ggcaccaccc tgaccgtgtc ctca 354

5 <210> 42
<211> 321
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность
<220>

10 <223> TPP-3308, TPP-2971X1-hIgG2Kappa, VL
<400> 42

gacatcgtga tgaccagag ccagaaattc atgagcacca gcgtgggcga ccgggtgtcc 60
atcacatgca aggccagcca gaacgtgggc accgccgtgg cctggtatca gcagaagccc 120
ggccagagcc ccaagctgct gatctacagc gccagcaacc ggtacaccgg cgtgcccagc 180
15 agattcacag gcagcggcag cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcaa catgcagagc 240
gaggacctgg ccgactactt ctgccagcag tacagcagct accccctgac cttcgagacc 300
ggcaccaagc tggaactgaa a 321

<210> 43
<211> 443

20 <212> PRT
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> TPP-3308, TPP-2971X1-hIgG2Kappa, тяжелая цепь
<400> 43

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

35 Phe Leu Lys Ile Ala Ser Val Asp Thr Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95
Cys Ala Arg Ile Ser Leu Pro Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Thr Leu Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
40 115 120 125
Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160

45 Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190

	Asn	Phe	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser
			195					200					205			
	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Thr	Val	Glu	Arg	Lys	Cys	Cys	Val	Glu	Cys
			210				215					220				
5	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val	Ala	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe
						230					235					240
	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val
					245					250					255	
	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe
10				260					265					270		
	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro
			275					280					285			
	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr
						295						300				
15	Val	Val	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val
						310					315					320
	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Thr
					325					330					335	
	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg
20				340					345					350		
	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly
			355					360					365			
	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro
			370				375					380				
25	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Met	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser
						390					395					400
	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln
					405					410					415	
	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His
30				420					425					430		
	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly					
			435					440								
	<210>	44														
	<211>	214														
35	<212>	PRT														
	<213>	Искусственная последовательность														
	<220>															
	<223>	TRP-3308, TRP-2971X1-hIgG2Каппа, легкая цепь														
	<400>	44														
40	Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Gln	Lys	Phe	Met	Ser	Thr	Ser	Val	Gly
	1			5						10				15		
	Asp	Arg	Val	Ser	Ile	Thr	Cys	Lys	Ala	Ser	Gln	Asn	Val	Gly	Thr	Ala
			20						25					30		
	Val	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
45			35					40					45			
	Tyr	Ser	Ala	Ser	Asn	Arg	Tyr	Thr	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Thr	Gly
		50					55					60				
	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Asn	Met	Gln	Ser

	65		70		75		80									
	Glu	Asp	Leu	Ala	Asp	Tyr	Phe	Cys	Gln	Gln	Tyr	Ser	Ser	Tyr	Pro	Leu
				85					90						95	
	Thr	Phe	Gly	Ala	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Leu	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala
5				100					105					110		
	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly
				115					120					125		
	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala
				130					135					140		
10	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln
				145					150					155		160
	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser
				165					170					175		
	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr
15				180					185					190		
	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser
				195					200					205		
	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys										
				210												
20	<210>	45														
	<211>	1329														
	<212>	ДНК														
	<213>	Искусственная последовательность														
	<220>															
25	<223>	TPP-3308, TPP-2971X1-hIgG2Каппа, тяжелая цепь														
	<400>	45														
	cagg	tcacac	tga	aagagag	cg	gccctggc	atc	ctgcagc	ccag	ccagac	cctg	agcctg				60
	acct	gcagct	tcag	cggtt	cag	cctgagc	ac	tacggca	tcgg	cgtggg	ctgg	atcaga				120
	cagccc	agcg	gca	aggacct	gga	atggctg	gccc	acatct	ggtg	gaacga	caaca	agtac				180
30	taca	acaccg	ccct	gaagtc	ccg	gtgacc	atc	agcaagg	acac	cagcaa	caacc	aggtg				240
	ttc	ctgaaga	tcg	ccagcgt	gg	acaccgcc	gata	ccgccca	cct	actactg	cgccc	ggatc				300
	agc	ctgccct	act	tcgacta	ctg	ggggccag	gg	caccaccc	tg	accgtgtc	ctc	agccagc				360
	acca	agggcc	ccag	cgtgtt	cc	ctctggcc	c	ttgttagca	ga	agcaccag	cg	agtctaca				420
	gcc	gccctgg	gct	gcctcgt	ga	aggactac	ttt	cccagagc	cc	gtgaccgt	gtc	cttggaa				480
35	tct	ggcgctc	tg	acaagcgg	cgt	gcacacc	ttt	ccagccg	tg	ctgcagag	cag	cgggcctg				540
	tact	ctctga	gc	agcgtcgt	gac	agtgtccc	ag	cagcaact	tc	ggcaccca	gac	ctacacc				600
	tg	taacgtgg	acc	acaagcc	cag	caacacc	aag	gtggaca	ag	accgtgga	ac	ggaagtgc				660
	tg	cgtggaat	gcccc	ccttg	t	ctgtcccct	cc	agtggctg	g	cccttccgt	gtt	cctgttc				720
	cccc	caaagc	cca	aggacac	c	ctgatgatc	ag	ccggaccc	cc	gaagtga	ctg	cgtggtg				780
40	gtg	gatgtgt	ccc	acgagga	cccc	gaggtg	cag	ttcaatt	g	tacgtgga	cgg	cgtggaa				840
	gtg	cacaacg	cca	agaccaa	gccc	agagag	ga	acagttca	ac	agcacctt	cc	gggtggtg				900
	tcc	gtgctga	cc	gtggtgca	tc	aggactgg	ct	gaacggca	a	agagtacaa	gt	gcaaggtg				960
	tcca	acaagg	gc	ctgcctgc	cccc	atcgag	aaa	accatca	g	caagaccaa	agg	ccagccc				1020
	cg	cgagcccc	agg	tgtacac	act	gcctcca	ag	ccgggaag	ag	atgaccaa	ga	accaggtg				1080
45	tcc	ctgacct	gt	ctcgtgaa	agg	cttctac	cc	ctccgata	tc	gccgtgga	at	gggagagc				1140
	aac	ggccagc	cc	gagaacaa	ct	acaagacc	ac	ccccccca	tg	ctggacag	cg	acggctca				1200
	tt	cttctgt	ac	agcaagct	gac	agtggac	aag	tcccgg	gg	cagcagg	ca	acgtgttc				1260
	ag	ctgcagcg	tg	atgcacga	gg	ccctgcac	a	accactaca	ccc	agaagtc	c	ctgagcctg				1320

agccctggc
 <210> 46
 <211> 642
 <212> ДНК
 5 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> TPP-3308, TPP-2971X1-hIgG2Карра, легкая цепь
 <400> 46

gacatcgtga tgacccagag ccagaaattc atgagcacca gcgtgggcga ccgggtgtcc 60
 10 atcacatgca aggccagcca gaacgtgggc accgccgtgg cctggatatca gcagaagccc 120
 ggccagagcc ccaagctgct gatctacagc gccagcaacc ggtacaccgg cgtgcccagc 180
 agattcacag gcagcggcag cggcaccgac ttaccctga ccatcagcaa catgcagagc 240
 gaggacctgg ccgactactt ctgccagcag tacagcagct accccctgac cttcggagcc 300
 ggcaccaagc tggaactgaa acgaaccgtg gccgctcca gcgtgttcat cttcccacct 360
 15 agcgacgagc agctgaagtc cggcacagcc tctgtcgtgt gcctgctgaa caatttctac 420
 ccccgcgagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaatgccc tgcaagcgg caacagccag 480
 gaaagcgtga ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gcctgagcag caccctgacc 540
 ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaagtgc ccaccagggc 600
 ctgtctagcc ccgtgaccaa gagcttcaac cggggcgagt gt 642

20 <210> 47
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 25 <223> TPP-3310, TPP-2971HU1-hIgG2Kappa, VH
 <400> 47

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

<210> 48
 <211> 7
 45 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> TPP-3310, TPP-2971HU1-hIgG2Kappa, HCDR1

<400> 48
 Thr Tyr Gly Ile Gly Val Gly
 1 5
 <210> 49
 5 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> TPP-3310, TPP-2971HU1-hIgG2Kappa, HCDR2
 10 <400> 49
 His Ile Trp Trp Asn Asp Asn Lys Tyr Tyr Ser Thr Ser Leu Lys Thr
 1 5 10 15
 <210> 50
 <211> 8
 15 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> TPP-3310, TPP-2971HU1-hIgG2Kappa, HCDR3
 <400> 50
 20 Ile Ser Leu Pro Tyr Phe Asp Tyr
 1 5
 <210> 51
 <211> 107
 <212> PRT
 25 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> TPP-3310, TPP-2971HU1-hIgG2Kappa, VL
 <400> 51
 Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
 30 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Ala
 20 25 30
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 35 40 45
 Tyr Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Leu
 40 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105
 <210> 52
 <211> 11
 45 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> TPP-3310, TPP-2971HU1-hIgG2Kappa, LCDR1

<400> 52
 Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Ala Val Ala
 1 5 10

<210> 53
 5 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> TPP-3310, TPP-2971HU1-hIgG2Kappa, LCDR2

10 <400> 53
 Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr
 1 5

<210> 54
 <211> 9
 15 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> TPP-3310, TPP-2971HU1-hIgG2Kappa, LCDR3

<400> 54
 20 Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Leu Thr
 1 5

<210> 55
 <211> 354
 <212> ДНК
 25 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> TPP-3310, TPP-2971HU1-hIgG2Kappa, VH

<400> 55
 caagtgaccc tgagagagtc cggccctgcc ctctgtaagc ctaccagac cctgacactg 60
 30 acctgcacct tctccggtt ctccctgtcc acctacggca tcggcgtggg ctggatcaga 120
 cagcctcctg gcaaggccct ggaatggctg gctcacatct ggtggaacga caacaagtac 180
 tactccacct ccctgaaaac ccggtgacc atctccaagg acacctccaa gaaccaggtg 240
 gtgctgacca tgaccaacat ggaccccgctg gacaccgcca cctactactg cgccagaatc 300
 tcctgcctt acttcgacta ctggggccag ggcaccacac tgaccgtcag ctca 354

35 <210> 56
 <211> 321
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность
 <220>

40 <223> TPP-3310, TPP-2971HU1-hIgG2Kappa, VL
 <400> 56
 gatatccagc tgaccagtc cccagcttc ctgtctgcct ctgtgggcga cagagtgacc 60
 atcacatgca aggcctccca gaacgtgggc accgccgtgg cttgggtatca gcagaagcct 120
 ggcaaggccc ccaagctgct gatctactcc gcctccaacc ggtacaccgg cgtgccctct 180
 45 agattctccg gctctggctc tggcaccgag tttaccctga ccattctccag cctgcagccc 240
 gaggacttcg ccacctacta ctgccagcag tactctcctt acccctgac ctttggcgga 300
 ggcaccaagg tggaatcaa g 321
 <210> 57

<211> 443
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>

5 <223> TPP-3310, TPP-2971HU1-hIgG2Каппа, тяжелая цепь
 <400> 57

	Gln	Val	Thr	Leu	Arg	Glu	Ser	Gly	Pro	Ala	Leu	Val	Lys	Pro	Thr	Gln
	1				5					10					15	
	Thr	Leu	Thr	Leu	Thr	Cys	Thr	Phe	Ser	Gly	Phe	Ser	Leu	Ser	Thr	Tyr
10				20					25					30		
	Gly	Ile	Gly	Val	Gly	Trp	Ile	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys	Ala	Leu	Glu
			35					40					45			
	Trp	Leu	Ala	His	Ile	Trp	Trp	Asn	Asp	Asn	Lys	Tyr	Tyr	Ser	Thr	Ser
	50					55						60				
15	Leu	Lys	Thr	Arg	Leu	Thr	Ile	Ser	Lys	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Gln	Val
	65					70					75				80	
	Val	Leu	Thr	Met	Thr	Asn	Met	Asp	Pro	Val	Asp	Thr	Ala	Thr	Tyr	Tyr
				85						90					95	
	Cys	Ala	Arg	Ile	Ser	Leu	Pro	Tyr	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr
20				100					105					110		
	Thr	Leu	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro
				115					120					125		
	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly
	130						135					140				
25	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn
	145					150					155				160	
	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln
				165					170					175		
	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser
30				180					185					190		
	Asn	Phe	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser
		195						200					205			
	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Thr	Val	Glu	Arg	Lys	Cys	Cys	Val	Glu	Cys
	210						215					220				
35	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val	Ala	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe
	225					230					235				240	
	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val
				245					250					255		
	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe
40				260					265					270		
	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro
		275						280					285			
	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr
		290					295					300				
45	Val	Val	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val
	305					310					315				320	
	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Thr
				325					330					335		

RU 2739163 C2

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
340 345 350
Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
355 360 365
5 Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
370 375 380
Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser
385 390 395 400
Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
10 405 410 415
Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
420 425 430
Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440
15 <210> 58
<211> 214
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность
<220>
20 <223> TPP-3310, TPP-2971HU1-hIgG2Каппа, легкая цепь
<400> 58
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Ala
25 20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
30 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
35 100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
40 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
45 180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys

	210	
	<210> 59	
	<211> 1329	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> TRP-3310, TRP-2971HU1-hIgG2Карра, тяжелая цепь	
	<400> 59	
10	caagtgaccc tgagagagtc cggccctgcc ctctgtaagc ctaccsagac cctgacactg	60
	acctgcacct tctccggctt ctccctgtcc acctacggca tcggcggtggg ctggatcaga	120
	cagcctcctg gcaaggccct ggaatggctg gctcacatct ggtggaacga caacaagtac	180
	tactccacct ccctgaaaac ccggctgacc atctccaagg acacctcca gaaccaggtg	240
	gtgctgacca tgaccaacat ggaccccgctg gacaccgcca cctactactg cgccagaatc	300
	tccctgccct acttcgacta ctggggccag ggcaccacac tgaccgtcag ctcagcttcc	360
15	accaagggcc cctccgtggt ccctctggcc ccttgtctcc ggtccacctc tgagtctacc	420
	gccgtctctg gctgcctggt gaaagactac ttccccgagc ccgtgaccgt gtcctggaac	480
	tctggcgccc tgacctccgg cgtgcacacc tttccagccg tgctgcagtc ctccggcctg	540
	tactccctgt cctccgtggt gacagtgtcc tcctccaact tcggcaccca gacctacacc	600
	tgtaacgtgg accacaagcc ctccaacacc aaggtggaca agaccgtgga acggaagtgc	660
20	tgcgtggaat gcccaccctg tcctgtctcca cctgtggctg gcccagcgt gttcctgttc	720
	ccccaaagc ccaaggacac cctgatgatc tcccggaccc ccgaagtgac ctgctgggtg	780
	gtggacgtgt cccacgagga ccccgagggtg cagttcaatt ggtacgtgga cggcgtggaa	840
	gtgcacaacg ccaagacca gcccagagag gaacagttca actccacctt ccgggtggtg	900
	tccgtgtctga ccgtggtgca tcaggactgg ctgaacggca aagagtacaa gtgcaaggtc	960
25	tccaacaagg gcctgcctgc ccccatcgaa aagaccatca gcaagacca gggccagccc	1020
	cgcgagcccc aggtgtacac actgcccccc agccgggaag agatgaccaa gaaccaggtg	1080
	tccctgacct gtctggtgaa aggccttctac ccctccgaca ttgccgtgga atgggagtcc	1140
	aacggacagc ctgagaacaa ctacaagacc acccccccca tgctggactc cgacggctca	1200
	ttcttctctgt actccaagct gacagtggac aagtcccgtg ggcagcaggg caacgtgttc	1260
30	tcctgtctccg tgatgcacga ggccctgcac aaccactaca ccagaagtc cctgtccctg	1320
	agccccggc	1329
	<210> 60	
	<211> 642	
	<212> ДНК	
35	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> TRP-3310, TRP-2971HU1-hIgG2Карра, легкая цепь	
	<400> 60	
40	gatatccagc tgacccagtc ccccagcttc ctgtctgcct ctgtgggcca cagagtgacc	60
	atcacatgca aggcctccca gaacgtgggc accgccgtgg cttggtatca gcagaagcct	120
	ggcaaggccc ccaagctgct gatctactcc gcctccaacc ggtacaccgg cgtgcctct	180
	agattctccg gctctggctc tggcaccgag ttaccctga ccatctccag cctgcagccc	240
	gaggacttcg ccacctacta ctgccagcag tactcctcct accccctgac ctttggcgga	300
	ggcaccaagg tggaatatca gcggaccgtg gccgctccct ccgtgtttat cttccaccc	360
45	tccgacgagc agctgaagtc cggcacagct tccgtcgtgt gcctgctgaa caacttctac	420
	ccccgcgagg ccaaggtgca gtggaagggtg gacaacgccc tgcaagtcgg caactcccag	480
	gaatccgtga ccgagcagga ctccaaggac agcacctact ccctgtcctc caccctgacc	540
	ctgtccaagg ccgactacga gaagcacaa gtgtacgcct gcgaagtgac ccaccagggc	600

ctgtctagcc ccgtgaccaa gtctttcaac cggggcgagt gt

<210> 61

<211> 118

<212> PRT

5 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> TPP-3322, TPP-3186X1-hIgG2, VH

<400> 61

Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Ile Leu Gln Pro Ser Gln

10 1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Tyr

20 25 30

Gly Ile Gly Val Gly Cys Ile Arg Gln Pro Ser Gly Lys Gly Leu Glu

35 40 45

15 Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asn Asp Asn Lys Tyr Tyr Asn Thr Ala

50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Asn Asn Gln Val

65 70 75 80

Phe Leu Lys Ile Ala Ser Val Asp Thr Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr

20 85 90 95

Cys Ala Arg Ile Ser Leu Pro Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Thr Leu Thr Val Ser Ser

115

25 <210> 62

<211> 7

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

30 <223> TPP-3322, TPP-3186X1-hIgG2, HCDR1

<400> 62

Thr Tyr Gly Ile Gly Val Gly

1 5

<210> 63

35 <211> 16

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> TPP-3322, TPP-3186X1-hIgG2, HCDR2

40 <400> 63

His Ile Trp Trp Asn Asp Asn Lys Tyr Tyr Asn Thr Ala Leu Lys Ser

1 5 10 15

<210> 64

<211> 8

45 <212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> TPP-3322, TPP-3186X1-hIgG2, HCDR3

<400> 64
 Ile Ser Leu Pro Tyr Phe Asp Tyr
 1 5
 <210> 65
 5 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> TPP-3322, TPP-3186X1-hIgG2, VL
 10 <400> 65
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Ala
 20 25 30
 15 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Asn Met Gln Ser
 20 65 70 75 80
 Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Leu
 85 90 95
 Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
 100 105
 25 <210> 66
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 30 <223> TPP-3322, TPP-3186X1-hIgG2, LCDR1
 <400> 66
 Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Ala Val Ala
 1 5 10
 <210> 67
 35 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> TPP-3322, TPP-3186X1-hIgG2, LCDR2
 40 <400> 67
 Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr
 1 5
 <210> 68
 <211> 9
 45 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> TPP-3322, TPP-3186X1-hIgG2, LCDR3

<400> 68
 Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Leu Thr
 1 5
 <210> 69
 5 <211> 354
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> TPP-3322, TPP-3186X1-hIgG2, VH
 10 <400> 69
 caggtcacac tgaaagagag cggccctggc atcctgcagc ccagccagac cctgagcctg 60
 acctgcagct tcagcggctt cagcctgagc acctacggca tcggcgtggg ctgcatcaga 120
 cagcccagcg gcaagggcct ggaatggctg gccacatct ggtggaacga caacaagtac 180
 tacaacaccg ccctgaagtc ccggctgacc atcagcaagg acaccagcaa caaccaggtg 240
 15 ttctgaaga tcgccagcgt ggacaccgcc gataccgcc cctactactg cgcccggatc 300
 agcctgccct acttcgacta ctggggccag ggcaccaccc tgaccgtgtc ctca 354
 <210> 70
 <211> 321
 <212> ДНК
 20 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> TPP-3322, TPP-3186X1-hIgG2, VL
 <400> 70
 gacatcgtga tgaccagag ccagaaattc atgagcacca gcgtgggcga ccgggtgtcc 60
 25 atcacatgca aggcagcca gaacgtgggc accgccgtgg cctgggtatca gcagaagccc 120
 ggccagagcc ccaagctgct gatctacagc gccagcaacc ggtacaccgg cgtgcccagc 180
 agattcacag gcagcggcag cggcaccgac ttcaccttca ccacagcaa catgcagagc 240
 gaggacctgg ccgactactt ctgccagcag tacagcagct acccctgac cttcggagcc 300
 ggcaccaagc tggaactgaa a 321
 30 <210> 71
 <211> 443
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 35 <223> TPP-3322, TPP-3186X1-hIgG2, тяжелая цепь
 <400> 71
 Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Ile Leu Gln Pro Ser Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Tyr
 40 20 25 30
 Gly Ile Gly Val Gly Cys Ile Arg Gln Pro Ser Gly Lys Gly Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asn Asp Asn Lys Tyr Tyr Asn Thr Ala
 50 55 60
 45 Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Asn Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Phe Leu Lys Ile Ala Ser Val Asp Thr Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95

RU 2739163 C2

	Cys	Ala	Arg	Ile	Ser	Leu	Pro	Tyr	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr
				100					105					110		
	Thr	Leu	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro
				115					120					125		
5	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly
				130					135					140		
	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn
	145					150					155					160
	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln
10					165					170					175	
	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser
				180						185				190		
	Asn	Phe	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser
				195					200					205		
15	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Thr	Val	Glu	Arg	Lys	Cys	Cys	Val	Glu	Cys
				210					215					220		
	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val	Ala	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe
	225					230					235					240
	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val
20					245					250					255	
	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe
				260						265					270	
	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro
				275						280				285		
25	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr
				290					295				300			
	Val	Val	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val
	305					310					315					320
	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Thr
30					325					330					335	
	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg
				340					345						350	
	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly
				355					360					365		
35	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro
				370					375					380		
	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Met	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser
	385					390					395					400
	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln
40					405					410					415	
	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His
				420						425				430		
	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly					
				435						440						
45	<210>	72														
	<211>	214														
	<212>	PRT														
	<213>	Искусственная последовательность														

<220>

<223> TPP-3322, TPP-3186X1-hIgG2, легкая цепь

<400> 72

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

<210> 73

<211> 1329

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> TPP-3322, TPP-3186X1-hIgG2, тяжелая цепь

<400> 73

caggtcacac tgaaagagag cggccctggc atcctgcagc ccagccagac cctgagcctg 60
 40 acctgcagct tcagcggtt cagcctgagc acctacggca tcggcgtggg ctgcatcaga 120
 cagcccagcg gcaagggcct ggaatggctg gccacatct ggtggaacga caacaagtac 180
 tacaacaccg ccctgaagtc ccggctgacc atcagcaagg acaccagcaa caaccaggtg 240
 ttctgaaga tcgccagcgt ggacaccgcc gataccgcc cctactactg cgcccggatc 300
 agcctgccct acttcgacta ctggggccag ggcaccaccc tgaccgtgtc ctgagccagc 360
 45 accaagggcc ccagcgtgtt ccctctggcc ccttgtagca gaagcaccag cgagtctaca 420
 gccgccctgg gctgcctcgt gaaggactac tttcccagag ccgtgaccgt gtccctggaac 480
 tctggcgctc tgacaagcgg cgtgcacacc tttccagccg tgctgcagag cagcggcctg 540
 tactctctga gcagcgtcgt gacagtgtccc agcagcaact tcggcaccca gacctacacc 600

	tgtaacgtgg accacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agaccgtgga acggaagtgc	660
	tgcgtggaat gcccccttg tcctgcccct ccagtggctg gcccttccgt gttcctgttc	720
	ccccaaagc ccaaggacac cctgatgata agccggaccc ccgaagtgac ctgctgggtg	780
	gtggatgtgt cccacgagga ccccgagggtg cagttcaatt ggtacgtgga cggcgtggaa	840
5	gtgcacaacg ccaagaccaa gccagagag gaacagttca acagcacctt ccgggtgggtg	900
	tccgtgctga ccgtgggtgca tcaggactgg ctgaacggca aagagtacaa gtgcaagggtg	960
	tccaacaagg gcctgcctgc ccccatcgag aaaaccatca gcaagaccaa aggccagccc	1020
	cgcgagcccc aggtgtacac actgcctcca agccgggaag agatgaccaa gaaccagggtg	1080
	tccctgacct gtctcgtgaa aggcttctac ccctccgata tcgccgtgga atgggagagc	1140
10	aacggccagc ccgagaacaa ctacaagacc accccccca tgctggacag cgacggctca	1200
	ttcttcctgt acagcaagct gacagtggac aagtcccgtt ggacagcagg caacgtgttc	1260
	agctgcagcg tgatgcacga ggccctgcac aaccactaca ccagaagtc cctgagcctg	1320
	agccctggc	1329
	<210> 74	
15	<211> 642	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> TPP-3322, TPP-3186X1-hIgG2, легкая цепь	
20	<400> 74	
	gacatcgtga tgaccagag ccagaaattc atgagcacca gcgtgggcca ccgggtgtcc	60
	atcacatgca aggccagcca gaacgtgggc accgccgtgg cctggtatca gcagaagccc	120
	ggccagagcc ccaagctgct gatctacagc gccagcaacc ggtacaccgg cgtgcccagc	180
	agattcacag gcagcggcag cggcaccgac ttcacattca ccatcagcaa catgcagagc	240
25	gaggacctgg ccgactactt ctgccagcag tacagcagct accccctgac cttcggagcc	300
	ggcaccaagc tggaactgaa acgaaccgtg gccgctccca gcgtgttcat cttccacct	360
	agcgacgagc agctgaagtc cggcacagcc tctgtcgtgt gcctgctgaa caacttctac	420
	ccccgcgagg ccaaggtgca gtggaagggtg gacaatgccc tgacagcagg caacagccag	480
	gaaagcgtga ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gcctgagcag caccctgacc	540
30	ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaagtgac ccaccagggc	600
	ctgtctagcc ccgtgaccaa gagcttcaac cggggcgagt gt	642
	<210> 75	
	<211> 118	
	<212> PRT	
35	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> TPP-3323, TPP-3187X1-hIgG2, VH	
	<400> 75	
	Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Ile Leu Gln Pro Ser Gln	
40	1 5 10 15	
	Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Thr Thr Tyr	
	20 25 30	
	Gly Ile Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Ser Gly Lys Gly Leu Glu	
	35 40 45	
45	Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asn Asp Asn Lys Tyr Tyr Asn Thr Ala	
	50 55 60	
	Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Asn Asn Gln Val	
	65 70 75 80	

Phe Leu Lys Ile Ala Ser Val Asp Thr Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95
Cys Ala Arg Ile Ser Leu Pro Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
5 Thr Leu Thr Val Ser Ser
115
<210> 76
<211> 7
<212> PRT
10 <213> Искусственная последовательность
<220>
<223> TPP-3323, TPP-3187X1-hIgG2, HCDR1
<400> 76
Thr Tyr Gly Ile Gly Val Gly
15 1 5
<210> 77
<211> 16
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность
20 <220>
<223> TPP-3323, TPP-3187X1-hIgG2, HCDR2
<400> 77
His Ile Trp Trp Asn Asp Asn Lys Tyr Tyr Asn Thr Ala Leu Lys Ser
1 5 10 15
25 <210> 78
<211> 8
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность
<220>
30 <223> TPP-3323, TPP-3187X1-hIgG2, HCDR3
<400> 78
Ile Ser Leu Pro Tyr Phe Asp Tyr
1 5
<210> 79
35 <211> 107
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> TPP-3323, TPP-3187X1-hIgG2, VL
40 <400> 79
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Ala
20 25 30
45 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Met Gln Ser
65 70 75 80
Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Tyr Pro Leu
85 90 95
5 Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105
<210> 80
<211> 11
<212> PRT
10 <213> Искусственная последовательность
<220>
<223> TPP-3323, TPP-3187X1-hIgG2, LCDR1
<400> 80
Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Ala Val Ala
15 1 5 10
<210> 81
<211> 7
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность
20 <220>
<223> TPP-3323, TPP-3187X1-hIgG2, LCDR2
<400> 81
Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr
1 5
25 <210> 82
<211> 9
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность
<220>
30 <223> TPP-3323, TPP-3187X1-hIgG2, LCDR3
<400> 82
Gln Gln Tyr Asn Asn Tyr Pro Leu Thr
1 5
<210> 83
35 <211> 354
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> TPP-3323, TPP-3187X1-hIgG2, VH
40 <400> 83
caagtgaccc tgaaagagtc cggccctggc atcctgcagc cttcccagac cctgtccctg 60
acctgtctcct tctccggctt ctccctgacc acctacggca tcggcggtgg ctggatcaga 120
cagccttctg gcaagggcct ggaatggctg gcccacatct ggtggaacga caacaagtac 180
tacaacaccg ccctgaagtc ccggctgacc atctccaagg acacctcaa caaccaggtg 240
45 ttctgaaga tcgcctccgt ggacaccgcc gataccgcc cctactactg cgcccggatc 300
tcctgtccct acttcgacta ttggggccag ggcaccaccc tgaccgtcag ctca 354
<210> 84
<211> 321

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> TPP-3323, TPP-3187X1-hIgG2, VL

5 <400> 84

```

gacatcgtga tgacccagtc ccagaaattc atgtccacct ccgtgggcga ccgggtgtcc      60
atcacatgca aggcctctca gaacgtgggc accgccgtgg cctggatatca gcagaagcct      120
ggccagtccc ccaagctgct gatctactcc gcctccaacc ggtacaccgg cgtgcccgat      180
agattcaccg gctctggctc tggcaccgac ttcaccctga ccatctccaa catgcagtcc      240
10 gaggacctgg ccgactactt ctgccagcag tacaacaact accccctgac cttcggcgct      300
ggcaccaagc tggaactgaa g                                     321

```

<210> 85

<211> 443

<212> PRT

15 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> TPP-3323, TPP-3187X1-hIgG2, тяжелая цепь

<400> 85

```

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

```

RU 2739163 C2

	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val
						245				250					255	
	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe
						260				265					270	
5	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro
						275				280					285	
	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr
						290				295					300	
	Val	Val	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val
10						305									310	
	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Thr
						315									320	
						325				330					335	
	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg
						340				345					350	
15	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly
						355				360					365	
	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro
						370				375					380	
	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Met	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser
20						385									390	
	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln
						395									400	
						405				410					415	
	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His
						420				425					430	
25	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly					
						435				440						
	<210>	86														
	<211>	214														
	<212>	PRT														
30	<213>	Искусственная последовательность														
	<220>															
	<223>	TPP-3323, TPP-3187X1-hIgG2, легкая цепь														
	<400>	86														
	Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Gln	Lys	Phe	Met	Ser	Thr	Ser	Val	Gly
35	1				5					10					15	
	Asp	Arg	Val	Ser	Ile	Thr	Cys	Lys	Ala	Ser	Gln	Asn	Val	Gly	Thr	Ala
					20					25					30	
	Val	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
					35					40					45	
40	Tyr	Ser	Ala	Ser	Asn	Arg	Tyr	Thr	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Thr	Gly
					50					55					60	
	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Asn	Met	Gln	Ser
					65					70					75	
	Glu	Asp	Leu	Ala	Asp	Tyr	Phe	Cys	Gln	Gln	Tyr	Asn	Asn	Tyr	Pro	Leu
45					85					90					95	
	Thr	Phe	Gly	Ala	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Leu	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala
					100					105					110	
	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly

RU 2 739 163 C2

	115	120	125	
	Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala			
	130	135	140	
	Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln			
5	145	150	155	160
	Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser			
	165	170	175	
	Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr			
	180	185	190	
10	Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser			
	195	200	205	
	Phe Asn Arg Gly Glu Cys			
	210			
	<210> 87			
15	<211> 1329			
	<212> ДНК			
	<213> Искусственная последовательность			
	<220>			
	<223> TPP-3323, TPP-3187X1-hIgG2, тяжелая цепь			
20	<400> 87			
	caagtgaccc tgaagagtc cggccctggc atcctgcagc cttcccagac cctgtccctg			60
	acctgctcct tctccggctt ctccctgacc acctacggca tcggcgtggg ctggatcaga			120
	cagccttctg gcaagggcct ggaatggctg gcccacatct ggtggaacga caacaagtac			180
	tacaacaccg ccctgaagtc ccggctgacc atctccaagg acacctccaa caaccaggtg			240
25	ttcctgaaga tcgcctccgt ggacaccgcc gataccgcc cctactactg cgcccggatc			300
	tccctgccct acttcgacta ttggggccag ggcaccaccc tgaccgtcag ctacagcttc			360
	accaagggcc cctccgtgtt ccctctggcc ccttgtctcc ggtccacctc tgagtctacc			420
	gcccgtcttg gctgcctggg gaaagactac ttccccgagc ccgtgaccgt gtccctggaac			480
	tctggcgccc tgacctccgg cgtgcacacc tttccagccg tgctgcagtc ctccggcctg			540
30	tactccctgt cctccgtggg gacagtggcc tcctccaact tcggcaccca gacctacacc			600
	tgtaacgtgg accacaagcc ctccaacacc aaggtggaca agaccgtgga acggaagtgc			660
	tgcggtggaat gcccaccctg tcctgctcca cctgtggctg gccccagcgt gttcctgttc			720
	ccccaaagc ccaaggacac cctgatgatc tcccggaccc ccgaagtgac ctgctgtggtg			780
	gtggacgtgt cccacgagga ccccgagggt cagttcaatt ggtacgtgga cggcgtggaa			840
35	gtgcacaacg ccaagaccaa gccagagag gaacagttca actccacctt ccgggtggtg			900
	tccgtgctga ccgtggtgca tcaggactgg ctgaacggca aagagtacaa gtgcaaggtc			960
	tccaacaagg gcctgcctgc ccccatcgaa aagaccatca gcaagaccaa gggccagccc			1020
	cgcgagcccc aggtgtacac actgcccccc agccgggaag agatgaccaa gaaccaggtg			1080
	tccctgacct gtctggtgaa aggcttctac ccctccgaca ttgccgtgga atgggagtcc			1140
40	aacggacagc ctgagaacaa ctacaagacc accccccca tgctggactc cgacggctca			1200
	ttcttctctgt actccaagct gacagtggac aagtcccggg ggcagcaggg caacgtgttc			1260
	tcctgctccg tgatgcacga ggccctgcac aaccactaca ccagaagtc cctgtccctg			1320
	agccccggc			1329
	<210> 88			
45	<211> 642			
	<212> ДНК			
	<213> Искусственная последовательность			
	<220>			

<223> TPP-3323, TPP-3187X1-hIgG2, легкая цепь

<400> 88

	gacatcgtga tgacccagtc ccagaaattc atgtccacct ccgtgggcca ccgggtgtcc	60
	atcacatgca aggcctctca gaacgtgggc accgccgtgg cctggtatca gcagaagcct	120
5	ggccagtccc ccaagctgct gatctactcc gcctccaacc ggtacaccgg cgtgcccgat	180
	agattcaccg gctctggctc tggcaccgac ttcaccctga ccattctcaa catgcagtcc	240
	gaggacctgg ccgactactt ctgccagcag tacaacaact accccctgac cttcggcgct	300
	ggcaccaagc tggaactgaa gagaaccgtg gccgctccct ccgtgtttat cttccacccc	360
	tccgacgagc agctgaagtc cggcacagct tccgtcgtgt gcctgctgaa caacttctac	420
10	ccccgcgagg ccaaggtgca gtggaagggtg gacaacgccc tgcagtcagg caactcccag	480
	gaatccgtga ccgagcagga ctccaaggac agcacctact ccctgtcctc taccctgacc	540
	ctgtccaagg ccgattacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaagtgac ccaccagggc	600
	ctgtctagcc ccgtgaccaa gtctttcaac cggggcgagt gt	642

<210> 89

15 <211> 446

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> TPP-3688, h16C3-hIgG2Карпа, тяжелая цепь

20 <400> 89

	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala	
	1 5 10 15	
	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr	
	20 25 30	
25	Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met	
	35 40 45	
	Gly Leu Ile Ser Thr Tyr Ser Gly Asp Thr Lys Tyr Asn Gln Asn Phe	
	50 55 60	
	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Val Asp Lys Ser Ala Ser Thr Ala Tyr	
30	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 Asp Tyr Ser Gly Ser Arg Tyr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly	
	100 105 110	
35	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser	
	115 120 125	
	Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala	
	130 135 140	
	Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val	
40	145 150 155 160	
	Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala	
	165 170 175	
	Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val	
	180 185 190	
45	Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His	
	195 200 205	
	Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys	
	210 215 220	

RU 2739163 C2

	Val	Glu	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val	Ala	Gly	Pro	Ser	Val
	225					230					235					240
	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr
						245					250					255
5	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu
						260					265					270
	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys
						275										285
	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg	Val	Val	Ser
10						290										295
																300
	Val	Leu	Thr	Val	Val	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys
	305						310					315				320
	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile
							325					330				335
15	Ser	Lys	Thr	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro
						340					345					350
	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu
						355										360
																365
	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn
20						370										375
																380
	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Met	Leu	Asp	Ser
	385						390					395				400
	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg
						405						410				415
25	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu
						420										425
																430
	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly		
						435										440
																445
	<210>					90										
30	<211>					214										
	<212>					PRT										
	<213>					Искусственная последовательность										
	<220>															
	<223>					TPP-3688, h16C3-hIgG2Кappa, легкая цепь										
35	<400>					90										
	Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
	1					5					10				15	
	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Gln	Ala	Ser	Glu	Asn	Ile	Tyr	Gly	Ala
						20					25				30	
40	Leu	Asn	Trp	Tyr	Gln	Arg	Lys	Pro	Gly	Lys	Ser	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
						35					40				45	
	Tyr	Gly	Ala	Ser	Asn	Leu	Ala	Thr	Gly	Met	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly
						50					55				60	
	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Tyr	Thr	Phe	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro
45	65					70					75				80	
	Glu	Asp	Ile	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Val	Leu	Ser	Ser	Pro	Tyr
						85					90				95	
	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala

RU 2739163 C2

	100		105		110
	Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly				
	115		120		125
	Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala				
5	130		135		140
	Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln				
	145		150		155
	Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser				
	165		170		175
10	Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr				
	180		185		190
	Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser				
	195		200		205
	Phe Asn Arg Gly Glu Cys				
15	210				
	<210> 91				
	<211> 121				
	<212> PRT				
	<213> Искусственная последовательность				
20	<220>				
	<223> TPP-3705, 090E-M007-A09-Mat1-hIgG2-hIgG2Kappa, VH				
	<400> 91				
	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly				
	1 5 10 15				
25	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Leu Tyr				
	20 25 30				
	Gln Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val				
	35 40 45				
	Ser Trp Ile Ser Phe Ser Gly Gly Asn Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val				
30	50 55 60				
	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr				
	65 70 75 80				
	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys				
	85 90 95				
35	Ala Arg Ala Thr Gly Tyr Ser Ser Pro Trp Tyr Leu Asp Pro Trp Gly				
	100 105 110				
	Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser				
	115 120				
	<210> 92				
40	<211> 5				
	<212> PRT				
	<213> Искусственная последовательность				
	<220>				
	<223> TPP-3705, 090E-M007-A09-Mat1-hIgG2-hIgG2Kappa, HCDR1				
45	<400> 92				
	Leu Tyr Gln Met His				
	1 5				
	<210> 93				

<211> 17
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 5 <223> TPP-3705, 090E-M007-A09-Mat1-hIgG2-hIgG2Kappa, HCDR2
 <400> 93
 Trp Ile Ser Phe Ser Gly Gly Asn Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15
 Gly
 10 <210> 94
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 15 <223> TPP-3705, 090E-M007-A09-Mat1-hIgG2-hIgG2Kappa, HCDR3
 <400> 94
 Ala Thr Gly Tyr Ser Ser Pro Trp Tyr Leu Asp Pro
 1 5 10
 <210> 95
 20 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> TPP-3705, 090E-M007-A09-Mat1-hIgG2-hIgG2Kappa, VL
 25 <400> 95
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser His Glu Ile Asp Asn Tyr
 20 25 30
 30 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Asp Ala Tyr Trp Leu Lys Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 35 65 70 75 80
 Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gly Tyr Asp Asp Leu Ser Val
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
 100 105
 40 <210> 96
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 45 <223> TPP-3705, 090E-M007-A09-Mat1-hIgG2-hIgG2Kappa, LCDR1
 <400> 96
 Gln Ala Ser His Glu Ile Asp Asn Tyr Leu Asn
 1 5 10

<210> 97
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 5 <220>
 <223> TPP-3705, 090E-M007-A09-Mat1-hIgG2-hIgG2Kappa, LCDR2
 <400> 97
 Asp Ala Tyr Trp Leu Lys Thr
 1 5
 10 <210> 98
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 15 <223> TPP-3705, 090E-M007-A09-Mat1-hIgG2-hIgG2Kappa, LCDR3
 <400> 98
 Gln Gly Tyr Asp Asp Leu Ser Val Thr
 1 5
 <210> 99
 20 <211> 363
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> TPP-3705, 090E-M007-A09-Mat1-hIgG2-hIgG2Kappa, VH
 25 <400> 99
 gaagtgcagc tgggtggaatc cggcggaggc ctggtgcagc ctggcggatc tctgagactg 60
 tcttgtgccg cctccggcctt caccttcagc ctgtaccaga tgcactgggt gcgacaggcc 120
 cctggcaagg gactggaatg ggtgtccttg atctccttct ccggcggcaa taccggctac 180
 gccgactccg tgaaggggccg gttcaccatc tcccgggaca actccaagaa caccctgtac 240
 30 ctgcagatga actccctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgtgc tagagccacc 300
 ggctactcct ccccctggta tctggatcct tggggccagg gcacactcgt gaccgtcagc 360
 tca 363
 <210> 100
 <211> 321
 35 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> TPP-3705, 090E-M007-A09-Mat1-hIgG2-hIgG2Kappa, VL
 <400> 100
 40 gacatccaga tgacccagag cccttcagc ctgtccgcct ctgtgggcca cagagtgacc 60
 atcacctgtc aggccctcca cgagatcgac aactacctga actggtatca gcagaagccc 120
 ggcaaggccc ccaagctgct gatctacgat gcctactggc tgaaaaccgg cgtgccctcc 180
 agattctccg gctctggctc tggcaccgac tttaccctga ccactctccag cctgcagccc 240
 gaggatatcg ccacctacta ttgtcagggc tacgacgacc tgtccgtgac ctttggcgga 300
 45 ggcaccaagg tggacatcaa g 321
 <210> 101
 <211> 446
 <212> PRT

<213> Искусственная последовательность

 $\langle 220 \rangle$

<223> ТРР-3705, 090E-M007-A09-Mat1-hIgG2-hIgG2Каппа, тяжелая цепь

$\langle 400 \rangle$ 101

5	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
	1				5						10				15	
	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Leu	Tyr
				20					25					30		
10	Gln	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
			35					40					45			
	Ser	Trp	Ile	Ser	Phe	Ser	Gly	Gly	Asn	Thr	Gly	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
		50					55				60					
	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
	65				70					75					80	
15	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85						90					95	
	Ala	Arg	Ala	Thr	Gly	Tyr	Ser	Ser	Pro	Trp	Tyr	Leu	Asp	Pro	Trp	Gly
				100						105				110		
	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser
20			115					120					125			
	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala
		130					135					140				
	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val
		145				150					155					160
25	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala
				165						170					175	
	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val
				180						185				190		
	Pro	Ser	Ser	Asn	Phe	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His
30			195					200					205			
	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Thr	Val	Glu	Arg	Lys	Cys	Cys
		210					215					220				
	Val	Glu	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val	Ala	Gly	Pro	Ser	Val
		225				230					235					240
35	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr
				245						250					255	
	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu
				260					265					270		
	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys
40			275					280					285			
	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg	Val	Val	Ser
		290					295					300				
	Val	Leu	Thr	Val	Val	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys
		305				310					315					320
45	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile
				325						330					335	
	Ser	Lys	Thr	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro
				340												

RU 2739163 C2

	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu
				355				360					365			
	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn
			370				375					380				
5	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Met	Leu	Asp	Ser
						390					395					400
	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg
					405					410					415	
	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu
10				420					425					430		
	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly		
				435					440					445		
	<210>	102														
	<211>	214														
15	<212>	PRT														
	<213>	Искусственная последовательность														
	<220>															
	<223>	TPP-3705, 090E-M007-A09-Mat1-hIgG2-hIgG2Каппа, легкая цепь														
	<400>	102														
20	Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
	1				5				10					15		
	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Gln	Ala	Ser	His	Glu	Ile	Asp	Asn	Tyr
				20					25					30		
	Leu	Asn	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
25			35					40					45			
	Tyr	Asp	Ala	Tyr	Trp	Leu	Lys	Thr	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly
		50					55					60				
	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro
	65				70						75					80
30	Glu	Asp	Ile	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gly	Tyr	Asp	Asp	Leu	Ser	Val
					85					90					95	
	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Asp	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala
				100					105					110		
	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly
35			115					120					125			
	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala
		130					135				140					
	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln
	145					150					155					160
40	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser
					165					170					175	
	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr
				180					185					190		
	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser
45			195					200					205			
	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys										
				210												
	<210>	103														

<211> 1338
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 5 <223> TRP-3705, 090E-M007-A09-Mat1-hIgG2-hIgG2Карпа, тяжелая цепь
 <400> 103
 gaagtgcagc tgggtggaatc cggcggaggc ctggtgcagc ctggcggatc tctgagactg 60
 tcttggtgccg cctccggctt caccttcagc ctgtaccaga tgcactgggt gcgacaggcc 120
 cctggcaagg gactggaatg ggtgtcctgg atctccttct ccggcggcaa taccggctac 180
 10 gccgactccg tgaagggccg gttcaccatc tcccgggaca actccaagaa caccctgtac 240
 ctgcagatga actccctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgtgc tagagccacc 300
 ggctactcct ccccctggta tctggatcct tggggccagg gcacactcgt gaccgtcagc 360
 tcagcttcca ccaagggcc ctccgtgttc cctctggccc ctgctcccgt gtccacctct 420
 gagtctaccg ccgctctggg ctgcctggtg aaagactact tccccgagcc cgtgaccgtg 480
 15 tcttggaact ctggcgccct gacctccggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagtcc 540
 tccggcctgt actccctgtc ctccgtggtg acagtgcctt cctccaactt cggcacccag 600
 acctacacct gtaacgtgga ccacaagccc tccaacacca aggtggacaa gaccgtggaa 660
 cggaagtgtc gcgtggaatg cccaccctgt cctgctccac ctgtggctgg cccagcgtg 720
 ttctgtttcc ccccaaagcc caaggacacc ctgatgatct cccggacccc cgaagtgacc 780
 20 tgcgtggtgg tggacgtgtc ccacgaggac cccgaggtgc agttcaattg gtacgtggac 840
 ggcgtggaag tgcacaacgc caagaccaag cccagagagg aacagttcaa ctccaccttc 900
 cgggtggtgt ccgtgctgac cgtggtgcat caggactggc tgaacggcaa agagtacaag 960
 tgcaaggtct ccaacaaggg cctgcctgcc cccatcgaaa agaccatcag caagaccaag 1020
 ggccagcccc gcgagcccca ggtgtacaca ctgcccccca gccgggaaga gatgaccaag 1080
 25 aaccaggtgt ccctgacctg tctggtgaaa ggcttctacc cctccgacat tgccgtggaa 1140
 tgggagtcca acggacagcc tgagaacaac tacaagacca cccccccat gctggactcc 1200
 gacggctcat tcttctgtga ctccaagctg acagtggaca agtcccgtg gcagcagggc 1260
 aacgtgttct cctgctccgt gatgcacgag gccctgcaca accactacac ccagaagtcc 1320
 ctgtccctga gccccggc 1338
 30 <210> 104
 <211> 642
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 35 <223> TRP-3705, 090E-M007-A09-Mat1-hIgG2-hIgG2Карпа, легкая цепь
 <400> 104
 gacatccaga tgacccagag cccttccagc ctgtccgcct ctgtgggcga cagagtgacc 60
 atcacctgtc aggcctccca cgagatcgac aactacctga actggtatca gcagaagccc 120
 ggcaaggccc ccaagctgct gatctacgat gcctactggc tgaaaaccgg cgtgccctcc 180
 40 agattctccg gctctggctc tggcaccgac ttaccctga ccatctccag cctgcagccc 240
 gaggatatcg ccacctacta ttgtcagggc tacgacgacc tgtccgtgac ctttggcgga 300
 ggcaccaagg tggacatcaa gcggacagtg gccgctccct ccgtgtttat cttcccaccc 360
 tccgacgagc agctgaagtc cggcacagct tccgtcgtgt gcctgctgaa caattctac 420
 cccgcgagg ccaaggtgca gtggaaaagtg gataacgccc tgcaagtccg caactccag 480
 45 gaatccgtga ccgagcagga ctccaaggac agcacctact ccctgtcctc caccctgacc 540
 ctgtccaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaagtgac ccaccagggc 600
 ctgtctagcc ccgtgaccaa gtctttcaac cggggcgagt gt 642
 <210> 105

<211> 121
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 5 <223> TPP-3707, 090E-M007-A09-Mat2-hIgG2-hIgG2Kappa, VH
 <400> 105
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Leu Tyr
 10 20 25 30
 Gln Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Trp Ile Ser Phe Ser Gly Gly Asn Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 15 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Ala Thr Gly Tyr Ser Ser Pro Trp Tyr Leu Asp Pro Trp Gly
 20 100 105 110
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 <210> 106
 <211> 5
 25 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> TPP-3707, 090E-M007-A09-Mat2-hIgG2-hIgG2Kappa, HCDR1
 <400> 106
 30 Leu Tyr Gln Met His
 1 5
 <210> 107
 <211> 17
 <212> PRT
 35 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> TPP-3707, 090E-M007-A09-Mat2-hIgG2-hIgG2Kappa, HCDR2
 <400> 107
 Trp Ile Ser Phe Ser Gly Gly Asn Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 40 1 5 10 15
 Gly
 <210> 108
 <211> 12
 <212> PRT
 45 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> TPP-3707, 090E-M007-A09-Mat2-hIgG2-hIgG2Kappa, HCDR3
 <400> 108

Ala Thr Gly Tyr Ser Ser Pro Trp Tyr Leu Asp Pro
1 5 10
<210> 109
<211> 107
5 <212> PRT
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> TPP-3707, 090E-M007-A09-Mat2-hIgG2-hIgG2Kappa, VL
<400> 109
10 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser His Glu Ile Asp Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
15 35 40 45
Tyr Asp Ala Tyr Trp Ser Lys Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
20 Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gly Tyr Asp Asp Leu Ser Val
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105
<210> 110
25 <211> 11
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> TPP-3707, 090E-M007-A09-Mat2-hIgG2-hIgG2Kappa, LCDR1
30 <400> 110
Gln Ala Ser His Glu Ile Asp Asn Tyr Leu Asn
1 5 10
<210> 111
<211> 7
35 <212> PRT
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> TPP-3707, 090E-M007-A09-Mat2-hIgG2-hIgG2Kappa, LCDR2
<400> 111
40 Asp Ala Tyr Trp Ser Lys Thr
1 5
<210> 112
<211> 9
<212> PRT
45 <213> Искусственная последовательность
<220>
<223> TPP-3707, 090E-M007-A09-Mat2-hIgG2-hIgG2Kappa, LCDR3
<400> 112

Gln Gly Tyr Asp Asp Leu Ser Val Thr
1 5
<210> 113
<211> 363
5 <212> ДНК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> TPP-3707, 090E-M007-A09-Mat2-hIgG2-hIgG2Kappa, VH
<400> 113
10 gaagtgcagc tgggtggaatc cggcggaggc ctggtgcagc ctggcggatc tctgagactg 60
tcttgtgccg cctccggtt caccttcagc ctgtaccaga tgcactgggt gcgacaggcc 120
cctggcaagg gactggaatg ggtgtcctgg atctccttct ccggcggcaa taccggctac 180
gccgactccg tgaagggccg gttcaccatc tcccgggaca actccaagaa caccctgtac 240
ctgcagatga actccctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgtgc tagagccacc 300
15 ggctactcct ccccttggtg tctggatcct tggggccagg gcacactcgt gaccgtcagc 360
tca 363
<210> 114
<211> 321
<212> ДНК
20 <213> Искусственная последовательность
<220>
<223> TPP-3707, 090E-M007-A09-Mat2-hIgG2-hIgG2Kappa, VL
<400> 114
gacatccaga tgacccagag cccttcagc ctgtccgcct ctgtgggcca cagagtgacc 60
25 atcacctgtc aggcctccca cgagatcgac aactacctga actggtatca gcagaagccc 120
ggcaaggccc ccaagctgct gatctacgac gcctactggt ccaagaccgg cgtgccctcc 180
agattctccg gctctggctc tggcaccgac tttaccctga ccatctccag cctgcagccc 240
gaggatatcg ccacctacta ttgtcagggc tacgacgacc tgtccgtgac ctttggcgga 300
ggcaccaagg tggacatcaa g 321
30 <210> 115
<211> 446
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность
<220>
35 <223> TPP-3707, 090E-M007-A09-Mat2-hIgG2-hIgG2Kappa, тяжелая цепь
<400> 115
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Leu Tyr
40 20 25 30
Gln Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Trp Ile Ser Phe Ser Gly Gly Asn Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
45 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

RU 2739163 C2

	Ala	Arg	Ala	Thr	Gly	Tyr	Ser	Ser	Pro	Trp	Tyr	Leu	Asp	Pro	Trp	Gly
				100					105					110		
	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser
			115					120					125			
5	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala
		130					135					140				
	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val
	145					150				155						160
	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala
10					165					170					175	
	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val
				180					185					190		
	Pro	Ser	Ser	Asn	Phe	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His
			195					200					205			
15	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Thr	Val	Glu	Arg	Lys	Cys	Cys
		210					215					220				
	Val	Glu	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val	Ala	Gly	Pro	Ser	Val
	225					230					235					240
	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr
20					245					250					255	
	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu
				260					265					270		
	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys
			275					280					285			
25	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg	Val	Val	Ser
		290					295					300				
	Val	Leu	Thr	Val	Val	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys
	305					310					315					320
	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile
30					325					330					335	
	Ser	Lys	Thr	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro
				340					345					350		
	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu
			355					360					365			
35	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn
		370					375					380				
	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Met	Leu	Asp	Ser
	385					390					395					400
	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg
40					405					410					415	
	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu
				420					425					430		
	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly		
			435					440					445			
45	<210>	116														
	<211>	214														
	<212>	PRT														
	<213>	Искусственная последовательность														

<220>

<223> ТРР-3707, 090Е-М007-А09-Mat2-hIgG2-hIgG2Карра, легкая цепь

<400> 116

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

<210> 117

<211> 1338

<212> ДНК

35 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> ТРР-3707, 090Е-М007-А09-Mat2-hIgG2-hIgG2Карра, тяжелая цепь

<400> 117

40	gaagtgcagc	tggtggaatc	cggcggaggc	ctggtgcagc	ctggcggatc	tctgagactg	60
	tcttgtgccg	cctccggctt	caccttcagc	ctgtaccaga	tgactgggt	gcgacaggcc	120
	cctggcaagg	gactggaatg	ggtgtccttg	atctccttct	cggcggcaa	taccggctac	180
	gccgactccg	tgaagggccg	gttcaccatc	tcccgggaca	actccaagaa	caccctgtac	240
	ctgcagatga	actccctgcg	ggccgaggac	accgccgtgt	actactgtgc	tagagccacc	300
	ggctactcct	ccccctggta	tctggatcct	tggggccagg	gcacactcgt	gaccgtcagc	360
45	tcagcttcca	ccaagggccc	ctccgtgttc	cctctggccc	cttgtctccc	gtccacctct	420
	gagtctaccg	ccgctctggg	ctgcctgggtg	aaagactact	tccccgagcc	cgtgaccgtg	480
	tcttggaact	ctggcgccct	gacctccggc	gtgcacacct	ttccagccgt	gctgcagtcc	540
	tccggcctgt	actccctgtc	ctccgtgggtg	acagtgccct	cctccaactt	cggcaccag	600

	acctacacct gtaacgtgga ccacaagccc tccaacacca aggtggacaa gaccgtggaa	660
	cggaagtgct gcggtggaatg cccaccctgt cctgctccac ctgtggctgg cccagcgtg	720
	ttcctgttcc ccccaaagcc caaggacacc ctgatgatct cccggacccc cgaagtgacc	780
	tgcgtggtgg tggacgtgtc ccacgaggac cccgaggtgc agttcaattg gtacgtggac	840
5	ggcgtggaag tgcacaacgc caagaccaag cccagagagg aacagttcaa ctccaccttc	900
	cgggtggtgt cctgtctgac cgtggtgcat caggactggc tgaacggcaa agagtacaag	960
	tgcaaggtct ccaacaaggg cctgcctgcc cccatcgaaa agaccatcag caagaccaag	1020
	ggccagcccc gcgagcccca ggtgtacaca ctgcccccca gccgggaaga gatgaccaag	1080
	aaccaggtgt ccctgacctg tctggtgaaa ggcttctacc cctccgacat tgccgtggaa	1140
10	tgggagtcca acggacagcc tgagaacaac tacaagacca cccccccat gctggactcc	1200
	gacggctcat tcttcctgta ctccaagctg acagtggaca agtcccgggtg gcagcagggc	1260
	aacgtgttct cctgtctcgt gatgcacgag gccctgcaca accactacac ccagaagtcc	1320
	ctgtccctga gccccggc	1338
	<210> 118	
15	<211> 642	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> TPP-3707, 090E-M007-A09-Mat2-hIgG2-hIgG2Карра, легкая цепь	
20	<400> 118	
	gacatccaga tgaccagag cccttccagc ctgtccgcct ctgtgggcca cagagtgacc	60
	atcacctgtc aggcctccca cgagatcgac aactacctga actggtatca gcagaagccc	120
	ggcaaggccc ccaagctgct gatctacgac gcctactggt ccaagaccgg cgtgcctcc	180
	agattctccg gctctggctc tggcaccgac tttaccctga ccattctccag cctgcagccc	240
25	gaggatatcg ccacctacta ttgtcagggc tacgacgacc tgtccgtgac ctttggcgga	300
	ggcaccaagg tggacatcaa gcggacagtg gccgctccct ccgtgtttat cttccacccc	360
	tccgacgagc agctgaagtc cggcacagct tccgtcgtgt gcctgctgaa caacttctac	420
	ccccgcgagg ccaaggtgca gtggaaaagtg gataacgccc tgcagtccgg caactcccag	480
	gaatccgtga ccgagcagga ctccaaggac agcacctact ccctgtcctc caccctgacc	540
30	ctgtccaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaagtgac ccaccagggc	600
	ctgtctagcc ccgtgaccaa gtctttcaac cggggcgagt gt	642
	<210> 119	
	<211> 118	
	<212> PRT	
35	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> TPP-3714, TPP-2971HU2-hIgG2Карра, VH	
	<400> 119	
	Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln	
40	1 5 10 15	
	Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Tyr	
	20 25 30	
	Gly Ile Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu	
	35 40 45	
45	Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asn Asp Asn Lys Tyr Tyr Ser Thr Ser	
	50 55 60	
	Leu Lys Thr Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val	
	65 70 75 80	

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95
Cys Ala Arg Ile Ser Leu Pro Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
5 Leu Val Thr Val Ser Ser
115
<210> 120
<211> 7
<212> PRT
10 <213> Искусственная последовательность
<220>
<223> TPP-3714, TPP-2971HU2-hIgG2Kappa, HCDR1
<400> 120
Thr Tyr Gly Ile Gly Val Gly
15 1 5
<210> 121
<211> 16
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность
20 <220>
<223> TPP-3714, TPP-2971HU2-hIgG2Kappa, HCDR2
<400> 121
His Ile Trp Trp Asn Asp Asn Lys Tyr Tyr Ser Thr Ser Leu Lys Thr
1 5 10 15
25 <210> 122
<211> 8
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность
<220>
30 <223> TPP-3714, TPP-2971HU2-hIgG2Kappa, HCDR3
<400> 122
Ile Ser Leu Pro Tyr Phe Asp Tyr
1 5
<210> 123
35 <211> 107
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> TPP-3714, TPP-2971HU2-hIgG2Kappa, VL
40 <400> 123
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Ala
20 25 30
45 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Leu
85 90 95
5 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105
<210> 124
<211> 11
<212> PRT
10 <213> Искусственная последовательность
<220>
<223> TPP-3714, TPP-2971HU2-hIgG2Kappa, LCDR1
<400> 124
Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Ala Val Ala
15 1 5 10
<210> 125
<211> 7
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность
20 <220>
<223> TPP-3714, TPP-2971HU2-hIgG2Kappa, LCDR2
<400> 125
Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr
1 5
25 <210> 126
<211> 9
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность
<220>
30 <223> TPP-3714, TPP-2971HU2-hIgG2Kappa, LCDR3
<400> 126
Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Leu Thr
1 5
<210> 127
35 <211> 354
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> TPP-3714, TPP-2971HU2-hIgG2Kappa, VH
40 <400> 127
caagtgaccc tgagagagtc cggccctgcc ctcgtgaagc ctaccagac cctgacactg 60
acctgcacct tctccggctt ctccctgtcc acctacggca tcggcgctggg ctggatcaga 120
cagcctcctg gcaaggccct ggaatggctg gctcacatct ggtggaacga caacaagtac 180
tactccacct ccctgaaaac ccggctgacc atctccaagg acacctcaa gaaccaggtg 240
45 gtgctgacca tgaccaacat ggaccccgtg gacaccgcca cctactactg cgccagaatc 300
tccctgccct acttcgacta ctggggccag ggcacactcg tgaccgtcag ctca 354
<210> 128
<211> 321

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> TPP-3714, TPP-2971HU2-hIgG2Kappa, VL

5 <400> 128

gatatccagc tgacccagtc cccagcttc ctgtctgcct ctgtgggcga cagagtgacc 60
atcacatgca aggcctccca gaacgtgggc accgccgtgg cttgggtatca gcagaagcct 120
ggcaaggccc ccaagctgct gatctactcc gcctccaacc ggtacaccgg cgtgccctct 180
agattctccg gctctggctc tggcaccgag tttaccctga ccatctccag cctgcagccc 240
10 gaggacttcg ccacctaacta ctgccagcag tactcctcct acccctgac ctttggcgga 300
ggcaccaagg tggaatatcaa g 321

<210> 129

<211> 443

<212> PRT

15 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> TPP-3714, TPP-2971HU2-hIgG2Kappa, тяжелая цепь

<400> 129

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

RU 2739163 C2

	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val
						245				250					255	
	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe
						260				265					270	
5	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro
						275				280					285	
	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr
						290				295					300	
	Val	Val	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val
10						305									320	
	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Thr
						325									335	
	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg
						340									350	
15	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly
						355									365	
	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro
						370									380	
	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Met	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser
20						385									400	
	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln
						405									415	
	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His
						420									430	
25	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly					
						435										
	<210>		130													
	<211>		214													
	<212>		PRT													
30	<213>		Искусственная последовательность													
	<220>															
	<223>		TPP-3714, TPP-2971HU2-hIgG2Кappa, легкая цепь													
	<400>		130													
	Asp	Ile	Gln	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Phe	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
35	1				5					10					15	
	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Lys	Ala	Ser	Gln	Asn	Val	Gly	Thr	Ala
					20					25					30	
	Val	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
					35					40					45	
40	Tyr	Ser	Ala	Ser	Asn	Arg	Tyr	Thr	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly
					50					55					60	
	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Glu	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro
					65					70					80	
	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Tyr	Ser	Ser	Tyr	Pro	Leu
45					85					90					95	
	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala
					100					105					110	
	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly

RU 2 739 163 C2

	115	120	125	
	Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala			
	130	135	140	
	Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln			
5	145	150	155	160
	Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser			
	165	170	175	
	Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr			
	180	185	190	
10	Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser			
	195	200	205	
	Phe Asn Arg Gly Glu Cys			
	210			
	<210> 131			
15	<211> 1329			
	<212> ДНК			
	<213> Искусственная последовательность			
	<220>			
	<223> TPP-3714, TPP-2971HU2-hIgG2Карра, тяжелая цепь			
20	<400> 131			
	caagtgaccc tgagagagtc cggccctgcc ctcgtgaagc ctaccagac cctgacactg			60
	acctgcacct tctccggctt ctccctgtcc acctacggca tcggcgtggg ctggatcaga			120
	cagcctcctg gcaaggccct ggaatggctg gctcacatct ggtggaacga caacaagtac			180
	tactccacct ccctgaaaac ccggctgacc atctccaagg acacctccaa gaaccaggtg			240
25	gtgctgacca tgaccaacat ggaccccgtg gacaccgcca cctactactg cgccagaatc			300
	tccctgccct acttcgacta ctggggccag ggcacactcg tgaccgtcag ctacagcttc			360
	accaagggcc cctccgtgtt ccctctggcc ccttgtctcc ggtccacctc tgagtctacc			420
	gccgctctgg gctgcctggg gaaagactac ttccccgagc ccgtgaccgt gtccctggaac			480
	tctggcgccc tgacctccgg cgtgcacacc tttccagccg tgctgcagtc ctccggcctg			540
30	tactccctgt cctccgtggg gacagtggcc tcctccaact tcggcaccca gacctacacc			600
	tgtaacgtgg accacaagcc ctccaacacc aaggtggaca agaccgtgga acggaagtgc			660
	tgcggtggaat gcccaccctg tcctgctcca cctgtggctg gccccagcgt gttcctgttc			720
	ccccaaagc ccaaggacac cctgatgatc tcccggaccc ccgaagtgac ctgctggtg			780
	gtggacgtgt cccacgagga ccccgagggt cagttcaatt ggtacgtgga cggcgtggaa			840
35	gtgcacaacg ccaagaccaa gccagagag gaacagttca actccacctt ccgggtggtg			900
	tccgtgctga ccgtggtgca tcaggactgg ctgaacggca aagagtacaa gtgcaaggtc			960
	tccaacaagg gcctgcctgc ccccatcgaa aagaccatca gcaagaccaa gggccagccc			1020
	cgcgagcccc aggtgtacac actgcccccc agccgggaag agatgaccaa gaaccaggtg			1080
	tccctgacct gtctggtgaa aggcttctac ccctccgaca ttgccgtgga atgggagtcc			1140
40	aacggacagc ctgagaacaa ctacaagacc accccccca tgctggactc cgacggctca			1200
	ttcttctctgt actccaagct gacagtggac aagtcccggg ggcagcaggg caacgtgttc			1260
	tcctgctccg tgatgcacga ggccctgcac aaccactaca ccagaagtc cctgtccctg			1320
	agccccggc			1329
	<210> 132			
45	<211> 642			
	<212> ДНК			
	<213> Искусственная последовательность			
	<220>			

<223> TPP-3714, TPP-2971HU2-hIgG2Kappa, легкая цепь

<400> 132

```

gatatccagc tgacccagtc cccagcttc ctgtctgcct ctgtgggcca cagagtgacc      60
atcacatgca aggcctccca gaacgtgggc accgccgtgg cttggtatca gcagaagcct      120
5 ggcaaggccc ccaagctgct gatctactcc gcctccaacc ggtacaccgg cgtgccctct      180
agattctccg gctctggctc tggcaccgag tttaccctga ccattctccag cctgcagccc      240
gaggacttcg ccacctacta ctgccagcag tactctctct accccctgac ctttggcgga      300
ggcaccaagg tggaaatcaa gcggaccgtg gccgctccct ccgtgtttat cttccacccc      360
tccgacgagc agctgaagtc cggcacagct tccgtcgtgt gcctgctgaa caacttctac      420
10 ccccgcgagg ccaaggtgca gtggaagggt gacaacgccc tgcagtcagg caactcccag      480
gaatccgtga ccgagcagga ctccaaggac agcacctact ccctgtcctc caccctgacc      540
ctgtccaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaagtgac ccaccagggc      600
ctgtctagcc ccgtgaccaa gtctttcaac cggggcgagt gt                        642

```

<210> 133

<211> 118

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> TPP-3820, 3187HU1-hIgG2Kappa, VH

<400> 133

```

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

```

<210> 134

<211> 7

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> TPP-3820, 3187HU1-hIgG2Kappa, HCDR1

<400> 134

Thr Tyr Gly Ile Gly Val Gly

1 5

<210> 135

<211> 16

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> TPP-3820, 3187HU1-hIgG2Kappa, HCDR2
 <400> 135
 5 His Ile Trp Trp Asn Asp Asn Lys Tyr Tyr Ser Thr Ser Leu Lys Thr
 1 5 10 15
 <210> 136
 <211> 8
 <212> PRT
 10 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> TPP-3820, 3187HU1-hIgG2Kappa, HCDR3
 <400> 136
 Ile Ser Leu Pro Tyr Phe Asp Tyr
 15 1 5
 <210> 137
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 20 <220>
 <223> TPP-3820, 3187HU1-hIgG2Kappa, VL
 <400> 137
 Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 25 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Ala
 20 25 30
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 30 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Tyr Pro Leu
 85 90 95
 35 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105
 <210> 138
 <211> 11
 <212> PRT
 40 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> TPP-3820, 3187HU1-hIgG2Kappa, LCDR1
 <400> 138
 Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Ala Val Ala
 45 1 5 10
 <210> 139
 <211> 7
 <212> PRT

<213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> TPP-3820, 3187HU1-hIgG2Kappa, LCDR2
 <400> 139
 5 Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr
 1 5
 <210> 140
 <211> 9
 <212> PRT
 10 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> TPP-3820, 3187HU1-hIgG2Kappa, LCDR3
 <400> 140
 Gln Gln Tyr Asn Asn Tyr Pro Leu Thr
 15 1 5
 <210> 141
 <211> 354
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность
 20 <220>
 <223> TPP-3820, 3187HU1-hIgG2Kappa, VH
 <400> 141
 caagtgaccc tgagagagtc cggccctgcc ctctgaagc ctaccagac cctgacactg 60
 acctgcacct tcagcggctt cagcctgacc acctacggca tcggcgtggg ctggatcaga 120
 25 cagcctcctg gcaaggcct ggaatggctg gccacatct ggtggaacga caacaagtac 180
 tacagcacca gcctgaaaac ccggctgacc atcagcaagg acaccagcaa gaaccaggtg 240
 gtgctgacca tgaccaacat ggaccccgtg gacaccgcca cctactactg cgccagaatc 300
 agcctgccct acttcgacta ctggggccag ggcaccctcg tgacagtgtc atca 354
 <210> 142
 30 <211> 321
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> TPP-3820, 3187HU1-hIgG2Kappa, VL
 35 <400> 142
 gatatccagc tgaccagag cccagcttt ctgagcgcca gctggggcga cagagtgacc 60
 atcacatgca aggccagcca gaacgtgggc acagccgtgg cctgggtatca gcagaagcct 120
 ggcaaggccc ccaagctgct gatctacagc gccagcaacc ggtacaccgg cgtgcccagc 180
 agatthttctg gcagcggctc cggcaccgag ttcaccctga caatcagcag cctgcagccc 240
 40 gaggacttcg ccacctaata ctgccagcag tacaacaact acccctgac cttcggcgga 300
 ggcaccaagg tggaataaa a 321
 <210> 143
 <211> 443
 <212> PRT
 45 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> TPP-3820, 3187HU1-hIgG2Kappa, тяжелая цепь
 <400> 143

RU 2739163 C2

	Gln	Val	Thr	Leu	Arg	Glu	Ser	Gly	Pro	Ala	Leu	Val	Lys	Pro	Thr	Gln
	1				5					10					15	
	Thr	Leu	Thr	Leu	Thr	Cys	Thr	Phe	Ser	Gly	Phe	Ser	Leu	Thr	Thr	Tyr
				20					25					30		
5	Gly	Ile	Gly	Val	Gly	Trp	Ile	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu
			35					40					45			
	Trp	Leu	Ala	His	Ile	Trp	Trp	Asn	Asp	Asn	Lys	Tyr	Tyr	Ser	Thr	Ser
		50					55					60				
	Leu	Lys	Thr	Arg	Leu	Thr	Ile	Ser	Lys	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Gln	Val
10	65					70					75					80
	Val	Leu	Thr	Met	Thr	Asn	Met	Asp	Pro	Val	Asp	Thr	Ala	Thr	Tyr	Tyr
				85					90						95	
	Cys	Ala	Arg	Ile	Ser	Leu	Pro	Tyr	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr
			100						105					110		
15	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro
			115					120					125			
	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly
		130					135					140				
	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn
20	145					150				155						160
	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln
				165						170					175	
	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser
				180					185					190		
25	Asn	Phe	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser
			195					200					205			
	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Thr	Val	Glu	Arg	Lys	Cys	Cys	Val	Glu	Cys
		210					215					220				
	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val	Ala	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe
30	225					230					235					240
	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val
				245						250					255	
	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe
				260					265					270		
35	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro
			275					280					285			
	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr
		290					295					300				
	Val	Val	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val
40	305					310					315					320
	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Thr
				325						330				335		
	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg
				340					345					350		
45	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly
			355					360				365				
	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro
		370					375					380				

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser
385 390 395 400
Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
405 410 415
5 Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
420 425 430
Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440
<210> 144
10 <211> 214
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> TPP-3820, 3187HU1-hIgG2Кappa, легкая цепь
15 <400> 144
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Ala
20 20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
25 65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Tyr Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
30 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
35 145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
40 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210
<210> 145
45 <211> 1329
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность
<220>

<223> ТРР-3820, 3187HU1-hIgG2Карра, тяжелая цепь

<400> 145

	caagtgaccc	tgagagagtc	cggccctgcc	ctcgtgaagc	ctacccagac	cctgacactg	60
	acctgcacct	tcagcggctt	cagcctgacc	acctacggca	tcggcgtggg	ctggatcaga	120
5	cagcctcctg	gcaagggcct	ggaatggctg	gcccacatct	ggtggaacga	caacaagtac	180
	tacagcacca	gcctgaaaaac	ccggctgacc	atcagcaagg	acaccagcaa	gaaccagggtg	240
	gtgctgacca	tgaccaacat	ggaccccgtg	gacaccgcca	cctactactg	cgccagaatc	300
	agcctgccct	acttcgacta	ctggggccag	ggcacccctcg	tgacagtgtc	atcagccagc	360
	accaagggcc	ccagcgtgtt	ccctctggcc	ccttgtagca	gaagcaccag	cgagtctaca	420
10	gccgccctgg	gctgcctcgt	gaaggactac	tttcccagagc	ccgtgaccgt	gtcctggaac	480
	tctggcgctc	tgacaagcgg	cgtgcacacc	tttccagccg	tgctgcagag	cagcggcctg	540
	tactctctga	gcagcgtcgt	gacagtgtcc	agcagcaact	tcggcaccca	gacctacacc	600
	tgtaacgtgg	accacaagcc	cagcaacacc	aaggtggaca	agaccgtgga	acggaagtgc	660
	tgctgtggaat	gcccccttg	tcctgcccct	ccagtggctg	gcccttccgt	gttccctgttc	720
15	cccccaaagc	ccaaggacac	cctgatgatc	agccggaccc	ccgaagtgac	ctgctgtgtg	780
	gtggatgtgt	cccacgagga	ccccgagggtg	cagttcaatt	ggtacgtgga	cggcgtggaa	840
	gtgcacaacg	ccaagaccaa	gcccagagag	gaacagttca	acagcacctt	ccgggtgtgtg	900
	tcctgtctga	ccgtgggtgca	tcaggactgg	ctgaacggca	aagagtacaa	gtgcaagggtg	960
	tccaacaagg	gcctgcctgc	ccccatcgag	aaaaccatca	gcaagaccaa	aggccagccc	1020
20	cgcgagcccc	aggtgtacac	actgcctcca	agccgggaag	agatgaccaa	gaaccagggtg	1080
	tccttgacct	gtctcgtgaa	aggcttctac	ccctccgata	tcgccgtgga	atgggagagc	1140
	aacggccagc	ccgagaacaa	ctacaagacc	accccccca	tgctggacag	cgacgggtca	1200
	ttcttcctgt	acagcaagct	gacagtggac	aagtcccggg	ggcagcaggg	caacgtgttc	1260
	agctgcagcg	tgatgcacga	ggccctgcac	aaccactaca	cccagaagtc	cctgagcctg	1320
25	agccctggc						1329

<210> 146

<211> 642

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

30 <220>

<223> ТРР-3820, 3187HU1-hIgG2Карра, легкая цепь

<400> 146

	gatatccagc	tgacccagag	ccccagcttt	ctgagcgcca	gcgtgggcca	cagagtgacc	60
	atcacatgca	aggccagcca	gaacgtgggc	acagccgtgg	cctgggtatca	gcagaagcct	120
35	ggcaaggccc	ccaagctgct	gatctacagc	gccagcaacc	ggtacaccgg	cgtgccagc	180
	agattttctg	gcagcggctc	cggcaccgag	ttcacccctga	caatcagcag	cctgcagccc	240
	gaggacttcg	ccacctacta	ctgccagcag	tacaacaact	accccctgac	cttcggcgga	300
	ggcaccaagg	tggaaattaa	acgaaccgtg	gccgtcccca	gcgtgttcat	cttccacct	360
	agcgacgagc	agctgaagtc	cggcacagcc	tctgtcgtgt	gcctgctgaa	caacttctac	420
40	ccccgcgagg	ccaaggtgca	gtggaagggtg	gacaatgccc	tgcaagcgcg	caacagccag	480
	gaaagcgtga	ccgagcagga	cagcaaggac	tccacctaca	gcctgagcag	cacctgacc	540
	ctgagcaagg	ccgactacga	gaagcacaag	gtgtacgcct	gcgaagtgac	ccaccagggc	600
	ctgtctagcc	ccgtgaccaa	gagcttcaac	cggggcgagt	gt		642

<210> 147

45 <211> 118

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> TPP-3821, 3187HU2-hIgG2Kappa, VH
 <400> 147
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 5 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Gly Ile Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asn Asp Asn Lys Tyr Tyr Ser Thr Ser
 10 50 55 60
 Leu Lys Thr Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 15 Cys Ala Arg Ile Ser Leu Pro Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Leu Val Thr Val Ser Ser
 115
 <210> 148
 20 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> TPP-3821, 3187HU2-hIgG2Kappa, HCDR1
 25 <400> 148
 Thr Tyr Gly Ile Gly Val Gly
 1 5
 <210> 149
 <211> 16
 30 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> TPP-3821, 3187HU2-hIgG2Kappa, HCDR2
 <400> 149
 35 His Ile Trp Trp Asn Asp Asn Lys Tyr Tyr Ser Thr Ser Leu Lys Thr
 1 5 10 15
 <210> 150
 <211> 8
 <212> PRT
 40 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> TPP-3821, 3187HU2-hIgG2Kappa, HCDR3
 <400> 150
 Ile Ser Leu Pro Tyr Phe Asp Tyr
 45 1 5
 <210> 151
 <211> 107
 <212> PRT

<213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> TPP-3821, 3187HU2-hIgG2Kappa, VL
 <400> 151
 5 Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Ala
 20 25 30
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 10 35 40 45
 Tyr Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 15 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Tyr Pro Leu
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105
 <210> 152
 20 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> TPP-3821, 3187HU2-hIgG2Kappa, LCDR1
 25 <400> 152
 Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Ala Val Ala
 1 5 10
 <210> 153
 <211> 7
 30 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> TPP-3821, 3187HU2-hIgG2Kappa, LCDR2
 <400> 153
 35 Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr
 1 5
 <210> 154
 <211> 9
 <212> PRT
 40 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> TPP-3821, 3187HU2-hIgG2Kappa, LCDR3
 <400> 154
 Gln Gln Tyr Asn Asn Tyr Pro Leu Thr
 45 1 5
 <210> 155
 <211> 354
 <212> ДНК

<213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> TPP-3821, 3187HU2-hIgG2Kappa, VH
 <400> 155

5 cagggtcacac tgagagagtc cggccctgcc ctggtgaaac ccacccagac cctgaccctg 60
 acatgcacct tcagcggctt cagcctgagc acctacggca tcggcgtggg ctggatcaga 120
 cagccccctg gcaaggccct ggaatggctg gccacatct ggtggaacga caacaagtac 180
 tacagcacca gcctgaaaac ccggtgacc atcagcaagg acaccagcaa gaaccaggtg 240
 gtgctgacca tgaccaacat ggaccccgtg gacaccgcca cctactactg cgcccggatc 300
 10 agcctgcctt acttcgacta ctggggccag ggcaccctgg tgaccgtgtc ctca 354
 <210> 156
 <211> 321
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

15 <220>
 <223> TPP-3821, 3187HU2-hIgG2Kappa, VL
 <400> 156

gatatccagc tgacccagag ccccagcttt ctgagcgcca gcgtgggcga cagagtgacc 60
 atcacatgca aggccagcca gaacgtgggc acagccgtgg cctgggtatca gcagaagcct 120
 20 ggcaaggccc ccaagctgct gatctacagc gccagcaacc ggtacaccgg cgtgccccagc 180
 agattttctg gcagcggctc cggcaccgag ttaccctga caatcagcag cctgcagccc 240
 gaggacttcg ccacctacta ctgccagcag tacaacaact accccctgac cttcggcgga 300
 ggcaccaagg tggaattaa a 321
 <210> 157
 <211> 443
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

25 <220>
 <223> TPP-3821, 3187HU2-hIgG2Kappa, тяжелая цепь
 30 <400> 157

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

RU 2739163 C2

	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn
	145					150				155						160
	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln
						165				170						175
5	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser
						180				185						190
	Asn	Phe	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser
						195				200						205
	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Thr	Val	Glu	Arg	Lys	Cys	Cys	Val	Glu	Cys
10						210				215						220
	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val	Ala	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe
	225					230				235						240
	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val
						245				250						255
15	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe
						260				265						270
	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro
						275				280						285
	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr
20						290				295						300
	Val	Val	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val
	305					310				315						320
	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Thr
						325				330						335
25	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg
						340				345						350
	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly
						355				360						365
	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro
30						370				375						380
	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Met	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser
	385					390				395						400
	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln
						405				410						415
35	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His
						420				425						430
	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly					
						435				440						
	<210>	158														
40	<211>	214														
	<212>	PRT														
	<213>	Искусственная последовательность														
	<220>															
	<223>	TRP-3821, 3187HU2-hIgG2Карра, легкая цепь														
45	<400>	158														
	Asp	Ile	Gln	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Phe	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
	1					5				10						15
	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Lys	Ala	Ser	Gln	Asn	Val	Gly	Thr	Ala

RU 2 739 163 C2

[illegible]

	tccaacaagg gacctgacctg ccccatcgag aaaaccatca gcaagaccaa aggccagccc	1020
	cgcgagcccc aggtgtacac actgcctcca agccgggaag agatgaccaa gaaccaggtg	1080
	tccctgacct gtctcgtgaa aggtttctac ccctccgata tcgccgtgga atgggagagc	1140
	aacggccagc ccgagaacaa ctacaagacc accccccca tgctggacag cgacggctca	1200
5	ttcttctgt acagcaagct gacagtggac aagtcccgtt ggagcaggg caacgtgttc	1260
	agctgcagcg tgatgcacga ggccctgcac aaccactaca ccagaagtc cctgagcctg	1320
	agccctggc	1329
	<210> 160	
	<211> 642	
10	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> TRP-3821, 3187HU2-hIgG2Карра, легкая цепь	
	<400> 160	
15	gatatccagc tgacccagag cccagcttt ctgagcgcca gcgtgggcca cagagtgacc	60
	atcacatgca aggccagcca gaacgtgggc acagccgtgg cctgggtatca gcagaagcct	120
	ggcaaggccc ccaagctgct gatctacagc gccagcaacc ggtacaccgg cgtgccagc	180
	agattttctg gcagcggtc cggcaccgag ttcaccctga caatcagcag cctgcagccc	240
	gaggacttcg ccacctacta ctgccagcag tacaacaact accccctgac cttcgcgga	300
20	ggcaccaagg tggaaattaa acgaaccgtg gccgctccca gcgtgttcat cttccacct	360
	agcgacgagc agctgaagtc cggcacagcc tctgtcgtgt gcctgctgaa caacttctac	420
	ccccgcgagg ccaaggtgca gtggaagggtg gacaatgcc tgagagcgg caacagccag	480
	gaaagcgtga ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gcctgagcag caccctgacc	540
	ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaagtgc ccaccagggc	600
25	ctgtctagcc ccgtgaccaa gagcttcaac cggggcgagt gt	642
	<210> 161	
	<211> 532	
	<212> PRT	
	<213> Macaca mulatta (Rhesus monkey)	
30	<400> 161	
	Gln Leu Thr Ile Glu Ser Arg Pro Phe Asn Val Ala Glu Gly Lys Glu	
	1 5 10 15	
	Val Leu Leu Leu Ala His Asn Leu Pro Gln Asn Leu Ile Gly Phe Asn	
	20 25 30	
35	Trp Tyr Lys Gly Glu Arg Val Asp Ala Lys Arg Leu Ile Val Ala Tyr	
	35 40 45	
	Val Ile Glu Thr Gln Gln Thr Thr Pro Gly Pro Ala His Ser Gly Arg	
	50 55 60	
	Glu Thr Val Tyr Ser Asn Ala Ser Leu Leu Ile Gln Asn Val Thr Gln	
40	65 70 75 80	
	Asn Asp Thr Gly Ser Tyr Thr Leu Gln Val Ile Lys Gly Asp Leu Val	
	85 90 95	
	Asn Glu Glu Ala Thr Gly Arg Phe Trp Val Tyr Pro Glu Leu Pro Lys	
	100 105 110	
45	Pro Tyr Ile Thr Ser Asn Asn Ser Asn Pro Val Glu Asp Lys Asp Ala	
	115 120 125	
	Val Asp Phe Thr Cys Glu Pro Asp Ile His Ser Thr Thr Tyr Leu Trp	
	130 135 140	

RU 2739163 C2

	Trp	Val	Asn	Asp	Gln	Ser	Leu	Pro	Val	Ser	Pro	Arg	Leu	Gln	Leu	Ser
	145					150					155					160
	Asn	Gly	Asn	Arg	Thr	Leu	Thr	Leu	Leu	Ser	Val	Lys	Arg	Asn	Asp	Ala
					165					170					175	
5	Gly	Ala	Tyr	Glu	Cys	Glu	Ile	Gln	Asn	Pro	Val	Ser	Ala	Asn	Leu	Ser
					180				185					190		
	Asp	Pro	Val	Ile	Leu	Asn	Val	Leu	Tyr	Gly	Pro	Asp	Val	Pro	Thr	Ile
			195					200					205			
	Ser	Pro	Ser	Asn	Ser	Asn	Tyr	Arg	Pro	Gly	Glu	Asn	Leu	Asn	Leu	Ser
10		210					215					220				
	Cys	His	Ala	Ala	Ser	Asn	Pro	Thr	Ala	Gln	Tyr	Ser	Trp	Phe	Val	Asn
	225					230				235						240
	Gly	Thr	Phe	Gln	Gln	Ser	Thr	Gln	Glu	Leu	Phe	Ile	Pro	Asn	Ile	Thr
					245					250					255	
15	Val	Asn	Asn	Ser	Gly	Ser	Tyr	Met	Cys	Gln	Ala	Tyr	Asn	Ser	Ala	Thr
				260					265					270		
	Gly	Leu	Asn	Arg	Thr	Thr	Val	Met	Met	Ile	Thr	Val	Ser	Gly	Ile	Glu
			275					280						285		
	Gly	Arg	Asp	Met	Asp	Thr	Gly	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr
20		290					295					300				
	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
	305					310					315					320
	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro
					325				330						335	
25	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val
				340					345					350		
	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr
		355					360						365			
	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val
30		370					375					380				
	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys
	385					390					395					400
	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser
					405					410					415	
35	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro
				420					425					430		
	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val
			435					440					445			
	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly
40		450					455					460				
	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp
	465					470					475					480
	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp
					485					490					495	
45	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His
				500					505					510		
	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	His	His
		515						520					525			


```

His His His His
530
<210> 162
<211> 292
5 <212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 162
Lys Leu Thr Ile Glu Ser Thr Pro Phe Asn Val Ala Glu Gly Lys Glu
1 5 10 15
10 Val Leu Leu Leu Ala His Asn Leu Pro Gln Asn Arg Ile Gly Tyr Ser
20 25 30
Trp Tyr Lys Gly Glu Arg Val Asp Gly Asn Ser Leu Ile Val Gly Tyr
35 40 45
Val Ile Gly Thr Gln Gln Ala Thr Pro Gly Pro Ala Tyr Ser Gly Arg
15 50 55 60
Glu Thr Ile Tyr Pro Asn Ala Ser Leu Leu Ile Gln Asn Val Thr Gln
65 70 75 80
Asn Asp Thr Gly Phe Tyr Thr Leu Gln Val Ile Lys Ser Asp Leu Val
85 90 95
20 Asn Glu Glu Ala Thr Gly Gln Phe His Val Tyr Pro Glu Leu Pro Lys
100 105 110
Pro Ser Ile Ser Ser Asn Asn Ser Asn Pro Val Glu Asp Lys Asp Ala
115 120 125
Val Ala Phe Thr Cys Glu Pro Glu Val Gln Asn Thr Thr Tyr Leu Trp
25 130 135 140
Trp Val Asn Gly Gln Ser Leu Pro Val Ser Pro Arg Leu Gln Leu Ser
145 150 155 160
Asn Gly Asn Met Thr Leu Thr Leu Leu Ser Val Lys Arg Asn Asp Ala
165 170 175
30 Gly Ser Tyr Glu Cys Glu Ile Gln Asn Pro Ala Ser Ala Asn Arg Ser
180 185 190
Asp Pro Val Thr Leu Asn Val Leu Tyr Gly Pro Asp Gly Pro Thr Ile
195 200 205
Ser Pro Ser Lys Ala Asn Tyr Arg Pro Gly Glu Asn Leu Asn Leu Ser
35 210 215 220
Cys His Ala Ala Ser Asn Pro Pro Ala Gln Tyr Ser Trp Phe Ile Asn
225 230 235 240
Gly Thr Phe Gln Gln Ser Thr Gln Glu Leu Phe Ile Pro Asn Ile Thr
245 250 255
40 Val Asn Asn Ser Gly Ser Tyr Met Cys Gln Ala His Asn Ser Ala Thr
260 265 270
Gly Leu Asn Arg Thr Thr Val Thr Met Ile Thr Val Ser Gly His His
275 280 285
His His His His
45 290
<210> 163
<211> 404
<212> PRT

```

<213> Homo sapiens

<400> 163

	Gln	Leu	Thr	Thr	Glu	Ser	Met	Pro	Phe	Asn	Val	Ala	Glu	Gly	Lys	Glu
	1				5					10					15	
5	Val	Leu	Leu	Leu	Val	His	Asn	Leu	Pro	Gln	Gln	Leu	Phe	Gly	Tyr	Ser
					20				25					30		
	Trp	Tyr	Lys	Gly	Glu	Arg	Val	Asp	Gly	Asn	Arg	Gln	Ile	Val	Gly	Tyr
			35					40					45			
	Ala	Ile	Gly	Thr	Gln	Gln	Ala	Thr	Pro	Gly	Pro	Ala	Asn	Ser	Gly	Arg
10		50					55					60				
	Glu	Thr	Ile	Tyr	Pro	Asn	Ala	Ser	Leu	Leu	Ile	Gln	Asn	Val	Thr	Gln
	65					70					75					80
	Asn	Asp	Thr	Gly	Phe	Tyr	Thr	Leu	Gln	Val	Ile	Lys	Ser	Asp	Leu	Val
					85					90					95	
15	Asn	Glu	Glu	Ala	Thr	Gly	Gln	Phe	His	Val	Tyr	Pro	Glu	Leu	Pro	Lys
				100				105						110		
	Pro	Ser	Ile	Ser	Ser	Asn	Asn	Ser	Asn	Pro	Val	Glu	Asp	Lys	Asp	Ala
			115					120						125		
	Val	Ala	Phe	Thr	Cys	Glu	Pro	Glu	Thr	Gln	Asp	Thr	Thr	Tyr	Leu	Trp
20		130					135					140				
	Trp	Ile	Asn	Asn	Gln	Ser	Leu	Pro	Val	Ser	Pro	Arg	Leu	Gln	Leu	Ser
	145					150					155					160
	Asn	Gly	Asn	Arg	Thr	Leu	Thr	Leu	Leu	Ser	Val	Thr	Arg	Asn	Asp	Thr
				165						170					175	
25	Gly	Pro	Tyr	Glu	Cys	Glu	Ile	Gln	Asn	Pro	Val	Ser	Ala	Asn	Arg	Ser
				180					185					190		
	Asp	Pro	Val	Thr	Leu	Asn	Val	Thr	Tyr	Gly	Pro	Asp	Thr	Pro	Thr	Ile
		195						200					205			
	Ser	Pro	Ser	Asp	Thr	Tyr	Tyr	Arg	Pro	Gly	Ala	Asn	Leu	Ser	Leu	Ser
30		210					215					220				
	Cys	Tyr	Ala	Ala	Ser	Asn	Pro	Pro	Ala	Gln	Tyr	Ser	Trp	Leu	Ile	Asn
	225					230					235					240
	Gly	Thr	Phe	Gln	Gln	Ser	Thr	Gln	Glu	Leu	Phe	Ile	Pro	Asn	Ile	Thr
				245						250					255	
35	Val	Asn	Asn	Ser	Gly	Ser	Tyr	Thr	Cys	His	Ala	Asn	Asn	Ser	Val	Thr
				260					265					270		
	Gly	Cys	Asn	Arg	Thr	Thr	Val	Lys	Thr	Ile	Ile	Val	Thr	Glu	Leu	Ser
			275					280					285			
	Pro	Val	Val	Ala	Lys	Pro	Gln	Ile	Lys	Ala	Ser	Lys	Thr	Thr	Val	Thr
40		290					295						300			
	Gly	Asp	Lys	Asp	Ser	Val	Asn	Leu	Thr	Cys	Ser	Thr	Asn	Asp	Thr	Gly
	305					310					315					320
	Ile	Ser	Ile	Arg	Trp	Phe	Phe	Lys	Asn	Gln	Ser	Leu	Pro	Ser	Ser	Glu
				325						330					335	
45	Arg	Met	Lys	Leu	Ser	Gln	Gly	Asn	Thr	Thr	Leu	Ser	Ile	Asn	Pro	Val
				340					345					350		
	Lys	Arg	Glu	Asp	Ala	Gly	Thr	Tyr	Trp	Cys	Glu	Val	Phe	Asn	Pro	Ile
			355						360					365		

RU 2739163 C2

Ser Lys Asn Gln Ser Asp Pro Ile Met Leu Asn Val Asn Tyr Asn Ala
370 375 380
Leu Pro Gln Glu Asn Gly Leu Ser Pro Gly His His His His His His
385 390 395 400
5 His His His His
<210> 164
<211> 657
<212> PRT
<213> Homo sapiens
10 <400> 164
Lys Leu Thr Ile Glu Ser Thr Pro Phe Asn Val Ala Glu Gly Lys Glu
1 5 10 15
Val Leu Leu Leu Val His Asn Leu Pro Gln His Leu Phe Gly Tyr Ser
20 25 30
15 Trp Tyr Lys Gly Glu Arg Val Asp Gly Asn Arg Gln Ile Ile Gly Tyr
35 40 45
Val Ile Gly Thr Gln Gln Ala Thr Pro Gly Pro Ala Tyr Ser Gly Arg
50 55 60
Glu Ile Ile Tyr Pro Asn Ala Ser Leu Leu Ile Gln Asn Ile Ile Gln
20 65 70 75 80
Asn Asp Thr Gly Phe Tyr Thr Leu His Val Ile Lys Ser Asp Leu Val
85 90 95
Asn Glu Glu Ala Thr Gly Gln Phe Arg Val Tyr Pro Glu Leu Pro Lys
100 105 110
25 Pro Ser Ile Ser Ser Asn Asn Ser Lys Pro Val Glu Asp Lys Asp Ala
115 120 125
Val Ala Phe Thr Cys Glu Pro Glu Thr Gln Asp Ala Thr Tyr Leu Trp
130 135 140
Trp Val Asn Asn Gln Ser Leu Pro Val Ser Pro Arg Leu Gln Leu Ser
30 145 150 155 160
Asn Gly Asn Arg Thr Leu Thr Leu Phe Asn Val Thr Arg Asn Asp Ser
165 170 175
Ala Ser Tyr Lys Cys Glu Thr Gln Asn Pro Val Ser Ala Arg Arg Ser
180 185 190
35 Asp Ser Val Ile Leu Asn Val Leu Tyr Gly Pro Asp Ala Pro Thr Ile
195 200 205
Ser Pro Leu Asn Thr Ser Tyr Arg Ser Gly Glu Asn Leu Asn Leu Ser
210 215 220
Cys His Ala Ala Ser Asn Pro Pro Ala Gln Tyr Ser Trp Phe Val Asn
40 225 230 235 240
Gly Thr Phe Gln Gln Ser Thr Gln Glu Leu Phe Ile Pro Asn Ile Thr
245 250 255
Val Asn Asn Ser Gly Ser Tyr Thr Cys Gln Ala His Asn Ser Asp Thr
260 265 270
45 Gly Leu Asn Arg Thr Thr Val Thr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Glu Pro
275 280 285
Pro Lys Pro Phe Ile Thr Ser Asn Asn Ser Asn Pro Val Glu Asp Glu
290 295 300

RU 2739 163 C2

	Asp	Ala	Val	Ala	Leu	Thr	Cys	Glu	Pro	Glu	Ile	Gln	Asn	Thr	Thr	Tyr
	305					310					315					320
	Leu	Trp	Trp	Val	Asn	Asn	Gln	Ser	Leu	Pro	Val	Ser	Pro	Arg	Leu	Gln
					325					330						335
5	Leu	Ser	Asn	Asp	Asn	Arg	Thr	Leu	Thr	Leu	Leu	Ser	Val	Thr	Arg	Asn
				340					345					350		
	Asp	Val	Gly	Pro	Tyr	Glu	Cys	Gly	Ile	Gln	Asn	Glu	Leu	Ser	Val	Asp
			355					360					365			
	His	Ser	Asp	Pro	Val	Ile	Leu	Asn	Val	Leu	Tyr	Gly	Pro	Asp	Asp	Pro
10			370				375					380				
	Thr	Ile	Ser	Pro	Ser	Tyr	Thr	Tyr	Tyr	Arg	Pro	Gly	Val	Asn	Leu	Ser
	385					390					395					400
	Leu	Ser	Cys	His	Ala	Ala	Ser	Asn	Pro	Pro	Ala	Gln	Tyr	Ser	Trp	Leu
					405					410						415
15	Ile	Asp	Gly	Asn	Ile	Gln	Gln	His	Thr	Gln	Glu	Leu	Phe	Ile	Ser	Asn
				420					425					430		
	Ile	Thr	Glu	Lys	Asn	Ser	Gly	Leu	Tyr	Thr	Cys	Gln	Ala	Asn	Asn	Ser
			435					440					445			
	Ala	Ser	Gly	His	Ser	Arg	Thr	Thr	Val	Lys	Thr	Ile	Thr	Val	Ser	Ala
20			450				455					460				
	Glu	Leu	Pro	Lys	Pro	Ser	Ile	Ser	Ser	Asn	Asn	Ser	Lys	Pro	Val	Glu
	465					470					475					480
	Asp	Lys	Asp	Ala	Val	Ala	Phe	Thr	Cys	Glu	Pro	Glu	Ala	Gln	Asn	Thr
					485				490					495		
25	Thr	Tyr	Leu	Trp	Trp	Val	Asn	Gly	Gln	Ser	Leu	Pro	Val	Ser	Pro	Arg
				500					505					510		
	Leu	Gln	Leu	Ser	Asn	Gly	Asn	Arg	Thr	Leu	Thr	Leu	Phe	Asn	Val	Thr
			515				520						525			
	Arg	Asn	Asp	Ala	Arg	Ala	Tyr	Val	Cys	Gly	Ile	Gln	Asn	Ser	Val	Ser
30			530				535					540				
	Ala	Asn	Arg	Ser	Asp	Pro	Val	Thr	Leu	Asp	Val	Leu	Tyr	Gly	Pro	Asp
	545					550					555					560
	Thr	Pro	Ile	Ile	Ser	Pro	Pro	Asp	Ser	Ser	Tyr	Leu	Ser	Gly	Ala	Asn
					565				570					575		
35	Leu	Asn	Leu	Ser	Cys	His	Ser	Ala	Ser	Asn	Pro	Ser	Pro	Gln	Tyr	Ser
				580					585					590		
	Trp	Arg	Ile	Asn	Gly	Ile	Pro	Gln	Gln	His	Thr	Gln	Val	Leu	Phe	Ile
			595				600					605				
	Ala	Lys	Ile	Thr	Pro	Asn	Asn	Asn	Gly	Thr	Tyr	Ala	Cys	Phe	Val	Ser
40			610				615					620				
	Asn	Leu	Ala	Thr	Gly	Arg	Asn	Asn	Ser	Ile	Val	Lys	Ser	Ile	Thr	Val
	625					630					635					640
	Ser	Ala	Ser	Gly	Thr	Ser	Pro	Gly	Leu	Ser	Ala	His	His	His	His	His
					645				650					655		
45	His															
	<210>	165														
	<211>	532														
	<212>	PRT														

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> TPP-1790, hCeacam6-WT-Fc-6xHis

<400> 165

```

5  Lys Leu Thr Ile Glu Ser Thr Pro Phe Asn Val Ala Glu Gly Lys Glu
   1             5             10             15
   Val Leu Leu Leu Ala His Asn Leu Pro Gln Asn Arg Ile Gly Tyr Ser
      20             25             30
   Trp Tyr Lys Gly Glu Arg Val Asp Gly Asn Ser Leu Ile Val Gly Tyr
10      35             40             45
   Val Ile Gly Thr Gln Gln Ala Thr Pro Gly Pro Ala Tyr Ser Gly Arg
      50             55             60
   Glu Thr Ile Tyr Pro Asn Ala Ser Leu Leu Ile Gln Asn Val Thr Gln
   65             70             75             80
15  Asn Asp Thr Gly Phe Tyr Thr Leu Gln Val Ile Lys Ser Asp Leu Val
      85             90             95
   Asn Glu Glu Ala Thr Gly Gln Phe His Val Tyr Pro Glu Leu Pro Lys
      100            105            110
   Pro Ser Ile Ser Ser Asn Asn Ser Asn Pro Val Glu Asp Lys Asp Ala
20      115            120            125
   Val Ala Phe Thr Cys Glu Pro Glu Val Gln Asn Thr Thr Tyr Leu Trp
      130            135            140
   Trp Val Asn Gly Gln Ser Leu Pro Val Ser Pro Arg Leu Gln Leu Ser
   145            150            155            160
25  Asn Gly Asn Met Thr Leu Thr Leu Leu Ser Val Lys Arg Asn Asp Ala
      165            170            175
   Gly Ser Tyr Glu Cys Glu Ile Gln Asn Pro Ala Ser Ala Asn Arg Ser
      180            185            190
   Asp Pro Val Thr Leu Asn Val Leu Tyr Gly Pro Asp Gly Pro Thr Ile
30      195            200            205
   Ser Pro Ser Lys Ala Asn Tyr Arg Pro Gly Glu Asn Leu Asn Leu Ser
      210            215            220
   Cys His Ala Ala Ser Asn Pro Pro Ala Gln Tyr Ser Trp Phe Ile Asn
   225            230            235            240
35  Gly Thr Phe Gln Gln Ser Thr Gln Glu Leu Phe Ile Pro Asn Ile Thr
      245            250            255
   Val Asn Asn Ser Gly Ser Tyr Met Cys Gln Ala His Asn Ser Ala Thr
      260            265            270
   Gly Leu Asn Arg Thr Thr Val Thr Met Ile Thr Val Ser Gly Ile Glu
40      275            280            285
   Gly Arg Asp Met Asp Thr Gly Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
      290            295            300
   Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
   305            310            315            320
45  Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
      325            330            335
   Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
      340            345            350

```

RU 2739163 C2

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 355 360 365
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
 370 375 380
 5 Lys Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 385 390 395 400
 Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 405 410 415
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 10 420 425 430
 Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 435 440 445
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 450 455 460
 15 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 465 470 475 480
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 485 490 495
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 20 500 505 510
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys His His
 515 520 525
 His His His
 530
 25 <210> 166
 <211> 532
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 30 <223> TPP-1791, hCeacam6-Dom1-MacMul-Xa-Fc-His
 <400> 166
 Gln Leu Thr Ile Glu Ser Arg Pro Phe Asn Val Ala Glu Gly Lys Glu
 1 5 10 15
 Val Leu Leu Leu Ala His Asn Leu Pro Gln Asn Leu Ile Gly Phe Asn
 35 20 25 30
 Trp Tyr Lys Gly Glu Arg Val Asp Ala Lys Arg Leu Ile Val Ala Tyr
 35 40 45
 Val Ile Glu Thr Gln Gln Thr Thr Pro Gly Pro Ala His Ser Gly Arg
 50 55 60
 40 Glu Thr Val Tyr Ser Asn Ala Ser Leu Leu Ile Gln Asn Val Thr Gln
 65 70 75 80
 Asn Asp Thr Gly Ser Tyr Thr Leu Gln Val Ile Lys Gly Asp Leu Val
 85 90 95
 Asn Glu Glu Ala Thr Gly Arg Phe Trp Val Tyr Pro Glu Leu Pro Lys
 45 100 105 110
 Pro Ser Ile Ser Ser Asn Asn Ser Asn Pro Val Glu Asp Lys Asp Ala
 115 120 125
 Val Ala Phe Thr Cys Glu Pro Glu Val Gln Asn Thr Thr Tyr Leu Trp

RU 2739163 C2

	130		135		140											
	Trp	Val	Asn	Gly	Gln	Ser	Leu	Pro	Val	Ser	Pro	Arg	Leu	Gln	Leu	Ser
	145					150					155					160
	Asn	Gly	Asn	Met	Thr	Leu	Thr	Leu	Leu	Ser	Val	Lys	Arg	Asn	Asp	Ala
5					165					170						175
	Gly	Ser	Tyr	Glu	Cys	Glu	Ile	Gln	Asn	Pro	Ala	Ser	Ala	Asn	Arg	Ser
				180				185						190		
	Asp	Pro	Val	Thr	Leu	Asn	Val	Leu	Tyr	Gly	Pro	Asp	Gly	Pro	Thr	Ile
			195					200						205		
10	Ser	Pro	Ser	Lys	Ala	Asn	Tyr	Arg	Pro	Gly	Glu	Asn	Leu	Asn	Leu	Ser
	210					215					220					
	Cys	His	Ala	Ala	Ser	Asn	Pro	Pro	Ala	Gln	Tyr	Ser	Trp	Phe	Ile	Asn
	225					230					235					240
	Gly	Thr	Phe	Gln	Gln	Ser	Thr	Gln	Glu	Leu	Phe	Ile	Pro	Asn	Ile	Thr
15					245					250						255
	Val	Asn	Asn	Ser	Gly	Ser	Tyr	Met	Cys	Gln	Ala	His	Asn	Ser	Ala	Thr
				260					265					270		
	Gly	Leu	Asn	Arg	Thr	Thr	Val	Thr	Met	Ile	Thr	Val	Ser	Gly	Ile	Glu
			275					280						285		
20	Gly	Arg	Asp	Met	Asp	Thr	Gly	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr
	290						295						300			
	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
	305					310					315					320
	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro
25					325					330						335
	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val
				340					345					350		
	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr
			355					360					365			
30	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val
	370					375							380			
	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys
	385					390					395					400
	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser
35					405					410						415
	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro
				420					425					430		
	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val
			435					440						445		
40	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly
	450					455						460				
	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp
	465					470					475					480
	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp
45					485					490						495
	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His
				500					505					510		
	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	His	His

	515	520	525
	His His His His		
	530		
	<210> 167		
5	<211> 532		
	<212> PRT		
	<213> Искусственная последовательность		
	<220>		
	<223> TPP-1792, hCeacam6-Dom2-MacMul-Xa-Fc-His		
10	<400> 167		
	Lys Leu Thr Ile Glu Ser Thr Pro Phe Asn Val Ala Glu Gly Lys Glu		
	1 5 10 15		
	Val Leu Leu Leu Ala His Asn Leu Pro Gln Asn Arg Ile Gly Tyr Ser		
	20 25 30		
15	Trp Tyr Lys Gly Glu Arg Val Asp Gly Asn Ser Leu Ile Val Gly Tyr		
	35 40 45		
	Val Ile Gly Thr Gln Gln Ala Thr Pro Gly Pro Ala Tyr Ser Gly Arg		
	50 55 60		
	Glu Thr Ile Tyr Pro Asn Ala Ser Leu Leu Ile Gln Asn Val Thr Gln		
20	65 70 75 80		
	Asn Asp Thr Gly Phe Tyr Thr Leu Gln Val Ile Lys Ser Asp Leu Val		
	85 90 95		
	Asn Glu Glu Ala Thr Gly Gln Phe His Val Tyr Pro Glu Leu Pro Lys		
	100 105 110		
25	Pro Tyr Ile Thr Ser Asn Asn Ser Asn Pro Val Glu Asp Lys Asp Ala		
	115 120 125		
	Val Asp Phe Thr Cys Glu Pro Asp Ile His Ser Thr Thr Tyr Leu Trp		
	130 135 140		
	Trp Val Asn Asp Gln Ser Leu Pro Val Ser Pro Arg Leu Gln Leu Ser		
30	145 150 155 160		
	Asn Gly Asn Arg Thr Leu Thr Leu Leu Ser Val Lys Arg Asn Asp Ala		
	165 170 175		
	Gly Ala Tyr Glu Cys Glu Ile Gln Asn Pro Val Ser Ala Asn Leu Ser		
	180 185 190		
35	Asp Pro Val Ile Leu Asn Val Leu Tyr Gly Pro Asp Gly Pro Thr Ile		
	195 200 205		
	Ser Pro Ser Lys Ala Asn Tyr Arg Pro Gly Glu Asn Leu Asn Leu Ser		
	210 215 220		
	Cys His Ala Ala Ser Asn Pro Pro Ala Gln Tyr Ser Trp Phe Ile Asn		
40	225 230 235 240		
	Gly Thr Phe Gln Gln Ser Thr Gln Glu Leu Phe Ile Pro Asn Ile Thr		
	245 250 255		
	Val Asn Asn Ser Gly Ser Tyr Met Cys Gln Ala His Asn Ser Ala Thr		
	260 265 270		
45	Gly Leu Asn Arg Thr Thr Val Thr Met Ile Thr Val Ser Gly Ile Glu		
	275 280 285		
	Gly Arg Asp Met Asp Thr Gly Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr		
	290 295 300		

RU 2739163 C2

	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
	305					310					315					320
	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro
					325					330						335
5	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val
					340					345					350	
	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr
					355				360					365		
	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val
10		370					375					380				
	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys
	385					390					395					400
	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser
					405					410					415	
15	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro
					420					425					430	
	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val
					435				440					445		
	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly
20		450						455				460				
	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp
	465					470					475					480
	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp
					485					490					495	
25	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His
				500					505					510		
	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	His	His
			515					520					525			
	His	His	His	His												
30		530														
	<210>	168														
	<211>	532														
	<212>	PRT														
	<213>	Искусственная последовательность														
35	<220>															
	<223>	TPP-1793, hCeacam6-Dom3-MacMul-Xa-Fc-His														
	<400>	168														
	Lys	Leu	Thr	Ile	Glu	Ser	Thr	Pro	Phe	Asn	Val	Ala	Glu	Gly	Lys	Glu
	1				5					10					15	
40	Val	Leu	Leu	Leu	Ala	His	Asn	Leu	Pro	Gln	Asn	Arg	Ile	Gly	Tyr	Ser
				20					25					30		
	Trp	Tyr	Lys	Gly	Glu	Arg	Val	Asp	Gly	Asn	Ser	Leu	Ile	Val	Gly	Tyr
			35					40					45			
	Val	Ile	Gly	Thr	Gln	Gln	Ala	Thr	Pro	Gly	Pro	Ala	Tyr	Ser	Gly	Arg
45		50					55					60				
	Glu	Thr	Ile	Tyr	Pro	Asn	Ala	Ser	Leu	Leu	Ile	Gln	Asn	Val	Thr	Gln
	65					70					75				80	
	Asn	Asp	Thr	Gly	Phe	Tyr	Thr	Leu	Gln	Val	Ile	Lys	Ser	Asp	Leu	Val

RU 2739163 C2

				85					90				95			
	Asn	Glu	Glu	Ala	Thr	Gly	Gln	Phe	His	Val	Tyr	Pro	Glu	Leu	Pro	Lys
				100					105				110			
	Pro	Ser	Ile	Ser	Ser	Asn	Asn	Ser	Asn	Pro	Val	Glu	Asp	Lys	Asp	Ala
5			115					120				125				
	Val	Ala	Phe	Thr	Cys	Glu	Pro	Glu	Val	Gln	Asn	Thr	Thr	Tyr	Leu	Trp
		130					135				140					
	Trp	Val	Asn	Gly	Gln	Ser	Leu	Pro	Val	Ser	Pro	Arg	Leu	Gln	Leu	Ser
	145					150				155					160	
10	Asn	Gly	Asn	Met	Thr	Leu	Thr	Leu	Leu	Ser	Val	Lys	Arg	Asn	Asp	Ala
				165					170				175			
	Gly	Ser	Tyr	Glu	Cys	Glu	Ile	Gln	Asn	Pro	Ala	Ser	Ala	Asn	Arg	Ser
			180					185				190				
	Asp	Pro	Val	Thr	Leu	Asn	Val	Leu	Tyr	Gly	Pro	Asp	Val	Pro	Thr	Ile
15		195					200				205					
	Ser	Pro	Ser	Asn	Ser	Asn	Tyr	Arg	Pro	Gly	Glu	Asn	Leu	Asn	Leu	Ser
		210				215				220						
	Cys	His	Ala	Ala	Ser	Asn	Pro	Thr	Ala	Gln	Tyr	Ser	Trp	Phe	Val	Asn
	225					230				235					240	
20	Gly	Thr	Phe	Gln	Gln	Ser	Thr	Gln	Glu	Leu	Phe	Ile	Pro	Asn	Ile	Thr
			245					250				255				
	Val	Asn	Asn	Ser	Gly	Ser	Tyr	Met	Cys	Gln	Ala	Tyr	Asn	Ser	Ala	Thr
		260					265				270					
	Gly	Leu	Asn	Arg	Thr	Thr	Val	Met	Met	Ile	Thr	Val	Ser	Gly	Ile	Glu
25		275					280				285					
	Gly	Arg	Asp	Met	Asp	Thr	Gly	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr
	290					295				300						
	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
	305				310			315							320	
30	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro
			325					330				335				
	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val
		340				345				350						
	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr
35		355					360				365					
	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val
	370					375			380							
	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys
	385				390			395							400	
40	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser
		405					410				415					
	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro
		420				425				430						
	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val
45		435					440				445					
	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly
	450					455				460						
	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp

465 470 475 480
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 485 490 495
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 5 500 505 510
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys His His
 515 520 525
 His His His His
 530
 10 <210> 169
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 15 <223> TPP-1794, hCeacam6-Dom1-8xHis (E.coli)
 <400> 169
 Met Lys Leu Thr Ile Glu Ser Thr Pro Phe Asn Val Ala Glu Gly Lys
 1 5 10 15
 Glu Val Leu Leu Leu Ala His Asn Leu Pro Gln Asn Arg Ile Gly Tyr
 20 20 25 30
 Ser Trp Tyr Lys Gly Glu Arg Val Asp Gly Asn Ser Leu Ile Val Gly
 35 40 45
 Tyr Val Ile Gly Thr Gln Gln Ala Thr Pro Gly Pro Ala Tyr Ser Gly
 50 55 60
 25 Arg Glu Thr Ile Tyr Pro Asn Ala Ser Leu Leu Ile Gln Asn Val Thr
 65 70 75 80
 Gln Asn Asp Thr Gly Phe Tyr Thr Leu Gln Val Ile Lys Ser Asp Leu
 85 90 95
 Val Asn Glu Glu Ala Thr Gly Gln Phe His Val Tyr Pro Gly Ser Gly
 30 100 105 110
 Ser His His His His His His His His
 115 120
 <210> 170
 <211> 533
 35 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> TPP-2443, cyno CEACAM-6-Xa-Fc-His
 <400> 170
 40 Gln Leu Thr Ile Glu Ser Arg Pro Phe Asn Val Ala Glu Gly Lys Glu
 1 5 10 15
 Val Leu Leu Leu Ala His Asn Leu Pro Gln Asn Thr Leu Gly Phe Asn
 20 25 30
 Trp Tyr Lys Gly Glu Arg Val Asp Ala Lys Arg Leu Ile Val Ala Tyr
 35 40 45
 45 Val Ile Gly Thr Gln Gln Thr Thr Pro Gly Pro Ala His Ser Gly Arg
 50 55 60
 Glu Met Ile Tyr Ser Asn Ala Ser Leu Leu Ile Gln Asn Val Thr Gln

RU 2739163 C2

	65				70					75				80		
	Asn	Asp	Thr	Gly	Ser	Tyr	Thr	Leu	Gln	Ala	Ile	Lys	Glu	Asp	Leu	Val
					85					90				95		
	Thr	Glu	Glu	Ala	Thr	Gly	Arg	Phe	Trp	Val	Tyr	Pro	Glu	Leu	Pro	Lys
5				100					105					110		
	Pro	Tyr	Ile	Thr	Ser	Asn	Asn	Ser	Asn	Pro	Val	Glu	Asp	Lys	Asp	Ala
				115					120					125		
	Val	Asp	Phe	Thr	Cys	Glu	Pro	Asp	Ile	His	Ser	Thr	Thr	Tyr	Leu	Trp
				130					135					140		
10	Trp	Val	Asn	Asp	Gln	Ser	Leu	Pro	Val	Ser	Pro	Arg	Leu	Gln	Leu	Ser
	145													155		160
	Asn	Gly	Asn	Arg	Thr	Leu	Thr	Leu	Leu	Ser	Val	Lys	Arg	Asn	Asp	Ala
					165									170		175
	Gly	Ala	Tyr	Glu	Cys	Glu	Ile	Gln	Asn	Pro	Val	Ser	Ala	Asn	Leu	Ser
15				180					185					190		
	Asp	Pro	Val	Ile	Leu	Asn	Val	Leu	Tyr	Gly	Pro	Asp	Val	Pro	Thr	Ile
				195					200					205		
	Ser	Pro	Ser	Asn	Ser	Asn	Tyr	Arg	Pro	Gly	Glu	Asn	Leu	Asn	Leu	Ser
				210					215					220		
20	Cys	His	Ala	Ala	Ser	Asn	Pro	Thr	Ala	Gln	Tyr	Ser	Trp	Phe	Val	Asn
	225													235		240
	Gly	Thr	Phe	Gln	Gln	Ser	Thr	Gln	Glu	Leu	Phe	Ile	Pro	Asn	Ile	Thr
					245									250		255
	Val	Asn	Asn	Ser	Gly	Ser	Tyr	Met	Cys	Gln	Ala	Tyr	Asn	Ser	Ala	Thr
25				260					265					270		
	Gly	Leu	Asn	Arg	Thr	Thr	Val	Met	Met	Ile	Thr	Val	Ser	Gly	Ser	Ile
				275					280					285		
	Glu	Gly	Arg	Asp	Met	Asp	Thr	Gly	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His
				290					295					300		
30	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val
	305													315		320
	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr
					325									330		335
	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu
35				340					345					350		
	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys
				355					360					365		
	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser
				370					375					380		
40	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys
	385													395		400
	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile
					405									410		415
	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro
45				420					425					430		
	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu
				435					440					445		
	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn

	450		455		460												
	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	
	465					470					475					480	
	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	
5					485					490					495		
	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	
				500					505					510			
	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	His	
			515				520						525				
10	His	His	His	His	His												
	530																
	<210>	171															
	<211>	356															
	<212>	PRT															
15	<213>	Искусственная последовательность															
	<220>																
	<223>	TPP-2452, cynomolgus Ceacam6-Dom1-Xa-Fc-His															
	<400>	171															
	Gln	Leu	Thr	Ile	Glu	Ser	Arg	Pro	Phe	Asn	Val	Ala	Glu	Gly	Lys	Glu	
20	1			5					10					15			
	Val	Leu	Leu	Leu	Ala	His	Asn	Leu	Pro	Gln	Asn	Thr	Leu	Gly	Phe	Asn	
				20					25					30			
	Trp	Tyr	Lys	Gly	Glu	Arg	Val	Asp	Ala	Lys	Arg	Leu	Ile	Val	Ala	Tyr	
		35						40					45				
25	Val	Ile	Gly	Thr	Gln	Gln	Thr	Thr	Pro	Gly	Pro	Ala	His	Ser	Gly	Arg	
		50					55					60					
	Glu	Met	Ile	Tyr	Ser	Asn	Ala	Ser	Leu	Leu	Ile	Gln	Asn	Val	Thr	Gln	
	65				70					75					80		
	Asn	Asp	Thr	Gly	Ser	Tyr	Thr	Leu	Gln	Ala	Ile	Lys	Glu	Asp	Leu	Val	
30				85					90					95			
	Thr	Glu	Glu	Ala	Thr	Gly	Arg	Phe	Trp	Val	Tyr	Pro	Glu	Leu	Ile	Glu	
				100					105					110			
	Gly	Arg	Asp	Met	Asp	Thr	Gly	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	
		115					120						125				
35	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	
		130					135					140					
	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	
	145				150					155					160		
	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	
40				165					170					175			
	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	
				180					185					190			
	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	
		195					200						205				
45	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	
		210					215					220					
	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	
	225				230						235					240	

RU 2739163 C2

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 245 250 255
 Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 260 265 270
 5 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 275 280 285
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 290 295 300
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 10 305 310 315 320
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 325 330 335
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys His His
 340 345 350
 15 His His His His
 355
 <210> 172
 <211> 127
 <212> PRT
 20 <213> Homo sapiens
 <400> 172
 Lys Leu Thr Ile Glu Ser Met Pro Leu Ser Val Ala Glu Gly Lys Glu
 1 5 10 15
 Val Leu Leu Leu Val His Asn Leu Pro Gln His Leu Phe Gly Tyr Ser
 25 20 25 30
 Trp Tyr Lys Gly Glu Arg Val Asp Gly Asn Ser Leu Ile Val Gly Tyr
 35 40 45
 Val Ile Gly Thr Gln Gln Ala Thr Pro Gly Ala Ala Tyr Ser Gly Arg
 50 55 60
 30 Glu Thr Ile Tyr Thr Asn Ala Ser Leu Leu Ile Gln Asn Val Thr Gln
 65 70 75 80
 Asn Asp Ile Gly Phe Tyr Thr Leu Gln Val Ile Lys Ser Asp Leu Val
 85 90 95
 Asn Glu Glu Ala Thr Gly Gln Phe His Val Tyr Gln Glu Asn Ala Pro
 35 100 105 110
 Gly Leu Pro Val Gly Ala Val Ala Gly His His His His His His
 115 120 125
 <210> 173
 <211> 526
 40 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 173
 Met Gly His Leu Ser Ala Pro Leu His Arg Val Arg Val Pro Trp Gln
 1 5 10 15
 45 Gly Leu Leu Leu Thr Ala Ser Leu Leu Thr Phe Trp Asn Pro Pro Thr
 20 25 30
 Thr Ala Gln Leu Thr Thr Glu Ser Met Pro Phe Asn Val Ala Glu Gly
 35 40 45

RU 2739163 C2

	Lys	Glu	Val	Leu	Leu	Leu	Val	His	Asn	Leu	Pro	Gln	Gln	Leu	Phe	Gly
	50						55					60				
	Tyr	Ser	Trp	Tyr	Lys	Gly	Glu	Arg	Val	Asp	Gly	Asn	Arg	Gln	Ile	Val
	65					70				75					80	
5	Gly	Tyr	Ala	Ile	Gly	Thr	Gln	Gln	Ala	Thr	Pro	Gly	Pro	Ala	Asn	Ser
					85					90					95	
	Gly	Arg	Glu	Thr	Ile	Tyr	Pro	Asn	Ala	Ser	Leu	Leu	Ile	Gln	Asn	Val
				100					105					110		
	Thr	Gln	Asn	Asp	Thr	Gly	Phe	Tyr	Thr	Leu	Gln	Val	Ile	Lys	Ser	Asp
10			115					120					125			
	Leu	Val	Asn	Glu	Glu	Ala	Thr	Gly	Gln	Phe	His	Val	Tyr	Pro	Glu	Leu
	130					135					140					
	Pro	Lys	Pro	Ser	Ile	Ser	Ser	Asn	Asn	Ser	Asn	Pro	Val	Glu	Asp	Lys
	145				150					155					160	
15	Asp	Ala	Val	Ala	Phe	Thr	Cys	Glu	Pro	Glu	Thr	Gln	Asp	Thr	Thr	Tyr
				165					170					175		
	Leu	Trp	Trp	Ile	Asn	Asn	Gln	Ser	Leu	Pro	Val	Ser	Pro	Arg	Leu	Gln
			180					185						190		
	Leu	Ser	Asn	Gly	Asn	Arg	Thr	Leu	Thr	Leu	Leu	Ser	Val	Thr	Arg	Asn
20			195					200					205			
	Asp	Thr	Gly	Pro	Tyr	Glu	Cys	Glu	Ile	Gln	Asn	Pro	Val	Ser	Ala	Asn
	210					215					220					
	Arg	Ser	Asp	Pro	Val	Thr	Leu	Asn	Val	Thr	Tyr	Gly	Pro	Asp	Thr	Pro
	225				230					235					240	
25	Thr	Ile	Ser	Pro	Ser	Asp	Thr	Tyr	Tyr	Arg	Pro	Gly	Ala	Asn	Leu	Ser
				245					250					255		
	Leu	Ser	Cys	Tyr	Ala	Ala	Ser	Asn	Pro	Pro	Ala	Gln	Tyr	Ser	Trp	Leu
			260					265					270			
	Ile	Asn	Gly	Thr	Phe	Gln	Gln	Ser	Thr	Gln	Glu	Leu	Phe	Ile	Pro	Asn
30			275					280					285			
	Ile	Thr	Val	Asn	Asn	Ser	Gly	Ser	Tyr	Thr	Cys	His	Ala	Asn	Asn	Ser
	290					295					300					
	Val	Thr	Gly	Cys	Asn	Arg	Thr	Thr	Val	Lys	Thr	Ile	Ile	Val	Thr	Glu
	305				310					315					320	
35	Leu	Ser	Pro	Val	Val	Ala	Lys	Pro	Gln	Ile	Lys	Ala	Ser	Lys	Thr	Thr
				325					330					335		
	Val	Thr	Gly	Asp	Lys	Asp	Ser	Val	Asn	Leu	Thr	Cys	Ser	Thr	Asn	Asp
			340					345					350			
	Thr	Gly	Ile	Ser	Ile	Arg	Trp	Phe	Phe	Lys	Asn	Gln	Ser	Leu	Pro	Ser
40			355					360					365			
	Ser	Glu	Arg	Met	Lys	Leu	Ser	Gln	Gly	Asn	Thr	Thr	Leu	Ser	Ile	Asn
	370				375					380						
	Pro	Val	Lys	Arg	Glu	Asp	Ala	Gly	Thr	Tyr	Trp	Cys	Glu	Val	Phe	Asn
	385				390					395					400	
45	Pro	Ile	Ser	Lys	Asn	Gln	Ser	Asp	Pro	Ile	Met	Leu	Asn	Val	Asn	Tyr
				405					410					415		
	Asn	Ala	Leu	Pro	Gln	Glu	Asn	Gly	Leu	Ser	Pro	Gly	Ala	Ile	Ala	Gly
			420					425					430			

RU 2739163 C2

```

Ile Val Ile Gly Val Val Ala Leu Val Ala Leu Ile Ala Val Ala Leu
      435                      440                      445
Ala Cys Phe Leu His Phe Gly Lys Thr Gly Arg Ala Ser Asp Gln Arg
      450                      455                      460
5  Asp Leu Thr Glu His Lys Pro Ser Val Ser Asn His Thr Gln Asp His
   465                      470                      475                      480
Ser Asn Asp Pro Pro Asn Lys Met Asn Glu Val Thr Tyr Ser Thr Leu
      485                      490                      495
Asn Phe Glu Ala Gln Gln Pro Thr Gln Pro Thr Ser Ala Ser Pro Ser
10      500                      505                      510
Leu Thr Ala Thr Glu Ile Ile Tyr Ser Glu Val Lys Lys Gln
      515                      520                      525
<210> 174
<211> 300
15 <212> PRT
    <213> Homo sapiens
    <400> 174
Met Glu Ile Pro Met Gly Thr Gln Gly Cys Phe Ser Lys Ser Leu Leu
1      5      10      15
20 Leu Ser Ala Ser Ile Leu Val Leu Trp Met Leu Gln Gly Ser Gln Ala
      20      25      30
Ala Leu Tyr Ile Gln Lys Ile Pro Glu Gln Pro Gln Lys Asn Gln Asp
      35      40      45
Leu Leu Leu Ser Val Gln Gly Val Pro Asp Thr Phe Gln Asp Phe Asn
25      50      55      60
Trp Tyr Leu Gly Glu Glu Thr Tyr Gly Gly Thr Arg Leu Phe Thr Tyr
65      70      75      80
Ile Pro Gly Ile Gln Arg Pro Gln Arg Asp Gly Ser Ala Met Gly Gln
      85      90      95
30 Arg Asp Ile Val Gly Phe Pro Asn Gly Ser Met Leu Leu Arg Arg Ala
      100     105     110
Gln Pro Thr Asp Ser Gly Thr Tyr Gln Val Ala Ile Thr Ile Asn Ser
      115     120     125
Glu Trp Thr Met Lys Ala Lys Thr Glu Val Gln Val Ala Glu Lys Asn
35      130     135     140
Lys Glu Leu Pro Ser Thr His Leu Pro Thr Asn Ala Gly Ile Leu Ala
145     150     155     160
Ala Thr Ile Ile Gly Ser Leu Ala Ala Gly Ala Leu Leu Ile Ser Cys
      165     170     175
40 Ile Ala Tyr Leu Leu Val Thr Arg Asn Trp Arg Gly Gln Ser His Arg
      180     185     190
Leu Pro Ala Pro Arg Gly Gln Gly Ser Leu Ser Ile Leu Cys Ser Ala
      195     200     205
Val Ser Pro Val Pro Ser Val Thr Pro Ser Thr Trp Met Ala Thr Thr
45      210     215     220
Glu Lys Pro Glu Leu Gly Pro Ala His Asp Ala Gly Asp Asn Asn Ile
225     230     235     240
Tyr Glu Val Met Pro Ser Pro Val Leu Leu Val Ser Pro Ile Ser Asp

```


RU 2739163 C2

					245					250					255	
	Thr	Arg	Ser	Ile	Asn	Pro	Ala	Arg	Pro	Leu	Pro	Thr	Pro	Pro	His	Leu
				260					265				270			
	Gln	Ala	Glu	Pro	Glu	Asn	His	Gln	Tyr	Gln	Gln	Asp	Leu	Leu	Asn	Pro
5			275					280					285			
	Asp	Pro	Ala	Pro	Tyr	Cys	Gln	Leu	Val	Pro	Thr	Ser				
		290					295					300				
	<210>	175														
	<211>	252														
10	<212>	PRT														
	<213>	Homo sapiens														
	<400>	175														
	Met	Gly	Pro	Pro	Ser	Ala	Ser	Pro	His	Arg	Glu	Cys	Ile	Pro	Trp	Gln
	1			5					10					15		
15	Gly	Leu	Leu	Leu	Thr	Ala	Ser	Leu	Leu	Asn	Phe	Trp	Asn	Pro	Pro	Thr
			20						25				30			
	Thr	Ala	Lys	Leu	Thr	Ile	Glu	Ser	Met	Pro	Leu	Ser	Val	Ala	Glu	Gly
		35					40					45				
	Lys	Glu	Val	Leu	Leu	Leu	Val	His	Asn	Leu	Pro	Gln	His	Leu	Phe	Gly
20		50				55					60					
	Tyr	Ser	Trp	Tyr	Lys	Gly	Glu	Arg	Val	Asp	Gly	Asn	Ser	Leu	Ile	Val
	65				70				75					80		
	Gly	Tyr	Val	Ile	Gly	Thr	Gln	Gln	Ala	Thr	Pro	Gly	Ala	Ala	Tyr	Ser
			85				90					95				
25	Gly	Arg	Glu	Thr	Ile	Tyr	Thr	Asn	Ala	Ser	Leu	Leu	Ile	Gln	Asn	Val
			100				105						110			
	Thr	Gln	Asn	Asp	Ile	Gly	Phe	Tyr	Thr	Leu	Gln	Val	Ile	Lys	Ser	Asp
		115				120						125				
	Leu	Val	Asn	Glu	Glu	Ala	Thr	Gly	Gln	Phe	His	Val	Tyr	Gln	Glu	Asn
30		130				135						140				
	Ala	Pro	Gly	Leu	Pro	Val	Gly	Ala	Val	Ala	Gly	Ile	Val	Thr	Gly	Val
	145			150					155					160		
	Leu	Val	Gly	Val	Ala	Leu	Val	Ala	Ala	Leu	Val	Cys	Phe	Leu	Leu	Leu
			165				170					175				
35	Ala	Lys	Thr	Gly	Arg	Thr	Ser	Ile	Gln	Arg	Asp	Leu	Lys	Glu	Gln	Gln
			180				185					190				
	Pro	Gln	Ala	Leu	Ala	Pro	Gly	Arg	Gly	Pro	Ser	His	Ser	Ser	Ala	Phe
		195				200					205					
	Ser	Met	Ser	Pro	Leu	Ser	Thr	Ala	Gln	Ala	Pro	Leu	Pro	Asn	Pro	Arg
40		210				215						220				
	Thr	Ala	Ala	Ser	Ile	Tyr	Glu	Glu	Leu	Leu	Lys	His	Asp	Thr	Asn	Ile
	225			230					235				240			
	Tyr	Cys	Arg	Met	Asp	His	Lys	Ala	Glu	Val	Ala	Ser				
				245					250							
45	<210>	176														
	<211>	702														
	<212>	PRT														
	<213>	Homo sapiens														

<400> 176

	Met	Glu	Ser	Pro	Ser	Ala	Pro	Pro	His	Arg	Trp	Cys	Ile	Pro	Trp	Gln
	1				5					10					15	
5	Arg	Leu	Leu	Leu	Thr	Ala	Ser	Leu	Leu	Thr	Phe	Trp	Asn	Pro	Pro	Thr
				20					25					30		
	Thr	Ala	Lys	Leu	Thr	Ile	Glu	Ser	Thr	Pro	Phe	Asn	Val	Ala	Glu	Gly
			35					40					45			
	Lys	Glu	Val	Leu	Leu	Leu	Val	His	Asn	Leu	Pro	Gln	His	Leu	Phe	Gly
		50					55					60				
10	Tyr	Ser	Trp	Tyr	Lys	Gly	Glu	Arg	Val	Asp	Gly	Asn	Arg	Gln	Ile	Ile
	65					70				75					80	
	Gly	Tyr	Val	Ile	Gly	Thr	Gln	Gln	Ala	Thr	Pro	Gly	Pro	Ala	Tyr	Ser
				85					90					95		
	Gly	Arg	Glu	Ile	Ile	Tyr	Pro	Asn	Ala	Ser	Leu	Leu	Ile	Gln	Asn	Ile
15				100				105						110		
	Ile	Gln	Asn	Asp	Thr	Gly	Phe	Tyr	Thr	Leu	His	Val	Ile	Lys	Ser	Asp
			115					120					125			
	Leu	Val	Asn	Glu	Glu	Ala	Thr	Gly	Gln	Phe	Arg	Val	Tyr	Pro	Glu	Leu
		130					135					140				
20	Pro	Lys	Pro	Ser	Ile	Ser	Ser	Asn	Asn	Ser	Lys	Pro	Val	Glu	Asp	Lys
	145					150				155					160	
	Asp	Ala	Val	Ala	Phe	Thr	Cys	Glu	Pro	Glu	Thr	Gln	Asp	Ala	Thr	Tyr
				165					170					175		
	Leu	Trp	Trp	Val	Asn	Asn	Gln	Ser	Leu	Pro	Val	Ser	Pro	Arg	Leu	Gln
25				180				185						190		
	Leu	Ser	Asn	Gly	Asn	Arg	Thr	Leu	Thr	Leu	Phe	Asn	Val	Thr	Arg	Asn
			195					200					205			
	Asp	Thr	Ala	Ser	Tyr	Lys	Cys	Glu	Thr	Gln	Asn	Pro	Val	Ser	Ala	Arg
		210				215						220				
30	Arg	Ser	Asp	Ser	Val	Ile	Leu	Asn	Val	Leu	Tyr	Gly	Pro	Asp	Ala	Pro
	225					230				235					240	
	Thr	Ile	Ser	Pro	Leu	Asn	Thr	Ser	Tyr	Arg	Ser	Gly	Glu	Asn	Leu	Asn
				245					250					255		
	Leu	Ser	Cys	His	Ala	Ala	Ser	Asn	Pro	Pro	Ala	Gln	Tyr	Ser	Trp	Phe
35				260				265					270			
	Val	Asn	Gly	Thr	Phe	Gln	Gln	Ser	Thr	Gln	Glu	Leu	Phe	Ile	Pro	Asn
			275					280				285				
	Ile	Thr	Val	Asn	Asn	Ser	Gly	Ser	Tyr	Thr	Cys	Gln	Ala	His	Asn	Ser
		290					295					300				
40	Asp	Thr	Gly	Leu	Asn	Arg	Thr	Thr	Val	Thr	Thr	Ile	Thr	Val	Tyr	Ala
	305					310				315					320	
	Glu	Pro	Pro	Lys	Pro	Phe	Ile	Thr	Ser	Asn	Asn	Ser	Asn	Pro	Val	Glu
				325					330					335		
	Asp	Glu	Asp	Ala	Val	Ala	Leu	Thr	Cys	Glu	Pro	Glu	Ile	Gln	Asn	Thr
45				340					345					350		
	Thr	Tyr	Leu	Trp	Trp	Val	Asn	Asn	Gln	Ser	Leu	Pro	Val	Ser	Pro	Arg
			355					360					365			
	Leu	Gln	Leu	Ser	Asn	Asp	Asn	Arg	Thr	Leu	Thr	Leu	Leu	Ser	Val	Thr

RU 2739163 C2

	370		375		380												
	Arg	Asn	Asp	Val	Gly	Pro	Tyr	Glu	Cys	Gly	Ile	Gln	Asn	Lys	Leu	Ser	
	385					390					395					400	
	Val	Asp	His	Ser	Asp	Pro	Val	Ile	Leu	Asn	Val	Leu	Tyr	Gly	Pro	Asp	
5					405					410					415		
	Asp	Pro	Thr	Ile	Ser	Pro	Ser	Tyr	Thr	Tyr	Tyr	Arg	Pro	Gly	Val	Asn	
					420				425					430			
	Leu	Ser	Leu	Ser	Cys	His	Ala	Ala	Ser	Asn	Pro	Pro	Ala	Gln	Tyr	Ser	
					435				440					445			
10	Trp	Leu	Ile	Asp	Gly	Asn	Ile	Gln	Gln	His	Thr	Gln	Glu	Leu	Phe	Ile	
	450					455					460						
	Ser	Asn	Ile	Thr	Glu	Lys	Asn	Ser	Gly	Leu	Tyr	Thr	Cys	Gln	Ala	Asn	
	465					470					475					480	
	Asn	Ser	Ala	Ser	Gly	His	Ser	Arg	Thr	Thr	Val	Lys	Thr	Ile	Thr	Val	
15					485					490					495		
	Ser	Ala	Glu	Leu	Pro	Lys	Pro	Ser	Ile	Ser	Ser	Asn	Asn	Ser	Lys	Pro	
					500				505					510			
	Val	Glu	Asp	Lys	Asp	Ala	Val	Ala	Phe	Thr	Cys	Glu	Pro	Glu	Ala	Gln	
					515				520					525			
20	Asn	Thr	Thr	Tyr	Leu	Trp	Trp	Val	Asn	Gly	Gln	Ser	Leu	Pro	Val	Ser	
	530					535						540					
	Pro	Arg	Leu	Gln	Leu	Ser	Asn	Gly	Asn	Arg	Thr	Leu	Thr	Leu	Phe	Asn	
	545					550					555					560	
	Val	Thr	Arg	Asn	Asp	Ala	Arg	Ala	Tyr	Val	Cys	Gly	Ile	Gln	Asn	Ser	
25					565					570					575		
	Val	Ser	Ala	Asn	Arg	Ser	Asp	Pro	Val	Thr	Leu	Asp	Val	Leu	Tyr	Gly	
					580					585				590			
	Pro	Asp	Thr	Pro	Ile	Ile	Ser	Pro	Pro	Asp	Ser	Ser	Tyr	Leu	Ser	Gly	
					595				600					605			
30	Ala	Asn	Leu	Asn	Leu	Ser	Cys	His	Ser	Ala	Ser	Asn	Pro	Ser	Pro	Gln	
	610					615						620					
	Tyr	Ser	Trp	Arg	Ile	Asn	Gly	Ile	Pro	Gln	Gln	His	Thr	Gln	Val	Leu	
	625					630					635					640	
	Phe	Ile	Ala	Lys	Ile	Thr	Pro	Asn	Asn	Asn	Gly	Thr	Tyr	Ala	Cys	Phe	
35					645					650					655		
	Val	Ser	Asn	Leu	Ala	Thr	Gly	Arg	Asn	Asn	Ser	Ile	Val	Lys	Ser	Ile	
					660				665					670			
	Thr	Val	Ser	Ala	Ser	Gly	Thr	Ser	Pro	Gly	Leu	Ser	Ala	Gly	Ala	Thr	
					675				680					685			
40	Val	Gly	Ile	Met	Ile	Gly	Val	Leu	Val	Gly	Val	Ala	Leu	Ile			
	690					695						700					
	<210>	177															
	<211>	344															
	<212>	PRT															
45	<213>	Macaca fascicularis (Cynomolgus monkey)															
	<400>	177															
	Met	Gly	Pro	Pro	Ser	Ala	Pro	Pro	Cys	Arg	Ile	Cys	Val	Pro	Trp	Lys	
	1				5				10					15			

RU 2739163 C2

Glu Val Leu Leu Thr Ala Ser Leu Leu Thr Phe Trp Ser Pro Pro Thr
 20 25 30
 Thr Ala Gln Leu Thr Ile Glu Ser Arg Pro Phe Asn Val Ala Glu Gly
 35 40 45
 5 Lys Glu Val Leu Leu Leu Ala His Asn Leu Pro Gln Asn Thr Leu Gly
 50 55 60
 Phe Asn Trp Tyr Lys Gly Glu Arg Val Asp Ala Lys Arg Leu Ile Val
 65 70 75 80
 Ala Tyr Val Ile Gly Thr Gln Gln Thr Thr Pro Gly Pro Ala His Ser
 10 85 90 95
 Gly Arg Glu Met Ile Tyr Ser Asn Ala Ser Leu Leu Ile Gln Asn Val
 100 105 110
 Thr Gln Asn Asp Thr Gly Ser Tyr Thr Leu Gln Ala Ile Lys Glu Asp
 115 120 125
 15 Leu Val Thr Glu Glu Ala Thr Gly Arg Phe Trp Val Tyr Pro Glu Leu
 130 135 140
 Pro Lys Pro Tyr Ile Thr Ser Asn Asn Ser Asn Pro Val Glu Asp Lys
 145 150 155 160
 Asp Ala Val Asp Phe Thr Cys Glu Pro Asp Ile His Ser Thr Thr Tyr
 20 165 170 175
 Leu Trp Trp Val Asn Asp Gln Ser Leu Pro Val Ser Pro Arg Leu Gln
 180 185 190
 Leu Ser Asn Gly Asn Arg Thr Leu Thr Leu Leu Ser Val Lys Arg Asn
 195 200 205
 25 Asp Ala Gly Ala Tyr Glu Cys Glu Ile Gln Asn Pro Val Ser Ala Asn
 210 215 220
 Leu Ser Asp Pro Val Ile Leu Asn Val Leu Tyr Gly Pro Asp Val Pro
 225 230 235 240
 Thr Ile Ser Pro Ser Asn Ser Asn Tyr Arg Pro Gly Glu Asn Leu Asn
 30 245 250 255
 Leu Ser Cys His Ala Ala Ser Asn Pro Thr Ala Gln Tyr Ser Trp Phe
 260 265 270
 Val Asn Gly Thr Phe Gln Gln Ser Thr Gln Glu Leu Phe Ile Pro Asn
 275 280 285
 35 Ile Thr Val Asn Asn Ser Gly Ser Tyr Met Cys Gln Ala Tyr Asn Ser
 290 295 300
 Ala Thr Gly Leu Asn Arg Thr Thr Val Met Met Ile Thr Val Ser Gly
 305 310 315 320
 Ser Ala Pro Gly Leu Ser Ala Val Ala Thr Val Gly Ile Met Ile Gly
 40 325 330 335
 Val Leu Ala Arg Val Ala Leu Ile
 340
 <210> 178
 <211> 349
 45 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 178
 Met Gly Pro Ile Ser Ala Pro Ser Cys Arg Trp Arg Ile Pro Trp Gln

RU 2739163 C2

	1		5		10		15
	Gly	Leu	Leu	Leu	Thr	Ala	Ser
				20			25
	Thr	Ala	Gln	Leu	Thr	Ile	Glu
5			35			40	
	Lys	Glu	Val	Leu	Leu	Leu	Val
		50			55		60
	Tyr	Asn	Trp	Tyr	Lys	Gly	Glu
	65				70		75
10	Gly	Tyr	Val	Ile	Ser	Asn	Gln
				85		90	
	Asn	Arg	Glu	Thr	Ile	Tyr	Pro
			100			105	
	Thr	Arg	Asn	Asp	Thr	Gly	Ser
15			115			120	
	Leu	Met	Ser	Glu	Glu	Val	Thr
		130			135		140
	Pro	Lys	Pro	Ser	Ile	Ser	Ser
	145				150		155
20	Asp	Ala	Val	Ala	Phe	Thr	Cys
				165		170	
	Leu	Trp	Trp	Val	Asn	Gly	Gln
			180			185	
	Leu	Ser	Asn	Gly	Asn	Arg	Thr
25			195			200	
	Asp	Val	Gly	Pro	Tyr	Glu	Cys
		210			215		220
	Phe	Ser	Asp	Pro	Val	Thr	Leu
	225				230		235
30	Thr	Ile	Ser	Pro	Ser	Asp	Thr
				245		250	
	Leu	Ser	Cys	His	Ala	Ala	Ser
			260			265	
	Val	Asn	Gly	Thr	Phe	Gln	Gln
35			275			280	
	Ile	Thr	Thr	Lys	Asn	Ser	Gly
		290			295		300
	Ala	Thr	Gly	Arg	Asn	Arg	Thr
	305				310		315
40	Ala	Leu	Val	Gln	Gly	Ser	Ser
				325		330	
	Ser	Ile	Met	Ile	Gly	Val	Leu
				340		345	
	<210>	179					
45	<211>	344					
	<212>	PRT					
	<213>	Homo sapiens					
	<400>	179					

RU 2 739 163 C2

	Met	Gly	Pro	Pro	Ser	Ala	Pro	Pro	Cys	Arg	Leu	His	Val	Pro	Trp	Lys
	1				5					10					15	
	Glu	Val	Leu	Leu	Thr	Ala	Ser	Leu	Leu	Thr	Phe	Trp	Asn	Pro	Pro	Thr
				20					25					30		
5	Thr	Ala	Lys	Leu	Thr	Ile	Glu	Ser	Thr	Pro	Phe	Asn	Val	Ala	Glu	Gly
			35					40					45			
	Lys	Glu	Val	Leu	Leu	Leu	Ala	His	Asn	Leu	Pro	Gln	Asn	Arg	Ile	Gly
		50					55					60				
	Tyr	Ser	Trp	Tyr	Lys	Gly	Glu	Arg	Val	Asp	Gly	Asn	Ser	Leu	Ile	Val
10	65					70				75						80
	Gly	Tyr	Val	Ile	Gly	Thr	Gln	Gln	Ala	Thr	Pro	Gly	Pro	Ala	Tyr	Ser
				85					90					95		
	Gly	Arg	Glu	Thr	Ile	Tyr	Pro	Asn	Ala	Ser	Leu	Leu	Ile	Gln	Asn	Val
				100					105					110		
15	Thr	Gln	Asn	Asp	Thr	Gly	Phe	Tyr	Thr	Leu	Gln	Val	Ile	Lys	Ser	Asp
			115					120					125			
	Leu	Val	Asn	Glu	Glu	Ala	Thr	Gly	Gln	Phe	His	Val	Tyr	Pro	Glu	Leu
		130					135					140				
	Pro	Lys	Pro	Ser	Ile	Ser	Ser	Asn	Asn	Ser	Asn	Pro	Val	Glu	Asp	Lys
20	145					150				155						160
	Asp	Ala	Val	Ala	Phe	Thr	Cys	Glu	Pro	Glu	Val	Gln	Asn	Thr	Thr	Tyr
				165					170					175		
	Leu	Trp	Trp	Val	Asn	Gly	Gln	Ser	Leu	Pro	Val	Ser	Pro	Arg	Leu	Gln
				180					185					190		
25	Leu	Ser	Asn	Gly	Asn	Met	Thr	Leu	Thr	Leu	Leu	Ser	Val	Lys	Arg	Asn
			195					200					205			
	Asp	Ala	Gly	Ser	Tyr	Glu	Cys	Glu	Ile	Gln	Asn	Pro	Ala	Ser	Ala	Asn
		210					215					220				
	Arg	Ser	Asp	Pro	Val	Thr	Leu	Asn	Val	Leu	Tyr	Gly	Pro	Asp	Gly	Pro
30	225					230				235						240
	Thr	Ile	Ser	Pro	Ser	Lys	Ala	Asn	Tyr	Arg	Pro	Gly	Glu	Asn	Leu	Asn
				245					250					255		
	Leu	Ser	Cys	His	Ala	Ala	Ser	Asn	Pro	Pro	Ala	Gln	Tyr	Ser	Trp	Phe
				260				265				270				
35	Ile	Asn	Gly	Thr	Phe	Gln	Gln	Ser	Thr	Gln	Glu	Leu	Phe	Ile	Pro	Asn
			275					280				285				
	Ile	Thr	Val	Asn	Asn	Ser	Gly	Ser	Tyr	Met	Cys	Gln	Ala	His	Asn	Ser
		290					295					300				
	Ala	Thr	Gly	Leu	Asn	Arg	Thr	Thr	Val	Thr	Met	Ile	Thr	Val	Ser	Gly
40	305					310				315						320
	Ser	Ala	Pro	Val	Leu	Ser	Ala	Val	Ala	Thr	Val	Gly	Ile	Thr	Ile	Gly
				325					330					335		
	Val	Leu	Ala	Arg	Val	Ala	Leu	Ile								
				340												
45	<210>	180														
	<211>	123														
	<212>	PRT														
	<213>	Искусственная последовательность														

<220>

<223> Macaca fascicularis CEACAM6-домен 1-His

<400> 180

```

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

```

20 <210> 181

<211> 447

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

25 <223> TPP-5468 - тяжелая цепь

<400> 181

```

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

```

RU 2739163 C2

	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser
				180					185					190		
	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser
			195				200					205				
5	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr
		210				215					220					
	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser
	225					230				235					240	
	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg
10				245					250				255			
	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro
			260					265				270				
	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala
		275				280					285					
15	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val
		290				295				300						
	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr
	305				310					315					320	
	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr
20				325				330				335				
	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu
			340					345				350				
	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys
		355				360				365						
25	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser
		370				375				380						
	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp
	385				390					395					400	
	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser
30				405				410				415				
	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala
			420					425				430				
	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	
		435					440					445				
35	<210>	182														
	<211>	214														
	<212>	PRT														
	<213>	Искусственная последовательность														
	<220>															
40	<223>	TPP-5468 - легкая цепь														
	<400>	182														
	Asp	Ile	Gln	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Phe	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
	1			5					10					15		
	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Lys	Ala	Ser	Gln	Asn	Val	Gly	Thr	Ala
45			20					25					30			
	Val	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
		35					40					45				
	Tyr	Ser	Ala	Ser	Asn	Arg	Tyr	Thr	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly

RU 2739163 C2

	50		55		60											
	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Glu	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro
	65					70					75					80
	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Tyr	Ser	Ser	Tyr	Pro	Leu
5					85					90					95	
	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala
				100					105					110		
	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly
			115					120					125			
10	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala
	130						135				140					
	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln
	145					150					155					160
	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser
15					165					170					175	
	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr
				180					185					190		
	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser
			195				200						205			
20	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys										
	210															
	<210>	183														
	<211>	225														
	<212>	PRT														
25	<213>	Искусственная последовательность														
	<220>															
	<223>	APP-1574 - тяжелая цепь (Fab)														
	<400>	183														
	Gln	Val	Thr	Leu	Arg	Glu	Ser	Gly	Pro	Ala	Leu	Val	Lys	Pro	Thr	Gln
30	1			5					10						15	
	Thr	Leu	Thr	Leu	Thr	Cys	Thr	Phe	Ser	Gly	Phe	Ser	Leu	Ser	Thr	Tyr
				20					25					30		
	Gly	Ile	Gly	Val	Gly	Trp	Ile	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys	Ala	Leu	Glu
			35					40					45			
35	Trp	Leu	Ala	His	Ile	Trp	Trp	Asn	Asp	Asn	Lys	Tyr	Tyr	Ser	Thr	Ser
	50					55					60					
	Leu	Lys	Thr	Arg	Leu	Thr	Ile	Ser	Lys	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Gln	Val
	65					70					75					80
	Val	Leu	Thr	Met	Thr	Asn	Met	Asp	Pro	Val	Asp	Thr	Ala	Thr	Tyr	Tyr
40					85						90				95	
	Cys	Ala	Arg	Ile	Ser	Leu	Pro	Tyr	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr
				100					105					110		
	Thr	Leu	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro
				115					120					125		
45	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly
	130						135					140				
	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn
	145					150					155					160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190
5 Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
195 200 205
Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
210 215 220
His
10 225
<210> 184
<211> 214
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность
15 <220>
<223> APP-1574 - легкая цепь (Fab)
<400> 184
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
20 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Ala
20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
25 50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Leu
85 90 95
30 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
35 130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
40 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
45 210
<210> 185
<211> 121
<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> TPP-8697, hCEACAM6-домен 1-His - I30L

<400> 185

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

<210> 186

<211> 121

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> TPP-8698, hCEACAM6-домен 1-His - I30F

<400> 186

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

(57) Формула изобретения

1. Выделенное анти-СЕАСАМ6 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие:

i. антигенсвязывающую область тяжелой цепи, которая содержит H-CDR1,

SEQ ID NO: 20, или

xi. антигенсвязывающую область тяжелой цепи, которая содержит H-CDR1, содержащий SEQ ID NO: 62, H-CDR2, содержащий SEQ ID NO: 63, и H-CDR3, содержащий SEQ ID NO: 64, и антигенсвязывающую область легкой цепи, которая содержит L-CDR1, содержащий SEQ ID NO: 66, L-CDR2, содержащий SEQ ID NO: 67, и L-CDR3, содержащий SEQ ID NO: 68, или

xii. антигенсвязывающую область тяжелой цепи, которая содержит H-CDR1, содержащий SEQ ID NO: 92, H-CDR2, содержащий SEQ ID NO: 93, и H-CDR3, содержащий SEQ ID NO: 94, и антигенсвязывающую область легкой цепи, которая содержит L-CDR1, содержащий SEQ ID NO: 96, L-CDR2, содержащий SEQ ID NO: 97, и L-CDR3, содержащий SEQ ID NO: 98.

2. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 1, содержащие

i. вариабельную последовательность тяжелой цепи, как представлено SEQ ID NO: 47, и вариабельную последовательность легкой цепи, как представлено SEQ ID NO: 51,

или

ii. вариабельную последовательность тяжелой цепи, как представлено SEQ ID NO: 105, и вариабельную последовательность легкой цепи, как представлено SEQ ID NO: 109, или

iii. вариабельную последовательность тяжелой цепи, как представлено SEQ ID NO: 3, и вариабельную последовательность легкой цепи, как представлено SEQ ID NO: 7, или

iv. вариабельную последовательность тяжелой цепи, как представлено SEQ ID NO: 33, и вариабельную последовательность легкой цепи, как представлено SEQ ID NO: 37, или

v. вариабельную последовательность тяжелой цепи, как представлено SEQ ID NO: 119, и вариабельную последовательность легкой цепи, как представлено SEQ ID NO: 123, или

vi. вариабельную последовательность тяжелой цепи, как представлено SEQ ID NO: 23, и вариабельную последовательность легкой цепи, как представлено SEQ ID NO: 27, или

vii. вариабельную последовательность тяжелой цепи, как представлено SEQ ID NO: 75, и вариабельную последовательность легкой цепи, как представлено SEQ ID NO: 79, или

viii. вариабельную последовательность тяжелой цепи, как представлено SEQ ID NO: 133, и вариабельную последовательность легкой цепи, как представлено SEQ ID NO: 137, или

ix. вариабельную последовательность тяжелой цепи, как представлено SEQ ID NO: 147, и вариабельную последовательность легкой цепи, как представлено SEQ ID NO: 151, или

x. вариабельную последовательность тяжелой цепи, как представлено SEQ ID NO: 13, и вариабельную последовательность легкой цепи, как представлено SEQ ID NO: 17, или

xi. вариабельную последовательность тяжелой цепи, как представлено SEQ ID NO: 61, и вариабельную последовательность легкой цепи, как представлено SEQ ID NO: 65, или

xii. вариабельную последовательность тяжелой цепи, как представлено SEQ ID NO: 91, и вариабельную последовательность легкой цепи, как представлено SEQ ID NO: 95.

3. Антитело по п. 1, которое представляет собой IgG антитело.

4. Антитело по п. 1, содержащее:

- i. область тяжелой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 57, и область легкой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 58, или
- ii. область тяжелой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 115, и область легкой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 116, или
- iii. область тяжелой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 43, и область легкой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 44, или
- iv. область тяжелой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 129, и область легкой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 130, или
- v. область тяжелой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 85, и область легкой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 86, или
- vi. область тяжелой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 143, и область легкой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 144, или
- vii. область тяжелой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 157, и область легкой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 158, или
- viii. область тяжелой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 71, и область легкой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 72, или
- ix. область тяжелой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 101, и область легкой цепи, соответствующую SEQ ID NO: 102.

5. Антигенсвязывающий фрагмент по п. 1, который представляет собой scFv-, Fab-, Fab'-фрагмент или F(ab')₂-фрагмент.

6. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по п. 1, которые представляют собой моноклональное антитело или антигенсвязывающий фрагмент.

7. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-6, которые представляют собой человеческое, гуманизированное или химерное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

8. Конъюгат антитело-лекарственное средство в качестве диагностического агента при нацеливании на CEACAM6, содержащий антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-7.

9. Конъюгат антитело-лекарственное средство в качестве терапевтического агента при нацеливании на CEACAM6, содержащий антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-7.

10. Выделенная нуклеиновая кислота, которая кодирует антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-7.

11. Экспрессионный вектор, содержащий нуклеиновую кислоту по п. 10.

12. Выделенная клетка-хозяин, экспрессирующая антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-7 и содержащая нуклеиновую кислоту по п. 10 или вектор по п. 11.

13. Выделенная клетка по п. 12, где указанной клеткой является прокариотическая или эукариотическая клетка.

14. Способ получения антитела или антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп. 1-7, включающий культивирование клетки по п. 13 и очистку антитела или антигенсвязывающего фрагмента.

15. Применение антитела или антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп. 1-7 или конъюгата антитело-лекарственное средство по п. 9 в качестве лекарственного средства для лечения заболевания или состояния, связанного с нежелательным присутствием экспрессирующих CEACAM6 клеток.

16. Применение антитела или антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп.

1-7 или конъюгата антитело-лекарственное средство по п. 8 в качестве диагностического средства для диагноза злокачественных или диспластических состояний, при которых экспрессия СЕАСАМ6 повышена по сравнению с нормальной тканью.

17. Применение антитела или антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп.

5 1-7 или конъюгата антитело-лекарственное средство по п. 9 в качестве лекарственного средства для лечения рака.

18. Фармацевтическая композиция для лечения заболевания или состояния, связанного с нежелательным присутствием экспрессирующих СЕАСАМ6 клеток, содержащая терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента
10 по любому из пп. 1-7 или конъюгата антитело-лекарственное средство по п. 9.

19. Комбинация фармацевтической композиции по п. 18 и одного или более терапевтически активных соединений в терапевтически эффективном количестве для лечения заболевания или состояния, связанного с нежелательным присутствием экспрессирующих СЕАСАМ6 клеток.

15 20. Способ лечения заболевания или состояния, связанных с нежелательным присутствием СЕАСАМ6, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества фармацевтической композиции по п. 18 или комбинации по п. 19.

20

25

30

35

40

45

Фиг. 1

Human, CEACAM5	KLTIESTPENVAEGKEVLLLAHNLPPQNRIGYSWYKGERVDCNSLIVGVYIGIQQATPGPAYSGRETIY	68
Gyno, CEACAM5	QLTIESRPENVAEGKEVLLLAHNLPPQNRIGYSWYKGERVDCNSLIVGVYIGIQQATPGPAYSGRETIY	68
Human, CEACAM5	KLTIESTPENVAEGKEVLLLAHNLPPQNRIGYSWYKGERVDCNSLIVGVYIGIQQATPGPAYSGRETIY	68
Human, CEACAM1	QLTIESMPENVAEGKEVLLLAHNLPPQNRIGYSWYKGERVDCNSLIVGVYIGIQQATPGPAYSGRETIY	68
Human, CEACAM3	KLTIESTPISVAEGKEVLLLAHNLPPQNRIGYSWYKGERVDCNSLIVGVYIGIQQATPGPAYSGRETIY	68
Human, CEACAM5	PNASLLIGNVTQNDIGTYILOVIGKSDLVNEEATGQFHVYPELPKPSISNNNSNPVEDKDVAFTCEPE	136
Gyno, CEACAM5	SNASLLIGNVTQNDIGTYILOVIGKSDLVNEEATGQFHVYPELPKPSISNNNSNPVEDKDVAFTCEPE	136
Human, CEACAM5	PNASLLIGNVTQNDIGTYILOVIGKSDLVNEEATGQFHVYPELPKPSISNNNSNPVEDKDVAFTCEPE	136
Human, CEACAM1	PNASLLIGNVTQNDIGTYILOVIGKSDLVNEEATGQFHVYPELPKPSISNNNSNPVEDKDVAFTCEPE	136
Human, CEACAM3	PNASLLIGNVTQNDIGTYILOVIGKSDLVNEEATGQFHVYGEN	110
Human, CEACAM5	VQNTIYLWWVNGOSLPVSPRLOLSNGNRILLISVSRNDAGSYCEIQNPASANRSDPYILNVLYGPD	204
Gyno, CEACAM5	IHSITYLWWVNDOSLPVSPRLOLSNGNRILLISVSRNDAGSYCEIQNPASANRSDPYILNVLYGPD	204
Human, CEACAM5	TQDATYLWWVNDOSLPVSPRLOLSNGNRILLISVSRNDAGSYCEIQNPASANRSDPYILNVLYGPD	204
Human, CEACAM1	TQDTIYLWWVNDOSLPVSPRLOLSNGNRILLISVSRNDAGSYCEIQNPASANRSDPYILNVLYGPD	204
Human, CEACAM3	APGLPVG	121
Human, CEACAM5	GPITISPSKANYRPGENLNLSCHAAASNPPAQYSWFINGTQQSTQELFIPNITVNSGSYMCAHNSA	272
Gyno, CEACAM5	VPTISPSNSNYRPGENLNLSCHAAASNPPAQYSWFINGTQQSTQELFIPNITVNSGSYMCAHNSA	272
Human, CEACAM5	APTISPLNTSYRSGENLNLSCHAAASNPPAQYSWFINGTQQSTQELFIPNITVNSGSYMCAHNSA	272
Human, CEACAM1	TPTISPSDITYRPGANLSLSCHAAASNPPAQYSWFINGTQQSTQELFIPNITVNSGSYMCAHNSA	272
Human, CEACAM3		121
Human, CEACAM5	GLNRTTIVMTIVSG	285
Gyno, CEACAM5	GLNRTTIVMTIVSG	285
Human, CEACAM5	GLNRTTIVMTIVSG	285
Human, CEACAM1	GNRTTVKTIIVTELSPPVAKPKASKTITVGDSDVNLCTGNDTGISIRWFFKNQSLPSSERMKL	340
Human, CEACAM3		121
Human, CEACAM5		285
Gyno, CEACAM5		285
Human, CEACAM5	SNDNRTLLSVTRNDVGPYEGCIQNKLSVDHSDPYILNVLYGPD	383
Human, CEACAM1	ISQGNITLISNPVKREDAGTYWCEVFNPIKSNQSDPILNLVNYNALPQENGLSPG	394
Human, CEACAM3		121

2/30

Фиг. 2

>TPP-2971_VL

DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSITCKASQNVGTAVAWYQQKPGQSPKLLIYSASNRYT
 GVPDRFTGSGSGTDFLTISNMQSEDLADYFCQQYSSYPLTFGAGTKLELK

>TPP-2971_VH

QVTLKESGPGILQPSQTLSTCSFSGFSLTTYGIGVGWIRQPSGKDLEWLAHIWWND
NKYYNTALKSRLTISKDTSNQVFLKIASVDTADTATYYCARISLPYFDYWGQGTTLTV
 SS

>TPP-3187_VL

DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSITCKASQNVGTAVAWYQQKPGQSPKLLIYSASNRYT
 GVPDRFTGSGSGTDFLTISNMQSEDLADYFCQQYNNYPLTFGAGTKLELK

>TPP-3187_VH

QVTLKESGPGILQPSQTLSTCSFSGFSLTTYGIGVGWIRQPSGKGLEWLAHIWWND
NKYYNTALKSRLTISKDTSNQVFLKIASVDTADTATYYCARISLPYFDYWGQGTTLTV
 SS

3/30

Фиг. 3

>TPP-3310_VL

DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCKASQNVGTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASNRYTG
VPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSSYPLTFGGGTKVEIK

>TPP-3310_VH

QVTLRESGPALVKPTQTLTCTFSGFSLSTYIGIGVGWIRQPPGKALEWLAHMWWD
NKYYSTSLKTRLTISKDTSKNQVLTMTNMDPVDATYYCARSLPYFDYWGQGTLT
VSS

>TPP-3714_VL

DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCKASQNVGTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASNRYTG
VPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSSYPLTFGGGTKVEIK

>TPP-3714_VH

QVTLRESGPALVKPTQTLTCTFSGFSLSTYIGIGVGWIRQPPGKALEWLAHMWWD
NKYYSTSLKTRLTISKDTSKNQVLTMTNMDPVDATYYCARSLPYFDYWGQGTLT
VSS

4/30

Фиг. 4

>TPP-3820_VL

DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCKASQNVGTAVAWYQOKPGKAPKLLIYSASNRYTG
 VPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNNYPLTFGGGTKVEIK

>TPP-3820_VH

QVTLRESGPALVKPTQTLTLCTFSGFSLTTYGIGVGWIRQPPGKGLEWLAHIWWND
NKYYSTSLKTRLTISKDTSKNQVVLMTNMDPVDATYYCARSLPYFDYWGQGLVT
 VSS

>TPP-3821_VL

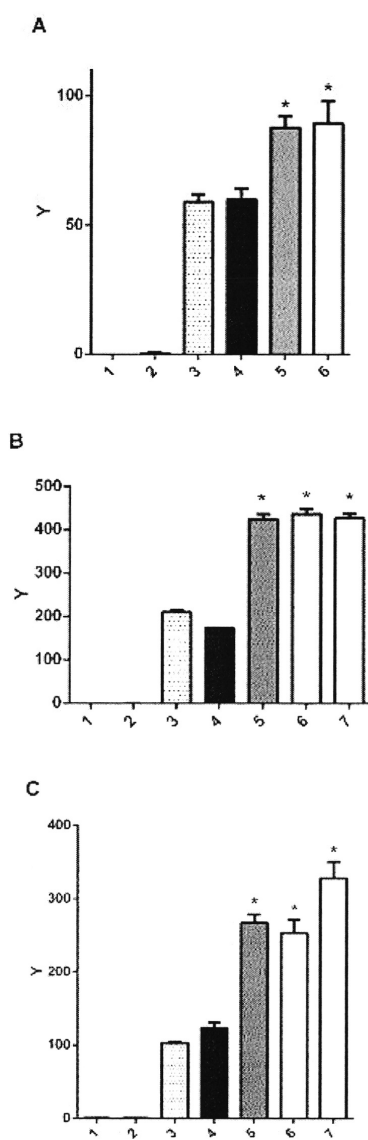
DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCKASQNVGTAVAWYQOKPGKAPKLLIYSASNRYTG
 VPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNNYPLTFGGGTKVEIK

>TPP-3821_VH

QVTLRESGPALVKPTQTLTLCTFSGFSLTTYGIGVGWIRQPPGKALEWLAHIWWND
NKYYSTSLKTRLTISKDTSKNQVVLMTNMDPVDATYYCARSLPYFDYWGQGLVT
 VSS

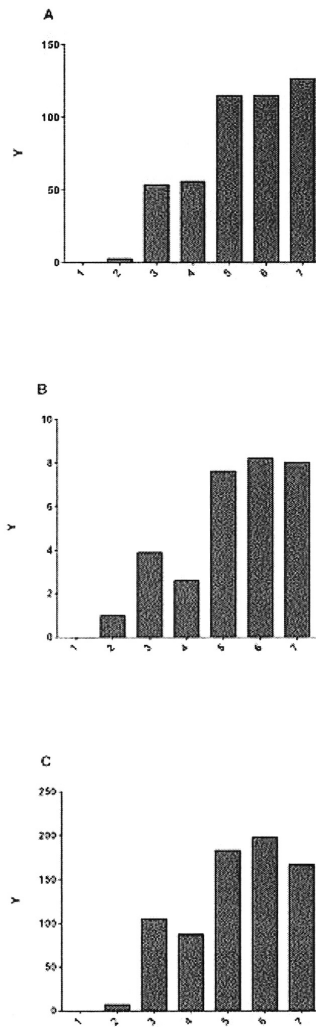
5/30

Фиг. 5



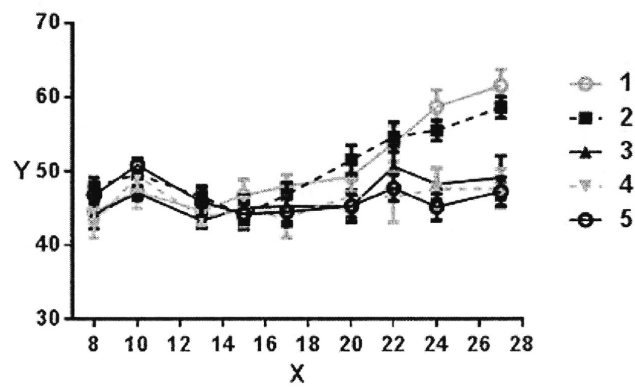
6/30

Фиг. 6



7/30

Фиг. 7



8/30

Фиг. 8

```

>TFP-2971 VH (PRT)
QVTLKESGPGILQPSQTLSTCSFSGFSLSTYIGVGWIRQPSGKDLEWLAHIWNNKYYNTALKSRLTISKDTSNNQV
      |-----|           |-----HCDR2-----|
      HCDR1
FLKIASVDTADTATYYCARISLPYFDYWGQGTTLTVSS
      |-----|
      HCDR3

>TFP-2971 VL (PRT)
DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSITCKASQNVGTAVAWYQQKPGQSPKLLIYSASNRYTGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNMQS
      |--LCDR1--|           |-----|
                        LCDR2
EDLADYFCQQYSSYPLTFGAGTKLELK
      |-LCDR3-|

>TFP-3186 VH (PRT)
QVTLKESGPGILQPSQTLSTCSFSGFSLSTYIGVGWIRQPSGKLEWLAHIWNNKYYNTALKSRLTISKDTSNNQV
      |-----|           |-----HCDR2-----|
      HCDR1
FLKIASVDTADTATYYCARISLPYFDYWGQGTTLTVSS
      |-----|
      HCDR3

>TFP-3186 VL (PRT)
DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSITCKASQNVGTAVAWYQQKPGQSPKLLIYSASNRYTGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNMQS
      |--LCDR1--|           |-----|
                        LCDR2
EDLADYFCQQYSSYPLTFGAGTKLELK
      |-LCDR3-|

>TFP-3187 VH (PRT)
QVTLKESGPGILQPSQTLSTCSFSGFSLSTYIGVGWIRQPSGKLEWLAHIWNNKYYNTALKSRLTISKDTSNNQV
      |-----|           |-----HCDR2-----|
      HCDR1
FLKIASVDTADTATYYCARISLPYFDYWGQGTTLTVSS
      |-----|
      HCDR3

>TFP-3187 VL (PRT)
DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSITCKASQNVGTAVAWYQQKPGQSPKLLIYSASNRYTGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNMQS
      |--LCDR1--|           |-----|
                        LCDR2
EDLADYFCQQYNNYPLTFGAGTKLELK
      |-LCDR3-|

>TFP-3308 VH (PRT)
QVTLKESGPGILQPSQTLSTCSFSGFSLSTYIGVGWIRQPSGKDLEWLAHIWNNKYYNTALKSRLTISKDTSNNQV
      |-----|           |-----HCDR2-----|
      HCDR1
FLKIASVDTADTATYYCARISLPYFDYWGQGTTLTVSS
      |-----|
      HCDR3

>TFP-3308 VL (PRT)
DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSITCKASQNVGTAVAWYQQKPGQSPKLLIYSASNRYTGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNMQS

```

9/30

Фиг. 8 (продолжение)

```

      |--LCDR1--|      |-----|
                        LCDR2

EDLADYFCQQYSSYPLTFGAGTKLELK
      |~LCDR3~|

>трр-3308 Тяжелая цепь (PRT)
QVTLKESGPGILQPSQTLSLTCSFSGFSLSTYIGVGWIRQPSGKDLEWLAHIWVNDNKYYNTALKSRLTISKDTSNNQV
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
      |-----|      |-----|      |-----|
      HCDR1      HCDR2      HCDR3

FLKIASVDTADTATYYCARISLPYFDYWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPPTVSWN
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
      |-----|
      HCDR3

SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSNFGTQTYTCNVDRKPSNTKVDKTVKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLF

PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSIVLVVHQDNLNGKEYKCKV

SNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSGGS

FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSTMHEALHNHYTQKSLSLSPG

>трр-3308 Легкая цепь (PRT)
DIVMTQSQKFMTSVGDRVSIITCKASQNVGTAVAWYQQKPGQSPKLLIYSASNRYTGVPRDFTGSGSGTDFTLTISNMQS
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
      |--LCDR1--|      |-----|
                        LCDR2

EDLADYFCQQYSSYPLTFGAGTKLELKRVAAPSVFIFPFSDEQLKSGTASVCLNNFYPRKAVQWKVDNALQSGNSQ
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
      |~LCDR3~|

ESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

>трр-3308 Тяжелая цепь (ДНК)
CAGGTACACACTGAAGAGAGCGGCCCTGGCATCCTGCAGCCCAGCCAGACCTGAGCCTGACCTGCAGCTTCAGCGGCTT
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
CAGCCTGAGCACCTACGGCATCGGCGTGGGCTGGATCAGACAGCCAGCGGCAAGGACCTGGAATGGCTGGCCCATCT
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
GGTGAACGACAACAAGTACTACAACACCGCCTGAAGTCCCGGCTGACCATCAGCAAGGACACCAGCAACAACAGGTG
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
TTCCTGAAGATCGCCAGCGTGGACACCGCCGATACCGCCACCTACTACTGCGCCCGGATCAGCCTGCCCTACTTCGACTA
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
CTGGGGCCAGGGCACCCCTGACCGGTCTCTCAGCCAGCACCAAGGGCCCGAGCGTGTCCCTCTGGCCCCCTTGTAGCA
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
GAAGACCAGCGAGTCTACAGCCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTTGAAC
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
TCTGGCGCTCTGACAAGCGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGCCTGTACTCTCTGAGCAGCGTCGT

```


10/30

Фиг. 8 (продолжение)

GACAGTGCCGACGACAACTTCGGCACCCAGACCTACACCTGTAACGTGGACCACAAGCCAGCAACCAAGGTGGACA
 AGACCGTGGAAACGGAAGTGTGCTGGAATGCCCCCTTGTCTGCCCCCTCCAGTGGCTGGCCCTTCCGTGTTCTCTGTT
 CCCCCAAAGCCCAAGGACACCTGATGATCAGCCGGAACCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGATGTGTCCACGAGGA
 CCCCAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCAGAGAGGAACAGTTCA
 ACAGCACCTTCCGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGGTGCATCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAGGTG
 TCCAACAGGGCCTGCTGCCCATCAGAGAAACCATCAGCAAGACCAAGGCCAGCCCCGAGCCCCAGGTGTACAC
 ACTGCTCCAAGCCGGGAAGAGATGACCAAGAACAGGTGTCCCTGACCTGTCTCGTGAAGGCTTCTACCCCTCCGATA
 TCGCCGTGAATGGGAGAGCAACGGCCAGCCGAGAACAACTACAAGACCAACCCCCCATGCTGGACAGCGACGGCTCA
 TTCTCTCTGTACAGCAAGCTGACAGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTGAGCTGCAGCGTGATGCACGA
 GGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCCCTGGC

>TRP-3308 Легкая цепь (ДНК)

GACATCGTGATGACCCAGAGCCAGAAATTCATGAGCACCAGCGTGGCGACCGGGTGTCCATCAGTGAAGGCCAGCCA
 |-----|
 GAACGTGGGCACCGCTGGCTGATCAGCAGAAGCCCGCCAGAGCCCCAAGCTGCTGATCTACAGCGCCAGCAACC
 -----V
 GGTACACCGCGCTGCCGACAGATTACAGGCAGCGGACCGGACCGACTTACCCCTGACCATCAGCAACATGCAGAGC

 GAGGACCTGGCCGACTACTTCTGCCAGCAGTACAGCAGCTACCCCTGACCTTCGGAGCCGGCAACAGCTGGAAGTAA

 ACGAACCGTGGCCGCTCCACGCTGTTCATCTTCCACCTAGCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACAGCCTCTGTCTGT
 |
 GCCTCTGAACAACCTTCTACCCCCGAGGCCAAGTGCAGTGAAGGTGGACAATGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAG
 GAAAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCTGACCCCTGAGCAAGGCCGACTACGA
 GAAGCACAAGGTGTACGCTGCGAAGTGACCCACAGGGCCTGTCTAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGT
 GT

>TRP-3310 VH (PRT)

QVTLRESGPALVKEPTQLTLTCTFSGFSLSTYIGVGVIRQPPGKALEWLAHIWNNNDKYYSTSLKTRLTISKDTSKNQV
 |-----| |-----HCDR2-----|
 HCDR1

VLTMTNMDPVDATATYYCARISLPYFDYWGQGTTLTVSS

|-----|
 HCDR3

>TRP-3310 VL (PRT)

DIQLTQSPSFLSASVGDRTVITCKASQNVGTAVAWYQKPKAPKLLIYSASNRITGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQ
 |---LCDR1---| |-----|
 LCDR2

[illegible]

T1PFP-3310

DIDLQTSPPSFLSAVSGDRVTITCKASQNVGTAVAWYQQKPGKAPKKLLIYSASNRYTGVPSPRFGSGSGSTEFTLLTISLQP
|-----VL-----
|--LCDR1--| |---|
LCDR2

EDFATYYCQYSSYPPLTFGGGKTVEIKRTVAAPSVFIFPPSDQLKSGTASVVCILNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
-----|
|-LCDR3-|

ESVTEODSKDSTYLSSTLTLSKADYEKKHYACEVTHQGLGSPPVTKSFNRGEC

A A A G T G A C C C T G A G A G A G T C G G G C C C T G C C C T C G T G A A G C C T A C C C A G A C C C T G A C A C T G A C C T G C A C C T T T C C G G C T T
 |-----
 C T C C C T G T C C A C C T A C G G C A T C G G G C T G G G C T G G A T C A G A C G C C T C C T G G C A A G G C C C T G G A A T G G C T G G C T C A C A C T

 G G T G G A A C G A C A A C A A G T A C T A C C A C C T C C C T G A A A A C C C G G C T G A C C A T C T C C A A G G A C A C C T C C A A G A A C C A G G T G

 -----VH-----
 G T G C T G A C C A T G A C C A C A T G A C C C C T G G G A C A C C G C A C C T A C T A C T G C G C C A G A A T C T C C C T G C C C T A C T T C G A C T A

 C T G G G G C C A G G G C A C C A C A C T G A C C G T C A G C T C A G C T T C C A A G G G C C C C T C C G T G T C C C T G T G G C C C C T T G C T C C C

 -----I-----
 G G T C C A C C T C T G A G T C T A C C G C C G C T C G G G C T G C C T G G T G A A A G A C T A C T T C C C G A G C C C G T G A C C G T G C T C G G A A C

 T C T G G C G C C C T G A C C T C C G G C T G C A C A C C T T C C A G C C T G C T G A A G C C T C C G G C T G T A C T C C C T G T C C T C C G T G T

 G A C A G T G C C C T C C T C C A A C T T C G G C A C C A G A C C T A C A C C T G T A A C G T G G C C A C A A G C C C T C C A A C A C A A G G T G G A C A

12/30

Фиг. 8 (продолжение)

```

AGACCGTGGAAACGGAAGTCTGCGTGGAAATGCCACCCCTGTCTGCTCCACCTGTGGCTGGCCCCAGCGTGTCTCTGTTT
CCCCCAAGCCCAAGGACACCTGATGATCTCCCGGACCCCCAAGTGACCTGCGTGGTGGACGTGTCCACAGGGA
CCCCAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAAGTGCACAAACGCCAAGCCCAAGCCAGAGAGGAACAGTTCA
ACTCCACCTTCCGGGTGGTGTCCGTGTGACCGTGGTGCATCAGGACTGGCTGAACGGCAAGAGTACAAGTGCAAGGTC
TCCAACAAGGGCTGCTGCCCCATCGAAAAGACCATCAGCAAGACCAAGGGCCAGCCCCGCGAGCCCCAGGTGTACAC
ACTGCCCCCAGCCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGCTTCTACCCCTCCGACA
TTCCGTGGAAATGGGAGTCCAAAGGACAGCCTGAGAACAACTACAAGACCAACCCCCCATGCTGGAATCCGACGGCTCA
TTCTTCCTGTACTCCAAGCTGACAGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTCTCTGCTGCTCCGTGATGCACGA
GGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGAGCCCCGGC

>TFP-3310 Легкая цепь (ДНК)
GATATCCAGCTGACCCAGTCCCCCAGCTTCCTGTCTGCTCTGTGGCGACAGAGTGACCATCACATGCAAGGCTCCCA
|-----|
GAACGTGGGCACCCCGTGGCTTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCAAGCTGTGATCTACTCCGCCTCCAACC
|-----V
GGTACACCGCGCTGCCCTCTAGATTCTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCAGTTTACCTTGACCATCTCCAGCCTGCAGCCC
L-----|
GAGGACTTCGCCACTACTACTGCCAGCAGTACTCCTCCTACCCCTGACCTTTGGCGGAGGCACCAAGGTGGAATCAA
|-----|
GCGGACCGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTATCTTCCACCTCCGACGAGCAGTGAAGTCCGGCACAGCTTCCGTGCTGT
|
GCCTGCTGAACAACCTCTACCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGCAACTCCAG
GAATCCGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACTCCCTGTCTCCACCTGACCCCTGTCCAAGGCCGACTACGA
GAAGCACAAAGGTGTACGCCCTGCGAAGTGACCCACAGGGCCTGTCTAGCCCCGTGACCAAGTCTTTCAACCGGGGGAGT
GT

>TFP-3322 VH (PRT)
QVTLKESGPGILQPSQTLSTLCSFSGFSLSTYGIQVGCIRQPSGKGLEWLAHIWWDNKKYYNTALKSRLTISKDTSNNQV
|-----|
HCDR1 |-----HCDR2-----|

FLKIASVDTADTATYYCARISLPYFDYWGQTTLTVSS
|-----,
HCDR3

>TFP-3322 VL (PRT)
DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSI TCKASQNVGTAVAWYQQKPGQSPKLLIYSASNRYTGVPDRFTGSGSGTDFTFTISNMQS
|--LCDR1--| |-----|
LCDR2

EDLADYFCQQYSSYPLTFGAGTKLELK
|-LCDR3-|

```

13/30

Фиг. 8 (продолжение)

>TRP-3322 Тяжелая цепь (PRT)

QVTLKESGPGILQPSQTLSTLTCSPSGFSLSTYIGIVGVCIRQPSGKGLEWLAHIWWNDNKYYNTALKSRLLTISKDTSNNQV
-----VH-----
HCDR1
FLKIASVDTADTATYYCARISLPYFDYWGQTTTLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN

 HCDR3
 SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDRKPSNTKVDKTVKRCCKVECPFCFAPPVAGPSVFLF
 PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKV
 SNKGLPAIEKTIISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSGGS
 FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

>TRP-3322 Легкая цепь (PRT)

DIVMTQSQKFMSITSGDRVSITCKASQNVGTAVAWYQQKPGQSPKLLIYASNRYTGVPDRFTGSGSGTDFTFTISNMQS
 |-----VL-----|
 |--LCDR1--| |-----|
 LCDR2
 EDLADYFCQYSSYPLTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
 -----|
 |--LCDR3--|
 ESVTEQDSKDSSTYLSSTLTLSKADYEKKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

>TRP-3322 Тяжелая цепь (ДНК)

CAGGT CACACTGAAAGAGAGCGGCCCTGGCATCCTGCAGCCCAGCCAGACCCCTGAGCCTGACCTGCAGCTTCAGCGGCTT
 |-----|
 CAGCCTGAGCACCTACGGCATCGGCTGGGCTGCATCAGACAGCCCAGCGGCAAGGGCCTGGAATGGCTGGCCACATCT
 -----|
 GGTGGAACGACAACAGTACTACAACACCGCCCTGAAGTCCCGGCTGACCATCAGCAAGGACACCAGCAACAACAGGTTG
 -----VH-----|
 TTCCTGAAGATCGCCAGCGTGGACACCGCGATACCGCCACCTACTACTGCGCCCGGATCAGCCTGCCCTACTTCGACTA
 -----|
 CTGSGGCCAGGGCAACCACTGACCGTGTCTCTCAGCCAGCAACCAAGGGCCCAAGCGTGTCTCCCTCTGCCCCCTGTAGCA
 -----|
 GAAGCACCAGCGAGTCTACAGCCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAAC
 TCTGGCGCTCTGACAAGCGCGTGCACACCTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGCCTGTACTCTCTGAGCAGCGTCTG
 GACAGTGCCAGCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACCTGTAACTGGACCACAAGCCAGCAACCAAGTGGACA
 AGACCGTGGAACGGAAAGTGTCTGCTGGAATGCCCCCTTGTCTGCCCTCCAGTGGCTGGCCCTTCCGTGTTCTGTTCT

14/30

Фиг. 8 (продолжение)

CCCCAAAGCCCAAGGACACCTGATGATCAGCCGACCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGATGTGTCCACGAGGA
 CCCCAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGAAGTGCAACAAGCAAGCAAGCCAGAGAGGAACAGTTCA
 ACAGCACCTTCCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGGTGCATCAGGACTGGCTGAACGGCAAGAGTACAAGTGCAAGGTG
 TCCAACAAGGGCTGCTGCCCCCATCGAGAAAACATCAGCAAGACCAAGGCCAGCCCCGCGAGCCCCAGGTGTACAC
 ACTGCTCCAAAGCGGAAGAGATGACCAAGAACAGGTGTCCCTGACCTGTCTCGTGAAGGCTTCTACCCCTCCGATA
 TCGCCGTGAATGGAGAGCAACGGCCAGCCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCATGCTGGACAGCGACGGCTCA
 TTCTTCTGTACAGCAAGCTGACATGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTGAGCTGCAGCGTGATGCACGA
 GGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCCCTGGC

>TRP-3322 Легкая цепь (ДНК)

GACATCSTGATGACCCAGAGCCAGAAATTCATGAGCACCAGCGTGGGCGACCGGGTGCCATCACATGCAAGGCCAGCCA
 |-----
 GAACGTGGGCACCGCGTGGCTGGTATCAGCAGAAGCCCGCCAGAGCCCCAAGCTGCTGATCTACAGCGCCAGCAACC
 -----V
 GGTACACCGCGTGCCCGACAGATTCACAGGCAGCGGCAGCGCACCGACTTCACCTTACCATCAGCAACATGCAGAGC
 L-----
 GAGGACCTGGCCGACTACTTCTGCCAGCAGTACAGCAGCTACCCCTGACCTTCGGAGCGCGCACCAAGCTGGAAGTGA

 ACGAACCGTGGCCGCTCCAGCGTGTTCATCTTCCACCTAGCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACAGCCTCTGTCTGT
 |-----
 GCCTGCTGAACAACCTTCTACCCCGCAGGCGCAAGTGACGTGGAAGGTGGACAATGCCCTGCAGACCGGCAACAGCCAG

 GAAAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCTTGACCCCTGAGCAAGGCCGACTACGA

 GAAGCACAAAGGTGTACGCCCTGCGAAGTGACCCACAGGGCCTGTCTAGCCCGGTGACCAAGAGCTTCAACCGGGCGAGT

 GT

>TRP-3323 VH (PRT)

QVTLKESGPGILQPSQTLSTCSFSGFSLTTYGIGVGWIRQPSGKGLEWLAHIWWDNKYYNTALKSRLTISKDTSNNQV
 |-----|
 HCDR1 |-----HCDR2-----|
 FLKIASVDTADTATYYCARISLPYFDYWGQTTLTIVSS.
 |-----|
 HCDR3

>TRP-3323 VL (PRT)

DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSITCKASQNVGTAVAWYQQKPGQSPKLLIYSASNRYTGVPDRFTGSGGIDFTLTISNMQS
 |--LCDR1--| |-----|
 LCDR2
 EDLADYFCQYNNYPLTFGAGTKLELK
 |-----|
 LCDR3

>TRP-3323 Тяжелая цепь (PRT)

QVTLKESGPGILQPSQTLSTCSFSGFSLTTYGIGVGWIRQPSGKGLEWLAHIWWDNKYYNTALKSRLTISKDTSNNQV

Фиг. 8 (продолжение)

```

-----VH-----
|-----| |-----|
|-----| |-----|
HCDR1 HCDR2
FLKIASVDTADTATYYCARISLPYFDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
-----|
|-----|
HCDR3
SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFQTYYTCNVDHKPSNTKVDKTVKCCVCPPCAPPVAGPSVFLF

PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDNLNGKEYCKV

SNKGLPAPIEKTIKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTFPMLDSGGS

FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKSLSLSPG

>TRP-3323 Легкая цепь (PRT)
DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSIITCKASQNVGTAVAWYQQKPGQSPKLLIYSASNRYTGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNMQS
|-----|
|-----| |-----|
|-----| |-----|
LCR1 LCR2
EDLADYFCQYNNYPLTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
-----|
|-----|
LCR3
ESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

>TRP-3323 Тяжелая цепь (ДНК)
CAAGTGACCCGTGAAGAGTCCGGCCCTGGCATCCIGCAGCCITCCAGACCCGTGTCCTGACCTGCTCCTTCCGGCTT
|-----|
CTCCCTGACCACTACGGCATCGGCTGGGCTGGATCAGACAGCCCTTCTGGCAAGGGCCCTGGAATGGCTGGCCACATCT
-----|
GGTGGAACGACAAAGTACTACAACACCGCCCTGAAGTCCCGGCTGACCATCTCCAAGGACACCTCCAACAACAGGTG
-----VH-----
TTCCTGAAGATCGCCTCCGTGGACACCGCGATACCGCCACCTACTACTGCGCCCGGATCTCCCTGCCCTACTTCGACTA
-----|
TTGGGGCCAGGSCACCACTGACCGTCAGCTCAGCTTCCACCAAGGGCCCTCCGTGTCCCTCTGGCCCTTGCTCCC
-----|
GGTCCACCTCTGAGTCTACCGCCGCTCTGGGCTGCCTGGTGAAAGACTACTTCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAAC
TCTGGCGCCCTGACCTCCGGCGTGACACCTTCCAGCCGTGCTSCAGTCTCCGGCCTGTACTCCCTGTCTCCGTGGT
GACAGTGCCTCCTCCAAGTTCGGCACCCAGACCTACACCTGTACGTGGACCAAGCCCTCCAACCAAGGTGGACA
AGACCGTGGAAAGGAGTGTGCGTGAATGCCACCCCTGTCTGCTCCACCTGTGGCTGGCCCGAGCGTGTCTCTTTC
CCCCAAAGCCCAAGGACACCTGATGATCTCCCGACCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGGACGTGTCCACGAGGA

```

16/30

Фиг. 8 (продолжение)

CCCCGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAAGTGCAACGCCAAGACCAAGCCAGAGAGGAACAGTTCA
 ACTCCACCTTCCGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGGTGCATCAGGACTGGCTGAACGGCAAGAGTACAAGTGCAAGGTC
 TCCAACAAGGGCTTGCCTGCCCATCGAAAAGACCATCAGCAAGACCAAGGGCCAGCCCCGCGAGCCCCAGGTGTACAC
 ACTGCCCCCAGCCGGGAAGAGATGACCAAGAACAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGCTTCTACCCCTCCGACA
 TTGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGACAGCCTGAGAACAACTACAAGACCAACCCCCCATGCTGGACTCCGACGGCTCA
 TTCTTCTGTACTCCAAGCTGACAGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCTGCTCCGTGATGCACGA
 GGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGAGCCCCGGC

>TFP-3323 Легкая цепь (ДНК)

GACATCGTGATGACCCAGTCCCAGAAATTCATGTCCACCTCCGTGGCGACCGGGTGTCCATCACATGCAAGGCTCTCA
 |-----
 GAACGTGGGCACCCCGTGGCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCTACTCCGCCTCCAACC
 |-----V
 GGTACACCGGCGTGCCCGATAGATTACCCGGCTCTGGCTCTGGCACCGACTTCACCTGACCATCTCCAACATGCAGTCC
 L-----
 GAGGACCTGGCCGACTACTCTGCCCAGCAGTACAACAATAACCCCTGACCTTCGGCGCTGGCACCAAGCTGGAAGTAA
 |-----
 GAGAACCGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTATCTTCCACCCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACAGCTTCCGTGCTGT
 |
 GCCTGCTGAACAACCTTCTACCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAAGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCAG
 GAATCCGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACTCCCTGTCTCTACCTGACCTGTCCAAGGCCGATTACGA
 GAAGCACAAAGGTGTACGCTGCGAAGTGACCCACAGGGCCTGTCTAGCCCCGTGACCAAGCTTTCAACCGGGCGAGT
 GT

>TFP-3705 VH (PRT)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSLYQMHWVRQAPGKLEWVSWISFSGGNTGYADSVKGRFTISRDNKNTLY
 |---| |-----HCDR2-----|
 HCDR1
 LQMNSLRAEDTAVYYCARATGYSSPWYLDPWQGGLTVTVSS
 |--HCDR3--|

>TFP-3705 VL (PRT)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASHEIDNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDAYWLKTVSPRFSGSGSGTDFTLTISSLQP
 |--LCDR1--| |-----|
 LCDR2
 EDIATYYCQGYDDLSTVTFGGGKVDIK
 |-LCDR3-|

>TFP-3705 Тяжелая цепь (PRT)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSLYQMHWVRQAPGKLEWVSWISFSGGNTGYADSVKGRFTISRDNKNTLY
 |-----VH-----|
 |---| |-----HCDR2-----|
 HCDR1

17/30

Фиг. 8 (продолжение)

LQMNSLR AEDTAVYYCARATGYSSPWYLDPMQGT LVTVSSASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTV
 -----|
 |--HCDR3---|

SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGITQTYTCNVDRKPSNTKVDKTVRKCCVECPPCPAFPVAGPSV

FLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVS VLT VVRQDWLNGKEYK

CKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPMLDS

DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSMHEALHNHYTQKSLSLSPG

>TRP-3705 Легкая цепь (PRT)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASHEIDNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDAYWLKTGVP SRFSGSGSGTDFTLTISSLQP
 |-----VL-----|
 |--LCDR1--| |-----|
 LCDR2

EDIATYYCQGYDDL SVTFGGGT KVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNFFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
 -----|
 |--LCDR3--|

ESVTEQDSKDSYISLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

>TRP-3705 Тяжелая цепь (ДНК)

GAAGTGCAGCTGGTGAATCCGCGGAGGCCTGGTGACGCTGGCGGATCTCTGAGACTGTCTTGTGCCGCTCCGGCTT
 |-----|
 CACCTTCAGCCGTAC CAGATGCAC TGGGTGCGACAGGCCCTGGCAAGGACTGGAATGGGTGTCCTGGATCTCCTTCT
 -----|
 CCGGCGGCAATACCGGCTACCGCGACTCCGTGAAGGCGCGTTACCATCTCCCGGACAAC TCAAGAACACCTGTAC
 -----VH-----|
 CTGCAGATGAAC TCCCTGCGGCGCAGGACACGCGGTG TACTACTGTGTAGAGCCACCGGCTACTCTCCCGCTGSTA
 -----|
 TCTGGATCCTTGGGCGCAGGCACACTCGTGACCGTCAGCTCAGCTTCCACCAAGGGCCCCCTCCGTGTCCTCTGGCCC
 -----|
 CTTGCTCCCGGTCCACCTCTGAGTCTACCGCGCTCTGGGCTGCTGGTGAAGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTG
 -----|
 TCCTGGAAC TCTGCGCCCTGACCTCCGGCGTGACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGTCTCCGGCCTGTACTCCCTGTC
 -----|
 CTCCTGGTGACAGTGCCCTCTCTCAACTTCGGCACCAGACCTACACCTGTAACGTGGACCAAGCCCTCCAACACCA
 -----|
 AGGTGGACAAGACCGTGAACGGAAGTCTGCGTGAATGCCACCTGTCTGCTCCACCTGTGGCTGGCCCCAGCGTG
 -----|
 TTCCTGTTCCCCCAAAGCCCAAGGACACCTGATGATCTCCCGGACCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGGACGTGTC
 -----|
 CCACGAGGACCCCGAGGTGAGTTCAATTGGTACGTGGACGCGTGAAGTGACAACGCCAAGACCAAGCCAGAGAGG

18/30

Фиг. 8 (продолжение)

AACAGTTCAACTCCACCTTCOGGTTGGTGTCCGTGCTGACCGTGGTGCATCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGACTACAAG
 TGCAAGGTCTCCAACAAGGGCTGCCTGCCCCATCGAAAAGACCATCAGCAAGACCAAGGGCCAGCCCCGCGAGCCCCA
 GGTGTACACACTGCCCCAGCCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACC
 CCTCCGACATTGCCGTGGAATGGAGTCCAACGGACAGCCTGAGAACAACTACAAGACACCCCCCATGCTGGACTCC
 GACGGCTCATTTCTCTGTACTCCAAGCTGACAGTGGACAAATCCCGTGGCAGAGGGCAACGTGTCTCTCTGCTCCGT
 GATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGAGCCCCGGC

>TFF-3705 Легкая цепь (ДНК)

GACATCCAGATGACCCAGAGCCCTTCCAGCCTGTCCGCGCTCTGTGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGGGCTCCCA
 |-----
 CGAGATCGACAACCTACCTGAATGGTATCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCAAGCTGTGATCTACGATGCCTACTGGC
 |-----V
 TGAALAACCGGCGTCCCCCAGATTCTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCGACTTTACCCCTGACCATCTCCAGCCTGCAGCCC
 |-----L
 GAGGATATGCCACCTACTATTGTGAGGGCTACGACGACCTGTCCGTGACCTTTGGCGGAGGCACCAAGGTGGACATCAA
 |-----
 GCGGACAGTGGCGCTCCCTCCGTGTTTATCTTCCACCCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACAGCTTCCGTGCTGT
 |
 GCCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGCGAGGCAGAGTGCAGTGGAAAGTGGATAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCAG
 GAATCCGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACTCCCTGTCTCCACCCCTGACCCCTGTCCAAGGCCGACTACGA
 GAAGCACAAGGTGTACGCTGCGAAGTGAACCCACAGGGCCTGTCTAGCCCCGTGACCAAGTCTTTCAACCGGGGCGAGT
 GT

>TFF-3707 VH (PRT)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSLYQMHWVRQAPGKGLEWVSWISFSGGNTGYADSVKGRFTISRDNKNTLY
 |---| |-----HCDR2-----|
 HCDR1
 LQMNSLRAEDTAVYYCARATGYSSFWYLDPWGGTLVTSS
 |--HCDR3--|

>TFF-3707 VL (PRT)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASHEIDNYLNWYQQKPKAPKLLIYDAYWSKTGVPSPRFSGSGSGTDFTLTISSLQP
 |--LCDR1--| |-----|
 LCDR2
 EDIATYYCQGYDDLVTFTGGGTVKVDIK
 |-LCDR3-|

>TFF-3707 Тяжелая цепь (PRT)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSLYQMHWVRQAPGKGLEWVSWISFSGGNTGYADSVKGRFTISRDNKNTLY
 |-----VH-----|
 |---| |-----HCDR2-----|
 HCDR1
 LQMNSLRAEDTAVYYCARATGYSSFWYLDPWGGTLVTSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTV
 |-----|

19/30

Фиг. 8 (продолжение)

```

|---HCDR3---|

SWNSGALTSGVHTFFAVLQSSGLYSLSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKRCCECPPCPAPPVAGPSV

FLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYK

CKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEMESNGQPENNYKTTTPMLDS

DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFVSRHREALHNHYTQKSLSLSPG

>TRP-3707 Легкая цепь (PRT)
DIQMTQSPFSSLSASVGDRTITCQASHEIDNYLNWYQQKPKAPKLLIYDAYWSKTGVPSPRFSGSGSGTDFTLTISLQP
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
|---LCDR1---| |-----|
|-----|
LCDR2
EDIAIYYCQGYDDLSTVFGGGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQMKVDNALQSGNSQ
-----|
|---LCDR3---|

ESVTEQDSKDSITYSLSLTLTSLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

>TRP-3707 Тяжелая цепь (ДНК)
GAAGTGCAGCTGGTGGAAATCCGGCGGAGGCCTGGTGCAGCCTGCGCGATCTCTGAGACTGTCTTGTGCGCGCTCCGGCTT
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
CACCTTCAGCCTGTACAGATGCACCTGGGTGCGACAGGCCCTGGCAAGGGAAGTGAATGGGTGTCTGGAATCTCCTTCT
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
CCGGCGGCAATACCGGCTACGCCGACTCCGTGAAGGGCGGTTACCAATCTCCCGGGAACAACCAAGAACACCCGTGAC
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
VH-
CTGCAGATGAATCCCTGCGGGCGGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGCTAGAGCCACCGGCTACTCCTCCCGCTGGTA
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
TCTGGAATCCTTGGGGCCAGGGCACACTCGTGACCGTCAGCTCAGCTTCCACCAAGGGCCCTCCGTGTTCCCTCTGGCCC
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
CTTGCTCCCGGTCACCTCTGAGTCTACCGCGCTCTGGGCTGCCGTGTAAGACTACTTCCCGAGCCCGTGACCGTG
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
TCCTGGAATCTGGCGCCCTGACCTCCGGCGTGACACCTTCCAGCCGTGCTGAGTCTCCGGCCGTGACTCCCTGTC
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
CTCCGTGGTGACAGTGCCCTCCTCCAACTTCGGCACCCAGACCTACACCTGTAACGTGACCAAGCCCTCCACACCA
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
AGGTGGACAAAGACCGTGGAAACGGAAGTGTGCGTGAATGCCACCCCTGTCTGCTCCACCTGGCTGGCCCCAGCGTG
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
TTCCTGTTCCCCCAAGCCCAAGGACACCTGATGATCTCCCGACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTC
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
CCACGAGGACCCGAGGTGAGTTCAATTGGTACGTGACGGCGTGAAGTGACACAGCCAAAGCCAGCCAGAGAGG
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
AACAGTTCAACTCCACCTTCCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGATCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGACTACAAG

```

20/30

Фиг. 8 (продолжение)

TGCAAGGTCTCCAACAAGGGCTGCTGCCCCATCGAAAAGACCATCAGCAAGACCAAGGCCAGCCCCGCGAGCCCCA
 GGTGTACACACTGCCCCCAGCCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGCTTCTACC
 CCTCCGACATTGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGACAGCCTGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCATGCTGGACTCC
 GACGGCTCATCTTCTCTGTACTCCAAGCTGACAGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCTGCTCCGT
 GATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGAGCCCCGGC
 >TPP-3707 Легкая цепь (ДНК)
 GACATCCAGATGACCCAGAGCCCTTCCAGCCTGTCCGCTCTGTGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTGAGGCTCCCA
 |-----
 CGAGATCGACAACCTACCTGAACCTGGTATCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGACGCTACTGGT
 -----V
 CCAAGACCCGCGTGCCTCCAGATTCTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCGACTTTACCTTGACCATCTCCAGCCTGCAGCCC
 L-----
 GAGGATATCGCCACCTACTATTGTGAGGGCTACGACGACCTGTCCGTGACCTTTGGCGAGGCACCAAGGTGGACATCAA

 GCGGACAGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTTATCTTCCACCCCTCCGACGAGCAGTGAAGTCCGGCAGAGCTTCCGTCTGT
 |
 GCCTGCTGAACAACCTTCTACCCCGCGAGGCCAAGTGCAGTGGAAAGTGGATAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCA
 GAATCCGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACTACTCCCTGTCTCCACCCCTGACCTGTCCAAGGCCGACTACGA
 GAAGCACAAAGGTGTACCCCTGCGAAGTGACCCACGAGGCTGTCTAGCCCGTGACCAAGTCTTTCAACCGGGCGAGT
 GT

>TPP-3714 VH (PRT)
 QVTLRESGPALVKPTQTLTLCTFSGFSLSTYGIGVGWIRQPPGKALEWLAHIWWDNKKYYSLSKTRLTISKDTSKNQV
 |-----| |-----HCDR2-----|
 HCDR1
 VLTMTNMDPVDATATYYCARISLPYFDYWGQGLTVTVSS
 |-----|
 HCDR3
 >TPP-3714 VL (PRT)
 DIQLTQSPFSLASVGDRTITCKASQNVGTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASNRYTGVPSTRFSGSGTEFTLTISSLQP
 |---LCDR1---| |-----|
 LCDR2
 EDFATYYCQYSSYPLTFGGGTKVEIK
 |---LCDR3---|

>TPP-3714 Тяжелая цепь (PRT)
 QVTLRESGPALVKPTQTLTLCTFSGFSLSTYGIGVGWIRQPPGKALEWLAHIWWDNKKYYSLSKTRLTISKDTSKNQV
 |-----| |-----HCDR2-----|
 HCDR1
 VLTMTNMDPVDATATYYCARISLPYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN

 |-----|
 HCDR3

21/30

Фиг. 8 (продолжение)

SGALTSGVHTFFAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPCPAPFPVAGPSVFLF

FPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKV

SNKGLPAPIETKISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSGDS

FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

>TRP-3714 Легкая цепь (PRT)

DIQLTGSPSFLSASVGDRVTITCKASQNVGTAVAWYQQKPKAPKLLIYASNRYTGVPSPRFSGSGSGTEFTLTISSLQP

|-----VL-----|
|--LCDR1--| |-----|
LCDR2

EDFAIYYCQYSSYPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYFREAKVQWKVDNALQSGNSQ
-----|
|--LCDR3--|

ESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKKHVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

>TRP-3714 Тяжелая цепь (ДНК)

CAAGTGACCCCTGAGAGAGTCCGGCCCTGCCCTCGTGAAGCCTACCCAGACCCCTGACACTGACCTGCACCTCTCCGGCTT

|-----|
CTCCCTGTCCACCTACGGCATCGGCTGGGCTGGATCAGACAGCCTCCTGGCAAGGCCCTGGAATGGCTGGCTCACATCT

GGTGGAAACGACAACAGTACTACTCCACCTCCCTGAAACCCGGCTGACCATCTCCAAGGACACCTCCAAGAACCAGGTG
-----VH-----

GTGCTGACCATGACCAACATGGACCCCGTGGACACCGCCACCTACTACTGCGCCAGAATCTCCCTGCCCTACTTCGACTA

CTGGGGCCAGGGCAGACTCGTGACCGTCAGCTCAGCTTCCACCAAGGGCCCTCCGTGTCCCTCTGGCCCCCTTGCTCCC
-----|

GGTCCACCTCTGAGTCTACCGCCCTCTGGGCTGCCTGGTGAAAGACTACTTCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTCTGGAAC

TCGGGGCCCTGACCTCCGGCGTGACACCTTTCAGCCGTGCTGCAGTCTCCGGCCTGTACTCCCTGTCCTCCGTGGT

GACAGTGCCCTCTCCAACTTCGGCACCAGACCTACACCTGTAACGTGGACCACAAGCCCTCCAACACCAAGGTGGACA

AGACCGTGGAAACGGAAGTCTGCGTGAATGCCACCCCTGTCTGCTCCACCTGTGGCTGGCCCCAGCGTGTCTCTGTTC

CCCCCAAGCCCAAGGACACCTGATGATCTCCCGGACCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGA

CCCCGAGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCAGAGGGAACAGTTCA

ACTCCACCTTCCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGGTGCATCAGGACTGGCTGAACGGCAAGAGTACAAGTGCAAGGTC

TCCAACAAGGGCTGCCTGCCCCATCGAAAAGACCATCAGCAAGACCAAGGGCCAGCCCCGCGAGCCCCAGGTGTACAC

22/30

Фиг. 8 (продолжение)

ACTGCCCCCAGCGGGAAGAGATGACCAAGAACAGGTGTCCTGACCTGTCTGGTGAAAGGCTTCTACCCCTCCGACA
 TTGCCGTGGAATGGGAGTCCAAACGACAGCCTGAGAACAACTACAAGACACCCCCCATGCTGGACTCCGACGGCTCA
 TTCTTCCTGTACTCCAAGCTGACAGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGTGATGCACGA
 GGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGAGCCCCGGC

>TRP-3714 Легкая цепь (ДНК)

GATATCCAGCTGACCCAGTCCCCAGCTTCCTGTCTGCTCTGTGGCGACAGAGTGACCATCACATGCAAGGCCTCCCA
 |-----|
 GAACGTGGGACCCGCGTGGCTTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACTCCGCTCCAAAC
 |-----|
 GGTACACCGCGTCCCTCTAGATTCCTCGGCTCTGGCTCTGGCACCAGGTTTACCTGACCATCTCCAGCCTGCAGCCC
 L-----|
 GAGGACTTCGCCACCTACTACTGCGCAGTACTCCTCCTACCCCTGACCTTTGGCGGAGGCACCAAGTGGAATCAA
 |-----|
 GCGGACCGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTATCTCCACCCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCAGCTTCGTCGTGT
 |
 GCCTGTGAACAACCTTCTACCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAAGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCAG
 GAATCCGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACTCCCTGTCTCCACCCCTGACCCCTGTCCAAGGCCGACTACGA
 GAAGCACAAGGTGTACGCTGCGAAGTGACCCACAGGGCCTGTCTAGCCCCGTGACCAAGTCTTCAACCGGGCGAGT
 GT

>TRP-3820 VH (PRT)

QVTLRESGPAIVKPTQTLTLTCTFSGFSLTTYGIGVGWIRQPPGKGLEWLAIHWNDNKYYSTSLKRLTISKDTSKNQV
 |-----| |-----|
 HCDR1 HCDR2
 VLTMINMDFVDTATYYCARISLPYFDYWGQGLVTVSS
 |-----|
 HCDR3

>TRP-3820 VL (PRT)

DIQLTQSPSFLSASVGRVTITCKASQNVGTAVAWYQQKPKAPKLLIYSASNRYTGVPSPRFSGSGSTEFTLTISLQP
 |--LCDR1--| |-----|
 LCDR2
 EDFATYYCQYNNYPLTFGGGTVKVEIK
 |-----|
 LCDR3

>TRP-3820 Тяжелая цепь (PRT)

QVTLRESGPAIVKPTQTLTLTCTFSGFSLTTYGIGVGWIRQPPGKGLEWLAIHWNDNKYYSTSLKRLTISKDTSKNQV
 |-----| |-----|
 HCDR1 HCDR2
 VLTMINMDFVDTATYYCARISLPYFDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
 |-----|
 HCDR3
 SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFSSNFGTQTYTCNVDRHPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLF

23/30

Фиг. 8 (продолжение)

PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKV

SNKGLPAPIEKTIISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSGDS

FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPG

>TTP-3820 Легкая цепь (PRT)

DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCKASQNVGTAVAWYQQKPKAPKLLIYASNRYTGVPSRFGSGSGTEFTLTISSLQF

|-----L-CDR1-----|-----L-CDR2-----|

EDFATYYCQYNNYPLTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ

-----L-CDR3-----|

ESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

>TTP-3820 Тяжелая цепь (ДНК)

CAAGTGACCTGAGAGAGTCGGCCCTGCCCTCGTGAAGCCTACCCAGACCTGACACTGACCTTCAGCGGCTT

-----L-CDR1-----|-----L-CDR2-----|

CAGCCTGACCACTACGGCATCGGCGTGGGTGGATCAGACAGCCTCCTGGCAAGGCGCTGGAATGGCTGGCCACATCT

-----L-CDR3-----|-----L-CDR4-----|

GGTGGAAAGCAACAAGTACTACAGCAGCCTGAAACCCGGCTGACCATCAGCAAGGACACCAAGCAAGAACAGGTG

-----L-CDR5-----|-----L-CDR6-----|

GTGCTGACCATGACCAATGACCCCGTGGACACCGCCACCTACTACTGGCCAGAAATCAGCCTGCCCTACTTCGACTA

-----L-CDR7-----|-----L-CDR8-----|

CTGGGGCCAGGGCACCTCGTGACAGTGTATCAGCCAGCAGCAAGGCGCCAGCGTGTCCCTCTGGCCCTTGTAGCA

-----L-CDR9-----|-----L-CDR10-----|

GAAGCACCAGCGAGTCTACAGCCGCGCTGGGTGCTCGTGAAGGACTACTTCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAAC

-----L-CDR11-----|-----L-CDR12-----|

TCTGGCGCTCTGACAAGCGCGGTGCACACCTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGCCTGTACTCTCTGAGCAGCGTCT

-----L-CDR13-----|-----L-CDR14-----|

GACAGTGCCAGCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACCTGTAACTGGACCAAGCCAGCAACCAAGGTGGACA

-----L-CDR15-----|-----L-CDR16-----|

AGACCGTGAACGGAAGTGTGCGTGAATGCCCCCTTGTCTGCCCCCTCCAGTGGCTGGCCCTTCGGTGTTCCTGTTC

-----L-CDR17-----|-----L-CDR18-----|

CCCCCAAAGCCCAAGGACACCTGATGATCAGCCGGAACCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCACGAGGA

-----L-CDR19-----|-----L-CDR20-----|

CCCCGAGGTGACGTTCAATTGGTACGTGACGGCGTGAAGTGCAACGCCAAGACCAAGCCAGAGAGGAACAGTTCA

-----L-CDR21-----|-----L-CDR22-----|

ACAGCACCTTCCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGGTGCATCAGGACTGGCTGAACGGCAAGAGTACAAGTGCAAGGTG

-----L-CDR23-----|-----L-CDR24-----|

TCCAAAGAGGCGCTGCTGCCCCATCGAGAAACCATCAGCAAGACCAAGGCCAGCCCGGAGCCCCAGGTGTACAC

-----L-CDR25-----|-----L-CDR26-----|

ACTGCTCCAAAGCCGGAAGAGATGACCAAGAACAGGTGTCCCTGACCTGTCTCGTGAAGGGCTTCTACCCCTCCGATA

24/30

Фиг. 8 (продолжение)

TCGCCGTGGAATGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACCTACAAGACCACCCCCCATGCTGGACAGCGACGGCTCA
 TTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACAGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTGAGCTGCAGCGTGATGCACGA
 GGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCCCTGGC

>TFP-3820 Легкая цепь (ДНК)

GATATCCAGCTGACCCAGAGCCCCAGCTTCTGAGCGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACATGCAAGGCCAGCCA
 |-----
 GAACGTGGGCACAGCCGTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACAGCGCCAGCAACC
 |-----V
 GGTAACCCGGCGTCCCGAGCAGATTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGAGTTCACCTGACAATCAGCAGCCTGCAGCCC
 L-----
 GAGGACTTCGCCACTACTACTGCCAGCAGTACAACAACCTACCCCTGACCTTCGGCGGAGGCACCAAGGTGGAATTAA
 |-----
 ACGAAACCGTGGCCGCTCCAGCGTGTTCATCTTCCACCTAGCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACAGCCTCTGTCGTGT
 |
 GCCTGTGAACAACCTTCTACCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGAAGGTGGACAATGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAG
 GAAAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCCTGAGCAAGGCCGACTAGCA
 GAAGCACAAAGGTGTACGCCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGCCTGTCTAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGT
 GT

>TFP-3821 VH (PRT)

QVTLRESGPALVKPTQTILTLCTFSGFSLSTYIGVGVIRQPPGKALEWLAHIWNNKYYSTSLKTRLTISKDTSKNQV
 |-----|
 HCDR1 |----HCDR2-----|
 VLTMTNMDPVDATYYCARISLPYFDYWGQGLVTVSS
 |-----|
 HCDR3

>TFP-3821 VL (PRT)

DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCKASQNVGTAVAWYQQKPKAPKLLIYSASNRYTGVPSPRFSGSGSGTEFTLTISLQF
 |---LCDR1---| |-----|
 LCDR2
 EDFATYYCQYNNYPLTFGGGTKVEIK
 |---LCDR3---|

>TFP-3821 Тяжелая цепь (PRT)

QVTLRESGPALVKPTQTILTLCTFSGFSLSTYIGVGVIRQPPGKALEWLAHIWNNKYYSTSLKTRLTISKDTSKNQV
 |-----VH-----|
 |-----| |----HCDR2-----|
 HCDR1
 VLTMTNMDPVDATYYCARISLPYFDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSSSTAALGCLVKDYFPEPVTISWN

 HCDR3
 SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTRVKOTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLF
 PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVFQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSFLTIVVHQDWLNGKEYKCKV

SNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPOVYTLPPSREEMTKNOVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQOPENNYKTTTPPMLDSDGS

FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTOKSLSLSPG

DIQLTQSPSFELSAVSGDRWITTCASQNVGTAVAWYQKPGKAPKKLLIYSASNRYTGVSFRFSGGGSGTEFTLTISLQAP
|-----VL-----
 |--LCDR1--| |--LCDR2--|
EDFATYYCYQQYNMYPLTFGGGTVKEIKRTVAAPSVFIPPSDQLKSGTASVCLLNMFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
-----|-----
 |--LCDR3--|

ESVTEODSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHOGLSSPVTKSFNRGEC

CAGGTCACACTGAGAGAGCTCGGCCCTGCCCTGGTGAAACCCACCCAGACCCCTGACCCCTGACATGCACCTTCAGCGGCTT
 |-----
 CAGCCTGAGCACCTTACGGCATCGGCGTGGGCTGGATCAGACAGCCCCCTGGCAAGGCCCTGGAATGGCTGGCCCACTATC

 GGTGGAACGACAAACAAGTACTACAGCACCAGCCTGAAACCCGGCTGACCATTGACGAAGGACACCAGCAAGAACCAGGTG

 -----VH-----
 GTGCTGACCATGACCAACATGGACCCCGTGGACACCGCCACCTACTACTGCGCCCGGATCAGCCTGCCCTACTTCGACTA

 CTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACCGTGCTCTCAGCCAGCACCAAGGCCCCAGCGTGTTCCTCTGSCCCTTGTAGCA

 -----|-----
 GAAGCACCAGCGAGTCTACAGCCGCCCTGGGCTGCCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAGGCCGTGACCGTGTCTTGAAC

 TCTGGCGCTCTGACAAGCGGGGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGAGCAGCAGCGGCTGTACTCTCTGAGCAGCGTCTGT

 GACAGTGGCCAGCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACCTGTAACGTGGACCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACA

 AGACCGTGGAAACGGAAGTCTGCGTGGAAATGCCCCCTTGTCTGCGCCCTCCAGTGGCTGGCCCTTCCTGTCTCTGTTC

 CCCCCAAGCCCAAGGACACCTTGATGATCAGCGGACCCCGAAGTGACCTGCGTGTGGTGGATGTGTCCACGAGGA

 CCCCCAGGTGACGTTCAATTGGTACGTGGACGGCTGGAAAGTGCAACGCCAAGACCAAGCCAGAGAGGAACAGTTCA

 ACAGCACCCTTCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGGTGCATCAGGACTGGCTGAACGGCAAGAGTACAAGTGCAAGGTG

 TCCCAACAGGGCCTGCCTGCCCATCGAGAAAAACCATCAGCAAGACCAAGGCCAGCCCCGCGAGCCCCAGGTGTACAC

 ACTGCTCCAAGCCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTCGTGAAGGCTTCTACCCCTCCGATA

 TCGCCGTGAATGGGAGAGCAACGCCAGCCGGAACAACACTACAAGACCACCCCCCATGCTGGACGCGCAGCGCTCA

26/30

Фиг. 8 (продолжение)

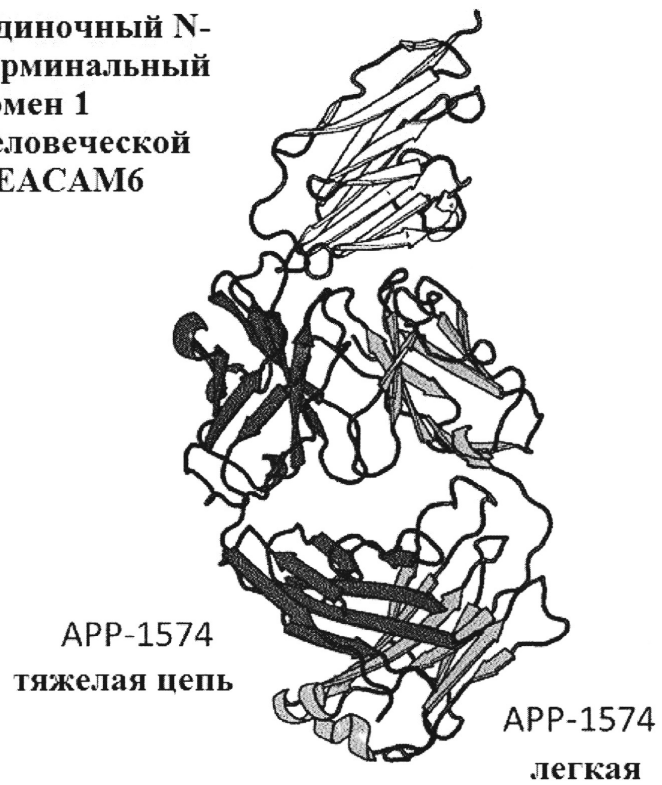
TTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACAGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAAGCTGCAGCGTGATGCACGA
 GGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCCCTGGC
 >TFP-3821 Легкая цепь (ДНК)
 GATATCCAGCTGACCCAGAGCCCCAGCTTCTGAGCGCCAGCGTGGCGACAGAGTGACCATCACATGCAAGGCCAGCCA
 |-----
 GAACGTGGGCACAGCCGTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACAGCGCCAGCAACC
 -----V
 GGTACACCGCGCTGCCAGCAGATTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGAGTTCACCTGACAATCAGCAGCCTGCAGCCC
 L-----
 GAGGACTTCGCCACCTACTGTCAGCAGTACAACAACCTACCCCTGACCTTCGGCGGAGGCACCAAGGTGGAATTAA

 ACGAACCGTGGCCGCTCCAGCGTGTTCATCTTCCACCTAGCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACAGCCTCTGTCTGT
 |
 GCCTGCTGAACAACCTTACCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGAAGGTGGACAATGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAG
 GAAAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCTGACCTGAGCAAGGCCGACTACGA
 GAAGCACAAGGTGTACGCTGCGAAGTGACCCACAGGGCCTGTCTAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACCGGGCGAGT
 GT

27/30

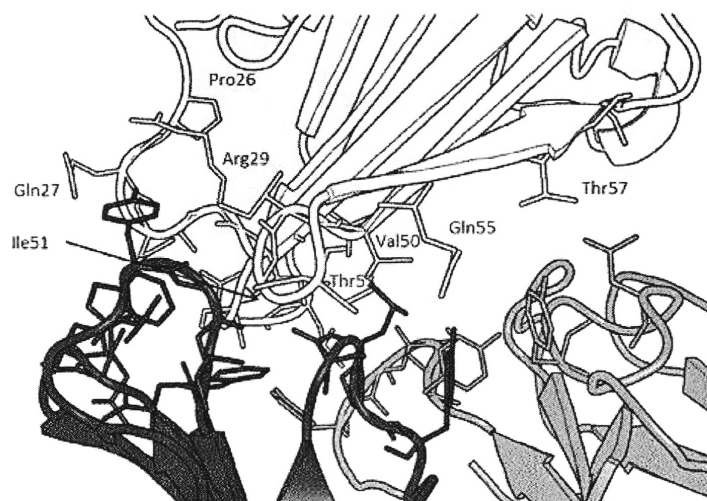
Фиг. 9

**Одиночный N-
терминальный
домен 1
человеческой
CEACAM6**



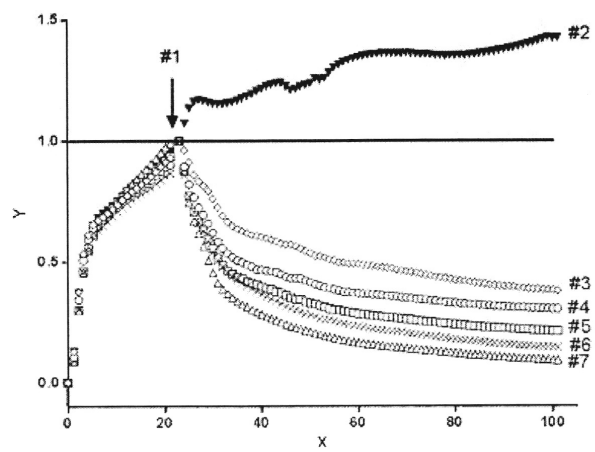
28/30

Фиг.10

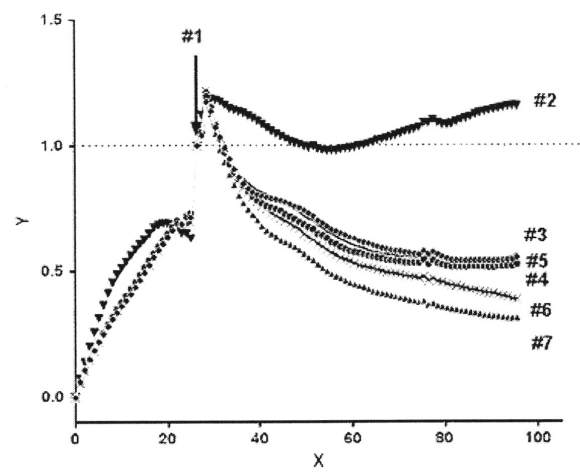


Фиг.11

А

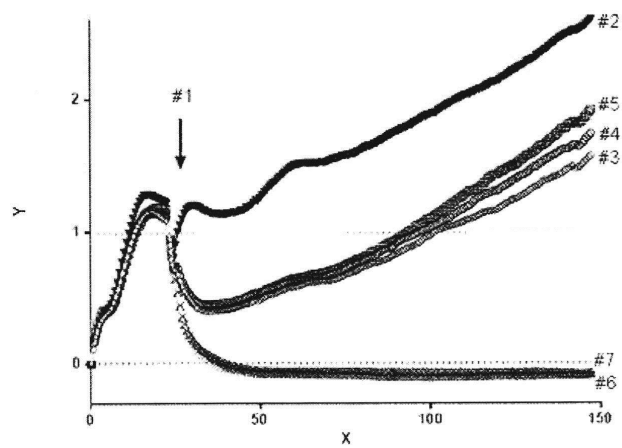


В



Фиг.12

А



В

