



(51) МПК  
*C07K 16/28* (2006.01)  
*C07K 16/44* (2006.01)  
*A61K 39/395* (2006.01)  
*A61P 35/00* (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ**

(52) СПК  
*C07K 16/2803* (2021.08); *C07K 16/44* (2021.08); *A61K 39/395* (2021.08); *A61P 35/00* (2021.08)

(21)(22) Заявка: 2019111722, 21.09.2017

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
21.09.2017

Дата регистрации:  
12.11.2021

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:  
 21.09.2016 US 62/397,794;  
 27.01.2017 US 62/451,271;  
 03.05.2017 US 62/500,578

(43) Дата публикации заявки: 22.10.2020 Бюл. № 30

(45) Опубликовано: 12.11.2021 Бюл. № 32

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на  
национальной фазе: 22.04.2019

(86) Заявка РСТ:  
US 2017/052714 (21.09.2017)

(87) Публикация заявки РСТ:  
WO 2018/057735 (29.03.2018)

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

(72) Автор(ы):

ЛЬЮ, Линда (US),  
 ФЛИС, Даллас, Бенджамин (US),  
 ЛАНГЕРМАНН, Соломон (US)

(73) Патентообладатель(и):  
 НЕКСТКЮР, ИНК. (US)

(56) Список документов, цитированных в отчете  
о поиске: WO2013034660 A1, 14.03.2013.  
 WO2011041894 A1, 06.10.2010. TAKASHI  
 ANGATA et al., Siglec-15: an immune system  
 Siglec conserved throughout vertebrate evolution,  
 Glycobiology, 2007, vol. 17 no. 8 pp. 838-846.  
 MATTHEW STUIBLE et al., Mechanism and  
 Function of Monoclonal Antibodies Targeting  
 Siglec-15 for Therapeutic Inhibition of  
 Osteoclastic Bone (см. прод.)

R U  
2 7 5 9 3 3 4  
C 2  
C 4  
C 3  
C 3  
C 2  
R U

**(54) АНТИТЕЛА ПРОТИВ SIGLEC-15 И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ**

(57) Реферат:

Изобретение относится к области  
 биотехнологии, в частности к моноклональному  
 антителу или его антигенсвязывающему  
 фрагменту, которое специфически связывается с  
 SIGLEC-15, а также к содержащей его

фармацевтической композиции. Изобретение  
 эффективно для лечения опухоли у пациента, а  
 также для усиления иммунного ответа у пациента.  
 16 н. и 12 з.п. ф-лы, 86 ил., 2 табл., 22 пр.

(56) (продолжение):

Resorption, THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, 2014, Vol. 289, No. 10, pp. 6498-6512. RU2139731  
 C1, 20.10.1999.

R U  
2 7 5 9 3 3 4  
C 2

RUSSIAN FEDERATION



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(19) RU (11) 2 759 334<sup>(13)</sup> C2

(51) Int. Cl.  
*C07K 16/28* (2006.01)  
*C07K 16/44* (2006.01)  
*A61K 39/395* (2006.01)  
*A61P 35/00* (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC  
*C07K 16/2803* (2021.08); *C07K 16/44* (2021.08); *A61K 39/395* (2021.08); *A61P 35/00* (2021.08)

(21)(22) Application: 2019111722, 21.09.2017

(24) Effective date for property rights:  
21.09.2017

Registration date:  
12.11.2021

Priority:

(30) Convention priority:  
21.09.2016 US 62/397,794;  
27.01.2017 US 62/451,271;  
03.05.2017 US 62/500,578

(43) Application published: 22.10.2020 Bull. № 30

(45) Date of publication: 12.11.2021 Bull. № 32

(85) Commencement of national phase: 22.04.2019

(86) PCT application:  
US 2017/052714 (21.09.2017)

(87) PCT publication:  
WO 2018/057735 (29.03.2018)

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

(72) Inventor(s):  
LIU, Linda (US),  
FLIES, Dallas, Benjamin (US),  
LANGERMANN, Solomon (US)

(73) Proprietor(s):  
EXTCURE, INC. (US)

(54) ANTIBODIES AGAINST SIGLEC-15 AND THEIR APPLICATION METHODS

(57) Abstract:

FIELD: biotechnology.

SUBSTANCE: invention relates to the field of biotechnology, in particular to a monoclonal antibody or its antigen-binding fragment that specifically binds to SIGLEC-15, as well as to a pharmaceutical

composition containing it.

EFFECT: invention is effective for the treatment of a tumor in a patient, as well as for the increase in an immune response in a patient.

28 cl, 86 dwg, 2 tbl, 22 ex

R U  
2 7 5 9 3 3 4  
C 2

## ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

По настоящей заявке испрашивается приоритет предварительных заявок США №62/500578, поданной 3 мая 2017 года, №62/451271, поданной 27 января 2017 года и №62/397794, поданной 21 сентября 2017 года, каждая из которых включена посредством ссылки в полном объеме в допустимых случаях.

## ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

Настоящее изобретение в целом относится к области иммуномодулирования, и более конкретно к композициям и способам модулирования SIGLEC-15 (Siglec-15) и передачи сигнала, инициированного от него.

## УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Ig-подобные лектины, связывающие сиаловую кислоту («SIGLEC») представляют собой членов суперсемейства Ig. Эти трансмембранные белки 1-го типа включают в себя N-концевой V-домен, связывающий сиаловые кислоты, вариабельные количества C2-доменов Ig, трансмембранный участок и цитозольный хвост, и связываются

специфично с сиаловыми кислотами, присоединенными к концевым участкам гликоконъюгатов клеточной поверхности. Были идентифицированы две первичные подгруппы SIGLEC: одна подгруппа включает в себя CD-33 и родственные CD33 SIGLEC, такие как SIGLEC-5, -6, -7, -8, -9, 10, -11, -14 и -16 у человека и CD33 и SIGLEC-E, -F, -G и -H у мыши (Crocker and Redelinghuys, *Biochemical Society Transactions*,

36 (6):1467–1471 (2008)). Вторая подгруппа состоит из Sn (сиалоадгезина) (SIGLEC-1), CD22 (SIGLEC-2), MAG (миelin-ассоциированного гликопroteина) (SIGLEC-4) и SIGLEC-15, все из которых являются высококонсервативными у млекопитающих. За исключением MAG, который экспрессируется в нервной системе, SIGLEC дифференциально экспрессируются в различных подгруппах лейкоцитов, где они играют роль в положительной и отрицательной регуляции иммунных и воспалительных ответов (McMillan and Crocker, *Carbohydr. Res.*, 343:2050–2056 (2008) и Crocker, et al., *Nat. Rev. Immunol.*, 7:255 266 (2007)).

Исследования свидетельствуют о том, что многие SIGLEC экспрессируются на иммунных клетках и имеют иммуносупрессорные свойства. В то же время подгруппа SIGLEC, в том числе SIGLEC-15, ассоциирована с активирующим белком сигнальной адаптерной молекулы DNAX, составляющим 12 кДа (DAP12), который имеет иммунорецепторный тирозиновый активационный мотив (ITAM) и включен в активацию иммунных клеток (Takamiya, et al., *Glycobiology*, 23(2):178–87 (2013)). SIGLEC-15 специфично экспрессируется на макрофагах и дендритных клетках селезенки и

лимфатических узлов и предпочтительно распознает антиген sTn (Angata, et al., *Glycobiology*, 17(8):838–46 (2007) Epub 2007 May 4.). Клетки H157, сверхэкспрессирующие sTn (H157/ST6GalNAc-I), стимулировали секрецию TGF-β из экспрессирующих SIGLEC-15 макрофагов, индуцированных M-CSF (Takamiya, et al., *Glycobiology*, 23(2):178–87 (2013)). Кроме того, секреция TGF-β из клеток THP-1 усиливается в результате сверхэкспрессии

SIGLEC-15 в клетках THP-1 и ST6GalNAc-I (фермента, ответственного за биосинтез структуры sTn) в клетках H157 соответственно, таким образом, что она может по меньшей мере частично зависеть от передачи сигнала с участием SIGLEC-15, индуцированного DAP12, а также одного или нескольких независимых от DAP12, зависимых от Sky или возможно независимых от Sky путей. TGF-β продуцируется как опухолевыми клетками, так и лейкоцитами, инфильтрующими опухоль, в том числе макрофагами, и способствует прогрессированию и метастазированию опухолей, например, в результате усиления инвазии опухолевых клеток и в результате ингибирования функции иммунных клеток (Flavell, et al., *Nat Rev Immunol*, 10:554–567

(2010)). Эти данные могут свидетельствовать о том, что распознавание опухоль–ассоциированного sTn с помощью SIGLEC–15 активирует путь DAP12–Syk путем передачи сигнала, который усиливает продуцирование TGF– $\beta$  из миелоидных клеток и в конечном итоге модифицирует микроокружение опухоли, что является 5 предпочтительным для опухолевых клеток (Takamiya, et al., *Glycobiology*, 23(2):178–187 (2013)). SIGLEC–15 имеет типичный домен ITIM (SNYENL (SEQ ID NO:191)) в своем цитоплазматическом домене. Его функция еще подлежит характеризации.

В то же время имеется потребность в средствах и методиках модулирования SIGLEC–15 и передачи сигнала, инициированного от него.

10 Таким образом, целью данного изобретения является предложение композиций для детекции и модулирования SIGLEC–15.

Также целью данного изобретения является предложение способов модулирования SIGLEC–15 и передачи сигнала, инициированного от него, в целях повышения иммунного ответа или ослабления или обращения иммунной супрессии.

15 Также целью данного изобретения является предложение способа модулирования дифференцировки остеокластов в целях снижения резорбции костной ткани или повышения костеобразования.

Также целью данного изобретения является предложение способов лечения заболеваний и нарушений в результате модулирования SIGLEC–15 и передачи сигнала, 20 инициированного от него.

## **КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

Предложены молекулы, связывающие SIGLEC–15. Молекулы в типичном случае представляют собой антитело или его антиген–связывающий фрагмент, который иммуноспецифично связывается с SIGLEC–15. Например, в некоторых вариантах 25 осуществления молекула, связывающая SIGLEC–15, содержит шесть областей, определяющих комплементарность (CDR), при этом CDR включают в себя три CDR легкой цепи полипептида, выбранного из группы, состоящей из SEQ ID NO:3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106 или 107, или их варианта, последовательность которого по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 30 99% или более идентична SEQ ID NO: 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106 или 107, и три CDR тяжелой цепи полипептида, выбранного из группы, состоящей из SEQ ID NO:13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 35 114, 115, 116, 117, 118 или 119, и при этом молекула, связывающая SIGLEC–15, связывается с SIGLEC–15. В некоторых вариантах осуществления молекула, связывающая SIGLEC–15, содержит CDR легкой и тяжелой цепей мышевого анти–человеческого моноклонального антитела, называемого в данного документе 40 как 1B2, 1C3, 1H3, 1C12, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5, 10G9, 6A, 28A, 63A, 71A, 77A, 80A, 82B, 83B, 92A, 93B, 99B, 104B или 105A.

В некоторых вариантах осуществления молекула, связывающая SIGLEC–15, содержит вариабельный участок легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность полипептида, выбранного из группы, состоящей из SEQ ID NO:3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 45 12, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106 или 107, или их варианта, последовательность которого по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% или более идентична SEQ ID NO:3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106 или 107, и/или вариабельный участок тяжелой цепи, содержащий

аминокислотную последовательность полипептида, выбранного из группы, состоящей из SEQ ID NO:13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118 или 119, или их варианта, последовательность которого по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% или более идентична SEQ ID NO:13, 14, 15,

5 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118 или 119. В некоторых вариантах осуществления молекула, связывающая SIGLEC-15, содержит вариабельный(вариабельные) участок(участки) легкой и тяжелой цепей мышиных моноклональных анти-человеческих антител, называемых в данного документе как 1B2, 1C3, 1H3, 1C12, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5, 10G9, 6A, 28A, 63A, 71A, 77A, 80A, 10 82B, 83B, 92A, 93B, 99B, 104B или 105A.

В некоторых вариантах осуществления молекула, связывающая SIGLEC-15, связывается с SIGLEC-15,

- (I) расположенным на поверхности клетки (предпочтительно живой клетки);
- (II) расположенным на поверхности клетки (предпочтительно живой клетки) в

15 эндогенной концентрации;

(III) расположенным на поверхности живой клетки, и модулирует связывание между SIGLEC-15 (например, SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 и т.д.) и Neu5Acα2-6GalNAcα, LRRC4C, контрецептором SIGLEC-15 (S15-CR) или их комбинацией;

20 (IV) расположенным на поверхности живой клетки, и снижает, предупреждает или ингибирует секрецию TGF-β;

- (V) расположенным на поверхности живой клетки; или
- (IV) их комбинацией.

Клетки, которые эндогенно экспрессируют SIGLEC-15, включают в себя макрофаги, дендритные клетки и раковые клетки.

25 Молекула, связывающая SIGLEC-15, может содержать один или несколько константных доменов из константной области иммуноглобулина (Fc). Константные домены могут представлять собой человеческие константные домены, например, домены IgA, IgD, IgE, IgG или IgM. В определенных вариантах осуществления константные домены IgG человека представляют собой домены IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. Молекула, 30 связывающая SIGLEC-15, может быть детектируемым образом меченой или содержит конъюгированный токсин, лекарственное средство, рецептор, фермент лиганд рецептора. Молекула, связывающая SIGLEC-15, может представлять собой моноклональное антитело, человеческое антитело, химерное антитело, гуманизированное антитело или одноцепочечное антитело или их антигенсвязывающий фрагмент. Антитело может 35 представлять собой моноспецифичное, биспецифичное, триспецифичное или мультиспецифичное антитело.

В одном варианте осуществления предложено гуманизированное анти-SIGLEC-15 антитело, имеющее одну или несколько вариабельных легких цепей, имеющих аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 195, 197, 199, 201 или 209.

40 В другом варианте осуществления предложено гуманизированное анти-SIGLEC-15 антитело, имеющее одну или несколько вариабельных тяжелых цепей, имеющих аминокислотную последовательность SEQ ID NO:203, 206 или 207.

В другом варианте осуществления предложено гуманизированное анти-SIGLEC-15 антитело, имеющее одну или несколько вариабельных легких цепей, имеющих

45 аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 195, 197, 199, 201 или 209, и одну или несколько вариабельных тяжелых цепей, имеющих аминокислотную последовательность SEQ ID NO:203, 206 и 207.

В одном варианте осуществления предложено антитело, имеющее CDR легких цепей

SEQ ID NO:209, 195, 207, 199 или 201 и CDR тяжелых цепей SEQ ID NO:203, 206 или 207 и их комбинации.

В другом варианте осуществления предложено антитело, имеющее аминокислотную последовательность легкой цепи в соответствии с SEQ ID NO:209, 210 или 211.

<sup>5</sup> В другом варианте осуществления предложено антитело, имеющее аминокислотную последовательность тяжелой цепи в соответствии с SEQ ID NO: 212, 213, 215 или 216.

В другом варианте осуществления предложено антитело, имеющее аминокислотную последовательность легкой цепи в соответствии с SEQ ID NO:209, 210 или 211 и аминокислотную последовательность тяжелой цепи в соответствии с SEQ ID NO: 212,  
<sup>10</sup> 213, 215 или 216.

В некоторых вариантах осуществления молекула, связывающая SIGLEC-15, является модифицированной таким образом, что молекула будет проявлять сниженную или отсутствующую активность связывания по отношению к Fc-рецептору (FcR). В некоторых вариантах осуществления молекула, связывающая SIGLEC-15, является  
<sup>15</sup> модифицированной таким образом, чтобы проявлять активности в направлении антителозависимой клеточноопосредованной цитотоксичности (ADCC) или комплементзависимой цитотоксичности (CDC).

В одном варианте осуществления предложен слитый белок, который по меньшей мере на 50, 60, 70, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентичен SEQ ID NO:193 или  
<sup>20</sup> 194.

Также предложены фармацевтические композиции, содержащие молекулу, связывающую SIGLEC-15, и физиологически приемлемый носитель или наполнитель. В некоторых вариантах осуществления молекула, связывающая SIGLEC-15, снижает или предупреждает связывание SIGLEC-15 с лигандом и/или его контрецептором,  
<sup>25</sup> снижает или предупреждает передачу сигнала, опосредованную SIGLEC-15, или их комбинацию. Лиганд может представлять собой сиалированный гликопротеин. Лиганд может экспрессироваться на поверхности опухолевой клетки. В примерах ниже показано, что белок 4C, содержащий богатые лейцином повторы (LRRC4C), представляет собой лиганд к SIGLEC-15, и может экспрессироваться раковыми клетками. Контрецептор  
<sup>30</sup> SIGLEC-15 также может экспрессироваться на поверхности иммунных клеток, таких как Т-клетки, который при связывании SIGLEC-15, приводит к ингибираванию Т-клеток.

Также предложены способы лечения субъектов, нуждающихся в этом. В типичном случае способы включают введение субъекту эффективного количества молекулы, связывающей SIGLEC-15, например, в фармацевтической композиции. В некоторых вариантах осуществления молекула-антагонист, связывающая SIGLEC-15, повышает иммунный ответ, замедляет или предупреждает опухолевый рост, ингибирует опосредованную опухолью иммунную супрессию, уничтожает опухоли, снижает или блокирует активность опухоль-ассоциированных макрофагов (ТАМ) таким образом,  
<sup>35</sup> чтобы изменить их активность, ослабляет опосредованную ТАМ иммунную супрессию, ослабляет или обращает Т-клеточную супрессию, повышает Т-клеточную пролиферацию или их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления рак или опухоль содержит макрофаги, экспрессирующие SIGLEC-15. Молекулу, связывающую SIGLEC-15, можно вводить субъекту в эффективном количестве для снижения экспрессии и/или секреции  
<sup>40</sup> TGF-β макрофагами. В некоторых вариантах осуществления субъект имеет рак или инфекционное заболевание. Рак может содержать клетки, экспрессирующие или сверхэкспрессирующие лиганд SIGLEC-15.

Также предложены способы снижения дифференцировки остеокластов, снижения

резорбции костной ткани, повышения костеобразования и их комбинации в результате введения субъекту эффективного количества молекул–антагонистов, связывающих SIGLEC–15.

В некоторых вариантах осуществления молекула–агонист, связывающая SIGLEC–15,

5 снижает иммунный ответ, повышает или усиливает Т–клеточную супрессию, повышает Т–клеточную пролиферацию или их комбинацию. Молекулу, связывающую SIGLEC–15, можно вводить субъекту в эффективном количестве для повышения экспрессии и/или секреции TGF– $\beta$  макрофагами. В некоторых вариантах осуществления субъект имеет воспаление, аутоиммунное заболевание или представляет собой реципиента

10 трансплантата.

Некоторые варианты осуществления включают введение субъекту второго терапевтического агента.

Также предложены способы детекции и диагностики. Любой из способов детекции и диагностики может сочетаться со способом лечения. Например, способ детекции или 15 диагностики заболевания, нарушения или инфекции может включать (a) анализ экспрессии SIGLEC–15 в клетках или в образце ткани субъекта с помощью раскрываемых молекул, связывающих SIGLEC–15, и (b) сравнение уровня SIGLEC–15 с контрольным уровнем, при этом повышение анализируемого уровня SIGLEC–15 по сравнению с контрольным уровнем указывает на заболевание, нарушение или инфекцию.

20 Способ контроля прогрессирования заболевания, нарушения или инфекции может включать (a) анализ экспрессии SIGLEC–15 в клетках или в образце ткани субъекта, полученных в первой временной точке и более поздней временной точке с помощью раскрываемых молекул, связывающих SIGLEC–15; и (b) сравнение уровня экспрессии SIGLEC–15 в клетках или в образце ткани субъекта в первой и более поздних временных 25 точках, при этом повышение анализируемого уровня SIGLEC–15 в более поздней временной точке по сравнению с первой временной точкой указывает на прогрессирование заболевания, нарушения или инфекции.

Предложен способ контроля ответа на лечение, который включает (a) анализ 30 экспрессии SIGLEC–15 в клетках или в образце ткани субъекта до и после лечения с помощью раскрываемых молекул, связывающих SIGLEC–15; и (b) сравнение уровня SIGLEC–15 в динамике, при этом снижение анализируемого уровня SIGLEC–15 после лечения по сравнению с уровнем SIGLEC–15 до лечения указывает на благоприятный ответ на лечение.

#### КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

35 На Фиг. 1 изображена кривая, которая показывает титр антител в плазме двух иммунизированных и двух неиммунизированных мышей с нокаутом по SIGLEC–15.

На Фиг. 2A–2C изображены выравнивания, которые показывают последовательности вариабельного участка легкой цепи 1B2, 1C3, 1H3, 1C12, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5, 10G9, 6A, 28A, 63A, 77A, 80A, 82B, 83B, 92A, 93B, 99B, 104B и 105A, и выделяют первую 40 (2A), вторую (2B) и третью (2C) области, определяющие комплементарность (CDR).

На Фиг. 3A–3C изображены выравнивания, которые показывают последовательности вариабельного участка тяжелой цепи 1B2, 1C3, 1H3, 1C12, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5, 10G9, 6A, 28A, 63A, 77A, 80A, 82B, 83B, 92A, 93B, 99B, 104B и 105A, и выделяют первую (3A), вторую (3B) и третью (3C) области, определяющие комплементарность 45 (CDR).

На Фиг. 4A изображена диаграмма измерения прямого связывания анти–SIGLEC–15 антител к человеческим или мышевидным клеткам, экспрессирующим SIGLEC–15. На Фиг. 4B (1B2, 1C3, 1C12, 1H3, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5 и 10G9) и Фиг. 8C (6A (NC6),

28A (NC28), 63A (NC63), 77A (NC77), 80A (NC80), 82B (NC82), 83B (NC83), 92A (NC92), 93B (NC93), 99B (NC99), 104B (NC104) и 105A (NC105)) изображены столбиковые диаграммы, которые показывают связывание анти-SIGLEC-15 антител (% позитивных клеток) с клетками, экспрессирующими SIGLEC-15, в анализе, проиллюстрированном на Фиг. 4А. На Фиг. 4С изображена столбиковая диаграмма, которая показывает связывание ант-SIGLEC-15 антител (1B2, 1C3, 1C12, 1H3, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5, 10G9, 6A (NC6), 28A (NC28), 63A (NC63), 77A (NC77), 80A (NC80), 82B (NC82), 83B (NC83), 92A (NC92), 93B (NC93), 99B (NC99), 104B (NC104) и 105A (NC105)) (% позитивных клеток) с фиксированными в формалине клетками, экспрессирующими SIGLEC-15.

На Фиг. 5А–5В изображены линейные диаграммы, которые показывают связывание очищенного Ab 1C12, 8H8, 5G12, 3H10, 9A5, 6F8, 8C8, 1H3, 10G9, 1B2 и 1C3 Ab с клетками K562.hS15 (9А, за вычетом фонового связывания) и клетками 293T.mS15 (9В) (средняя интенсивность флуоресценции (MFI) в качестве функции концентрации первичных антител (мкг/мл)). На Фиг. 5С изображена точечная диаграмма связывания (MFI) очищенного Ab 1B2, 1C3, 1H3, 1C12, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5 и 10G9 с клетками K562.hS15 по отношению к клеткам 293T.mS15.

На Фиг. 6А изображена столбиковая диаграмма, которая показывает процент клеток hS15+ U87, детектируемых с помощью каждого из Ab 1B2, 1C3, 1H3, 1C12, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8 и 10G9 Ab. На Фиг. 6В изображена столбиковая диаграмма, которая показывает MFI клеток hS15+ U87, детектируемых с помощью каждого из Ab 1B2, 1C3, 1H3, 1C12, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8 и 10G9 Ab. На Фиг. 6С изображена столбиковая диаграмма, которая показывает процент клеток S15+ U87, детектируемых с помощью каждого из Ab 1B2, 1C3, 1H3, 1C12, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5 и 10G9 Ab.

На Фиг. 7А изображен эскиз, который иллюстрирует анализ блокирования антител. Клетки 293T, экспрессирующие лиганд LRRC4C, обрабатывают растворенным рецептором (hS15.hG1) и анти-S15 антителом, и затем связанный receptor детектируют с помощью PE-анти-hFc антитела. На Фиг. 7В изображена столбиковая диаграмма, которая показывает % связывания hS15.G1 с антителами hS15.hG1–1 и 10G9, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5, 1C3, 1C12, 1H3, 3H10, 1B2, NC1, NC5, NC7 28A (NC28), NC38, NC41, NC53, 63A (NC63), NC73, NC74, NC76, 77A (NC77), 82B (NC82), NC84, NC87, NC90, 92A (NC92), CI3–33, CI1–33). На Фиг. 7С изображена столбиковая диаграмма, которая показывает блокирование S15/LRRC4C (%) контрольным mAb и антителами 1B2, 1C3, 1H3, 8H8, 6F8, 8C8, 9A5, 1C12, 3H10, 10G9 и 5G12. На Фиг. 7Д изображена столбиковая диаграмма, которая показывает блокирование S15/LRRC4C (%) 1B2, 1C3, 1C12, 1H3, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5 и 10G9. На Фиг. 7Е изображена столбиковая диаграмма, которая показывает блокирование S15/LRRC4C (%) 6A (NC6), 28A (NC28), 63A (NC63), 77A (NC77), 80A (NC80), 82B (NC82), 83B (NC83), 92A (NC92), 93B (NC93), 99B (NC99), 104B (NC104) и 105A (NC105)).

На Фиг. 8А изображена диаграмма анализа T-клеточной супрессии. На Фиг. 8В и 8С изображены столбиковые диаграммы, показывающие обращение с помощью анти-S15 mAb опосредованной hS15.hG1 супрессии T-клеток человека в виде % поделившихся CD8+ T-клеток (12В) и CD4+ T-клеток (12С) и сравнивающие анализы, выполняемые с использованием (например, +hS15.hG1) (столбец слева в каждой паре) и без использования (например, -hS15.hG1) (столбец справа в каждой паре) hS15.hG1 в отношении антител 1B2, 1C3, 1C12 1H3, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5 и 10G9. На Фиг. 8D–8G изображены столбиковые диаграммы, которые показывают обращение с помощью анти-S15 mAb опосредованной hS15.hG1 супрессии T-клеток человека в виде % поделившихся CD8+ T-клеток (Фиг. 8D и 8F) и CD4+ T-клеток (Фиг. 8Е и 8G) в случае

анализов, выполняемых с использованием hS15.hG1 в отношении антител 1B2, 1C3, 1C12 1H3, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5 и 10G9 (Фиг. 8D и 12E) и 6A (NC6), 28A (NC28), 63A (NC63), 77A (NC77), 80A (NC80), 82B (NC82), 83B (NC83), 92A (NC92), 93B (NC93), 99B (NC99), 104B (NC104) и 105A (NC105) (Фиг. 8F и 8G). На Фиг. 8H и 8I изображены точечные диаграммы, которые показывают пролиферацию CD8 Т-клеток в виде функции % блокирующей активности hS15\_LRRC4C.

На Фиг. 9А изображена диаграмма анализа изменения секреции INF $\gamma$ . На Фиг. 9В изображена столбиковая диаграмма, которая показывает результаты анализа, представленного на диаграмме на Фиг. 13А, в отношении антител 1B2, 1C3, 1C12 1H3, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5 и 10G9.

На Фиг. 10 изображена столбиковая диаграмма, которая показывает TRAP (устойчивую к тарtrату кислую фосфатазу) (поглощение, 540 нм) в присутствии антител 1C12, 8H8, 5G12, 3H10, 9A5, 6F8, 8C8, 1H3, 10G9, 1B2 и 1C3 в анализе образования остеокластов из свежевыделенных и обогащенных в отношении моноцитов РВМС 2 путями: сортировки с использованием колонки MACS (левая панель) или прикрепления к пластмассе в бессывороточной среде (правая панель).

На Фиг. 11 изображена диаграмма, которая иллюстрирует модель отрицательной регуляции иммунитета с помощью SIGLEC-15 в опухолевом микроокружении (TME), в том числе SIGLEC-15 (S15):SIGLEC-15-контррецептор (S15-CR) >>> Т-клеточное направленное ингибирование пролиферации и цитокинеза, и/или SIGLEC-15:LRRC4C >>> продуцирование макрофагами TGF- $\beta$  и иммунная супрессия в TME. Диаграмма показывает экспрессию SIGLEC-15 и его лигандов миелоидными клетками, Т-клетками и раковыми клетками, и передачу сигнала от них, а также взаимодействия между молекулами анти-SIGLEC-15 (блокирующими и нацеливающими) и анти-LRRC4C антителами и слитыми белками SIGLEC-15 (несшивающими/блокирующими).

На Фиг. 12А изображена таблица, которая показывает аминокислотную последовательность вариабельных легких цепей L1–L5 гуманизированного 5G12. На Фиг. 12В изображена таблица, которая показывает аминокислотную последовательность вариабельных тяжелых цепей H1–H3 гуманизированного 5G12.

На Фиг. 13А изображено выравнивание последовательности вариабельных легких цепей VL1–VL5 гуманизированного 5G12 против мышиной VL. На Фиг. 13В изображено выравнивание последовательности вариабельных тяжелых цепей VH1–VH3 гуманизированного 5G12.

На Фиг. 14А изображена линейная диаграмма % пролиферации Т-клеток против человеческого Fc S15 (мкг/мл), которая показывает, что % пролиферации Т-клеток снижается по мере того, как повышается концентрация Fc S15. На Фиг. 14В изображена столбиковая диаграмма пг/мл IFN- $\gamma$  в кондиционированных супернатантах из клеток, обработанных 0 или 5 мкг/мл Fc S15. На Фиг. 14С изображена столбиковая диаграмма пг/мл TNF- $\alpha$  в кондиционированных супернатантах из клеток, обработанных 0 или 5 мкг/мл Fc S15. На Фиг. 14Д изображена столбиковая диаграмма пг/мл IL-6 в кондиционированных супернатантах из клеток, обработанных 0 или 5 мкг/мл Fc S15.

На Фиг. 15А и 15В изображены столбиковые диаграммы, которые показывают процент позитивных клеток в отношении связывания анти-S15 mAb, очищенного из гибридомы, с клетками, экспрессирующими человеческий S15 или мышний S15.

На Фиг. 16А и 16В изображены столбиковые диаграммы процента поделившихся CD8+ Т-клеток, обработанных указанными антителами. На Фиг. 16С и 16Д изображены столбиковые диаграммы процента поделившихся CD4+ Т-клеток, обработанных указанными антителами.

На Фиг. 17А и 17В изображены линейные диаграммы, которые показывают процент выживаемости в зависимости от дней после введения опухолевых клеток у животных, обработанных 5G12. На Фиг. 17С изображена линейная диаграмма процента прибавки веса в зависимости от дней после введения ID8.OVA.

5 На Фиг. 18 изображена линейная диаграмма процента прибавки веса в зависимости от дней после введения ID8.OVA.

На Фиг. 19А изображена схематическая диаграмма, которая показывает CD14+ моноциты человека, собранные из PBMC человека с помощью магнитных гранул для культивирования моноцитов Mitenyi после высеваания в 96-луночных планшетах в

10 присутствии M-CSF человека и RANKL человека совместно с указанными антителами. На Фиг. 19В изображена электронная микрофотография, которая показывает остеокласты, обработанные, как указано, 1Н3. На Фиг. 19С изображена столбиковая диаграмма поглощения при 540 нм супернатанта, собранного через 7 дней, для анализа устойчивой к тартрату кислотой фосфатазы.

15 На Фиг. 20 изображена столбиковая диаграмма, которая показывает цитокины (пг/мл) INF- $\gamma$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A и TNF- $\alpha$ .

На Фиг. 21 изображена столбиковая диаграмма поглощения при 540 нм макрофагов RAW 264.7 мыши, культивированных в присутствии RANKL совместно с указанными антителами.

20 На Фиг. 22 изображено сравнение иллюстративных гуманизированных аминокислотных последовательностей вариабельных легких цепей 1Н3.

На Фиг. 23 изображено сравнение иллюстративных гуманизированных аминокислотных последовательностей вариабельных тяжелых цепей 1Н3.

На Фиг. 24 изображена иллюстрация предложенного механизма действия SIGLEC-15.

25 На Фиг. 25А изображена гистограмма FACS количества в зависимости от SIGLEC-15 PE, которая показывает, что макрофаги M2 экспрессируют SIGLEC-15. На Фиг. 25В изображена гистограмма FACS количества в зависимости от SIGLEC-15 PE в отношении макрофагов M1. На Фиг. 25С изображена гистограмма FACS количества в зависимости от SIGLEC-15 PE в отношении миелоидных клеток, происходящих из костного мозга 30 мыши, обработанных макрофагальным колониестимулирующим фактором (M-CSF). На Фиг. 25D изображена гистограмма FACS количества в зависимости от SIGLEC-15 PE в отношении миелоидных клеток, происходящих из костного мозга мыши, обработанных M-CSF и интерлейкином-10 (IL-10). На Фиг. 25Е изображена столбиковая диаграмма MFI-PE в отношении миелоидных клеток, происходящих из костного мозга 35 мыши, обработанных M-CSF или M-CSF+IL10 и окрашенных изотипическим PE (прямоугольник серого цвета) или анти-SIGLEC-15 PE.

На Фиг. 26А изображена столбиковая диаграмма поглощения при 450 нм супернатантов из CD14+ моноцитов человека от донора №1603, высеванные в планшеты, покрытые Fc SIGLEC-15 (левый столбец точки концентрации) или растворенным 40 SIGLEC-15 (правый столбец каждой точки концентрации). На Фиг. 26В изображена столбиковая диаграмма поглощения при 450 нм супернатантов из CD14+ моноцитов человека от донора №1704, высеванные в планшеты, покрытые Fc SIGLEC-15 (левый столбец точки концентрации) или растворенным SIGLEC-15 (правый столбец каждой точки концентрации). На Фиг. 26С изображена столбиковая диаграмма TNF- $\alpha$  (пг/мл) 45 в зависимости от SIGLEC-15 Fc (мкг/мл) в отношении клеток от донора №1603. На Фиг. 26Д изображена столбиковая диаграмма IL-6 (пг/мл) в зависимости от SIGLEC-15 Fc (мкг/мл) в отношении клеток от донора №1603. На Фиг. 26Е изображена столбиковая диаграмма IL-1 $\beta$  (пг/мл) в зависимости от SIGLEC-15 Fc (мкг/мл) в отношении клеток

от донора №1603. На Фиг. 26F изображена столбиковая диаграмма TNF- $\alpha$  (пг/мл) в зависимости от SIGLEC-15 Fc (мкг/мл) в отношении клеток от донора №1704. На Фиг. 26G изображена столбиковая диаграмма IL-6 (пг/мл) в зависимости от SIGLEC-15 Fc (мкг/мл) в отношении клеток от донора №1704. На Фиг. 26H изображена столбиковая 5 диаграмма IL-1 $\beta$  (пг/мл) в зависимости от SIGLEC-15 Fc (мкг/мл) в отношении клеток от донора №1704.

На Фиг. 27A изображена диаграмма протокола эксперимента в случае Примера 19. На Фиг. 27B изображена столбиковая диаграмма % пролиферации CD8 миелоидных клеток человека, предварительно обработанных Fc S15; M2 $\varphi$ , M1 $\varphi$ , и незрелых DC, 10 кокультивируемых с меченными CFSE негативно селектируемыми аутологичными всеми Т-клетками при соотношении клеток 1 миелоидная клетка: 2 Т-клетки совместно с анти-CD3/CD28 гранулами (1 клетка из всех Т-клеток: 2 гранулы). Столбцы слева направо обозначают: только Т-клетки, Т-клетки+гранулы, обработанные Fc S15, M2 $\varphi$ , M1 $\varphi$ , и imDC в случае Фиг. 27C–27G. На Фиг. 27C изображена столбиковая диаграмма 15 IFN- $\gamma$  (пг/мл) в отношении клеток, обработанных, как описано выше. На Фиг. 27D изображена столбиковая диаграмма TNF- $\alpha$  (пг/мл) в отношении клеток, обработанных, как описано выше. На Фиг. 27E изображен процент пролиферации CD4 в отношении клеток, обработанных, как описано выше. На Фиг. 27F изображена столбиковая диаграмма IL-6 (пг/мл) в отношении клеток, обработанных, как описано выше. На 20 Фиг. 27G изображена столбиковая диаграмма IL-10 (пг/мл) в отношении клеток, обработанных, как описано выше.

На Фиг. 28A изображена линейная диаграмма поглощения при 450 нм в зависимости от mAb (мкг/мл) в отношении клеток от донора 1709. Верхняя линия представляет собой контрольное mAb, а нижняя линия представляет собой анти-S15 mAb. На Фиг. 28B 25 изображено то же самое, что и на Фиг. 28A, но в отношении клеток от донора 1713.

На Фиг. 29 изображена диаграмма, которая иллюстрирует роль, которую SIGLEC-15 играет в образовании остеокластов.

На Фиг. 30А изображена гистограмма FACS CD14+ моноцитов человека, обработанных Fc S15 и окрашенных анти- $\alpha_v\beta_3$  интегрин mAb на 0–е сутки. На Фиг. 30В изображена гистограмма FACS CD14+ моноцитов человека, обработанных Fc S15 и окрашенных анти- $\alpha_v\beta_3$  интегрин mAb на 6–е сутки.

## ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

### I. Определения

Используемая в данном документе молекула считается способной 35 «иммunoспецифично связываться» со второй молекулой, если такое связывание демонстрирует специфичность и аффинность антитела в отношении своего когнитного антигена. Считается, что антитела способны к «иммunoспецифичному связыванию» с целевым участком или конформацией («эпитопом») антигена, если такое связывание 40 включает сайт распознавания антигена молекулы иммуноглобулина. Антитело, которое иммunoспецифично связывается с определенным антигеном, может связываться с другими антигенами с более низкой аффинностью, если другой антиген имеет некоторое сходство последовательности или конформационное сходство, которое распознается сайтом распознавания антигена, что определяется, например, с помощью 45 иммunoлогических методов анализа, анализов BIACORE® или других анализов, известных в данной области техники, однако, не будет связываться с абсолютно неродственным антигеном. Предпочтительно, однако, чтобы антитела (и их антигенсвязывающие фрагменты) не давали перекрестную реакцию с другими антигенами. Антитела также могут связываться с другими молекулами с помощью

способа, который не является иммunoспецифичным, например, с Fc–рецепторами, в результате связывания доменов в других участках/доменах молекулы, которые не включают сайт распознавания антигена, такой как Fc–участок.

Считается, что используемая в данном документе молекула «специфично связывается»

5 со второй молекулой, если такое связывание демонстрирует специфичность и аффинность рецептора в отношении своего когнатного антигена. Молекула может быть способной физиологически связываться с более чем одной другой молекулой.

Предполагается, что используемый в данном документе термин «антитело» обозначает молекулу иммуноглобулина, которая имеет сайт распознавания антигена 10 «вариабельного участка». Предполагается, что термин «вариабельный участок» разграничивает такой домен иммуноглобулина от доменов, которые повсеместно являются общими для антител (таких как Fc–домен антител). Вариабельный участок содержит «гипервариабельный участок», остатки которого отвечают за связывание с антигеном. Гипервариабельный участок содержит аминокислотные остатки из «области, 15 определяющей комплементарность» или «CDR» (т.е. в типичном случае остатки в положениях примерно 24–34 (L1), 50–56 (L2) и 89–97 (L3) в вариабельном домене легкой цепи и остатки в положениях примерно 27–35 (H1), 50–65 (H2) и 95–102 (H3) в вариабельном 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/ 20 или такие остатки из «гипервариабельной петли» (т.е., остатки в положениях 26–32 (L1), 50–52 (L2) и 91–96 (L3) в вариабельном домене легкой цепи и 26–32 (H1), 53–55 (H2) и 96–101 (H3) в вариабельном домене тяжелой цепи; Chothia and Lesk, 1987, *J. Mol. Biol.* 196:901–917). Остатки «каркасной области» или «FR» представляют собой такие остатки 25 вариабельного домена, которые отличаются от остатков гипервариабельного участка, определенного в данном документе. Термин антитело включает моноклональные антитела, мультиспецифичные антитела, человеческие антитела, гуманизированные антитела, синтетические антитела, химерные антитела, камелизованные антитела (см., например, Muyllemans *et al.*, 2001, *Trends Biochem. Sci.* 26:230; Nuttall *et al.*, 2000, *Cur. Pharm. Biotech.* 1:253; Reichmann and Muyllemans, 1999, *J. Immunol. Meth.* 231:25; 30 международную публикацию №№ WO 94/04678 и WO 94/25591; патент США №6005079), одноцепочечные Fv (scFv) (см., например, Pluckthun в *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenberg and Moore eds. Springer–Verlag, New York, pp. 269–315 (1994)), одноцепочечные антитела, связанные дисульфидными связями Fv (sdFv), интраантитела 35 и антиидиотипические (анти–Id) антитела (в том числе, например, анти–Id и анти–анти–Id антитела, раскрываемые в данном документе). В частности, такие антитела включают молекулы иммуноглобулинов любого типа (например, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA и IgY), класса (например, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub>, IgG<sub>4</sub>, IgA<sub>1</sub> и IgA<sub>2</sub>) или подкласса.

Используемый в данном документе термин «антигенсвязывающий фрагмент» антитела относится к одной или нескольким частям антитела, которые содержат области, 40 определяющие комплементарность («CDR»), и необязательно каркасные остатки, которые включают сайт распознавания антигена «вариабельного участка», и проявляют способность иммunoспецифично связываться с антигеном. Такие фрагменты включают Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fv, одноцепочечный фрагмент (ScFv) и их мутантные формы, встречающиеся в природе варианты и слитые белки, включающие сайт распознавания антигена 45 «вариабельного участка» антитела и гетерологический белок (например, токсин, сайт распознавания антигена для другого антигена, фермент, рецептор или лиганд рецептора и т.д.).

Используемый в данном документе термин «фрагмент» относится к пептиду или

полипептиду, содержащему аминокислотную последовательность из по меньшей мере 5 прилегающих друг к другу аминокислотных остатков, по меньшей мере 10 прилегающих друг к другу аминокислотных остатков, по меньшей мере 15 прилегающих друг к другу аминокислотных остатков, по меньшей мере 20 прилегающих друг к другу аминокислотных остатков, по меньшей мере 25 прилегающих друг к другу аминокислотных остатков, по меньшей мере 40 прилегающих друг к другу аминокислотных остатков, по меньшей мере 50 прилегающих друг к другу аминокислотных остатков, по меньшей мере 60 прилегающих друг к другу аминокислотных остатков, по меньшей мере 70 прилегающих друг к другу аминокислотных остатков, по меньшей мере 80 прилегающих друг к другу аминокислотных остатков, по меньшей мере 90 прилегающих друг к другу аминокислотных остатков, по меньшей мере 100 прилегающих друг к другу аминокислотных остатков, по меньшей мере 125 прилегающих друг к другу аминокислотных остатков, по меньшей мере 150 прилегающих друг к другу аминокислотных остатков, по меньшей мере 175 прилегающих друг к другу аминокислотных остатков, по меньшей мере 200 прилегающих друг к другу аминокислотных остатков или по меньшей мере 250 прилегающих друг к другу аминокислотных остатков.

Используемый в данном документе термин «модулировать» относится к способности изменять эффект, результат или активность (например, передачу сигнала). Такое модулирование может быть агонистическим или антагонистическим. Антагонистическое модулирование может быть частичным (т.е. облегчающим, но не устраняющим) или оно может полностью устранять такую активность (например, нейтрализация). Модулирование может включать internalизацию рецептора после связывания антитела или снижение экспрессии рецептора на целевой клетке. Агонистическое модулирование может усиливать или иным образом повышать или усиливать активность (например, передачу сигнала). В еще одном дополнительно варианте осуществления такое модулирование может изменять природу взаимодействия между лигандом и его когнатным рецептором таким образом, чтобы измерять природу вызванной передачи сигнала. Например, молекулы могут в результате связывания с лигандом или рецептором изменять способность таких молекул связываться с другими лигандами или рецепторами и, тем самым, изменять их общую активность. Предпочтительно такое модулирование будет обеспечивать по меньшей мере 10% изменение измеряемой активности иммунной системы, более предпочтительно по меньшей мере 50% изменение такой активности или по меньшей мере 2-кратное, 5-кратное, 10-кратное и/или еще более предпочтительно по меньшей мере 100-кратное изменение такой активности.

Предполагается, что термин «по сути», используемый в контексте связывания или проявляемого эффекта, обозначает, что наблюдаемый эффект является физиологически или терапевтически значимым. Так, например, молекула способна значительно блокировать активность лиганда или рецептора, если степень блокады является физиологически или терапевтически значимой (например, если такая степень составляет более 60% полной величины, более 70% полной величины, более 75% полной величины, более 80% полной величины, более 85% полной величины, более 90% полной величины, более 95% полной величины или более 97% полной величины). Аналогично, считается, что молекула имеет по сути такую же иммunoспецифичность и/или характеристику, как другая молекула, если такие иммunoспецифичности и характеристики более чем на 60% идентичны, более чем на 70% идентичны, более чем 75% идентичны, более чем на 80% идентичны, более чем на 85% идентичны, более чем на 90% идентичны, более чем на

95% идентичны или более чем на 97% идентичны.

Используемые в данном документе «костимулирующие» сигналы включают в себя положительные костимулирующие сигналы (например, сигналы, которые приводят к повышению активности) и отрицательные костимулирующие сигналы (например, 5 сигналы, которые приводят к ингибиованию активности).

Используемый в данном документе термин «производное» относится к антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, который иммуноспецифично связывается с той же самой мишенью исходного или эталонного антитела, но который отличается аминокислотной последовательностью от исходного или эталонного антитела или его 10 антигенсвязывающего фрагмента в результате включения одной, двух, трех, четырех, пяти или более аминокислотных замен, добавлений, делеций или модификаций по отношению к исходному или эталонному антителу или его антигенсвязывающему фрагменту. Предпочтительно такие производные будут иметь по сути ту же самую иммуноспецифичность и/или характеристики или ту же самую иммуноспецифичность 15 и характеристики, что и исходное или эталонное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. Аминокислотные замены или добавления таких производных могут включать встречающиеся в природе (т.е. кодируемые ДНК) или не встречающиеся в природе аминокислотные остатки. Термин «производное» включает в себя, например, химерные или гуманизированные варианты, а также варианты, имеющие измененные участки 20 СН1, шарнирные участки, участки СН2, СН3 или СН4, для получения, например, антител и т.д., имеющих различные Fc-участки, которые проявляют усиленные или ослабленные эффекторные или связывающие характеристики.

Используемое в данном документе «химерное антитело» представляет собой молекулу, в которой различные части антитела происходят из различных молекул 25 иммуноглобулинов, например, антитела, имеющие вариабельный участок, происходящий из отличного от человеческого антитела, и константный участок человеческого иммуноглобулина.

Используемый в данном документе термин «гуманизированное антитело» относится к иммуноглобулину, включающему каркасный участок иммуноглобулина человека и 30 один или несколько CDR отличных от человеческого (как правило, мышного или крысиного) иммуноглобулина. Отличный от человеческого иммуноглобулин, представляющий CDR, называется «донорским», а человеческий иммуноглобулин, представляющий каркас, называется «акцепторным». Константные участки могут не присутствовать, однако, если они имеются, они должны быть по сути идентичны 35 константным участкам человеческих иммуноглобулинов, т.е., по меньшей мере приблизительно на 85–99%, предпочтительно приблизительно на 95% или более идентичны. Таким образом, все части гуманизированного иммуноглобулина, за исключением, возможно, CDR, по сути идентичны соответствующим частям встречающихся в природе последовательностей человеческих иммуноглобулинов. 40 Гуманизированное антитело представляет собой антитело, содержащее легкую цепь гуманизированного иммуноглобулина и тяжелую цепь гуманизированного иммуноглобулина. Например, гуманизированное антитело не включало бы в себя типичное химерное антитело, поскольку, например, весь вариабельный участок химерного антитела является отличным от человеческого.

Используемый в данном документе термин «эндогенная концентрация» относится 45 к уровню, при котором молекула экспрессируется в нативном состоянии (например, в отсутствие векторов экспрессии или рекомбинантных промоторов) клеткой (при этом клетка может представлять собой нормальную клетку, раковую клетку или

инфицированную клетку).

Используемый в данном документе термин «лечить», «лечебный», «лечение» и «терапевтическое применение» относятся к устраниению, ослаблению или нормализации одного или нескольких симптомов заболевания или нарушения, обостренных SIGLEC-15

5 или его лигандом.

Используемое в данном документе «терапевтически эффективное количество» относится к количеству терапевтического агента, которое является эффективным для опосредования клинически значимого устраниния, ослабления или нормализации таких симптомов. Эффект является клинически значимым, если его величина является

10 достаточной для оказания влияния на здоровье или прогноз заболевания субъекта–реципиента. Терапевтически эффективное количество может относиться к количеству терапевтического агента, достаточного для замедления или сведения к минимуму начала заболевания, например, задержки или сведения к минимуму распространения рака. Терапевтически эффективное количество может также относиться

15 к количеству терапевтического агента, которое обеспечивает терапевтический эффект при лечении или контроле заболевания.

Используемый в данном документе термин «профилактический агент» относится к агенту, который может быть использован для предупреждения нарушения или заболевания до выявления каких–либо симптомов такого нарушения или заболевания.

20 «Профилактически эффективное» количество представляет собой количество профилактического агента, достаточного для опосредования такой защиты.

Профилактически эффективное количество может также относиться к количеству профилактического агента, которое обеспечивает профилактический эффект в предупреждении заболевания.

25 Используемый в данном документе термин «рак» относится к новообразованию или опухоли, образованной в результате патологического неконтролируемого роста клеток. Используемый в данном документе рак явным образом включает лейкозы и лимфомы. Термин «рак» относится к заболеванию, вовлекающему клетки, которые имеют

потенциал к метастазированию в отдаленные участки и проявляют фенотипические

30 признаки, которые отличаются от таковых клеток, не являющихся раковыми, например, образование колоний в трехмерном субстрате, таком как мягкий агар, или образование тубулярных сетей или паутинообразных матриц в трехмерной базальной мембране или препарate внеклеточного матрикса. Клетки, не являющиеся раковыми, не образуют колоний в мягком агаре и образуют отличающиеся структуры сферического типа в

35 трехмерной базальной мембране или препаратах внеклеточного матрикса.

Используемая в данном документе «иммунная клетка» относится к любой клетке гемопоэтического происхождения, в том числе, но не ограничиваясь ими, Т–клеткам, В–клеткам, моноцитам, дендритным клеткам и макрофагам.

40 Используемая в данном документе «валентность» относится к числу сайтов связывания, доступных на молекулу.

Используемый в данном документе термин «иммунологический» или «иммунный» ответ представляет собой развитие полезного гуморального (антителоопосредованного) и/или клеточного (опосредованного антигенспецифичными Т–клетками или продуктами их секреции) ответа, направленного против пептида у пациента–реципиента. Такой

45 ответ может представлять собой активный ответ, индуцированный введением иммуногена, или пассивный ответ, индуцированный введением антитела или примированных Т–клеток. Клеточный иммунный ответ вызывается презентацией полипептидных эпитопов в ассоциации с молекулами МНС I или II класса в целях

активации антигенспецифичных CD4<sup>+</sup> Т–хелперных клеток и/или CD8<sup>+</sup> цитотоксических Т–клеток. Ответ также может включать в себя активацию моноцитов, макрофагов, NK–клеток, базофилов, дендритных клеток, астроцитов, клеток микроглии, эозинофилов, активацию или рекрутинг нейтрофилов или других компонентов врожденного иммунитета. Наличие клеточно–опосредованного иммунологического ответа может быть определено с помощью анализов пролиферации (CD4<sup>+</sup> Т–клетки) или анализов с использованием CTL (цитотоксических Т–лимфоцитов). Относительный вклад гуморальных и клеточных ответов в защитный или терапевтический эффект иммуногена может быть охарактеризован с помощью раздельного выделения антител и Т–клеток из иммунизированного сингенного животного и измерения защитного или терапевтического эффекта у второго субъекта.

Используемый в данном документе «иммуногенный агент» или «иммуноген» способен индуцировать иммунологический ответ против самого себя при введении млекопитающему, необязательно в сочетании с адьювантом.

Используемые в данном документе термины «индивидуум», «хозяин», «субъект» и «пациент» используются в данном документе взаимозаменяющими и относятся к млекопитающему, в том числе, не ограничиваясь ими, человеку, грызунам, таким как мыши и крысы, и другим лабораторным животным.

Используемый в данном документе термин «полипептид» относится к цепи аминокислот любой длины, вне зависимости от модификации (например, фосфорилирования или гликозилирования). Термин полипептид включает в себя белки и их фрагменты. Полипептиды могут быть «экзогенными», означая, что они являются «гетерологичными», т.е. чужеродными по отношению к клетке–хозяину, подлежащей использованию, такими как человеческий полипептид, продуцируемый бактериальной клеткой. Полипептиды раскрыты в данном документе в виде последовательностей аминокислотных остатков. Эти последовательности пишутся слева направо в направлении от амино– к карбоксиконцу. В соответствии со стандартной номенклатурой последовательности аминокислотных остатков обозначаются как с помощью трехбуквенного, так и однобуквенного кода, указанного следующим образом: аланин (Ala, A), аргинин (Arg, R), аспарагин (Asn, N), аспарагиновая кислота (Asp, D), цистеин (Cys, C), глутамин (Gln, Q), глутаминовая кислота (Glu, E), глицин (Gly, G), гистидин (His, H), изолейцин (Ile, I), лейцин (Leu, L), лизин (Lys, K), метионин (Met, M), фенилаланин (Phe, F), пролин (Pro, P), серин (Ser, S), треонин (Thr, T), триптофан (Trp, W), тирозин (Tyr, Y) и валин (Val, V).

Используемый в данном документе термин «вариант» относится к полипептиду или полинуклеотиду, который отличается от эталонного полипептида или полинуклеотида, однако сохраняет основные свойства. Типичный вариант полипептида отличается аминокислотной последовательностью от другого, эталонного, полипептида. Как правило, различия ограничены таким образом, что последовательности эталонного полипептида и варианта в целом очень похожи и во многих участках идентичны. Вариант и эталонный полипептид могут отличаться аминокислотной последовательностью вследствие одной или нескольких модификаций (например, замен, добавлений и/или делеций). Замещенный или вставленный аминокислотный остаток может представлять собой или может не представлять собой таковой, кодируемый с помощью генетического кода. Вариант полипептида может встречаться в природе, например, аллельный вариант или может представлять собой вариант, который, как известно, не встречается в природе.

Модификации и изменения могут быть выполнены в структуре полипептидов по данному раскрытию и по–прежнему можно получить молекулу, имеющую аналогичные

характеристики, как и полипептид (например, консервативную аминокислотную замену). Например, определенные аминокислоты могут быть замещены на другие аминокислоты в последовательности без заметной потери активности. Поскольку это является интерактивной способностью природой полипептида, которая определяет

- 5 биологическую функциональную активность этого полипептида, то определенные аминокислотные замены могут быть выполнены в полипептидной последовательности и при этом по-прежнему можно получать полипептид с аналогичными свойствами.

При выполнении таких замен можно учитывать индекс гидропатичности аминокислот. Важность индекса гидропатичности аминокислот в обеспечении биологической функции 10 полипептида в целом понятна в данной области техники. Известно, что определенные аминокислоты могут быть замещены другими аминокислотами, имеющими аналогичный индекс или балл гидропатичности, и по-прежнему приводить к образованию полипептида с аналогичной биологической активностью. Каждой аминокислоте был присвоен индекс гидропатичности на основании ее гидрофобности и зарядных 15 характеристик. Эти индексы являются следующими: изолейцин (+4,5); валин (+4,2); лейцин (+3,8); фенилаланин (+2,8); цистеин/цистин (+2,5); метионин (+1,9); аланин (+1,8); глицин (-0,4); треонин (-0,7); серин (-0,8); триптофан (-0,9); тирозин (-1,3); пролин (-1,6); гистидин (-3,2); глутамат (-3,5); глутамин (-3,5); аспартат (-3,5); аспарагин (-3,5); лизин (-3,9); и аргинин (-4,5).

20 Считается, что относительный гидропатичный характер аминокислоты определяет вторичную структуру образующегося полипептида, которая, в свою очередь, определяет взаимодействие с другими молекулами, такими как ферменты, субстраты, рецепторы, антитела, антигены и кофакторы. В данной области техники известно, что аминокислота может быть замещена другой аминокислотой, имеющей аналогичный индекс 25 гидропатичности, и по-прежнему можно получать функционально эквивалентный полипептид. При таких изменениях замена аминокислот, индексы гидропатичности которых находятся в пределах  $\pm 2$ , является предпочтительной, таковые в пределах  $\pm 1$  являются особенно предпочтительными и таковые в пределах  $\pm 0,5$  являются еще более предпочтительными.

30 Замена подобных аминокислот также может быть выполнена на основании гидрофильности, в частности, если полипептид или пептид с эквивалентной биологической функцией, полученный подобным образом, предполагается использовать в иммунологических вариантах осуществления. Следующие значения гидрофильности были присвоены аминокислотным остаткам: аргинин (+3,0); лизин (+3,0); аспартат (+3,0  $\pm$  1); глутамат (+3,0  $\pm$  1); серин (+0,3); аспарагин (+0,2); глутамин (+0,2); глицин (0); пролин (-0,5  $\pm$  1); треонин (-0,4); аланин (-0,5); гистидин (-0,5); цистеин (-1,0); метионин (-1,3); валин (-1,5); лейцин (-1,8); изолейцин (-1,8); тирозин (-2,3); фенилаланин (-2,5); триптофан (-3,4). Считается, что аминокислота может быть замещена другой, имеющей аналогичное значение гидрофильности, и по-прежнему можно получать биологически 40 эквивалентный, и, в частности, иммунологически эквивалентный полипептид. При таких изменениях замена аминокислот, значения гидрофильности которых находятся в пределах  $\pm 2$ , является предпочтительной, таковые в пределах  $\pm 1$  являются особенно предпочтительными и таковые в пределах  $\pm 0,5$  являются еще более предпочтительными.

45 Как указано выше, аминокислотные замены, как правило, основаны на относительном сходстве заместителей боковых цепей аминокислот, например, их гидрофобности, гидрофильности, заряде, размере и т.п. Иллюстративные замены, которые учитывают вышеизложенные характеристики, хорошо известны специалистам в данной области техники и включают (исходный остаток: иллюстративная замена):

(Ala: Gly, Ser), (Arg: Lys), (Asn: Gln, His), (Asp: Glu, Cys, Ser), (Gln: Asn), (Glu: Asp), (Gly: Ala), (His: Asn, Gln), (Ile: Leu, Val), (Leu: Ile, Val), (Lys: Arg), (Met: Leu, Tyr), (Ser: Thr), (Thr: Ser), (Tip: Tyr), (Tyr: Trp, Phe) и (Val: Ile, Leu). Таким образом, варианты осуществления по данному раскрытию предусматривают функциональные или

- 5 биологические эквиваленты полипептида, изложенные выше. В частности, варианты осуществления полипептидов могут включать варианты, которые на около 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичны последовательности полипептида, представляющего интерес.

Термин «процент (%) идентичности последовательности» определяют в виде процента

- 10 нуклеотидов или аминокислот в кандидатной последовательности, которые идентичны нуклеотидам или аминокислотам в эталонной последовательности нуклеиновой кислоты, после выравнивания последовательностей и введения промежутков, при необходимости, для достижения максимального процента идентичности последовательностей.

- Выравнивание в целях определения процента идентичности последовательностей может 15 быть достигнуто различными способами, которые находятся в пределах компетенции специалиста в данной области техники, например, с помощью общедоступного программного обеспечения, такого как программное обеспечение BLAST, BLAST-2, ALIGN, ALIGN-2 или Megalign (DNASTAR). Подходящие параметры для измерения выравнивания, в том числе любых выравниваний, необходимых для достижения 20 максимального выравнивания по отношению к полному размеру последовательностей, подлежащих сравнению, могут быть определены с помощью известных способов.

- В целях данного документа % идентичности последовательностей определенной нуклеотидной или аминокислотной последовательности С по отношению, с или против определенной нуклеотидной последовательности D (который альтернативно может 25 быть перефразирован в виде определенной последовательности С, которая имеет или содержит определенный % идентичности последовательности по отношению, с или против определенной последовательности D) рассчитывается следующим образом:

100 умножить на дробь W/Z,

- где W представляет собой число нуклеотидов или аминокислот, оцениваемых в 30 качестве идентичных совпадений с помощью программы выравнивания последовательностей при выравнивании С и D в этой программе, и где Z представляет собой общее число нуклеотидов или аминокислот в D. Будет понятно, что в случае, если длина последовательности С не равна длине последовательности D, % идентичности последовательностей С по отношению к D не будет равной % идентичности 35 последовательностей D по отношению к С.

- Используемый в данном документе термин «фармацевтически приемлемый носитель» включает в себя любой из стандартных фармацевтических носителей, такой как фосфатно–солевой буферный раствор, вода и эмульсии, такие как эмульсия масло/вода или вода/масло, и различные типы увлажняющих агентов.

- 40 Используемые в данном документе термины «антигенная детерминанта» и «эпитоп» используются взаимозаменяющими и относятся к структуре, распознаваемой антителом.

- Используемый в данном документе «конформационный эпитоп» представляет собой 45 эпитоп, который содержит непрерывные участки аминокислотной последовательности антигена. Антитела связывают конформационный эпитоп на основании трехмерных свойств поверхности, формы или третичной структуры антигена.

- Используемый в данном документе «линейный эпитоп» представляет собой эпитоп, который образован непрерывной последовательностью аминокислот из антигена. Линейные эпитопы в типичном случае содержат от около 5 до около 10 непрерывных

аминокислотных остатков. Антитела связывают линейный эпитоп на основании первичной последовательности антигена.

Используемый в данном документе «паратоп», также называемый «антигенсвязывающим сайтом», представляет собой часть антитела, которое распознает и связывается с антигеном.

## II. Композиции

### A. Последовательности SIGLEC-15

Ig–подобный лектин 15, связывающий сиаловую кислоту («SIGLEC-15», также называемый антиген CD33–подобный 3 и CD33L3) представляет собой трансмембранный белок 1 типа, экспрессируемый на макрофагах и/или дендритных клетках селезенки и лимфатических узлов человека (Angata, et al., *Glycobiology*, 17(8):838–46 (2007), которая конкретным образом включена в данный документ посредством ссылки в полном объеме). Внеклеточный домен SIGLEC-15 связывается с сиалированными гликопротеинами и предпочтительно распознает структуру Neu5Aca2–6GalNAca.

SIGLEC-15 ассоциируется с активирующим белком сигнальных адаптерных белков DNAX и (DAP)12 и DAP10 с помощью своего лизинового остатка (остаток K274) в трансмембранным домене, указывая на то, что он функционирует в качестве активирующей сигнальной молекулы. Ортологи SIGLEC-15 присутствуют не только у млекопитающих, но также и в других ответвлениях позвоночных, и считается, что они играют консервативную регуляторную роль в иммунной системе позвоночных.

SIGLEC-15 непосредственно регулирует Т–клеточную функцию в результате ингибирования Т–клеточной пролиферации и продуцирования провоспалительных цитокинов. SIGLEC-15 косвенно воздействует на Т–клеточную функцию с помощью миелодиных клеток. SIGLEC-15, экспрессируемый на опухолевых клетках или макрофагах M2, взаимодействует со своим партнером по связыванию на миелодиных клетках, обеспечивая сигнал для выживания и дифференцировки в уникальной популяции миелоидных клеток, которая продуцирует TNF–α, IL–6 и IL–1β. Секретируемые цитокины дополнительны активируют опухолевый рост. Эта подгруппа опухолевых клеток может влиять на Т–клеточную функцию в результате снижения продуцирования IFN–γ в Т–клетках.

Аминокислотные последовательности SIGLEC-15 человека известны в данной области техники и включают в себя, например,

MEKSIWLLACLAWLPTGSFVRTKIDTENLLNTEVHSSPAQRWSMQVPPEVSAEAGDA  
AVLPCTFTHPHRHYDGPLTAIWRAGEPYAGPQVFRCAAARGSELCQTALSLHGRFRLL  
GNPRRN DLSLRVERLA LADDRRYFCRVEFAGDVHDRYES  
RHGVRLHVTAAPRIVNISVLPSPAHAFRALC TAEGEPPPALAWSGPALGNLAAVRSP  
REGHGHLVTAELPALTHDGRYTCTAANSLGRSEASVY LFRFHGASGASTVALLGAL  
GFKALLLGVLAAARAARRPEHLDTPDTPRSQAQESNYENLSQ MNPRSPATMCSP

(SEQ ID NO:1), UniProtKB – Q6ZMC9 (SIG15\_HUMAN), и которая явно включена

посредством ссылки в полном объеме.

SIGLEC-15 человека содержит сигнальную пептидную последовательность из аминокислот 1–19 SEQ ID NO:1, внеклеточный домен из аминокислот 20–263 SEQ ID NO:1 (изображен с помощью жирного и курсивного шрифта), трансмембранный домен из аминокислот 264–284 SEQ ID NO:1 и цитоплазматический домен из аминокислот 285–328 SEQ ID NO:1. Предполагается, что Ig–подобный V–домен происходит из аминокислот 40–158 SEQ ID NO:1 (изображен с помощью одиночного подчеркивания), и предполагается, что Ig–подобный C2–домен происходит из аминокислот 168–251 SEQ ID NO:1 (изображен с помощью двойного подчеркивания). Считается, что дисульфидные

связи образуются между остатками 64 и 142; 95 и 104; и 187 и 237, и предполагается, что гликозилирование происходит в остатке 172. Аминокислоты 276–279 были обозначены как полилейциновый домен. Известным вариантом является вариант с заменой F273L.

5 Аминокислотные последовательности SIGLEC–15 мыши известны в данной области техники и включают в себя, например,

MEGSQLLLACLACVLQMGSLVKRRDASGDLLNTEAHSAPAQRWSMQVPAEVNAEAGDA  
AVLPCTFTHPHRHYDGPLTAIWRSGEPYAGPQVFRCTAAPGSELCQTALSLHGRFRL  
GNPRRN

10 DLSLRVERLALADSGRYFCRVEFTGDAHDRIESRHGVRLRVTAAPRIVNISVLP GPAHAFRAL  
CTAEGEPPPALA WSGPAPGNSSAALQGQGHGYQVTAE<sup>L</sup>PDGRYTC AANSLGR  
AEASVYL FRFHGAPGTSTALLLGALGLKALLLGILGARATRRRLDHIVPQDTPPRSQ  
AQESNYENLSQM SPPGHQLPRVCCEELLSHHHLVIHNEK

15 (SEQ ID NO:2), UniProtKB – A7E1W8 (A7E1W8\_MOUSE), и которая явно включена посредством ссылки в полном объеме.

SIGLEC–15 мыши содержит сигнальную пептидную последовательность из аминокислот 1–23 SEQ ID NO:2, внеклеточный домен из аминокислот 24–262 SEQ ID NO:2 (изображен с помощью жирного и курсивного шрифта), трансмембранный домен из аминокислот 263–283 SEQ ID NO:2 и цитоплазматический домен из аминокислот 284–342 SEQ ID NO:2. Предполагается, что Ig–подобный V–домен происходит из аминокислот 40–145 SEQ ID NO:2 (изображен с помощью одиночного подчеркивания), и предполагается, что Ig–подобный C2–домен происходит из аминокислот 169–250 SEQ ID NO:2 (изображен с помощью двойного подчеркивания).

#### В. Молекулы, связывающие SIGLEC–15

25 Предложены молекулы, связывающие SIGLEC–15, такие как антитела и их антигенсвязывающие фрагменты и другие полипептиды, которые связываются с SIGLEC–15. Ниже предложены последовательности вариабельных участков тяжелой и легкой цепи и их CDR из мышиных анти–SIGLEC–15 антител. Предложены антитела, антигенсвязывающие фрагменты и другие полипептиды, содержащие одну или несколько 30 из последовательностей, представленных ниже, и их вариантов. Например, предложены антитела, антигенсвязывающие фрагменты и полипептиды, содержащие одну, две или три CDR вариабельного участка легкой цепи анти–SIGLEC–15 антитела, и/или одну, две или три CDR вариабельного участка тяжелой цепи анти–SIGLEC–15 антитела, которые связываются с SIGLEC–15. В некоторых вариантах осуществления антитела, 35 антигенсвязывающие фрагменты и полипептиды содержат вариабельный участок легкой цепи анти–SIGLEC–15 антитела, вариабельный участок тяжелой цепи анти–SIGLEC–15 антитела или их комбинацию и могут связываться с SIGLEC–15.

Например, раскрываемые молекулы могут иммуноспецифично связываться с SIGLEC–15 (например, SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 и др.). Например, предложены 40 молекулы, которые могут иммуноспецифично связываться с SIGLEC–15 человека:

- (I) расположенным на поверхности клетки (предпочтительно живой клетки);
- (II) расположенным на поверхности клетки (предпочтительно живой клетки) в эндогенной концентрации;
- (III) расположенным на поверхности живой клетки, и модулирует связывание между 45 SIGLEC–15 (например, SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 и т.д.) и Neu5Acα2–6GalNAcα, LRRC4C, контрецептором SIGLEC–15 (S15–CR) или их комбинацией;
- (IV) расположенным на поверхности живой клетки, и снижает, предупреждает или ингибирует секрецию TGF–β;

(V) расположенным на поверхности живой клетки, при этом клетка представляет собой миелоидную клетку, такую как макрофаг или дендритная клетка, или раковую клетку (например, клетку рака головного мозга, клетку почечно-клеточного рака (RCC), клетку саркомы Юинга, клетку рака молочной железы или клетку рака яичника);

5 (VI) их комбинацией.

**1. Последовательности мышного анти-человеческий SIGLEC-15 антитела**

Как описано в Примерах ниже, мышей с нокаутом по SIGLEC-15 (n=2) иммунизировали hS15.mIg (внеклеточным доменом SIGLEC-15 человека [ECD], слитым с IgG2a мыши), эмульгированным с CFA (полным адьювантом Фрейнда), для генерации 10 панели мышиных анти-человеческий SIGLEC-15 mAb.

Ниже предложены последовательности вариабельных участков легкой и тяжелой цепи моноклональных антител, продуцируемых двадцатью четырьмя гибридомами, называемых в данном документе 1B2, 1C3, 1H3, 1C12, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5, 15 10G9, 6A (также NC6 и №6), 28A (также NC28 и №28), 63A (также называемого NC63 и №63), 71A (также называемого NC71 и №71), 77A (также называемого NC77 и №77), 80A (также называемого NC80 и №80), 82B (также называемого NC82 и №82), 83B (также называемого NC83 и №83), 92A (также называемого NC92 и №92), 93B (также называемого NC93 и №93), 99B (также называемого NC99 и №99), 104B (также называемого NC104 и №104) и 105A (также называемого NC105 и №105). CDR 20 подчеркнуты и выделены жирным шрифтом в контексте последовательностей легкой и тяжелой цепи. Последовательности и CDR также изображены в выравниваниях на Фиг. 2А–3С.

**a. ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 1B2:**

**i. Легкая цепь**

25 Аминокислотная последовательность вариабельного участка легкой цепи 1B2 представляет собой:

DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSIVHSNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIY**KVSNR**  
FSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFQGSHPWTFGGGTKLEIK

(SEQ ID NO:3), при этом

30 CDR1 легкой цепи 1B2: RSSQSIVHSNGNTYLE (SEQ ID NO:24)

CDR2 легкой цепи 1B2: KVSNRFS (SEQ ID NO:32)

CDR3 легкой цепи 1B2: FQGSHPWT (SEQ ID NO:39).

Последовательность нукleinовой кислоты, кодирующая вариабельный участок легкой цепи 1B2, представляет собой:

35 GATGTTTGATGACCCAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCAGTCTGGAGATCAAG  
CCTC CATCTCTTGCAGATCTAGTCAGAGCATTGTACATAGTAATGGAAACACCTATT  
TAGAATGGTAC CTGCAGAAACCAGGCCAGTCTCAAAGCTCCTGATCTACAAAGTT  
TCCAACCGATTCTGGGG TCCCAGACAGGTTAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGA  
TTTCACACTCAAGATCAGCAGAGTGGA GGCTGAGGATCTGGAGTTATTACTGCT  
40 TTCAAGGTTCACATGTTCCGTGGACGTTGGTGG A GGCACCAAGCTGGAAATCAAG  
(SEQ ID NO:74).

**ii. Тяжелая цепь**

Аминокислотная последовательность вариабельного участка тяжелой цепи 1B2 представляет собой:

45 EVQLVESGGGVVKPGGSLKLSCAASGFTFSDYGMHWVRQAPEKGLEWVA**YISSGSSIY**  
**YADTVKGRFTISRDNAKNTLFLQMTRLSEDTAMYCYC**  
**ARDHYHGNGSDYWGQGTTLVSS**

(SEQ ID NO:13), при этом

CDR1 тяжелой цепи 1B2: GFTFSDYGMH (SEQ ID NO:46),  
 CDR2 тяжелой цепи 1B2: YISSGSSIYYADTVKG (SEQ ID NO:56),  
 CDR3 тяжелой цепи 1B2: DHYHGNGSDY (SEQ ID NO:67).

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельный участок

5 тяжелой цепи 1B2, представляет собой:

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTCGTGAAGCCTGGAGGGTCCCTG  
 AAACT CTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACTTCAGTGACTATGGAATGCACTGGGTT  
 CGTCAGGCTCCA GAGAAGGGCTGGAGTGGGTTGCATACTAGTAGTGGCAGTAG  
 TATCATCTACTATGCAGACA CAGTGAAGGGCCGATTCAACATCTCCAGAGACAATG  
 10 CCAAGAACACCCTGTTCCCTGCAAATGAC CAGTCTGAGGTCTGAGGACACGGCCATG  
 TATTACTGTGCAAGGGACCACTACCATGGTAACGGG TCCGACTACTGGGGCCAAGG  
 CACCACTCTCACAGTCTCCTCA

(SEQ ID NO:85).

**б. ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 1C3:**

15 **i. Легкая цепь**

Аминокислотная последовательность вариабельного участка легкой цепи 1C3  
 представляет собой:

DIVMTQAAPSVPVTPGESVSISCRSSKSSLHSNGNTYLYWFLQRPGQSPQLIYRMSNL  
 ASGPDRFGGSGSGTAFTLRISRVEADVGFYCMQHLEYPYTFGGTRLEIK

20 (SEQ ID NO:4), при этом

CDR1 легкой цепи 1C3: RSSKSSLHSNGNTYLY (SEQ ID NO:25)

CDR2 легкой цепи 1C3: RMSNLAS (SEQ ID NO:33)

CDR3 легкой цепи 1C3: MQHLEYPYT (SEQ ID NO:40).

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельный участок

25 легкой цепи 1C3, представляет собой:

GATATTGTGATGACTCAGGCTGCACCCCTCTGTACCTGTCACCTGGAGAGTCAG  
 TATC CATCTCCTGCAGGTCTAGTAAGAGTCTCCTGCATAGTAATGGCAACACTTACT  
 TATATTGGTTCTGAGGCCAGGCCAGTCTCCTCAGCTCCTGATATATCGGATGT  
 CCAACCTTGCCTCAGGAG TCCCAGACAGGTTCCGTGGCAGTGGGTCAAGGAAGTGCT  
 30 TTCACACTGAGAATCAGTAGAGTGGA GGCTGAGGATGTGGGTTTTATTACTGTAT  
 GCAACATCTAGAATATCCGTACACGTTCCGGAGGG GGGACCAGGCTGGAAATAAAA  
 (SEQ ID NO:75).

**ii. Тяжелая цепь**

Аминокислотная последовательность вариабельного участка тяжелой цепи 1C3

35 представляет собой:

QVQLKQSGAEIVKPGASVKISCKASGYIFTDYYVNWKQRPGQGLEWIGKIGPGSVSIY  
 YNEKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCASYYYGFAYWGQGTIVTVSA

(SEQ ID NO:14), при этом

CDR1 тяжелой цепи 1C3: GYIFTDYYVN (SEQ ID NO:47)

40 CDR2 тяжелой цепи 1C3: KIGPGSVSIYYNEKFKG (SEQ ID NO:57)

CDR3 тяжелой цепи 1C3: YYYGFAY (SEQ ID NO:68).

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельный участок  
 тяжелой цепи 1C3, представляет собой:

CAGGTCCAGCTGAAGCAGTCTGGAGCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTG  
 45 AAGAT ATCCTGCAAGGCTTCTGGCTACATCTTCACTGACTATTATGTAACACTGGGTG  
 AAGCAGAGGCCT GGACAGGGCCTTGAGTGGATTGGAAAGATTGGCCTGGAAAGTG  
 TTAGTATTTACTACAATGAGA AGTTCAAGGGCAAGGCCACACTGACTGCAGACAAA  
 TCCTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTCAG CAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCAGT

CTATTCTGTGCAAGTTATTACTACGGGTTGCTTAC TGGGGCCAAGGGACTCTGGT  
 CACTGTCTCTGCA  
 (SEQ ID NO:86).

**c. ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 1Н3:**

**i. Легкая цепь**

Аминокислотная последовательность вариабельного участка легкой цепи 1Н3 представляет собой:

DIQMTQASSLSVSLGGRVTITCKKASDHINNWLAWYQQKPGNAPRLLISGATSLETGVP  
 SRFSGSGSGKDYTLSITSLQTEDVATYYCQQYWSSPLTFGAGTKLELK

(SEQ ID NO:5), при этом

CDR1 легкой цепи 1Н3: KASDHINNWLA (SEQ ID NO:26)

CDR2 легкой цепи 1Н3: GATSLET (SEQ ID NO:34)

CDR3 легкой цепи 1Н3: QQYWSSPLT (SEQ ID NO:41).

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельный участок

легкой цепи 1Н3, представляет собой:

GACATCCAGATGACACAGGCTTCATCCTCCTTGTCTGTATCTCTAGGAGGCAGAG  
 TCAC CATTACTTGCAAGGCAAGTGACCACATTAATAATTGGTTGGCCTGGTATCAG  
 CAGAAACCAGGA AATGCTCCTAGGCTCTTAATATCTGGTGCAACCAGTTGGAAAC  
 TGGGGTTCCTCAAGATTCA GTGGCAGTGGATCTGGAAAGGATTACACTCTCAGCA  
 TTACCAGTCTCAGACTGAAGATGTTGC TACTTATTACTGTCAACAGTATTGGAGTT  
 CTCCTCTCACGTTGGTGGCTGGGACCAAGCTGGAG CTGAAA  
 (SEQ ID NO:76).

**ii. Гуманизированная легкая цепь**

В одном варианте осуществления предложено гуманизированное анти-SIGLEC-15

антитело, имеющее аминокислотную последовательность вариабельной легкой цепи  
 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKKASDHINNWLAWYQQKPGKAPKLISGATSLETGVP  
 SRFSGSGSGTDYTFTISSLQPEDVATYYCQQYWSSPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:209),  
 при этом

CDR1 легкой цепи 1Н3: KASDHINNWLA (SEQ ID NO:26)

CDR2 легкой цепи 1Н3: GATSLET (SEQ ID NO:34)

CDR3 легкой цепи 1Н3: QQYWSSPLT (SEQ ID NO:41).

Подчеркнутые аминокислоты изменены по отношению к исходной последовательности.

В другом варианте осуществления предложено гуманизированное анти-SIGLEC-15

антитело, имеющее аминокислотную последовательность вариабельной легкой цепи  
 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKKASDHINNWLAWYQQKPGKVPKLISGATSLETGVP  
 SRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDVATYYCQQYWSSPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:210),  
 при этом

CDR1 легкой цепи 1Н3: KASDHINNWLA (SEQ ID NO:26)

CDR2 легкой цепи 1Н3: GATSLET (SEQ ID NO:34)

CDR3 легкой цепи 1Н3: QQYWSSPLT (SEQ ID NO:41).

Подчеркнутые аминокислоты изменены по отношению к исходной последовательности.

В еще одном варианте осуществления предложено гуманизированное анти-SIGLEC-15

антитело, имеющее аминокислотную последовательность вариабельной легкой цепи  
 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKKASDHINNWLAWYQQKPGKAPKLISGATSLETGVP  
 SRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDVATYYCQQYWSSPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:211),  
 при этом

CDR1 легкой цепи 1H3: **KASDHINNWLA** (SEQ ID NO:26)

CDR2 легкой цепи 1H3: **GATSLET** (SEQ ID NO:34)

CDR3 легкой цепи 1H3: **QQYWSSPLT** (SEQ ID NO:41).

Подчеркнутые аминокислоты изменены по отношению к исходной

последовательности.

### iii. Тяжелая цепь

Аминокислотная последовательность вариабельного участка тяжелой цепи 1H3 представляет собой:

**QVQLKESGPGLVAPSQSLISITCTVSGFSLSNYGVHWVRQPPGKGLEWLVLIWSDGSTTY**

**NSALKSRLSISKDNSKSQVFLKMNSLQTGDTAMYYC**

**ARHPYDDYSGYYYYTMDYWGQGTSVTVSS**

(SEQ ID NO:15), при этом

CDR1 тяжелой цепи 1H3: **NYGVH** (SEQ ID NO:48)

CDR2 тяжелой цепи 1H3: **LIWSDGSTTYNSALKS** (SEQ ID NO:58)

**CDR3 тяжелой цепи 1H3: HPYDDYSGYYYYTMDY** (SEQ ID NO:69).

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельный участок тяжелой цепи 1H3, представляет собой:

**CAGGTGCAGCTGAAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTCACAGAGCCTG  
TCCAT CACATGCACCGTCTCAGGGTTCTCATTAAGCAATTATGGTGTACACTGGGTT**

**CGCCAGCCTCCA GGAAAGGGCTGGAGTGGCTGGTACTGATATGGAGTGATGGAA  
GCACAACCTATAATTCAAGCTC TCAAATCCAGACTGAGCATCAGCAAGGACAACCTCC  
AAGAGCCAAGTTTCTTAAAAATGAACAG TCTCCAAACTGGTGACACAGCCATGTA  
CTACTGTGCCAGACATCCCTATGATGATTATTCCGGC TATTACTATACTATGGACTA  
CTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA**

(SEQ ID NO:87).

### iv. Гуманизированные тяжелые цепи

В одном варианте осуществления предложено гуманизированное анти-SIGLEC-15 антитело, имеющее аминокислотную последовательность вариабельной тяжелой цепи

**QVQLQESGPGLVKPSETSLTCTVSGFSLSNYGVHWVRQPPGKGLEWIVLIWSDGSTTY**

**NSALKSRVTISKDTSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCARHPYDDYSGYYYYTMDYWGQGTLVTVSS**  
(SEQ ID NO:212), при этом

CDR1 тяжелой цепи 1H3: **NYGVH** (SEQ ID NO:48)

CDR2 тяжелой цепи 1H3: **LIWSDGSTTYNSALKS** (SEQ ID NO:58)

CDR3 тяжелой цепи 1H3: **HPYDDYSGYYYYTMDY** (SEQ ID NO:69).

Подчеркнутые аминокислоты изменены по отношению к исходной последовательности.

В другом варианте осуществления предложено гуманизированное анти-SIGLEC-15 антитело, имеющее аминокислотную последовательность вариабельной тяжелой цепи

**QVQLQESGPGLVKPSETSLTCTVSGFSLSNYGVHWVRQPPGKGLEWIGLIWSDGSTTY**

**ASALKSRVTISKDTSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCARHPYDDYSGYYYYTMDYWGQGTLVTVS**  
(SEQ ID NO:213), при этом

CDR1 тяжелой цепи 1H3: **NYGVH** (SEQ ID NO:48)

CDR2 тяжелой цепи 1H3: **LIWSDGSTTYASALKS** (SEQ ID NO:214)

CDR3 тяжелой цепи 1H3: **HPYDDYSGYYYYTMDY** (SEQ ID NO:69).

Подчеркнутые аминокислоты изменены по отношению к исходной последовательности.

В еще одном варианте осуществления предложено гуманизированное анти-SIGLEC-15 антитело, имеющее аминокислотную последовательность вариабельной тяжелой цепи

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLSNYGVHWVRQPPGKGLEWIGLIWSDGSTTY  
NPSLKSRTISKDTSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCARHPYDDYSGYYYTMDYWQGQTLVTVS  
(SEQ ID NO:215), при этом

CDR1 тяжелой цепи 1H3: NYGVH (SEQ ID NO:48)

<sup>5</sup> CDR2 тяжелой цепи 1H3: LIWSDGSTTYNPSLKS (SEQ ID NO:218)

CDR3 тяжелой цепи 1H3: HPYDDYSGYYYTMDY (SEQ ID NO:69).

Подчеркнутые аминокислоты изменены по отношению к исходной последовательности.

В другом варианте осуществления предложено гуманизированное анти-SIGLEC-15

<sup>10</sup> антитело, имеющее аминокислотную последовательность вариабельной тяжелой цепи  
QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLSNYGVHWVRQPPGKGLEWIGLIWSEGSTTY  
ASALKSRTISKDTSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCARHPYDDYSGYYYTMDYWQGQTLVTVS  
(SEQ ID NO:216), при этом

CDR1 тяжелой цепи 1H3: NYGVH (SEQ ID NO:48)

<sup>15</sup> CDR2 тяжелой цепи 1H3: LIWSEGSTTYASALKS (SEQ ID NO:217)

CDR3 тяжелой цепи 1H3: HPYDDYSGYYYTMDY (SEQ ID NO:69).

#### d. ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 1C12:

##### i. Легкая цепь

<sup>20</sup> Аминокислотная последовательность вариабельного участка легкой цепи 1C12  
представляет собой:

DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSIVHSNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNR  
FSGVPDRFSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPWTFGGGTKLEIK  
(SEQ ID NO:3), при этом

CDR1 легкой цепи 1C12: RSSQSIVHSNGNTYLE (SEQ ID NO:24)

<sup>25</sup> CDR2 легкой цепи 1C12: KVSNRFS (SEQ ID NO:32)

CDR3 легкой цепи 1C12: FQGSHVPWT (SEQ ID NO:39).

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельный участок  
легкой цепи 1C12, представляет собой:

<sup>30</sup> GATGTTTGATGACCCAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTTGGAGATCAAG  
CCTC CATCTCTTGCAGATCTAGTCAGAGCATTGTACATAGTAATGGAAACACCTATT  
TAGAACATGGTAC CTGCAGAAACCAGGCCAGTCTCAAAGCTCCTGATCTACAAAGTT  
TCCAACCGATTTCTGGGG TCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGA  
TTTCACACTCAAGATCAGCAGAGTGGA GGCTGAGGATCTGGGAGTTATTACTGCT  
TTCAAGGTTCACATGTTCCGTGGACGTTCGGTGGA GGCACCAAGCTGGAATCAA  
<sup>35</sup> (SEQ ID NO:77).

##### ii. Тяжелая цепь

Аминокислотная последовательность вариабельного участка тяжелой цепи 1C12  
представляет собой:

<sup>40</sup> EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFSFSDYGMHWVRQAPEKLEWVAYISSGSSILY  
YADIVKGRFTISRDNAKNTLFLQMTSRSEDTAMYYCARDHYHGNGSDYWGQGTLTVSS  
(SEQ ID NO:16), при этом

CDR1 тяжелой цепи 1C12: GFSFSDYGMH (SEQ ID NO:49)

CDR2 тяжелой цепи 1C12: YISSGSSILYADIVK (SEQ ID NO:59)

CDR3 тяжелой цепи 1C12: DHYHGNGSDY (SEQ ID NO:67).

<sup>45</sup> Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельный участок  
тяжелой цепи 1C12, представляет собой:

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTAGTGAAGCCTGGAGGGTCCCTG  
AAACT CTCCTGTGCAGCCTCTGGTTCTTCACTGACTATGGAATGCACTGGTT

CGTCAGGCTCCA GAGAAGGGCTGGAGTGGGTTGCATACATTAGTAGTGGCAGTAG  
 TATCCTCTACTATGCAGACA TAGTGAAGGGCCGATTACCACATCTCCAGAGACAATG  
 CCAAGAACACCCCTGTTCTGCAAATGAC CAGTCTGAGGTCTGAGGACACGGCCATG  
 TATTACTGTGCAAGGGACCACTACCATGGTAACGGG TCCGACTACTGGGGCCAAGG  
 5 CACCACTCTCACAGTCTCCTCA

(SEQ ID NO:88).

**e. ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 3Н10:**

**i. Легкая цепь**

Аминокислотная последовательность вариабельного участка легкой цепи 3Н10

10 представляет собой:

QIILTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSTSFMHWYQQKPGTSPKRWIFDTSKLASGVPG  
 RFIGSGSGTSYSLTISTMEAEDAATYYCHQRSAYPWTFGGGTKLEIK

(SEQ ID NO:6), при этом

CDR1 легкой цепи 3Н10: SASSSTSFMH (SEQ ID NO:27)

15 CDR2 легкой цепи 3Н10: DTSKLA (SEQ ID NO:35)

CDR3 легкой цепи 3Н10: HQRSAYPWT (SEQ ID NO:42).

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельный участок легкой цепи 3Н10, представляет собой:

CAAATTATTCTCACCCAGTCTCCAGCAATCATGTCTGCATCTCCAGGGGAGAAGG  
 20 TCAC CATGACCTGCAGTGCCAGCTCAAGTACAAGTTCATGCACTGGTACCAGCAG  
 AAGCCAGGCACC TCCCCAAAAGATGGATTTGACACATCCAAACTGGCTTCTGG  
 AGTCCCTGGTCGCTTCATTG GTAGTGGGTCTGGGACCTCTTATTCTCTCACAATCAG  
 CACCATGGAGGCTGAAGATGCTGCCAC TTATTACTGCCATCAGCGGAGTGCTTACC  
 CATGGACGTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATC AAA

25 (SEQ ID NO:78).

**ii. Тяжелая цепь**

Аминокислотная последовательность вариабельного участка тяжелой цепи 3Н10 представляет собой:

EVQLQQSGAELVRPGAVKLSCTASGFNIKDY~~YM~~HWVKERPEQGLEWIGRIDPEDGDIE  
 30 YDPKFQGKATMTADTSSNTAYLQFSSLTSEDTAVYYC  
 VTDYDYDGGWFAYWGQQGTLTVSA

(SEQ ID NO:17), при этом

CDR1 тяжелой цепи 3Н10: GFNIKDY~~YM~~H (SEQ ID NO:50)

CDR2 тяжелой цепи 3Н10: RIDPEDGDIEYDPKFQG (SEQ ID NO:60)

35 CDR3 тяжелой цепи 3Н10: DYDYDGGWFAY (SEQ ID NO:70).

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельный участок тяжелой цепи 3Н10, представляет собой:

GAGGTTCAGCTGCAGCAGTCTGGGGCAGAGCTTGTGAGGCCAGGGCCTCAGTC  
 AAGTT GTCCTGCACAGCTTCTGGCTTCAACATTAAAGACTACTATATGCACTGGGTG  
 40 AAAGAGAGGCCT GAACAGGGCCTGGAGTGGATTGGAAGGATTGATCCTGAGGATG  
 GTGATATTGAATATGACCCGA AGTTCCAGGGCAAGGCCACTATGACTGCAGATACA  
 TCCTCCAACACAGCCTACCTGCAGTTCAAG CAGCCTGACATCTGAGGACACTGCCGT  
 CTATTATTGTGTCA CGGACTATGATTACGACGGAGGC TGGTTGCTTACTGGGGCCA  
 AGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA

45 (SEQ ID NO:89).

**f. ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 5G12:**

**i. Легкая цепь**

Аминокислотная последовательность вариабельного участка легкой цепи 5G12

представляет собой:

DIKMTQSPSSMYASLGERVTIT**KASQDINSYLSWFQQKPGKSPKTLIYRANRLVDGVP**  
**SRFSGSGSQDYSLTISSELEYEDMGIYYCLQYDEFPYT**FGGGTKLEIKR

(SEQ ID NO:7), при этом

5 CDR1 легкой цепи 5G12: KASQDINSYLS (SEQ ID NO:28)

CDR2 легкой цепи 5G12: RANRLVD (SEQ ID NO:36)

CDR3 легкой цепи 5G12: LQYDEFPYT (SEQ ID NO:43).

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельный участок легкой цепи 5G12, представляет собой:

10 GACATCAAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCATGTATGCATCTAGGAGAGAGAG  
 TCAC TATCACTTGCAAGGCGAGTCAGGACATTAATAGCTATTAAAGCTGGTCCAG  
 CAGAAACCAGGG AAATCTCCTAACGACCCCTGATCTATCGTCAAACAGATTGGTAGA  
 TGGGGTCCCCTCAAGGTTCA GTGGCAGTGGATCTGGCAAGATTATTCTCACCA  
 TCAGCAGCCTGGAGTATGAAGATATGGG AATTATTATTGTCTACAGTATGATGAG  
 15 TTTCCGTACACGTTGGAGGGGGGACCAAGCTGGAA ATAAAAA

(SEQ ID NO:79).

**ii. Тяжелая цепь**

Аминокислотная последовательность вариабельного участка тяжелой цепи 5G12 представляет собой:

20 QVQLQQPGAEIVKPGASVKMSCKAS**GYTFTSYWIT**WVIQRPGQGLEWIGDIYCGSDTMH  
**YNEKFKNKATLTVDTSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYC**  
**ARWWWDYGSSYDYFDYWQGTTLVSS**

(SEQ ID NO:18), при этом

CDR1 тяжелой цепи 5G12: GYTFTSYWIT (SEQ ID NO:51)

25 CDR2 тяжелой цепи 5G12: DIYCGSDTMHYNEKFKN (SEQ ID NO:61)

CDR3 тяжелой цепи 5G12: WWWDYGSSYDYFDY (SEQ ID NO:71).

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельный участок тяжелой цепи 5G12, представляет собой:

CAGGTCCA**ACTGCAGCAGCCTGGGCTGAGCTTGTGAAGCCTGGGCTTCAGTG**  
 30 AAGAT GTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTCACCAGCTACTGGATAACCTGGGT  
 GATACAGAGGCCG GGACAAGGCCCTGAGTGGATTGGAGATATTATTGTGGTAGTG  
 ATACTATGCACTACAATGAGA AGTTCAAGAACAAAGGCCACACTGACTGTAGACACA  
 TCCTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTAG CAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGT  
 CTATTACTGTGCAAGATGGTGGACTACGGTAGTAGC TACGACTACTTGA  
 35 GGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA

(SEQ ID NO:90).

**g. ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 6F8:**

**i. Легкая цепь**

Аминокислотная последовательность вариабельного участка легкой цепи 6F8

40 представляет собой:

DIVMTQAAPSVPVTPGESVSIS**RSSKSLLHSNGNTYLYWFLQRPGQSPQLIYRMSNL**  
**A**SGVPDRFGSGSGTA**FTLRISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPYT**FGGGTKLEIKR  
 (SEQ ID NO:8), при этом

CDR1 легкой цепи 6F8: RSSKSLLHSNGNTYLY (SEQ ID NO:25)

45 CDR2 легкой цепи 6F8: RMSNLAS (SEQ ID NO:33)

CDR3 легкой цепи 6F8: MQHLEYPYT (SEQ ID NO:40).

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельный участок легкой цепи 6F8, представляет собой:

GATATTGTGATGACTCAGGCTGCACCCCTCTGTACCTGTCACTCCTGGAGAGTCAG  
 TATC CATCTCCTGCAGGTCTAGTAAGAGTCTCCTGCATAGTAATGGCAACACTTACT  
 TGTATTGGTTC CTGCAGAGGCCAGGCCAGTCTCCTCAGCTCCTGATATATCGGATGT  
 CCAACCTTGCCTCAGGAG TCCCAGACAGGTTGGCAGTGGGTCAAGGAAGTGCT  
 5 TTCACACTGAGAATCAGTAGAGTGGA GGCTGAGGATGTGGGTGTTATTATTGTAT  
 GCAACATCTAGAATATCCGTACACGTTGGAGGG GGGACCAAGCTGGAAATAAAA  
 (SEQ ID NO:80).

**ii. Тяжелая цепь**

Аминокислотная последовательность вариабельного участка тяжелой цепи 6F8

10 представляет собой:

QVQLKQSGPELVPGASVKISCEASGYTFTDYYVNWVKQRPGRGLEWIGKIGPGSVSIY  
YNEKFKDKATLTADKSSSTAYMQLSGLTSEDSAVYFCAS~~YYYGFAY~~WGQGTLVTVSA  
 (SEQ ID NO:19), при этом

CDR1 тяжелой цепи 6F8: GYTFTDYYVN (SEQ ID NO:52)

15 CDR2 тяжелой цепи 6F8: KIGPGSVIYYNEKFKD (SEQ ID NO:62)

CDR3 тяжелой цепи 6F8: YYYGFAY (SEQ ID NO:68).

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельный участок тяжелой цепи 6F8, представляет собой:

CAGGTCCAGCTGAAGCAGTCTGGACCTGAACCTGGTGAAGGCCTGGGGCTTCAGTG  
 20 AAGAT ATCCTGCGAGGCTTCTGGCTACACCTCACTGACTATTATGTAACACTGGGTG  
 AAGCAGAGGCCT GGACGGGGCCTTGAGTGGATTGAAAGATTGGCCTGGAAAGTG  
 TTAGTATTTACTACAATGAGA AGTTCAAGGACAAGGCCACACTGACTGCAGACAAA  
 TCCTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTCAG CGGCCTGACATCTGAGGACTCTGCAGT  
 CTATTCTGTGCAAGTTACTACGGTTTGCTTAC TGGGGCCAAGGGACTCTGGT  
 25 CACTGTCTCTGCA  
 (SEQ ID NO:91).

**h. ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 8C8:**

**i. Легкая цепь**

Аминокислотная последовательность вариабельного участка легкой цепи 8C8

30 представляет собой:

DIVMTQAAPSPVPVTPGESVSISCRSSKSSLHSNGNTYLYWFLQRPGQSPQLIYRMSNL  
ASGVPDRFGSGSGTAFTLRISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPYTFGGGTKLEIK  
 (SEQ ID NO:9), при этом

CDR1 легкой цепи 8C8: RSSKSSLHSNGNTYLY (SEQ ID NO:25)

35 CDR2 легкой цепи 8C8: RMSNLAS (SEQ ID NO:33)

CDR3 легкой цепи 8C8: MQHLEYPYT (SEQ ID NO:40).

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельный участок легкой цепи 8C8, представляет собой:

GATATTGTGATGACTCAGGCTGCACCCCTCTGTACCTGTCACTCCTGGAGAGTCAG  
 40 TATC CATCTCCTGCAGGTCTAGTAAGAGTCTCCTGCATAGTAATGGCAACACTTACT  
 TGTATTGGTTC CTGCAGAGGCCAGGCCAGTCTCCTCAGCTCCTGATATATCGGATGT  
 CCAACCTTGCCTCAGGAG TCCCAGACAGGTTGGCAGTGGGTCAAGGAAGTGCT  
 TTCACACTGAGAATCAGTAGAGTGGA GGCTGAGGATGTGGGTGTTATTACTGTAT  
 GCAACATCTAGAATATCCGTACACGTTGGAGGG GGGACCAAGCTGGAAATAAAA  
 45 (SEQ ID NO:81).

**ii. Тяжелая цепь**

Аминокислотная последовательность вариабельного участка тяжелой цепи 8C8 представляет собой:

**QVQLKQSGAELVKPGASVKISCKASGYTFTDYYVNWVKQRPGQGLEWIG**KIGPESVSIY**  
**YSEKFKA**KATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSA~~YFCAS~~**YYGFAY**WGQGTLTVSA**

(SEQ ID NO:20), при этом

CDR1 тяжелой цепи 8C8: GYTFTDYYVN (SEQ ID NO:52)

CDR2 тяжелой цепи 8C8: KIGPESVSIYYSEKFKA (SEQ ID NO:63)

CDR3 тяжелой цепи 8C8: YYGFAY (SEQ ID NO:68).

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельный участок тяжелой цепи 8C8, представляет собой:

CAGGTCCAGCTGAAGCAGTCTGGAGCTGAGCTGGTAAGCCTGGGGCTTCAGTG

10 AAGAT ATCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTCACTGACTATTATGTAAACTGGGTG  
 AAGCAGAGGCCT GGACAGGGCCTGAGTGGATTGGAAAGATTGGCCTGAAAGTG  
 TTAGTATTATTACAGTGAGA AGTTCAAGGCCAAGGCCACACTGACTGCAGACAAA  
 TCCTCCAGCACGCCATGCAACTCAG CAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCAGT  
 CTATTCTGTGCAAGTTATTACTACGGGTTGCTTAC TGGGGCCAAGGGACTCTGGT

15 CACTGTCTCTGCA

(SEQ ID NO:92).

**i. ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 8H8:**

**i. Легкая цепь**

Аминокислотная последовательность вариабельного участка легкой цепи 8H8

20 представляет собой:

**QAVVTQESALTSPGETVTLTCRSSSGAVTTGNFANWVQEKPDLHLFTGLIGGTNNRAPG**  
**VPARFSGSLIGDKAALTITGAQTEDEAIYFCALWYSNHWVFGGGTKLTVL**  
 (SEQ ID NO:10), при этом

CDR1 легкой цепи 8H8: RSSSGAVTTGNFAN (SEQ ID NO:29)

25 CDR2 легкой цепи 8H8: GTNNRAP (SEQ ID NO:37)

CDR3 легкой цепи 8H8: ALWYSNHWV (SEQ ID NO:44).

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельный участок легкой цепи 8H8, представляет собой:

CAGGCTGTTGACTCAGGAATCTGCACTCACCATCACCTGGTAAACAGTCA

30 CACT CACTTGTGCTCAAGTTCTGGGGCTGTTACAACCTGGTAACCTTGCCAACTGGG  
 TCCAAGAAAAA CCAGATCATTATTCACTGGTCTAATAGGTGGTACCAACAACCGA  
 GCTCCAGGTGTTCCCTGCCA GATTCTCAGGCTCCCTGATTGGAGACAAGGCTGCCCTC  
 ACCATCACAGGGGCACAGACTGAGGA TGAGGCAATATATTCTGTGCTATGGTA  
 CAGCAACCACGGGTGTTGGAGGAACCAAAC TGAUTGTCCATA

35 (SEQ ID NO:82).

**ii. Тяжелая цепь**

Аминокислотная последовательность вариабельного участка тяжелой цепи 8H8 представляет собой:

**EVQLLETGGGLVQPGGSRGLSCEGSGFTSGFWMSWVRQTPGKTLEWIGDINSDGSAIN**

40 **YAPSIKDRFTIFRDNDKNTLYLQMNNVRSEDTATYFCVRYDDYGYFDVWGTGTTVSS**  
 (SEQ ID NO:21), при этом

CDR1 тяжелой цепи 8H8: GFTSGFWMS (SEQ ID NO:53)

CDR2 тяжелой цепи 8H8: DINSDGSAINYAPSIKD (SEQ ID NO:64)

CDR3 тяжелой цепи 8H8: YDDYGYFDV (SEQ ID NO:72).

45 Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельный участок тяжелой цепи 8H8, представляет собой:

**GAAGTGCAGCTGTTGGAGACTGGAGGAGGCTTGGTGCAACCAGGGGGGTACGG**  
**GGACT CTCTTGTGAAGGCTCAGGGTTCACTTTAGTGGCTCTGGATGAGCTGGGT**

CGACAGACACCT GGGAAAGACCCTGGAGTGGATTGGAGACATTAATTCTGATGGCAG  
 TGCAATAAAACTACGCACCAT CCATAAAGGATCGATTCACTATCTTCAGAGACAATG  
 ACAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAA CAATGTGCGATCGGAGGACACAGCCAC  
 GTATTTCTGTGTGAGATATGATGATTACGGGTACTTC GATGTCTGGGCACAGGGA  
 5 CCACGGTCACCGTCTCCTCA

(SEQ ID NO:93).

**j. ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 9A5:**

**i. Легкая цепь**

Аминокислотная последовательность вариабельного участка легкой цепи 9A5

10 представляет собой:

DVVMTQTPLTLSVTIGQSASISCKSSQSLSDGKTYLNWLLQRPGQSPKRLIYLVSKL  
 DSGVPDRFTGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCWQGTHFPFTFGSGTKLEIK

(SEQ ID NO:11), при этом

CDR1 легкой цепи 9A5: KSSQSLDSDGKTYLN (SEQ ID NO:30)

15 CDR2 легкой цепи 9A5: LVSKLDS (SEQ ID NO:38)

CDR3 легкой цепи 9A5: WQGTHFPFT (SEQ ID NO:45).

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельный участок легкой цепи 9A5, представляет собой:

GATGTTGTGATGACCCAGACTCCACTCACTTTGTCGGTTACCATTGGACAGTCAG

20 CCTC CATCTCTTGCAAGTCAGTCAGAGCCTCTTAGATAGTGTGATGGAAAGACATAT  
 TTGAATTGGTTG TTACAGAGGCCAGGCCAGTCTCCAAGCGCCTAATCTATCTGGT  
 GTCTAAACTGGACTCTGGAG TCCCTGACAGGTTCACTGGCAGTGGATCAGGGACAG  
 ATTTCACACTGAAAATCAGCAGAGTGGA GGCTGAGGATTGGGAGTTATTATTGC  
 TGGCAAGGTACACATTTCATTACGTTGGCTCG GGGACAAAGTTGGAAATAAAA

25 (SEQ ID NO:83).

**ii. Тяжелая цепь**

Аминокислотная последовательность вариабельного участка тяжелой цепи 9A5 представляет собой:

HVQLQQSGAELARPGASVKLSCKASGYTFTSYGLIWVKQRTGQGLEWIGEIYPRSGNTY

30 YNEKFKGKATLTADISSSTAYMELRSLTSEDSAVYFCASSSPHGDYWQGQGTTLVSS

(SEQ ID NO:22), при этом

CDR1 тяжелой цепи 9A5: GYTFTSYGLI (SEQ ID NO:54)

CDR2 тяжелой цепи 9A5: EIYPRSGNTYYNEKFKG (SEQ ID NO:65)

CDR3 тяжелой цепи 9A5: SSPHGDY (SEQ ID NO:73).

35 Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельный участок тяжелой цепи 9A5, представляет собой:

CACGTTCAGCTGCAGCAGTCTGGAGCTGAGTTGGCGAGGCCTGGGGCTTCAGTGA  
 AGCT GTCCTGCAAGGCTCTGGCTACACCTTCACAAGCTATGGTTAACCTGGGTGA  
 AGCAGAGAACT GGACAGGGCCTTGAGTGGATTGGAGAGATTATCCTAGAAGTGG

40 TAATACTTACTACAATGAGA AGTTCAAGGGCAAGGCCACACTGACTGCAGACATAT  
 CCTCCAGCACAGCGTACATGGAGCTCCG CAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTC  
 TATTCTGTGCAAGTTCCCTCCTCACGGGGACTAC TGGGGCCAAGGCACCACTCTC  
 ACAGTCTCCTCA

(SEQ ID NO:94).

**k. ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 10G9:**

**i. Легкая цепь**

Аминокислотная последовательность вариабельного участка легкой цепи 10G9 представляет собой:

QAVVTQESALTTSPGETVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQEKPDLFTGLIGGTNNRAPG  
VPARFSGSLIGDKAALTITGAQTEDEAIYFCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

(SEQ ID NO:12), при этом

CDR1 легкой цепи 10G9: RSSTGAVTTSNYAN (SEQ ID NO:31)

<sup>5</sup> CDR2 легкой цепи 10G9: GTNNRAP (SEQ ID NO:37)

CDR3 легкой цепи 10G9: ALWYSNHWV (SEQ ID NO:44).

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельный участок легкой цепи 10G9, представляет собой:

CAGGCTGTTGACTCAGGAATCTGCACTCACCATCACCTGGTAAACAGTCA

<sup>10</sup> CACT CACTTGTGCTCAAGTACTGGGGCTGTTACAACTAGTAACATGCCAAGTGG  
GTCCAAGAAAAA CCAGATCATTATTCACTGGTCTAATAGGTGGTACCAACAACCG  
AGCTCCAGGTGTTCCCTGCCA GATTCTCAGGCTCCCTGATTGGAGACAAGGCTGCC  
TCACCACATCACAGGGGCACAGACTGAGGA TGAGGCAATATATTCTGTGCTATGG  
TACAGCAACCACGGGTGTTGGTGGAGGAACCAAA CTGACTGTCCTA

<sup>15</sup> (SEQ ID NO:84).

#### ii. Тяжелая цепь

Аминокислотная последовательность вариабельного участка тяжелой цепи 10G9 представляет собой:

EVQLLETGGGLVQPGGSRGLSCEGSGFTFSDFWMSWVRQTPGKTLIEWIGDINS DGS AVN

<sup>20</sup> YAPSIKDQFTIFRDNDKRTLHLQMINVRSEDTATYFCVRYDDYGYFDVWGTGTTVSS  
(SEQ ID NO:23), при этом

CDR1 тяжелой цепи 10G9: GFTFSDFWMS (SEQ ID NO:55)

CDR2 тяжелой цепи 10G9: DINSDGS AVNYAPSIKD (SEQ ID NO:66)

CDR3 тяжелой цепи 10G9: YDDYGYFDV (SEQ ID NO:72).

<sup>25</sup> Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельный участок тяжелой цепи 10G9, представляет собой:

GAAGTGCAGCTGTTGGAGACTGGAGGAGGCTTAGTGCAACCTGGGGGGTCACGG  
GGACT CTCTTGTGAAGGCTCAGGGTTCACTTTAGTGACTTCTGGATGAGCTGGTT

<sup>30</sup> CGACAGACACCT GGGAAAGACCCTGGAGTGGATTGGAGACATTAATTCTGATGGCAG  
TGCAGTTAACTACGCACCAT CCATAAAGGATCAATTCACTATCTTCAGAGACAATG  
ACAAGAGGACCCTGCACCTGCAGATGAT CAATGTTGATCGGAGGACACAGCCAC  
GTATTCTGTGAGATATGATGATTACGGGTACTTC GATGTCTGGGCACAGGGA  
CCACGGTCACCGTCTCCTCA

(SEQ ID NO:95).

#### 35 1. ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 6А

##### i. Легкая цепь

Аминокислотная последовательность вариабельного участка легкой цепи 6А представляет собой:

DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSIVHSNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNR

<sup>40</sup> FSGVPDRFSGSGTDFTLRISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPLTFGAGTKLELK  
(SEQ ID NO:96), при этом

CDR1 легкой цепи 6A: RSSQSIVHSNGNTYLE (SEQ ID NO:24)

CDR2 легкой цепи 6A: KVSNRFS (SEQ ID NO:32)

CDR3 легкой цепи 6A: FQGSHVPLT (SEQ ID NO:157).

<sup>45</sup> Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельный участок легкой цепи 6А, представляет собой:

GATGTTTGATGACCCAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTGGAGATCAAG  
CCTC CATCTCTTGCAGATCTAGTCAGAGTATTGTACATAGTAATGGAAACACCTATT

TAGAATGGTAC CTGCAGAAGCCAGGCCAGTCTCCAAAGCTCCTGATCTACAAAGTT  
 TCCAACCGATTCTGGGG TCCCAGACAGGTTAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGA  
 TTTCACACTCAGGATCAGCAGAGTGA GGCTGAGGATCTGGAGTTATTACTGCT  
 TTCAAGGTTCACATGTTCCGCTCACGTTGGTGCT GGGACCAAGCTGGAGCTGAAA

5 (SEQ ID NO:120).

**ii. Тяжелая цепь**

Аминокислотная последовательность вариабельного участка тяжелой цепи 6А представляет собой:

EVQLQQSGAELVRPGASVVLKLSCTASGFNIKDDYMHWVKQRPEQGLEWIGCIDPENGDE

10 **YASKFQDKATITDTSSNTAYLQLSSLTSEDTAVYYCTTYVGFAYWGQGTLTVST**

(SEQ ID NO:108), при этом

CDR1 тяжелой цепи 6А: DDYMH (SEQ ID NO:162)

CDR2 тяжелой цепи 6А: CIDPENGDEYASKFQD (SEQ ID NO:170)

CDR3 тяжелой цепи 6А: YVGFAY (SEQ ID NO:182).

15 Последовательность нукleinовой кислоты, кодирующая вариабельный участок тяжелой цепи 6А, представляет собой:

GAGGTTCAGCTGCAGCAGTCTGGGGCTGAACCTGTGAGGCCAGGGGCTCAGTC  
 AAGTT GTCCTGCACAGCTCTGGCTTAACATTAAAGACGACTATATGCACTGGGTG  
 AAACAGAGGCCT GAACAGGGCCTGGAGTGGATTGATGCATTGATCCTGAGAATG  
 20 GTGATACTGAATATGCCTCGA ATTCCAGGACAAGGCCACTATAACAACAGACACA  
 TCCTCCAACACAGCCTACCTGCAGCTCAG CAGCCTGACATCTGAGGACACTGCCGT  
 CTATTACTGTACTACATACGTTGGATTGCTTACTGG  
 GGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTACAA  
 (SEQ ID NO:133).

25 **m. ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 28А**

**i. Легкая цепь**

Аминокислотная последовательность вариабельного участка легкой цепи 28А представляет собой:

DVVMTQTPLTLSIPIGQPASISKSSQSLDSDGKTYLNWLLQRPGQSPKRLIYLVSEL

30 **DSGVVPDRFTGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCWQGTHFPFTFGSGTKLEIK**

(SEQ ID NO:97), при этом

CDR1 легкой цепи 28А: KSSQSLDSDGKTYLN (SEQ ID NO:30)

CDR2 легкой цепи 28А: LVSELDS (SEQ ID NO:153)

CDR3 легкой цепи 28А: WQGTHFPFT (SEQ ID NO:45).

35 Последовательность нукleinовой кислоты, кодирующая вариабельный участок легкой цепи 28А, представляет собой:

GATGTTGTGATGACCCAGACTCCACTCACTTTGTCGATTCCCATTGGACAACCAG  
 CCTC CATCTCTTGTAAAGTCAAGTCAGAGCCTCTAGATAGTGTGAAAGACATAT  
 TTGAATTGGTTG TTACAGAGGCCAGGCCAGTCTCCAAAGCGCCTCATCTATCTGGTG  
 40 TCTGAACGGACTCTGGAG TCCCTGACAGGTTCACTGGCAGTGGATCAGGGACAGA  
 TTTCACACTGAAAATCAGCAGAGTGA GGCTGAAGATTGGAGTTATTATTGTT  
 GGCAAGGTACACATTTCATTCACGTTGGCTCG GGGACAAAGTTGAAATAAAA  
 (SEQ ID NO:121).

**ii. Тяжелая цепь**

45 Аминокислотная последовательность вариабельного участка тяжелой цепи 28А представляет собой:

QVQLQQSGAELARPgasVVLKLSCKASGYTFI**SYGITWVKQRTGQGLEWIGEIHPRSGNTY**  
**YNENFKDRASLTADKSSSTAYMEVRSLTSEDSAVYFCARGGPGDYWGQGTTLVSS**

(SEQ ID NO:109), при этом

CDR1 тяжелой цепи 28A: SYGIT (SEQ ID NO:163)

CDR2 тяжелой цепи 28A: EIHPRGNTYYNENFKD (SEQ ID NO:171)

CDR3 тяжелой цепи 28A: GGPGDY (SEQ ID NO:183).

- 5 Последовательность нукleinовой кислоты, кодирующая вариабельный участок тяжелой цепи 28A, представляет собой:

CAGGTTCAGCTGCAGCAGTCTGGAGCTGAGCTGGCGAGGCCTGGGGCTTCAGTG  
AAGCT GTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTCATAAGCTATGGTATAACCTGGGTG  
AAGCAGAGAACT GGACAGGGCCTTGAGTGGATTGGAGAGATTCATCCTAGAAGTG

- 10 GTAATACTTACTACAATGAGA ATTTCAAGGACAGGGCCTCACTGACTGCAGACAAA  
TCCTCCAGCACAGCGTACATGGAGGTCCG CAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGT  
CTATTCTGTGCAAGGGTGGGCCGGGGACTACTGG  
GGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA

(SEQ ID NO:134).

15 **n. ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 63А**

i. **Легкая цепь**

Аминокислотная последовательность вариабельного участка легкой цепи 63А представляет собой:

DVVMTQTPLTLSVTIGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQRPGQSPKR~~L~~**IYLVSKL**

- 20 ~~DS~~GVPDRFTGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCWQGTHFPFTFGSGTKLEIK

(SEQ ID NO:98), при этом

CDR1 легкой цепи 63А: KSSQSLLDSDGKTYLN (SEQ ID NO:30)

CDR2 легкой цепи 63А: LVSKLDS (SEQ ID NO:38)

CDR3 легкой цепи 63А: WQGTHFPFT (SEQ ID NO:45).

- 25 Последовательность нукleinовой кислоты, кодирующая вариабельный участок легкой цепи 63А, представляет собой:

GATGTTGTGATGACCCAGACTCCACTCACTTGTGGTTACCATTGGACAACCAG  
CCTC CATCTCTTGCAAGTCAAGTCAGAGCCTCTTAGATAGTATGGAAAGACATAT  
TTGAATTGGTTG TTACAGAGGCCAGGCCAGTCTCAAAGCGCCTAATCTATCTGGT  
30 GTCTAAACTGGACTCTGGAG TCCCTGACAGGTTCACTGGCAGTGGATCAGGGACAG  
ATTTCACACTGAAAATCAGCAGAGTGGA GGCTGAGGATTGGAGTTATTATTGT  
TGGCAAGGTACACATTTCATTCACTGTTGGCTCG GGGACAAAGTTGGAAATAAAA  
(SEQ ID NO:122).

ii. **Тяжелая цепь**

- 35 Аминокислотная последовательность вариабельного участка тяжелой цепи 63А представляет собой:

QVQLQQSGAELARP~~G~~ASVKLSCKASGYTFTSYGISWVKQRTGQGLEWIGQIYPRSDNTY  
**YNERFKKGKATLTADKSSSTAYMALRSLTSEDAVYFCAREGGPDYWGQGTTLVSS**

(SEQ ID NO:110), при этом

- 40 CDR1 тяжелой цепи 63А: SYGIS (SEQ ID NO:164)

CDR2 тяжелой цепи 63А: QIYPRSDNTYYNERFKGK (SEQ ID NO:172)

CDR3 тяжелой цепи 63А: EGGPDY (SEQ ID NO:184).

Последовательность нукleinовой кислоты, кодирующая вариабельный участок тяжелой цепи 63А, представляет собой:

- 45 CAGGTTCAGCTGCAGCAGTCTGGAGCTGAGCTGGCGAGGCCTGGGGCTTCAGTG  
AAGCT GTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTCACAAGCTATGGTATAAGCTGGGT  
GAAGCAGAGAACT GGACAGGGCCTTGAGTGGATTGGACAGATTATCCTAGAAGT  
GACAATACTTACTACAATGAGA GGTTCAAGGGCAAGGCCACACTGACTGCAGACA

AATCCTCCAGCACAGCGTACATGGCGCTCCG CAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCG  
 GTCTATTCTGTGCAAGAGAGGGGGTCCCGACTACTGG  
 GGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA

(SEQ ID NO:135).

**5. о. ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 71А**

**i. Легкая цепь**

Аминокислотная последовательность вариабельного участка легкой цепи 71А представляет собой:

DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSIVHSNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIY**KVSNR**

**10 FSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPLTFGAGTKLELK**

(SEQ ID NO:99), при этом

CDR1 легкой цепи 71А: RSSQSIVHSNGNTYLE (SEQ ID NO:24)

CDR2 легкой цепи 71А: KVSNRFS (SEQ ID NO:32)

CDR3 легкой цепи 71А: FQGSHVPLT (SEQ ID NO:157).

**15** Последовательность нукleinовой кислоты, кодирующая вариабельный участок легкой цепи 71А, представляет собой:

GACGTTTGATGACCCAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTTGGAGATCAAG  
 CCTC CATCTCTTGCAGATCTAGTCAGAGTATTGTACATAGTAATGGAAACACCTATT  
 TAGAATGGTAC CTACAGAAACCAGGCCAGTCTCAAAGCTCCTGATCTACAAAGTT  
**20 TCCAACCGATTTCTGGGG TCCCAGACAGGTTAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGA**  
 TTTCACACTCAAGATCAGCAGAGTGGA GGCTGAGGATCTGGGAGTTTATTACTGCT  
 TTCAAGGTTCACATGTTCCGCTCACGTTGGTGCT GGGACCAAGCTGGAGCTGAAA  
 (SEQ ID NO:123).

**ii. Тяжелая цепь**

**25** Аминокислотная последовательность вариабельного участка тяжелой цепи 71А представляет собой:

EVQLQQSGAELVRPGAVKLSCTASGFNIK**DDYMH**WVKQRPEQGLEWIG**CIDPENGDIE**  
**YASRFQGKATMTADTSSNTAYLQLTSLTSADTAVYYCTTYVGFGY**WGQQGLTVSA

(SEQ ID NO:111), при этом

**30 CDR1** тяжелой цепи 71А: DDYMH (SEQ ID NO:162)

CDR2 тяжелой цепи 71А: CIDPENGDIEYASRFQG (SEQ ID NO:173)

CDR3 тяжелой цепи 71А: YVGFGY (SEQ ID NO:185).

Последовательность нукleinовой кислоты, кодирующая вариабельный участок тяжелой цепи 71А, представляет собой:

**35 GAGGTTCAGCTGCAGCAGTCTGGGGCTGAGCTTGAGGCCAGGGCCTCAGTC**  
 AAGTT GTCCTGCACAGCTCTGGCTTTAACATTAAAGACGACTATATGCACTGGGTG  
 AAACAGAGGCCT GAACAGGGCCTGGAGTGGATTGGATGCATTGATCCTGAGAATG  
 GTGATATTGAATATGCCTCGA GGTCCAGGGCAAGGCCACTATGACAGCAGACACA  
 TCCTCCAACACAGCCTACCTGCAGCTCAC CAGCCTGACATCTGCGGACACTGCCGT  
**40 CTATTACTGTACTACATACGTTGGATTGGTTACTGG**  
 GGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA  
 (SEQ ID NO:136).

**p. ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 77А**

**i. Легкая цепь**

**45** Аминокислотная последовательность вариабельного участка легкой цепи 77А представляет собой:

DVLMTQSPLSLPVSLGDQASISCRSSQNIVHSNGNTYLEWYLKKPGQSPKLLIY**KVSNR**  
**FSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGMYYCFQGSHVPLTFGAGTKLELK**

(SEQ ID NO:100), при этом

CDR1 легкой цепи 77A: RSSQNIVHSNGNTYLE (SEQ ID NO:146)

CDR2 легкой цепи 77A: KVSNRFS (SEQ ID NO:32)

CDR3 легкой цепи 77A: FQGSHVPLT (SEQ ID NO:157).

5 Последовательность нукleinовой кислоты, кодирующая вариабельный участок легкой цепи 77A, представляет собой:

GATGTTTGATGACCCAAAGTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTGGAGATCAAG  
CCTC CATCTCTTGCAGATCTAGTCAGAACATAGTACATAGTAATGGTAACACCTATT  
TAGAATGGTAC CTGAAGAAACCAGGCCAGTCTCCAAGCTCCTGATCTACAAAGTC  
10 TCCAACCGATTTCTGGGG TCCCAGACAGGTTAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGA  
TTTCACACTCAAGATCAGCAGAGTGGA GGCTGAGGATCTGGGAATGTATTACTGCT  
TTCAAGGTTCACATGTTCCGCTCACGTTGGAGCT GGGACCAAGCTGGAGCTGAAA  
(SEQ ID NO:124).

**ii. Тяжелая цепь**

15 Аминокислотная последовательность вариабельного участка тяжелой цепи 77A представляет собой:

EVQLQQSGAELVRPGASVQLSCTASGFNIKDDYMHWVKQRPEQGLEWIGCIDPENGDE  
YASKFQGKATITADTSSNTVYLQLSSLTSEDTAVYYCTTYVGFGYWGQGTLVTVSA  
(SEQ ID NO:112), при этом

20 CDR1 тяжелой цепи 77A: DDYMH (SEQ ID NO:162)

CDR2 тяжелой цепи 77A: CIDPENGDEYASKFQG (SEQ ID NO:174)

CDR3 тяжелой цепи 77A: YVGFGY (SEQ ID NO:185).

Последовательность нукleinовой кислоты, кодирующая вариабельный участок тяжелой цепи 77A, представляет собой:

25 GAGGTTCAGCTGCAGCAGTCTGGGGCTGAGCTTGAGGCCAGGGCCTCAGTC  
AAGTT GTCCTGCACAGCTCTGGCTTTAACATTAAAGACGACTATATGCACTGGGTG  
AAACAGAGGCCT GAACAGGGCCTGGAGTGGATTGGATGTATTGATCCTGAGAATG  
GTGATACTGAATATGCCTCGA AGTTCCAGGGCAAGGCCACTATAACAGCAGACACA  
TCCTCCAACACAGTCTACCTGCAGCTCAG CAGCCTGACATCTGAGGACACTGCCGT  
30 CTATTACTGTACTACATACGTTGGATTGGTTACTGG  
GGCCAGGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA  
(SEQ ID NO:137).

**q. ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 80А**

**i. Легкая цепь**

35 Аминокислотная последовательность вариабельного участка легкой цепи 80А представляет собой:

DIVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSNQSLNSGDQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWAST  
RESGVPDFRTGSLSGTDFTLTISSVQAEDLAIYYCQNDYSYPLTFGAGTKLELK

(SEQ ID NO:101), при этом

40 CDR1 легкой цепи 80A: KSNQSLNSGDQKNYLT (SEQ ID NO:147)

CDR2 легкой цепи 80A: WASTRES (SEQ ID NO:154)

CDR3 легкой цепи 80A: QNDYSYPLT (SEQ ID NO:158).

Последовательность нукleinовой кислоты, кодирующая вариабельный участок легкой цепи 80А, представляет собой:

45 GACATTGTGATGACACAGTCTCCATCCTCCCTGACTGTGACAGCAGGAGAGAAG  
GTCAC TATGAGCTGCAAGTCCAATCAGAGTCTGTTAACAGTGGAGATCAAAGAA  
CTACTTGACCTGG TACCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCTAAACTATTGATCTACT  
GGGCATCCACTAGGGAATCTG GGGTCCCTGATCGCTCACAGGCAGTGGATCTGGA

ACAGATTCACTCTACCACATCAGCAGTGT GCAGGCTGAAGACCTGGCAATTATTAA  
 CTGTCAGAATGATTATAGTTATCCACTCACGTTCGGT  
 GCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAA

(SEQ ID NO:125).

*5 ii. Тяжелая цепь*

Аминокислотная последовательность вариабельного участка тяжелой цепи 80A представляет собой:

**QVQLKQSGAELVRPGASVKLSCRASGYTFTDFYINWVKQRPGQGLEWIARIYPGSDETY  
 YNEKFKDVKVTLAEKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCALWFFDVWGTGTTVSS**

*10 (SEQ ID NO:113), при этом*

CDR1 тяжелой цепи 80A: DFYIN (SEQ ID NO:165)

CDR2 тяжелой цепи 80A: RIYPGSDETYYNEKFKD (SEQ ID NO:175)

CDR3 тяжелой цепи 80A: WFFDV (SEQ ID NO:186).

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельный участок *15 тяжелой цепи 80A*, представляет собой:

CAGGTCCAACGTGAAGCAGTCTGGGGCTGAACGGTGGAGGCCTGGGGCTTCAGTG  
 AAGCT GTCCTGCAGGGCTTCTGGCTACACTTCACTGACTTCTACATAAACTGGGTG  
 AAGCAGAGGCCT GGACAGGGACTTGAGTGGATTGCAAGGATTATCCTGGAAAGTG  
 ATGAGACTTACTACAATGAGA AGTTTAAGGACAAGGTACACTGACTGCAGAAAA  
*20 ATCCTCCAGCACTGCCTACATGCAGCTCAG CAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCTG  
 TCTATTCTGTGCCCTCTGGTTCTCGATGTCTGGGGC  
 ACAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA*

(SEQ ID NO:138).

*r. ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 82B*

*25 i. Легкая цепь*

Аминокислотная последовательность вариабельного участка легкой цепи 82B представляет собой:

**DVVMQTPLTLSVTIGQSASISCKSSQSLLSDDGNTYLNWLLQRPGQSPKRLIYLVSEL  
 DSGVPDRFTGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCWQGTHFPFTFGSGTKLEIK**

*30 (SEQ ID NO:102), при этом*

CDR1 легкой цепи 82B: KSSQSLLSDDGNTYLN (SEQ ID NO:148)

CDR2 легкой цепи 82B: LVSELDS (SEQ ID NO:153)

CDR3 легкой цепи 82B: WQGTHFPFT (SEQ ID NO:45).

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельный участок *35 легкой цепи 82B*, представляет собой:

GATGTTGTGATGACCCAGACTCCACTCACTTGTGGTTACTATTGGACAATCAG  
 CCTC CATCTCTTGCAAGTCAAGTCAGAGCCTCCTAGATAGTGTGATGGAAACACATAT  
 TTGAATTGGTTG TTACAGAGGCCAGGCCAGTCTCCAAAGCGCCTAACATCTATTGGTG  
 TCTGAACGGACTCTGGAG TCCCTGACAGGTTCACTGGCAGTGGATCAGGGACAGA  
*40 TTTCACACTGAAAATCAGCAGAGTGG GGCTGAGGATTGGAGTTATTATTGCT  
 GGCAAGGTACACATTTCATTACGTTGGCTCG GGGACAAAGTTGGAAATAAAA  
 (SEQ ID NO:126).*

*ii. Тяжелая цепь*

Аминокислотная последовательность вариабельного участка тяжелой цепи 82B *45* представляет собой:

**QVQLQQSGAELARPGASVKLSCKASGYTFTSDGITWVKQRTGQGLEWIGQIHPRSRGNTY  
 YNGKFKKGKATLTADRSSSTTYMELRSLTSEDSAVYFCAKTGTGDYWGQGTTLVSS**

(SEQ ID NO:114), при этом

CDR1 тяжелой цепи 82B: SDGIT (SEQ ID NO:166)

CDR2 тяжелой цепи 82B: QIHPRSSGNTYYNGKFKG (SEQ ID NO:176)

CDR3 тяжелой цепи 82B: TGTG DY (SEQ ID NO:187).

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельный участок

5 тяжелой цепи 82B, представляет собой:

CAGGTTCAGCTGCAGCAGTCTGGAGCTGAGTTGGCGAGGCCTGGGGCTTCAGTG  
AAGCT GTCCTGCAAGGCTTCGGGCTACACCTTCACAAGCGATGGTATTACCTGGGT  
GAAGCAGAGAACT GGACAGGGCCTTGAGTGGATTGGACAGATTCATCCTAGAAGT  
GGTAATACTACTACAATGGGA AGTTCAAGGGCAAGGCCACACTGACTGCAGACA  
10 GATCCTCCAGCACACGTACATGGAACCTCCG CAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCG  
GTCTATTCTGTGCAAAAAC TGGGACGGGGACTACTGG  
GGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA

(SEQ ID NO:139).

#### s. ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 83B

15 i. Легкая цепь

Аминокислотная последовательность вариабельного участка легкой цепи 83B  
представляет собой:

EIQMTQSPSSMSASLGDRITITCQATQD**I**VKNLNWYQQKPGKPPSFLIYYATELAEGVP  
SRFSGSGSGSDYSLTISNLESED**FADYYCLQFYEF**PYT**F**GGGT**K**LEIK

20 (SEQ ID NO:103), при этом

CDR1 легкой цепи 83B: QATQDIVKNLN (SEQ ID NO:149)

CDR2 легкой цепи 83B: YATELAE (SEQ ID NO:155)

CDR3 легкой цепи 83B: LQFYEFPYT (SEQ ID NO:159).

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельный участок

25 легкой цепи 83B, представляет собой:

GAAATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCATGTCTGCATCTCTGGGAGACAGAA  
TAAC CATCACTGCCAGGCAACTCAAGACATTGTTAAGAATTAAACTGGTATCAG  
CAGAAACCAGGG AAACCCCCTCATTCCCTGATCTATTATGCAACTGAACCTGGCAGA  
AGGGGTCCC**CATCAAGGTTCA GTGGCAGTGGTCTGGGT**CAGACTATTCTCTGACAA  
30 TCAGCAACCTGGAGTCTGAAGATTTCGC AGACTATTACTGTCTACAGTTTATGAAT  
TTCCGTACACGTTGGAGGGGGACCAAGCTGGAA ATAAAAA  
(SEQ ID NO:127).

#### ii. Тяжелая цепь

Аминокислотная последовательность вариабельного участка тяжелой цепи 83B

35 представляет собой:

EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFT**DYNMHWV**KQSHGKSLEWIGY**YINPNNGGTS**  
**YNQKFKD**KATLTVNKSSSTAFMELRSLASEDSAVYYCARS**DWEDCWGQGTT**LT**TVSS**

(SEQ ID NO:115), при этом

CDR1 тяжелой цепи 83B: DYNMH (SEQ ID NO:167)

40 CDR2 тяжелой цепи 83B: YINPNNGGTSYNQKFKD (SEQ ID NO:177)

CDR3 тяжелой цепи 83B: SDWEDC (SEQ ID NO:188).

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельный участок  
тяжелой цепи 83B, представляет собой:

45 GAGGTCCAGCTGCAACAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTG  
AAGAT GTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACATTCACTGACTACAAACATGC**ACTGGGT**  
GAAGCAGAGCCAT GGAAAGAGCCTTGAGTGGATTGGATATATTAACC**CTAACAA**  
GTGGTACTAGCTACAACCAGA AGTTCAAGGACAAGGCCACATTGACTGTAAACAA  
GTCCTCCAGCACAGCCTTCATGGAGCTCCG CAGCCTGGC**ATCGGAGGATTCTGCAG**

TCTATTACTGTGCAAGGTCTGACTGGGAAGACTGCTGG  
GGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA  
(SEQ ID NO:140).

**t. ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 92A**

**i. Легкая цепь**

Аминокислотная последовательность вариабельного участка легкой цепи 92A представляет собой:

QIVLTQSPA~~IMS~~ASLGEEITLICSASSSVSYMHWYQQKSGTSPKLIYRTSNLASGVPS  
RFSGSGSGTFYSLT~~ISS~~VEAEDAADYYCHQWSSWTFGGGTQLEIK

(SEQ ID NO:104), при этом

CDR1 легкой цепи 92A: SASSSVSYMH (SEQ ID NO:150)

CDR2 легкой цепи 92A: RTSNLAS (SEQ ID NO:156)

CDR3 легкой цепи 92A: HQWSSWT (SEQ ID NO:160).

Последовательность нукleinовой кислоты, кодирующая вариабельный участок

легкой цепи 92A, представляет собой:

CAAATTGTTCTCACCCAGTCTCCAGCAATCATGTCTGCATCTAGGGGAGGAGA  
TCAC CCTAATTGCAGTGCCAGCTCGAGTGTAAAGTTACATGCACTGGTACCAGCAG  
AAGTCAGGC~~ACT~~ TCTCCCAA~~ACT~~TTGATTATCGCACATCCAACCTGGCTCTGGAA  
GTCCTTCTCGCTTCAGTG GCAGTGGGTCTGGGACCTTTATTCTCTTACAATCAGC  
AGTGTGGAGGCTGAAGATGCTGCCGA TTATTACTGCCATCAGTGGAGTAGTTGGAC  
GTTCGGTGGAGGGCACCCAGCTGGAAATCAAA

(SEQ ID NO:128).

**ii. Тяжелая цепь**

Аминокислотная последовательность вариабельного участка тяжелой цепи 92A

представляет собой:

DVQLQESGPGLVKFSQSLSLTCSVTGYSITSGYYWNWIRQFPGNKLEWMGYIRHDGSNN  
YNPSLKNRISITRDTSKNQFFLKLNSVITEDTATYYCVREIYDGSSGYFDVWGTGTTVTVSS  
(SEQ ID NO:116), при этом

CDR1 тяжелой цепи 92A: SGYYWN (SEQ ID NO:168)

CDR2 тяжелой цепи 92A: YIRHDGSNNYNPSLKN (SEQ ID NO:178)

CDR3 тяжелой цепи 92A: EIYDGSSGYFDVWGT (SEQ ID NO:189).

Последовательность нукleinовой кислоты, кодирующая вариабельный участок тяжелой цепи 92A, представляет собой:

GATGTACAGCTTCAGGAGTCAGGACCTGGCCTCGTAAAATTTCTCAGTCTCTGT  
CTCT CACCTGCTCTGTCACTGGCTACTCCATCACCA~~G~~GTGGTTATTACTGGAACTGGAA  
TCCGGCAGTTT CCAGGAAACAA~~ACT~~GGAA~~AT~~GGATGGGCTACATAAGACACGATGG  
TAGCAATAACTACAACCCGT CTCTAAAAATCGAATCTCCATCACTCGTACACAT  
CTAAGAACCA~~G~~TTTTCTGAAGTTGAA TTCTGTGATTACTGAGGACACAGCCACA  
TATTACTGTGTAAGAGAGATCTATGATGGTTCTCC GGGTACTTCGATGTCTGGGGC  
ACAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA

(SEQ ID NO:141).

**u. ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 93B**

**i. Легкая цепь**

Аминокислотная последовательность вариабельного участка легкой цепи 93B

представляет собой:

DIVMTQSPSSLVTAGEKVTMSCKSSQLLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLIYWAST  
RESGV~~P~~DRFTGSGSGTDFTLTISNVQPEDLAVYYCQNDYSFPFTFGSGTELEMK  
(SEQ ID NO:105), при этом

CDR1 легкой цепи 93B: KSSQSLNSGNQKNYLT (SEQ ID NO:151)

CDR2 легкой цепи 93B: WASTRES (SEQ ID NO:154)

CDR3 легкой цепи 93B: QNDYSFPFT (SEQ ID NO:161).

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельный участок

5 легкой цепи 93B, представляет собой:

GACATTGTGATGACACAGTCTCCATCCTCCCTGACTGTGACAGCAGGAGAGAAG  
GTCAC TATGAGCTGCAAGTCCAGTCAGAGTCTGTTAACAGTGAAATCAAAAGAA  
TTACTTGACCTGG TACCAGCAGAAACCAGGACAGCCTCTAAACTGTTGATCTACT  
GGGCATCCACTAGGGAATCTG GGGTCCCTGATCGCTTCACAGGCAGTGGATCTGGA  
10 ACAGATTCACTCTCACCATTAGCAATGT GCAGCCTGAAGACCTGGCAGTTATTAC  
TGTCAAGATGATTATAGTTTCCATTCACGTTCGC  
TCGGGGACAGAGTTGGAAATGAAA

(SEQ ID NO:129).

#### **ii. Тяжелая цепь**

15 Аминокислотная последовательность вариабельного участка тяжелой цепи 93B  
представляет собой:

**QVQLKQSGAELVRPGASVKLSCKASGYTFTDYYINWVKQRPGQGLEWIARIYPGNGNTD  
YNEKFKD~~K~~ATLTAEKSS~~T~~AYIQLSSLTSEDSAVYFCCLWYFDVWGTGTTVTVSS**

(SEQ ID NO:117), при этом

20 CDR1 тяжелой цепи 93B: DYYIN (SEQ ID NO:169)

CDR2 тяжелой цепи 93B: RIYPGNGNTDYNEKFKD (SEQ ID NO:179)

CDR3 тяжелой цепи 93B: WYFDV (SEQ ID NO:190).

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельный участок  
тяжелой цепи 93B, представляет собой:

25 CAGGTCCAGCTGAAGCAGTCTGGGGCTGAACCTGGTGAGGCCTGGGCTTCAGTG  
AAGCT GTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACTTCACTGACTACTATATAACTGGGTG  
AAGCAGAGGCCT GGACAGGGACTTGAGTGGATTGCAAGGATTATCCTGGAAATG  
GTAATACTGACTACAATGAGA AGTTCAAGGACAAGGCCACACTGACTGCAGAAAA  
ATCCTCCACCACTGCCTACATACAACTCAG CAGTCTGACATCTGAGGACTCTGCTGT

30 CTATTCTGTTGCCTCTGGTACTTCGATGTCTGGGC

ACAGGAACCACGGTCACCGTCTCCTCA

(SEQ ID NO:142).

#### **v. ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 99B**

##### **i. Легкая цепь**

35 Аминокислотная последовательность вариабельного участка легкой цепи 99B  
представляет собой:

**DVVMTQTPLTLSVTIGQPASISCKSSQSL~~S~~SDGKYLNWLLQRPGQSPKRLIYLVSKL  
DSGPVPDRFTGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGIYYCWQGTHFPFTFGSGTKLEIK**

(SEQ ID NO:106), при этом

40 CDR1 легкой цепи 99B: KSSQSL~~S~~SDGKYLN (SEQ ID NO:30)

CDR2 легкой цепи 99B: LVS~~K~~LDS (SEQ ID NO:38)

CDR3 легкой цепи 99B: WQGTHFPFT (SEQ ID NO:45).

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельный участок  
легкой цепи 99B, представляет собой:

45 GATGTTGTGATGACCCAGACTCCACTCACTTGTGCGTTACCATTGGACAACCAG  
CCTC CATCTCTTGCAAGTCAGAGCCTCTTAGATAGTGTGAAAGACATAT  
TTGAATTGGTTG TTACAGAGGCCAGGCCAGTCTCAAAGCGCCTAATCTATCTGGT  
GTCTAAACTGGACTCTGGAG TCCCTGACAGGTTCACTGGCAGTGGATCAGGGACAG

ATTCACACTGAAAATCAGCAGAGTGG A GGCTGAGGATTGGGAATTATTATTGC  
 TGGCAAGGTACACATTCCATTCACGTTGGCTCG GGGACAAAGTTGGAAATAAAA  
 (SEQ ID NO:130).

**ii. Тяжелая цепь**

Аминокислотная последовательность вариабельного участка тяжелой цепи 99B представляет собой:

**QVQLQQSGAELARPGASVKLSCKASGYTFTSDGITWLKQRTGQGLEWIGQIHPRSGNTY  
 YNEKFKGKATLTADKSSTAYMELRSLTSEDSA  
 VYFCAKTGTGDYWGQGTTLVSS**  
 (SEQ ID NO:118), при этом

CDR1 тяжелой цепи 99B: SDGIT (SEQ ID NO:166)

CDR2 тяжелой цепи 99B: QIHPRSGNTYNEKFKG (SEQ ID NO:180)

CDR3 тяжелой цепи 99B: TGTGDY (SEQ ID NO:187).

Последовательность нукleinовой кислоты, кодирующая вариабельный участок тяжелой цепи 99B, представляет собой:

**CAGGTTCAGCTGCAGCAGTCTGGAGCTGAGCTGGCGAGGCCTGGGCTTCAGTG  
 AAGCT GTCCTGCAAGGCTTCGGGCTACACCTTCACAAGCGACGGTATAAACCTGGCT  
 GAAACAGAGAACT GGACAGGGCCTTGAGTGGATTGGACAGATTCACTCTAGAAGT  
 GGTAATACCTACTACAATGAGA AGTTCAAGGGCAAGGCCACACTGACTGCAGACAC  
 AATCCTCCAGCACAGCGTACATGGAACTCCG CAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCG  
 GTCTATTCTGTGCAAAAAACTGGGACGGGGACTACTGG  
 GGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA  
 (SEQ ID NO:143).**

**w. ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 104B**

**i. Легкая цепь**

Аминокислотная последовательность вариабельного участка легкой цепи 104B представляет собой:

**DVVMTQTPLTSVTIGQPASISCKSSLSLLSLDSDGKTYLNWLLQRPGQSPKRLIYLVSKL  
 DSGVPDRFTGSGSGTDFTLKIIRVEAEDLGIYYCWQGTHFPFTFGSGTKLEVK**  
 (SEQ ID NO:107), при этом

CDR1 легкой цепи 104B: KSSLSLLSLDSDGKTYLN (SEQ ID NO:152)

CDR2 легкой цепи 104B: LVSKLDS (SEQ ID NO:38)

CDR3 легкой цепи 104B: WQGTHFPF (SEQ ID NO:45).

Последовательность нукleinовой кислоты, кодирующая вариабельный участок легкой цепи 104B, представляет собой:

**GATGTTGTGATGACCCAGACTCCACTCACTTGTCGGTTACCATTGGACAACCAG  
 CCTC CATCTTTGCAAGTCAAGTCTGAGCCTCTTAGATAGTGATGGAAAGACATATT  
 TGAATTGGTTG TTACAGAGGCCAGGCCAGTCTCAAAGCGCCTAAATCTATCTGGTG  
 TCTAAACTGGACTCTGGAG TCCCTGACAGGTTACTGGCAGTGGATCAGGGACAGA  
 TTTCACACTGAAAATCATCAGACTGGA GGCTGAGGATTGGAAATTATTATTGCT  
 GGCAAGGTACACATTCCATTCACGTTGGCTCG GGGACAAAGTTGGAAGTAAAA  
 (SEQ ID NO:131).**

**ii. Тяжелая цепь**

Аминокислотная последовательность вариабельного участка тяжелой цепи 104B представляет собой:

**QVQLQQSGPELARPGASVKLSCKASGYTFTSYGISWVKQRTGQGLEWIGQIHPRSGN  
 YNENFKGKATLTAAKSSSTAYLELRSLTSEDSAYFCAREEGGPDYWGQGTTLVSS**  
 (SEQ ID NO:119), при этом

CDR1 тяжелой цепи 104B: SYGIS (SEQ ID NO:164)

CDR2 тяжелой цепи 104B: QIHPRSSGNTYYNENFKG (SEQ ID NO:181)

CDR3 тяжелой цепи 104B: EGGPDY (SEQ ID NO:184).

Последовательность нукleinовой кислоты, кодирующая вариабельный участок тяжелой цепи 104B, представляет собой:

5 CAGGTTCAGCTGCAGCAGTCTGGGCCTGAGCTGGCGAGGCCTGGGCCAGTG  
AAGCT GTCCTGCAAGGCTCTGGCTACACCTTCACAAGCTATGGTATAAGCTGGGT  
GAAGCAAAGAACT GGACAGGGCCTTGAGTGGATTGGACAGATTCATCCTAGAAGT  
GGTAATACTTACTACAATGAGA ACTTCAAGGGCAAGGCCACACTGACTGCAGCCAA  
ATCCTCCAGCACAGCGTACCTGGAGCTCCG CAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCCG  
10 TCTATTTCTGTGCAAGAGAGGGGGTCCCAGACTACTGG  
GGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA  
(SEQ ID NO:144).

#### **x. ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 105A**

##### **i. Легкая цепь**

15 Аминокислотная последовательность вариабельного участка легкой цепи 105A представляет собой:

DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSIVHSNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNR  
FSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPLTFGAGTKLELK

(SEQ ID NO:99), при этом

20 CDR1 легкой цепи 105A: RSSQSIVHSNGNTYLE (SEQ ID NO:24)

CDR2 легкой цепи 105A: KVSNRFS (SEQ ID NO:32)

CDR3 легкой цепи 105A: FQGSHVPLT (SEQ ID NO:157).

Последовательность нукleinовой кислоты, кодирующая вариабельный участок легкой цепи 105A, представляет собой:

25 GATGTTTGATGACCCAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTGGAGATCAAG  
CCTC CATCTCTTGCAGATCTAGTCAGAGTATTGTACATAGTAATGGAAACACCTATT  
TAGAATGGTAC CTACAGAAACCAGGCCAGTCTCAAAGCTCCTGATCTACAAAGTT  
TCCAACCGATTTCTGGGG TCCCAGACAGGTTAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGA  
TTTCACACTCAAGATCAGCAGAGTGGA GGCTGAGGATCTGGAGTTATTACTGCT  
30 TTCAAGGTTCACATGTTCCGCTCACGTTGGTGCT GGGACCAAGCTGGAGCTGAAA  
(SEQ ID NO:132).

##### **ii. Тяжелая цепь**

Аминокислотная последовательность вариабельного участка тяжелой цепи 105A представляет собой:

35 EVQLQQSGAEIVRPGASVKLSCTASGFNIKDDYMHWVKQRPEQGLEWIGCIDPENGDIE  
YASRFQKGATMTADTSSNTAYLQLTSLSADTAVYYCTTYVGFGYWQGTLVTVSA  
(SEQ ID NO:111), при этом

CDR1 тяжелой цепи 105A: DDYMH (SEQ ID NO:162)

CDR2 тяжелой цепи 105A: CIDPENGDIEYASRFQG (SEQ ID NO:173)

40 CDR3 тяжелой цепи 105A: YVGFGY (SEQ ID NO:185).

Последовательность нукleinовой кислоты, кодирующая вариабельный участок тяжелой цепи 105A, представляет собой:

GAGGTTCAGCTGCAGCAGTCTGGGCCTGAGCTTGAGGCCAGGGCCTCAGTC  
AAGTT GTCCTGCACAGCTCTGGCTTAAACATTAAAGACGACTATATGCACTGGGTG  
45 AAACAGAGGCCT GAACAGGGCCTGGAGTGGATTGGATGCATTGATCCTGAGAATG  
GTGATATTGAATATGCCTCGA GGTCCAGGGCAAGGCCACTATGACAGCAGACACA  
TCCTCCAACACAGCCTACCTGCAGCTCAC CAGCCTGACATCTGCGGACACTGCCGT  
CTATTACTGTACTACATACGTTGGATTGGTTACTGG

GGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA

(SEQ ID NO:145).

**2. Анти-SIGLEC-15 антитела и их антигенсвязывающие фрагменты**

- 5 Раскрыты молекулы, связывающие SIGLEC-15, в том числе антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, которые связываются с одним или несколькими полипептидами или слитыми белками SIGLEC-15, или их фрагменты или варианты. Антитела, раскрываемые в данном документе, в типичном случае представляют собой моноклональные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые
- 10 связываются с эпигопом, присутствующим на полипептиде SIGLEC-15 или его фрагменте или слиянии. В некоторых вариантах осуществления антитела связывается с конформационным эпигопом. В некоторых вариантах осуществления антитела связывается с линейным эпигопом. Линейный эпигоп может состоять из 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или более непрерывных аминокислот в длину. Эпигоп может содержать один
- 15 или несколько неаминокислотных элементов, посттрансляционных модификаций или их комбинацию. Примеры посттрансляционных модификаций содержат, но не ограничиваясь ими, гликозилирование, фосфорилирование, ацетилирование, цитруллинирование и убиквитирование. Например, антитела могут связывать эпигоп, который образуется по меньшей мере частично с помощью одной или нескольких
- 20 углеводных групп.

- Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент может связываться с эпигопом, который присутствует на эндогенном полипептиде SIGLEC-15 или рекомбинантном полипептиде SIGLEC-15 или его комбинации. В некоторых вариантах осуществления антитела или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с внеклеточным доменом
- 25 SIGLEC-15 или его фрагментом или эпигопом, образованным из него. В некоторых вариантах осуществления антитела или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой функциональное блокирующее антитело, которое ослабляет или предупреждает связывание SIGLEC-15 с одним или несколькими из его лигандов, ослабляет
- 30 внутриклеточную передачу сигнала, модулированного с помощью SIGLEC-15 или его комбинацию.

- Как описано выше, SIGLEC-15 связывается с сиализованными гликопротеинами и предпочтительно распознают структуру Neu5Aca2–6GalNAca. Экспериментальные Примеры ниже иллюстрируют то, что SIGLEC-15 связывается с белком 4C, содержащим богатые лейцином повторы (LRRC4C) (также называемым лигандом нетрина-G1 и NGL-1),
- 35 который может быть зависимым или независимым от структуры Neu5Aca2–6GalNAca. Последовательности нуклеиновых кислот и полипептидные последовательности LRRC4C известны в данной области техники и включают в себя, например,

MLNKMTLHPQQIMIGPRFNRALFDPLLVLLALQLLVAGLVRQAQTCPSVCSCSNQF  
SK VICVRKNLREVPDGISTNTRLLNLHENQIQIQLVNSFKHLRHLEILQLSRNHIRTIEIGA  
40 FNGL ANLNTLELFDNRLTTIPNGAFVYLSKLKEWLRLNNPIESIPSYAFNRIPSLRRLDLG  
ELKRLSY ISEGAFEGLSNLRYLNLCNLREIPNLPLIKLDELDLSGNHLSAIRPGSFQG  
LMHLQKLWMI QSQIQVIERNADFNLQSLVEINLAHNNLTLLPHDLFTPLHHLERIHLHH  
NPWCNCIDLWLSWW IKDMAPSNTACCACRNTPNLKGRYIGELDQNYFTCYAPVIV  
EPPADLNVTGMAAEELKCRAST SLTSVSWITPNGTVMTHGAYKVRIAVLSDGTLNFTN  
45 VTVQDTGMYTCMVSNSVGNTTASATLNV TAATTPFSYFSTVTVETMEPSQDEARTTD  
NNVGPTPVVDWETTNVTTSLPQSTRSTEKTFTI PVTDINSGIPGIDEVMKTTKIIIGCFVA  
ITLMAAVMLVIFYKMRKQHHRQNHHAPTRTVEIINV DDEITGDTPMESHLPMMPAIENEH  
LNHYNSYKSPFNHTTVNTINSIHSSVHEPLLIRMNSKDNV QETQI (SEQ ID NO:192,

UniProtKB – Q9HCJ2 LRC4C\_HUMAN, и которая явно включена посредством ссылки в полном объеме).

SIGLEC–15 может также связываться с контрецептором (S15–CR) на иммунных клетках, таких как Т–клетки.

5 Таким образом, в некоторых вариантах осуществления функциональная блокирующая молекула (молекула–антагонист), связывающая SIGLEC–15, ослабляет, ингибитирует или предупреждает взаимодействие между SIGLEC–15 и его лигандом, таким как гликопротеин, имеющий структуру Neu5Aca2–6GalNAca, LRRC4C или контрецептор SIGLEC–15.

10 В некоторых вариантах осуществления связывание антитела или его антигенсвязывающего фрагмента с SIGLEC–15 может повышать иммунную активацию, ослаблять иммунную супрессию или их комбинацию. Например, в конкретных вариантах осуществления антитела или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с Ig–подобным V–доменом или Ig–подобным C2–доменом SIGLEC–15. В некоторых 15 вариантах осуществления эпитоп содержит сайт связывания SIGLEC–15 с сиаловой кислотой (например, эпитоп содержит остаток 143 SEQ ID NO:1).

В некоторых вариантах осуществления антитела связывается с частью или всем тем же самым эпитопом, что и моноклональное антитело 1B2, 1C3, 1H3, 1C12, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5, 10G9, 6A, 28A, 63A, 71A, 77A, 80A, 82B, 83B, 92A, 93B, 99B, 104B или 20 105A. Эпитоп может представлять собой линейный эпитоп или конформационный эпитоп. В некоторых вариантах осуществления антитела имеет ту же самую специфичность эпитопа, что и моноклональное антитело 1B2, 1C3, 1H3, 1C12, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5, 10G9, 6A, 28A, 63A, 71A, 77A, 80A, 82B, 83B, 92A, 93B, 99B, 104B или 105A. Это может быть достигнуто в результате получения рекомбинантного 25 антитела, которое содержит паратоп моноклонального антитела 1B2, 1C3, 1H3, 1C12, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5, 10G9, 6A, 28A, 63A, 71A, 77A, 80A, 82B, 83B, 92A, 93B, 99B, 104B или 105A. В некоторых вариантах осуществления молекула, связывающая SIGLEC–15, содержит некоторые или все CDR легкой цепи, весь вариабельный участок легкой цепи, некоторые или все CDR тяжелой цепи, весь вариабельный участок тяжелой 30 цепи или их комбинацию любого мышевидного анти–человеческого SIGLEC–15 антитела 1B2, 1C3, 1H3, 1C12, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5, 10G9, 6A, 28A, 63A, 71A, 77A, 80A, 82B, 83B, 92A, 93B, 99B, 104B или 105A.

Молекулы, связывающие SIGLEC–15, могут содержать CDR, которая по меньшей мере на 45%, по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 55%, по меньшей мере на 35 60%, по меньшей мере на 65%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 75%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или по меньшей мере на 99% идентична аминокислотной последовательности CDR упомянутых выше клонов, и которые проявляют иммуноспецифичное связывание с SIGLEC–15.

40 Например, раскрываемые молекулы могут содержать одну или несколько CDR легкой цепи, имеющих аминокислотные последовательности любой из SEQ ID NO:24–45 и 146–161. Молекула может содержать по меньшей мере одну CDR1 легкой цепи, одну CDR2 легкой цепи и одну CDR3 легкой цепи. Например, молекула может содержать CDR1 легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из 45 группы, состоящей из SEQ ID NO:24–31 и 146–152. Молекула может содержать CDR2 легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:32–38 и 153–156. Молекула может содержать CDR3 легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы,

состоящей из SEQ ID NO:39–45 и 157–161.

В конкретных вариантах осуществления молекула содержит CDR1 легкой цепи, CDR2 легкой цепи и CDR3 легкой цепи, при этом CDR1 легкой цепи, CDR2 легкой цепи и CDR3 легкой цепи содержат аминокислотные последовательности:

	LCDR1	LCDR2		LCDR3	
	SEQ ID NO:	SEQ ID NO:		SEQ ID NO:	
5	1B2	24	32	и	39
10	1C3	25	33	и	40
15	1H3	26	34	и	41
20	1C12	24	32	и	39
25	3H10	27	35	и	42
	5G12	28	36	и	43
	6F8	25	33	и	40
	8C8	25	33	и	40
	8H8	29	37	и	44
	9A5	30	38	и	45
	10G9	31	37	и	44
	№6	24	32	и	157
	№28	30	153	и	45
	№63	30	38	и	45
	№71	24	32	и	157
	№77	146	32	и	157
	№80	147	154	и	158
	№82	148	153	и	45
	№83	149	155	и	159
	№92	150	156	и	160
	№93	151	154	и	161
	№99	30	38	и	45
	№104	152	38	и	45
	№105	24	32	и	157 ; или .

Раскрываемые молекулы могут содержать одну или несколько CDR тяжелой цепи, имеющих аминокислотные последовательности любой из SEQ ID NO:46–73 и 162–190.

- 30 Молекула может содержать по меньшей мере одну CDR1 тяжелой цепи, одну CDR2 тяжелой цепи и одну CDR3 тяжелой цепи. Молекула может содержать CDR1 тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:46–55 и 162–169. Молекула может содержать CDR2 тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:56–66 и 170–181. Молекула может содержать CDR3 тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:67–73 и 182–190.

- 35 В конкретных вариантах осуществления молекула содержит CDR1 тяжелой цепи, CDR2 тяжелой цепи и CDR3 тяжелой цепи, при этом CDR1 тяжелой цепи, CDR2 тяжелой цепи и CDR3 тяжелой цепи содержат аминокислотные последовательности:

	HCDR1	HCDR2		HCDR3	
	SEQ ID NO:	SEQ ID NO:		SEQ ID NO:	
45	1B2	46	56	и	67 ;
	1C3	47	57	и	68 ;
	1H3	48	58	и	69 ;
	1C12	49	59	и	67 ;
	3H10	50	60	и	70 ;
	5G12	51	61	и	71 ;
	6F8	52	62	и	68 ;

	8C8	52	63	и	68	;
	8H8	53	64	и	72	;
	9A5	54	65	и	73	;
	10G9	55	66	и	72	;
5	№6	162	170	и	182	;
	№28	163	171	и	183	;
	№63	164	172	и	184	;
	№71	162	173	и	185	;
	№77	162	174	и	185	;
	№80	165	175	и	186	;
10	№82	166	176	и	187	;
	№83	167	177	и	188	;
	№92	168	178	и	189	;
	№93	169	179	и	190	;
	№99	166	180	и	187	;
	№104	164	181	и	184	; или
15	№105	162	173	и	185	.

Молекулы, связывающие SIGLEC-15, могут содержать аминокислотную последовательность вариабельной тяжелой цепи и/или вариабельной легкой цепи, которая по меньшей мере на 45%, по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 55%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 65%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 75%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична аминокислотной последовательности вариабельной тяжелой цепи и/или легкой цепи антитела, продуцируемого любым из вышеупомянутых клонов, и которая проявляет иммуноспецифичное связывание с SIGLEC-15 человека.

Например, раскрываемые молекулы, связывающие SIGLEC-15, могут содержать вариабельный участок легкой цепи, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106 или 107, или ее вариант, содержащий последовательность, по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% или более идентична SEQ ID NO:3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106 или 107, и которая проявляет иммуноспецифичное связывание с SIGLEC-15.

Дополнительно или в альтернативном случае раскрываемые молекулы, связывающие SIGLEC-15, могут содержать вариабельный участок тяжелой цепи, имеющей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118 или 119, или ее вариант, содержащий последовательность, по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% или более идентична EQ ID NO:13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118 или 119, и которая проявляет иммуноспецифичное связывание с SIGLEC-15.

Молекула, связывающая SIGLEC-15, может представлять собой молекулу иммуноглобулина (например, антитело, диатело, слитый белок и др.), которая содержит одну, две или три CDR легкой цепи или одну, две или три CDR тяжелой цепи (например, в некоторых вариантах осуществления три CDR легкой цепи и три CDR тяжелой цепи), при этом CDR легкой цепи содержат:

(1) CDR1 легкой цепи мышного анти-человеческий SIGLEC-15 антитела 1B2, 1C3, 1H3, 1C12, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5, 10G9, 6A, 28A, 63A, 71A, 77A, 80A, 82B, 83B, 92A, 93B, 99B, 104B или 105A или его гуманизированного фрагмента;

(2) CDR2 легкой цепи мышного анти-человеческий SIGLEC-15 антитела 1B2, 1C3,

1H3, 1C12, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5, 10G9, 6A, 28A, 63A, 71A, 77A, 80A, 82B, 83B, 92A, 93B, 99B, 104B или 105A или его гуманизированного фрагмента;

(3) CDR3 легкой цепи мышиного анти–человеческий SIGLEC–15 антитела 1B2, 1C3, 1H3, 1C12, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5, 10G9, 6A, 28A, 63A, 71A, 77A, 80A, 82B, 83B, 92A, 93B, 99B, 104B или 105A или его гуманизированного фрагмента;

(4) CDR1 легкой цепи и CDR2 легкой цепи мышиного анти–человеческий SIGLEC–15 антитела 1B2, 1C3, 1H3, 1C12, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5, 10G9, 6A, 28A, 63A, 71A, 77A, 80A, 82B, 83B, 92A, 93B, 99B, 104B или 105A или его гуманизированного фрагмента;

(5) CDR1 легкой цепи и CDR3 легкой цепи мышиного анти–человеческий SIGLEC–15

10 антитела 1B2, 1C3, 1H3, 1C12, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5, 10G9, 6A, 28A, 63A, 71A, 77A, 80A, 82B, 83B, 92A, 93B, 99B, 104B или 105A или его гуманизированного фрагмента;

(6) CDR2 легкой цепи и CDR3 легкой цепи мышиного анти–человеческий SIGLEC–15 антитела 1B2, 1C3, 1H3, 1C12, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5, 10G9, 6A, 28A, 63A, 71A, 77A, 80A, 82B, 83B, 92A, 93B, 99B, 104B или 105A или его гуманизированного фрагмента;

15 или

(7) CDR1 легкой цепи, CDR2 легкой цепи и CDR3 легкой цепи мышиного анти–человеческий SIGLEC–15 антитела 1B2, 1C3, 1H3, 1C12, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5, 10G9, 6A, 28A, 63A, 71A, 77A, 80A, 82B, 83B, 92A, 93B, 99B, 104B или 105A или его гуманизированного фрагмента;

20 Молекула может представлять собой молекулу иммуноглобулина, которая содержит одну, две или три CDR легкой цепи или одну, две или три CDR тяжелой цепи (например, в некоторых вариантах осуществления три CDR легкой цепи и три CDR тяжелой цепи), при этом CDR тяжелой цепи содержат:

(1) CDR1 тяжелой цепи мышиного анти–человеческий SIGLEC–15 антитела 1B2, 1C3,

25 1H3, 1C12, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5, 10G9, 6A, 28A, 63A, 71A, 77A, 80A, 82B, 83B, 92A, 93B, 99B, 104B или 105A или его гуманизированного фрагмента;

(2) CDR2 тяжелой цепи мышиного анти–человеческий SIGLEC–15 антитела 1B2, 1C3, 1H3, 1C12, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5, 10G9, 6A, 28A, 63A, 71A, 77A, 80A, 82B, 83B, 92A, 93B, 99B, 104B или 105A или его гуманизированного фрагмента;

30 (3) CDR3 тяжелой цепи мышиного анти–человеческий SIGLEC–15 антитела 1B2, 1C3, 1H3, 1C12, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5, 10G9, 6A, 28A, 63A, 71A, 77A, 80A, 82B, 83B, 92A, 93B, 99B, 104B или 105A или его гуманизированного фрагмента;

(4) CDR1 тяжелой цепи и CDR2 тяжелой цепи мышиного анти–человеческий SIGLEC–15 антитела 1B2, 1C3, 1H3, 1C12, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5, 10G9, 6A, 28A, 63A, 71A,

35 77A, 80A, 82B, 83B, 92A, 93B, 99B, 104B или 105A или его гуманизированного фрагмента;

(5) CDR1 тяжелой цепи и CDR3 тяжелой цепи мышиного анти–человеческий SIGLEC–15 антитела 1B2, 1C3, 1H3, 1C12, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5, 10G9, 6A, 28A, 63A, 71A, 77A, 80A, 82B, 83B, 92A, 93B, 99B, 104B или 105A или его гуманизированного фрагмента;

(6) CDR2 тяжелой цепи и CDR3 тяжелой цепи мышиного анти–человеческий SIGLEC–15

40 антитела 1B2, 1C3, 1H3, 1C12, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5, 10G9, 6A, 28A, 63A, 71A, 77A, 80A, 82B, 83B, 92A, 93B, 99B, 104B или 105A или его гуманизированного фрагмента;

или

(7) CDR1 тяжелой цепи, CDR2 тяжелой цепи и CDR3 тяжелой цепи мышиного анти–человеческий SIGLEC–15 антитела 1B2, 1C3, 1H3, 1C12, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 45 9A5, 10G9, 6A, 28A, 63A, 71A, 77A, 80A, 82B, 83B, 92A, 93B, 99B, 104B или 105A или его гуманизированного фрагмента;

Молекула может представлять собой молекулу иммуноглобулина, которая содержит одну, две или три CDR легкой цепи или одну, две или три CDR тяжелой цепи (например,

в некоторых вариантах осуществления три CDR легкой цепи и три CDR тяжелой цепи), при этом CDR легкой цепи содержат:

(1) CDR1 легкой цепи мышного анти–человеческий SIGLEC–15 антитела 1B2, 1C3, 1H3, 1C12, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5, 10G9, 6A, 28A, 63A, 71A, 77A, 80A, 82B, 83B, 92A, 93B, 99B, 104B или 105A или его гуманизированного фрагмента;

(2) CDR2 легкой цепи мышного анти–человеческий SIGLEC–15 антитела 1B2, 1C3, 1H3, 1C12, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5, 10G9, 6A, 28A, 63A, 71A, 77A, 80A, 82B, 83B, 92A, 93B, 99B, 104B или 105A или его гуманизированного фрагмента;

(3) CDR3 легкой цепи мышного анти–человеческий SIGLEC–15 антитела 1B2, 1C3,

10 1H3, 1C12, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5, 10G9, 6A, 28A, 63A, 71A, 77A, 80A, 82B, 83B, 92A, 93B, 99B, 104B или 105A или его гуманизированного фрагмента;

(4) CDR1 легкой цепи и CDR2 легкой цепи мышного анти–человеческий SIGLEC–15 антитела 1B2, 1C3, 1H3, 1C12, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5, 10G9, 6A, 28A, 63A, 71A, 77A, 80A, 82B, 83B, 92A, 93B, 99B, 104B или 105A или его гуманизированного фрагмента;

15 (5) CDR1 легкой цепи и CDR3 легкой цепи мышного анти–человеческий SIGLEC–15 антитела 1B2, 1C3, 1H3, 1C12, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5, 10G9, 6A, 28A, 63A, 71A, 77A, 80A, 82B, 83B, 92A, 93B, 99B, 104B или 105A или его гуманизированного фрагмента;

(6) CDR2 легкой цепи и CDR3 легкой цепи мышного анти–человеческий SIGLEC–15 антитела 1B2, 1C3, 1H3, 1C12, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5, 10G9, 6A, 28A, 63A, 71A, 77A, 80A, 82B, 83B, 92A, 93B, 99B, 104B или 105A или его гуманизированного фрагмента;

или

(7) CDR1 легкой цепи, CDR2 легкой цепи и CDR3 легкой цепи мышного анти–человеческий SIGLEC–15 антитела 1B2, 1C3, 1H3, 1C12, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5, 10G9, 6A, 28A, 63A, 71A, 77A, 80A, 82B, 83B, 92A, 93B, 99B, 104B или 105A или его гуманизированного фрагмента;

и при этом CDR тяжелой цепи содержат:

(1) CDR1 тяжелой цепи мышного анти–человеческий SIGLEC–15 антитела 1B2, 1C3, 1H3, 1C12, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5, 10G9, 6A, 28A, 63A, 71A, 77A, 80A, 82B, 83B, 92A, 93B, 99B, 104B или 105A или его гуманизированного фрагмента;

30 (2) CDR2 тяжелой цепи мышного анти–человеческий SIGLEC–15 антитела 1B2, 1C3, 1H3, 1C12, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5, 10G9, 6A, 28A, 63A, 71A, 77A, 80A, 82B, 83B, 92A, 93B, 99B, 104B или 105A или его гуманизированного фрагмента;

(3) CDR3 тяжелой цепи мышного анти–человеческий SIGLEC–15 антитела 1B2, 1C3, 1H3, 1C12, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5, 10G9, 6A, 28A, 63A, 71A, 77A, 80A, 82B, 83B, 92A, 93B, 99B, 104B или 105A или его гуманизированного фрагмента;

(4) CDR1 тяжелой цепи и CDR2 тяжелой цепи мышного анти–человеческий SIGLEC–15 антитела 1B2, 1C3, 1H3, 1C12, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5, 10G9, 6A, 28A, 63A, 71A, 77A, 80A, 82B, 83B, 92A, 93B, 99B, 104B или 105A или его гуманизированного фрагмента;

(5) CDR1 тяжелой цепи и CDR3 тяжелой цепи мышного анти–человеческий SIGLEC–15

40 антитела 1B2, 1C3, 1H3, 1C12, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5, 10G9, 6A, 28A, 63A, 71A, 77A, 80A, 82B, 83B, 92A, 93B, 99B, 104B или 105A или его гуманизированного фрагмента;

(6) CDR2 тяжелой цепи и CDR3 тяжелой цепи мышного анти–человеческий SIGLEC–15 антитела 1B2, 1C3, 1H3, 1C12, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5, 10G9, 6A, 28A, 63A, 71A, 77A, 80A, 82B, 83B, 92A, 93B, 99B, 104B или 105A или его гуманизированного фрагмента;

45 или

(7) CDR1 тяжелой цепи, CDR2 тяжелой цепи и CDR3 тяжелой цепи мышного анти–человеческий SIGLEC–15 антитела 1B2, 1C3, 1H3, 1C12, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5, 10G9, 6A, 28A, 63A, 71A, 77A, 80A, 82B, 83B, 92A, 93B, 99B, 104B или 105A или его

гуманизированного фрагмента.

Например, антитело может иметь одну или несколько CDR мышного 1B2, 1C3, 1H3, 1C12, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5, 10G9, 6A, 28A, 63A, 71A, 77A, 80A, 82B, 83B, 92A, 93B, 99B, 104B или 105A, или его химерного антитела, или гуманизированного варианта, имеющего CDR, соответствующую (соответствующие) CDR мышного анти–человеческий SIGLEC–15 антитела 1B2, 1C3, 1H3, 1C12, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5, 10G9, 6A, 28A, 63A, 71A, 77A, 80A, 82B, 83B, 92A, 93B, 99B, 104B или 105A.

В одном варианте осуществления предложено гуманизированное моноклональное антитело, имеющее аминокислотную последовательность вариабельной легкой цепи, которая по меньшей мере на 45%, по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 55%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 65%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 75%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 15 227, 228 и 229, и/или аминокислотную последовательность вариабельной тяжелой цепи, которая по меньшей мере на 45%, по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 55%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 65%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 75%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична 20 аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 230, 231, 233 и 235.

### 3. Композиции антител

Раскрываемые молекулы, связывающие SIGLEC–15, могут представлять собой антитела или их антигенсвязывающие фрагменты. Раскрываемые антитела и их 25 антигенсвязывающие фрагменты включают в себя целый иммуноглобулин (т.е. интактное антитело) любого класса, его фрагменты и синтетические белки, содержащие по меньшей мере антигенсвязывающий вариабельный домен антитела. В некоторых вариантах осуществления раскрываемая молекула содержит как легкую, так и по меньшей мере вариабельный домен тяжелой цепи антитела. В других вариантах 30 осуществления такие молекулы могут дополнительно содержать одно или несколько из участков CH1, шарнирных участков, участков CH2, CH3 и CH4 тяжелой цепи (в особенности участки CH1 и шарнирные участки, или участки CH1, шарнирные участки и участки CH2, или участки CH1, шарнирные участки, участки CH2 и CH3). Антитело может быть выбрано из любого класса иммуноглобулинов, в том числе IgM, IgG, IgD, 35 IgA и IgE и любого изотипа, в том числе IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub> и IgG<sub>4</sub>. В некоторых вариантах осуществления константный домен представляет собой фиксирующий комплемент константный домен, при этом предпочтительно, чтобы антитело проявляло 40 цитотоксическую активность, а класс в типичном случае представлял бы собой IgG<sub>1</sub>. В других вариантах осуществления, в которых такая цитотоксическая активность не является необходимой, константный домен может представлять собой класс IgG<sub>2</sub> или IgG<sub>4</sub>. Антитело может содержать последовательности из более одного класса или 45 изотипа, и выбор определенных константных доменов для оптимизации необходимых эффекторных функций находится в пределах компетенции специалиста в данной области техники.

Вариабельные домены отличаются последовательностью между антителами и используются в связывании и специфичности каждого конкретного антитела в отношении своего определенного антигена. Однако вариабельность обычно не

распределена равномерно в вариабельных доменах антител. В типичном случае она сосредоточена в трех сегментах, называемых областями, определяющими комплементарность (CDR) или гипервариабельными участками, как в вариабельных доменах легкой цепи, так и тяжелой цепи. Наиболее высококонсервативные участки 5 вариабельных доменов называются каркасом (FR). Каждый из вариабельных доменов нативных тяжелых и легких цепей содержит четыре участка FR, по большей части принимающих конформацию бета-листа, соединенных тремя CDR, которые образуют петли, объединяющие структуру бета-листа и в некоторых случаях образующие ее 10 часть. CDR в каждой цепи удерживаются в непосредственной близости друг с другом с помощью участков FR и совместно с CDR из другой цепи участвуют в образовании антигенсвязывающего сайта антител.

Также раскрыты фрагменты антител, которые имеют биологическую активность. Фрагменты, присоединенные или не присоединенные к другим последовательностям, 15 содержат вставки, делеции, замены или другие определенные модификации определенных участков или определенных аминокислотных остатков, при условии, что активность фрагмента по сути не является измененной или нарушенной по сравнению с немодифицированным антителом или фрагментом антитела.

Методики могут быть приспособлены для получения одноцепочечных антител, специфичных к антигенному белку по данному раскрытию. Способы получения 20 одноцепочечных антител хорошо известны специалистам в данной области техники. Одноцепочечное антитело может быть получено с помощью слияния друг с другом вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей с использованием короткого пептидного линкера, тем самым восстанавливая антигенсвязывающий сайт на одной молекуле. Вариабельные фрагменты одноцепочечных антител (scFv), в которых С-конец одного 25 вариабельного домена связан с N-концом другого вариабельного домена с помощью пептида или линкера из 15–25 аминокислот были разработаны без существенного нарушения связывания с антигеном или специфичности связывания. Линкер выбирают таким образом, чтобы он обеспечивал связывание тяжелой цепи и легкой цепи друг с другом в их соответствующей конформационной ориентации.

Двухвалентные одноцепочечные вариабельные фрагменты (di-scFv) могут быть разработаны с помощью связывания двух scFv. Это может быть выполнено в результате получения одной пептидной цепи с двумя участками VH и двумя участками VL, образующими тандемные scFv. ScFv также могут быть сконструированы с помощью линкерных пептидов, которые являются слишком короткими, чтобы два вариабельных 30 участка складывались вместе (около пяти аминокислот), обеспечивая димеризацию scFv. Этот тип известен как диатела. Было показано, что диатела имеют константы диссоциации до 40 раз ниже, чем соответствующие scFv, означая, что они имеют намного более высокую аффинность по отношению к своей мишени. Еще более короткие линкеры (одна или две аминокислоты) приводят к образованию тримеров (триател или триотел). 35 40 Так же были получены тетратела. Они проявляют даже более высокую аффинность в отношении к мишениям, чем диатела.

Моноклональное антитело получают по сути из гомогенной популяции антител, т.е. отдельные антитела в популяции являются идентичными, за исключением возможных встречающихся в природе мутаций, которые могут присутствовать в небольшой 45 подгруппе молекул антител. Моноклональные антитела включают в себя «химерные» антитела, в которых часть тяжелой и/или легкой цепи идентична или гомологична соответствующим последовательностям в антителах, происходящих из определенного вида или принадлежащих к определенному классу или подклассу антител, тогда как

остальная часть цепи (цепей) идентична или гомологична соответствующим последовательностям в антителах, происходящих из другого вида или принадлежащих к другому классу или подклассу антител, а также фрагментам таких антител, до тех пор, пока они проявляют необходимую антагонистическую активность.

**5 а. Химерные и гуманизированные антитела**

Также предложены химерные антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, включающие в себя одну или несколько из раскрываемых последовательностей и их функциональные варианты.

Способы получения химерных антител известны в данной области техники. См.,

10 например, Morrison, 1985, *Science* 229:1202; Oi *et al.*, 1986, *BioTechniques* 4:214; Gillies *et al.*, 1989, *J. Immunol. Methods* 125:191–202, и патенты США №№6311415, 5807715, 4816567 и 4816397. Химерные антитела, содержащие одну или несколько CDR от различных от человека видов и каркасные участки из молекулы человеческого иммуноглобулина, могут быть получены с помощью ряда методик, известных в данной области техники,

15 в том числе, например, встраивания CDR (EP 239400, международная публикация № WO 91/09967; и патенты США №№5225539, 5530101 и 5585089), венирования и перекладки (EP 592106; EP 519596; Padlan, 1991, *Molecular Immunology* 28(4/5):489–498; Studnicka *et al.*, 1994, *Protein Engineering* 7:805; и Roguska *et al.*, 1994, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:969) и перестановки цепей (патент США №5565332).

20 Раскрываемые молекулы могут представлять собой человеческие или гуманизированные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты. Многие отличные от человеческих антитела (например, таковые, происходящие от мышей, крыс или кроликов) являются естественным образом антигенными у человека и, тем самым, вызывают нежелательные иммунные ответы при введении человеку. Таким образом,

25 использование человеческих или гуманизированных антител в способах способствует снижению вероятности того, что антитело, вводимое человеку, вызовет нежелательный иммунный ответ.

Могут быть использованы трансгенные животные (например, мыши), которые способны при иммунизации продуцировать полный репертуар человеческих антител в 30 отсутствие продуцирования эндогенных иммуноглобулинов. Например, было описано, что гомозиготная делеция гена связывающего участка тяжелой цепи антитела (J(H)) у химерных и мутантных в отношении зародышевой линии мышей приводит к полному ингибированию продуцирования эндогенных антител. Перенос набора генов иммуноглобулинов зародышевой линии человека в таких мутантных в отношении 35 зародышевой линии мышей приведет к продуцированию человеческих антител при антигенной стимуляции.

Необходимо антитела генерируют у других видов и «гуманизируют» для введения у человека. Гуманизированные формы отличных от человеческих (например, мышиных) антител представляют собой химерные иммуноглобулины, иммуноглобулиновые цепи 40 или их фрагменты (такие как Fv, Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub> или другие антигенсвязывающие последовательности антител), которые содержат минимальную последовательность, происходящую из отличного от человеческого иммуноглобулина. Гуманизированные антитела включают в себя человеческие иммуноглобулины (реципиентное антитело), в которых остатки из области, определяющей комплементарность, (CDR) реципиентного 45 антитела замещены остатками из CDR отличного от человека вида (донорское антитело), такого как мышь, крыса или кролик, имеющего необходимую специфичность, аффинность и способность. В некоторых случаях остатки каркасного участка Fv человеческого иммуноглобулина замещены соответствующими отличными от

человеческих остатками. Гуманизированные антитела также могут содержать остатки, которые не встречаются ни в реципиентном антителе, ни в импортированных последовательностях CDR или каркасных последовательностях. Как правило, гуманизированное антитело будет включать по сути все по меньшей мере из одного 5 или в типичном случае из двух вариабельных доменов, в которых все или фактически все из участков CDR соответствуют таковым отличным от человеческого иммуноглобулина и все или фактически все из участков FR происходят из консенсусной последовательности человеческого иммуноглобулина. Гуманизированное антитело в оптимальном случае также будет содержать по меньшей мере часть константного 10 участка иммуноглобулина (Fc), в типичном случае такового человеческого иммуноглобулина.

Способы гуманизации отличных от человеческих антител хорошо известны в данной области техники, см., например, европейские патенты №№EP 239400, EP 592106 и EP 519596; международные публикации WO 91/09967 и WO 93/17105; патенты США 15 №№5225539, 5530101, 5565332, 5585089, 5766886 и 6407213; и Padlan, 1991, *Molecular Immunology* 28(4/5):489498; Studnicka *et al.*, 1994, *Protein Engineering* 7(6):805–814; Roguska *et al.*, 1994, *PNAS* 91:969973; Tan *et al.*, 2002, *J. Immunol.* 169:1119–1125; Caldas *et al.*, 2000, *Protein Eng.* 13:353–360; Morea *et al.*, 2000, *Methods* 20:26779; Baca *et al.*, 1997, *J. Biol. Chem.* 272:1067810684; Roguska *et al.*, 1996, *Protein Eng.* 9:895904; Couto *et al.*, 1995, *Cancer Res.* 20 55 (23 Supp):5973s5977s; Couto *et al.*, 1995, *Cancer Res.* 55:171722; Sandhu, 1994, *Gene* 150: 40910; Pedersen *et al.*, 1994, *J. Mol. Biol.* 235:959–973; Jones *et al.*, 1986, *Nature* 321:522–525; Reichmann *et al.*, 1988, *Nature* 332:323–329; и Presta, 1992, *Curr. Op. Struct. Biol.* 2:593–596).

Как правило, гуманизированное антитело имеет один или несколько аминокислотных остатков, введенных в него из источника, который отличается от человеческого. Эти 25 отличные от человеческих аминокислотные остатки часто называются «импортируемыми» остатками, которые в типичном случае получают из «импортируемого» вариабельного домена. Методики гуманизации антител, как правило, включают использование технологии рекомбинантных ДНК в целях манипуляции с последовательностью ДНК, кодирующей одну или несколько полипептидных цепей 30 молекулы антитела. Гуманизация может быть по сути осуществлена с помощью замены CDR грызунов или последовательностей CDR на соответствующие последовательности человеческого антитела. Соответственно, гуманизированная форма отличного от человеческого антитела (или его фрагмента) представляет собой химерное антитело или фрагмент, в котором по сути менее чем интактный человеческий вариабельный 35 домен был замещен соответствующей последовательностью от отличного от человека вида. При практическом применении гуманизированные антитела в типичном случае представляют собой человеческие антитела, в которых некоторых остатки CDR и возможно некоторые остатки FR замещены остатками из аналогичных сайтов в антителах грызунов.

40 Выбор человеческих вариабельных доменов, как легких, так и тяжелых цепей, подлежащих использованию при получении гуманизированных антител, может быть очень важным для снижения антигенности. В соответствии с методом «наилучшего приближения» последовательность вариабельного домена антитела грызуна подвергают скринингу против всей библиотеки известных последовательностей человеческих 45 вариабельных доменов. Человеческую последовательность, которая является наиболее близкой к таковой грызуна, затем принимают в качестве человеческого каркасного участка (FR) иммунизированного антитела. В другом способе используется определенный каркасный участок, происходящий из консенсусной последовательности

всех человеческих антител определенной подгруппы легких или тяжелых цепей. Одинаковый каркасный участок может быть использован для нескольких отличающихся гуманизированных антител.

Кроме того, важно, чтобы антитела были гуманизированными с сохранением высокой

5 аффинности в отношении антигена и других благоприятных биологических свойств.

Для достижения этой цели гуманизированные антитела могут быть получены в результате анализа исходных последовательностей и различных концептуальных гуманизированных продуктов с помощью пространственных моделей исходных и гуманизированных последовательностей. Пространственные модели иммуноглобулинов

10 являются общедоступными и известными специалистам в данной области техники.

Доступны компьютерные программы, которые иллюстрируют и демонстрируют возможные пространственные конформационные структуры некоторых кандидатных иммуноглобулиновых последовательностей. Исследование этих изображений способствует анализу вероятной роли остатков в функционировании кандидатной

15 иммуноглобулиновой последовательности, т.е. анализу остатков, которые влияют на способность кандидатного иммуноглобулина связываться со своим антигеном. В этом отношении остатки FR можно выбирать и комбинировать из консенсусной и импортируемой последовательности таким образом, чтобы была достигнута необходимая характеристика антитела, такая как повышенная аффинность в отношении

20 целевого(целевых) антигена(антител). Как правило, остатки CDR непосредственно и в наибольшей степени по сути оказывают влияние на связывание с антигеном.

Производное человеческого, гуманизированного или химерного антитела может содержать по сути все по меньшей мере из одного или в типичном случае из двух

25 вариабельных доменов, в которых все или по сути все из участков CDR соответствуют таковым отличным от человеческого иммуноглобулина (т.е. донорского антитела) и все или по сути все из каркасных участков соответствуют таковым консенсусной последовательности человеческого иммуноглобулина. Такие антитела также могут включать по меньшей мере часть константного участка иммуноглобулина (Fc), в типичном случае такового человеческого иммуноглобулина. Константные домены

30 таких антител могут быть выбраны исходя из предполагаемой функции антитела, в частности, эффекторной функции, которая может быть необходимой. В некоторых вариантах осуществления константные домены таких антител представляют собой или могут включать в себя домены IgA, IgD, IgE, IgG или IgM человека. В конкретном варианте осуществления используют константные домены IgG человека, особенно

35 изотипов IgG1 и IgG3, если производное гуманизированного антитела предполагается использовать для терапевтического применения, и необходимы эффекторные функции антител, такие активность в направлении антителозависимой клеточноопосредованной цитотоксичности (ADCC) и комплементзависимой цитотоксичности (CDC). В альтернативных вариантах осуществления используют изотипы IgG2 и IgG4, если

40 антитело предполагается использовать для терапевтических целей и не требуется эффекторная функция антител. Константные Fc-домены, содержащие одну или несколько аминокислотных модификаций, которые изменяют эффекторные функции антител, такие как таковые, раскрыты в опубликованных патентных заявках США №№2005/0037000 и 2005/0064514.

45 Каркасные участки и области CDR гуманизированного антитела не должны точно соответствовать исходным последовательностям, например, донорская CDR или консенсусный каркасный участок можно мутировать с помощью замены, вставки или делеции по меньшей мере одного остатка таким образом, CDR или каркасный остаток

в этом сайте не соответствовал ни консенсусному участку, ни донорскому антителу. В некоторых вариантах осуществления такие мутации не являются значительными. Как правило, по меньшей мере 75% остатков гуманизированного антитела будут соответствовать таковым исходного каркасного участка (FR) и последовательностям

- 5 CDR, более часто 90% и наиболее часто 95%. Гуманизированные антитела могут быть получены с помощью ряда методик, известных в данной области техники, в том числе, но не ограничиваясь ими, встраивания CDR (Европейский патент №239400; международная публикация №WO 91/09967; и патенты США №№5225539, 5530101 и 5585089), венирования и перекладки (Европейские патенты №№592106 и 519596; Padlan, 1991, *Molecular Immunology* 28(4/5):489–498; Studnicka *et al.*, 1994, *Protein Engineering* 7(6) :805–814, и Roguska *et al.*, 1994, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 91:969–973), перестановки цепей (патент США №5565332), а также методик, раскрываемых, например, в патентах США №№6407213, 5766886, 5585089, международной публикации №WO 9317105, Tan *et al.*, 2002, *J. Immunol.* 169:1119–25, Caldas *et al.*, 2000, *Protein Eng.* 13:353–60, Morea *et al.*, 2000, 10 *Methods* 20:267–79, Baca *et al.*, 1997, *J. Biol. Chem.* 272:10678–84, Roguska *et al.*, 1996, *Protein Eng.* 9:895–904, Couto *et al.*, 1995, *Cancer Res.* 55 (23 Supp):5973s5977s, Couto *et al.*, 1995, *Cancer Res.* 55:171722, Sandhu, 1994, *Gene* 150:40910, Pedersen *et al.*, 1994, *J. Mol. Biol.* 235: 15 95973, Jones *et al.*, 1986, *Nature* 321:522–525, Riechmann *et al.*, 1988, *Nature* 332:323, и Presta, 1992, *Curr. Op. Struct. Biol.* 2:593–596.

- 20 Часто каркасные остатки в каркасных участках будут замещаться соответствующим остатком из CDR донорского антитела для изменения, предпочтительно, повышения связывания с антигеном. Эти каркасные замены идентифицируют с помощью способов, хорошо известных в данной области техники, например, с помощью моделирования взаимодействий CDR и каркасных остатков в целях идентификации каркасных остатков, 25 важных для связывания с антигеном, и сравнения последовательностей в целях идентификации необычных каркасных участков в определенных положениях. (См., например, Queen *et al.*, патент США №5585089; публикации США №№2004/0049014 и 2003/0229208; патенты США №№6350861; 6180370; 5693762; 5693761; 5585089 и 5530101, и Riechmann *et al.*, 1988, *Nature* 332:323).

- 30 Человеческие, химерные или гуманизированные производные раскрываемых мышиных анти–человеческий SIGLEC–15 антител могут быть использованы для способов *in vivo* у человека. Мышиные антитела или антитела других видов могут быть предпочтительно использованы для многих применений (например, анализов детекции *in vitro* или *in situ*, экстренного применения *in vivo* и т.д.). Такое человеческое или 35 гуманизированное антитело может содержать аминокислотные замены, делеции или добавления в одном или нескольких отличных от человеческих CDR. Производное гуманизированного антитела может иметь по сути такое же связывание, более сильное связывание или более слабое связывание по сравнению с не являющимся производным гуманизированным антителом. В конкретных вариантах осуществления один, два, три, 40 четыре или пять аминокислотных остатков CDR были замещены, удалены или добавлены (т.е. мутированы). Полностью человеческие антитела особенно предпочтительны для терапевтического лечения субъектов–людей.

- 45 Такие антитела человека могут быть получены с помощью ряда способов, известных в данной области техники, в том числе способов фагового дисплея с использованием библиотек антител, происходящих из человеческих иммуноглобулиновых последовательностей (см. патенты США №№4444887 и 4716111; и международные публикации №№WO 98/46645, WO 98/50433, WO 98/24893, WO 98/16654, WO 96/34096, WO 96/33735 и WO 91/10741). Такие антитела человека могут быть получены с помощью

трансгенных мышей, которые неспособны экспрессировать функциональные эндогенные иммуноглобулины, однако которые могут экспрессировать гены человеческих иммуноглобулинов.

Например, генные комплексы тяжелой и легкой цепи человеческих иммуноглобулинов

- 5 могут быть введены случайным образом или с помощью гомологичной рекомбинации в эмбриональные стволовые клетки мыши. Альтернативно человеческая вариабельная область, константная область и область разнообразия могут быть введены в мышиные эмбриональные стволовые клетки, помимо генов человеческой тяжелой и легкой цепи. Генам мышиных иммуноглобулинов тяжелой и легкой цепи можно придать
- 10 нефункциональность в отдельности или одновременно с введением локусов человеческих иммуноглобулинов с помощью гомологичной рекомбинации. В частности, гомозиготная делеция участка J<sub>H</sub> предупреждает продуцирование эндогенных антител.

Модифицированные эмбриональные стволовые клетки экспандируют и вводят с помощью микропиньекций в бластоциты с получением химерных мышей. Затем

- 15 химерных мышей скрещивают с получением гомозиготного потомства, которое экспрессирует человеческие антитела. Трансгенных мышей иммунизируют с помощью стандартных методик выбранным антигеном, например, всем или частью полипептида. Моноклональные антитела, направленные против антигена, могут быть получены от иммунизированных трансгенных мышей с помощью стандартной методики получения
- 20 гибридом (см., например, патент США №5916771). Трансгены человеческих иммуноглобулинов, находящиеся в трансгенных мышах, реаранжированы во время дифференцировки В-клеток и впоследствии подвергаются переключению класса и соматической мутации. Таким образом, с помощью такой методики можно получить терапевтически пригодные антитела IgG, IgA, IgM и IgE. Описание этой методики
- 25 получения антител человека см. в Lonberg and Huszar (1995, *Int. Rev. Immunol.* 13:65–93, которая включена в данный документ посредством ссылки в полном объеме). Подробное описание этой методики получения человеческих антител и человеческих
- 30 моноклональных антител и протоколы получения таких антител см., например, в международных публикациях №№WO 98/24893, WO 96/34096 и WO 96/33735; и патентах США №№5413923, 5625126, 5633425, 5569825, 5661016, 5545806, 5814318 и 5939598,
- 35 которые включены в данный документ посредством ссылки в полном объеме. Помимо этого, производством человеческих антител, направленных против выбранного антигена, могут заниматься компании, такие как Abgenix, Inc. (Фримонт, Калифорния) и Medarex (Принстон, Нью-Джерси), используя методики, подобной той, которая описана выше.

Последовательности ДНК, кодирующие человеческие акцепторные каркасные последовательности включают в себя, но не ограничиваясь ими, сегменты FR из сегмента VH1–18 и JH6 зародышевой линии человека VH и сегмента VK–A26 и JK4 из зародышевой линии человека VL. В конкретном варианте осуществления одна или несколько из CDR

- 40 вводят в каркасные области с помощью стандартных методик рекомбинантной ДНК. Каркасные участки могут встречаться в природе или представлять собой консенсусные каркасные участки, и, предпочтительно человеческие каркасные участки (см., например, Chothia *et al.*, 1998, “Structural Determinants In The Sequences Of Immunoglobulin Variable Domain,” *J. Mol. Biol.* 278: 457–479 в отношении перечня человеческих каркасных участков).
- 45

### i. Гуманизированное 5G12

В одном варианте осуществления предложено гуманизированное антитело 5G12 или его антигенсвязывающий фрагмент.

**b. Одноцепочечные антитела**

Молекулы, связывающие SIGLEC-15, могут представлять собой одноцепочечные антитела. Способы получения одноцепочечных антител хорошо известны специалистам в данной области техники. Одноцепочечное антитело получают с помощью слияния друг с другом вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей с использованием короткого пептидного линкера, тем самым восстанавливая антигенсвязывающий сайт на одной молекуле. Вариабельные фрагменты одноцепочечных антител (scFv), в которых С-конец одного вариабельного домена связан с N-концом другого вариабельного домена с помощью пептида или линкера из 15–25 аминокислот были разработаны без существенного нарушения связывания с антигеном или специфичности связывания.

Линкер выбирают таким образом, чтобы он обеспечивал связывание тяжелой цепи и легкой цепи друг с другом в их соответствующей конформационной ориентации. У этих Fv отсутствуют константные участки (Fc), присутствующие в тяжелых и легких цепях нативного антитела.

**c. Моновалентные антитела**

Способы *in vitro* также подходят для получения моновалентных антител. Расщепление антител с получением их фрагментов, в частности, фрагментов Fab, может быть осуществлено с помощью стандартных методик, известных в данной области техники. Например, расщепление может быть осуществлено с помощью папаина. Папаиновое расщепление антител в типичном случае приводит к образованию двух идентичных антигенсвязывающих фрагментов, называемых фрагментами Fab, при этом каждый имеет один антигенсвязывающий сайт и остаточный Fc-фрагмент. Пепсиновая обработка приводит к образованию фрагмента, называемого F(ab')<sub>2</sub>-фрагментом, который имеет два антигенсвязывающих сайта и по-прежнему способен перекрестно свивать антиген.

Фрагменты Fab, образуемые при расщеплении антитела, также содержат константные домены легкой цепи и первый константный домен тяжелой цепи. Фрагменты Fab' отличаются от фрагментов Fab добавлением нескольких остатков на карбоксиконце домена тяжелой цепи, содержащих один или несколько цистеинов из шарнирного участка антитела. Фрагмент F(ab')<sub>2</sub> представляет собой бивалентный фрагмент, содержащий два фрагмента Fab', связанных с помощью дисульфидного мостика в шарнирном участке. Fab'-SH в данном документе представляет собой обозначение Fab', в котором цистеиновый (цистеиновые) остаток(остатки) константных доменов имеет(имеют) свободную тиольную группу. Фрагменты антител изначально были получены в виде пар фрагментов Fab', которые имеют между собой шарнирные цистеины. Также известны другие химические связи фрагментов антител.

**d. Коньюгаты или слияния фрагментов антител**

Нацеливающая функция антитела может быть использована терапевтически в результате связывания антитела или его антигенсвязывающего фрагмента с терапевтическим агентом. Такое связывание антитела или фрагмента (например, по меньшей мере части константного участка (Fc) иммуноглобулина) с терапевтическим агентом может быть достигнуто посредством получения иммуноконьюгата или посредством получения слитого белка, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент и терапевтический агент.

Такое связывание антитела или фрагмента с терапевтическим агентом может быть достигнуто посредством получения иммуноконьюгата или посредством получения слитого белка, или в результате связывания антитела или фрагмента с нуклеиновой кислотой, такой как миРНК, содержащего антитело или фрагмент антитела и

терапевтический агент.

В некоторых вариантах осуществления антитело модифицируют в целях изменения его времени полужизни. В некоторых вариантах осуществления желательно увеличить время полужизни антитела таким образом, чтобы оно присутствовало в кровотоке или

5 в области лечения в течение более длительных периодов времени. Например, может быть желательным поддерживать титры антитела в кровотоке или в области, подлежащей лечению, в течение более длительных периодов времени. Могут быть сконструированы антитела с вариантами Fc, которые увеличивают время полужизни, например, с помощью технологии увеличения времени полужизни антител Xtend™

10 (Xencor, Монровия, Калифорния). В других вариантах осуществления время полужизни анти-ДНК антитела снижают в целях уменьшения потенциальных побочных эффектов. Раскрываемые конъюгаты могут быть использованы для модификации определенного биологического ответа. Лекарственный фрагмент не следует понимать как ограниченный 15 классическими химическими терапевтическими агентами. Например, лекарственный фрагмент может представлять собой белок или полипептид, имеющий необходимую биологическую активность. Такие белки могут включать в себя, например, токсин, такой как абрион, рицин А, экзотоксин синегнойной палочки или дифтерийный токсин.

#### **е. Моно– и мультиспецифичные антитела**

В некоторых вариантах осуществления раскрываемые антитела являются

20 моноспецифичными, связываясь только с SIGLEC–15. Также предложены биспецифичные производные таких антител, триспецифичные производные таких антител или производные антител более высокой мультиспецифичности, которые проявляют специфичность в отношении различных мишней иммунной системы помимо их специфичности в отношении SIGLEC–15 человека. Например, такие антитела могут 25 связываться с SIGLEC–15 человека и с антигеном, который является важным нацеливания антитела на конкретный тип клеток или ткань (например, на антиген, ассоциированный с раковым антигеном опухоли, подлежащей лечению). В другом варианте осуществления такое мультиспецифичное антитело связывается с молекулами (рецепторами или лигандами), участвующими в альтернативных иммуномодуляторных путях, таких как 30 B7–H1, PD–1, CTLA4, TIM3, TIM4, OX40, CD40, GITR, 4–1–BB, LIGHT или LAG3, в целях повышения иммуномодуляторных эффектов и комбинирования нескольких механизмов действия, таких как блокирование лигандов, активация иммунных клеток и прямое нацеливание на опухоль, в одной молекуле.

#### **f. Производные**

35 Также раскрыто получение и использование «производных» любой из молекул, связывающих SIGLEC–15. Производная молекула, например, антитело или фрагмент антитела, может быть модифицирована с помощью химических модификаций с использованием методик, известных специалистам в данной области техники, в том числе, но не ограничиваясь ими, определенного химического расщепления,

40 ацетилирования, составления, метаболического синтеза туникамицина и др. Термин производное включает в себя неаминокислотные модификации, например, аминокислоты, которые могут быть гликозилированными (например, имеют измененное содержание маннозы, 2–N–ацетилглюказамина, галактозы, фукозы, глюкозы, сиаловой кислоты, 5–N–ацетилнейраминовой кислоты, 5–гликольнейраминовой кислоты и др.),

45 ацетилированными, пегилизованными, фосфорилированными, амидированными, дериватизированными с помощью известных защитных/блокирующих групп, протеолитического расщепления, связанными с клеточным лигандом или другим белком и т.д. В некоторых вариантах осуществления измененные углеводные модификации

модулируют одно или несколько из следующего: растворимость антитела, ослабление субклеточного транспорта и секреции антитела, активацию сборки антитела, конформационную целостность и антителоопосредованную эффекторную функцию.

В конкретном варианте осуществления измененные углеводные модификации

- 5 усиливают антителоопосредованную эффекторную функцию по отношению к антителу, не имеющему углеводной модификации. Углеводные модификации, которые приводят к измененной антителоопосредованной эффекторной функции, хорошо известны в данной области техники (например, см., Shields, R.L. et al. (2002) “*Lack Of Fucose On Human IgG N-Linked Oligosaccharide Improves Binding To Human Fc<sub>gamma</sub> RIII And Antibody-Dependent Cellular Toxicity*,” J. Biol. Chem. 277(30): 26733–26740; Davies J. et al. (2001) “*Expression Of GnTIII In A Recombinant Anti-CD20 CHO Production Cell Line: Expression Of Antibodies With Altered Glycoforms Leads To An Increase In ADCC Through Higher Affinity For FC Gamma RIII*,” Biotechnology & Bioengineering 74(4): 288–294). Способы изменения содержания углеводов известны специалистам в данной области техники,
- 10 см., например, Wallick, S.C. et al. (1988) “*Glycosylation Of A VH Residue Of A Monoclonal Antibody Against Alpha (1-6) Dextran Increases Its Affinity For Antigen*,” J. Exp. Med. 168(3): 1099–1109; Tao, M.H. et al. (1989) “*Studies Of Aglycosylated Chimeric Mouse-Human IgG. Role Of Carbohydrate In The Structure And Effector Functions Mediated By The Human IgG Constant Region*,” J. Immunol. 143(8): 2595–2601; Routledge, E.G. et al. (1995) “*The Effect Of Aglycosylation On The Immunogenicity Of A Humanized Therapeutic CD3 Monoclonal Antibody*,” Transplantation 60(8):847–53; Elliott, S. et al. (2003) “*Enhancement Of Therapeutic Protein In Vivo Activities Through Glycoengineering*,” Nature Biotechnol. 21:414–21; Shields, R.L. et al. (2002) “*Lack Of Fucose On Human IgG N-Linked Oligosaccharide Improves Binding To Human Fc<sub>gamma</sub> RIII And Antibody-Dependent Cellular Toxicity*,” J. Biol. Chem. 277(30): 26733–26740).
- 15
- 20
- 25

Раскрываемые антитела могут быть модифицированы с помощью рекомбинантных средств в целях повышения эффективности антитела в опосредовании необходимой функции. Таким образом, антитела можно модифицировать с помощью замен с использованием рекомбинантных средств. В типичном случае замены будут

- 30 представлять собой консервативные замены. Например, по меньшей мере одну аминокислоту в константном участке антитела можно заменить другим остатком. См., например, патент США №5624821, патент США №6194551, заявку №WO 9958572; и Angal, et al., *Mol. Immunol.* 30:105–08 (1993). Модификация аминокислот включает в себя делеции, добавления, замены аминокислот. В некоторых случаях такие изменения
- 35 выполняют в целях ослабления нежелательных активностей, например, комплементзависимой цитотоксичности. Часто антитела метят с помощью связывания, как ковалентно, так и нековалентно, вещества, которое обеспечивает детектируемый сигнал. Большое разнообразие меток и методик конъюгирования известны и широко описаны как в научной, так и в патентной литературе. Эти антитела можно подвергать
- 40 скринингу в отношении связывания с полипептидами SIGLEC-15 или их фрагментами или слияниями. См., например, *Antibody Engineering: A Practical Approach* (Oxford University Press, 1996).

В некоторых вариантах осуществления производное антитела будет иметь аналогичную или идентичную функцию с исходным антителом. В другом варианте

- 45 осуществления производное антитела будет проявлять измененную активность по отношению к исходному антителу. Например, производное антитела (или его фрагмента) может связываться с его эпитопом болееочно или быть более устойчивым к протеолизу по сравнению с исходным антителом.

Замены, добавления или делеции в дериватизированных антителах могут происходить в Fc-участке антитела и могут, таким образом, способствовать модификации аффинности связывания антитела с одним или несколькими Fc $\gamma$ R. Способы модификации антител с помощью модифицированного связывания с одним или несколькими Fc $\gamma$ R В известны 5 данной области техники, см., например, публикации РСТ №№WO 04/029207, WO 04/029092, WO 04/028564, WO 99/58572, WO 99/51642, WO 98/23289, WO 89/07142, WO 88/07089 и патенты США №№5843597 и 5642821.

В некоторых вариантах осуществления предложены антитела, Fc-участок которых был удален (например, Fab или F(ab)<sub>2</sub> и др.) или модифицирован таким образом, чтобы 10 молекула проявляла сниженную аффинность связывания с Fc-рецептором (FcR) или не связывалась с ним, или проявляла повышенные активности в направлении антителозависимой клеточноопосредованной цитотоксичности (ADCC) и комплементзависимой цитотоксичности (CDC). В некоторых вариантах осуществления антитела имеют измененную аффинность в отношении активации Fc $\gamma$ R, например, 15 Fc $\gamma$ RША. Такие модификации могут также иметь измененную Fc-опосредованную эффекторную функцию. Модификации, которые влияют на Fc-опосредованную эффекторную функцию, хорошо известны в данной области техники (см. патент США №6194551 и WO 00/42072). В одном конкретном варианте осуществления модификация Fc-участка приводит к образованию антитела с измененной антителоопосредованной 20 эффекторной функцией, измененным связыванием с другими Fc-рецепторами (например, активирующими Fc-рецепторами), измененной активностью в направлении антителозависимой клеточноопосредованной цитотоксичности (ADCC), измененной активностью связывания с C1q, измененной активностью в направлении комплементзависимой цитотоксичности (CDC), фагоцитарной активности или их 25 комбинаций.

Дериватизированные антитела могут быть использованы для изменения времени полужизни (например, времени полужизни в сыворотке) исходных антител у млекопитающего, такого как, человека. Например, такое изменение может приводить к времени полужизни более 15 дней, более 20 дней, более 25 дней, более 30 дней, более 35 дней, более 40 дней, более 45 дней, более 2 месяца, более 3 месяца, более 4 месяцев или более 5 месяцев. Увеличенное время полужизни гуманизированных антител или их фрагментов у млекопитающего, такого как, человека, приводит к более высокому титру указанных антител или фрагментов антител в сыворотке у млекопитающего, и, таким образом, снижает частоту введения указанных антител или фрагментов антител 30 и/или снижает концентрацию указанных антител или фрагментов антител, которые подлежат введению. Антитела или их фрагменты, имеющие увеличенное время полужизни *in vivo*, можно генерировать с помощью методик, известных специалистам в данной области техники. Например, антитела или их фрагменты с увеличенным временем полужизни *in vivo*, можно генерировать с помощью модификации 35 (например, замены, удаления или добавления) аминокислотных остатков, идентифицированных в качестве участующих во взаимодействии между Fc-доменом и FcRn-рецептором. В целях увеличения биологического времени полужизни могут быть сконструированы гуманизированные антитела (см., например, патент США №6277375). Например, гуманизированные антитела могут быть сконструированы в 40 домене Fc-шарнира в целях получения увеличенного времени полужизни *in vivo* или в сыворотке.

Антитела или их фрагменты с увеличенным временем полужизни *in vivo* можно генерировать с помощью присоединения к указанным антителам или фрагментам

антител полимерных молекул, таких как полиэтиленгликоль (ПЭГ) с высоким молекулярным весом. ПЭГ может быть присоединен к указанным антителам или фрагментам антител с использованием или без использования мультифункционального линкера с помощью сайт-специфичной конъюгации ПЭГ с N- или C-концом указанных 5 антител или фрагментов антител или с помощью эпсилон-аминогрупп, присутствующих в остатках лизина. Будет использована дериватизация линейных или разветвленных полимеров, которая приводит к минимальной потере биологической активности. В целях обеспечения соответствующей конъюгации молекул ПЭГ с антителами степень 10 конъюгации будет тщательно контролироваться с помощью SDS-PAGE и масс-спектрометрии. Не вступивший в реакцию ПЭГ может быть отделен от конъюгатов антитело-ПЭГ с помощью, например, эксклюзионной или ион-обменной хроматографии.

В целях получения композиций, которые могут быть введены в кровеносную систему млекопитающих по сути без иммуногенного ответа антитела также могут быть 15 модифицированы с помощью способов и связывающих агентов, описанных Davis *et al.* (см. патент США №4179337).

Каркасные остатки гуманизированных антител могут быть модифицированными. Остатки в каркасных участках будут замещены соответствующим остатком из CDR донорского антитела в целях изменения, предпочтительно, например, повышения 20 связывания с антигеном. Эти каркасные замены могут быть идентифицированы с помощью способов, хорошо известных в данной области техники, например, с помощью моделирования взаимодействий CDR и каркасных остатков в целях идентификации каркасных остатков, важных для связывания с антигеном, и сравнения последовательностей в целях идентификации необычных каркасных участков в 25 определенных положениях. (см., например, патент США №5585089; и Riechmann, L. *et al.* (1988) “Reshaping Human Antibodies For Therapy,” Nature 332:323–327). Раскрываемые молекулы, связывающие SIGLEC-15, могут быть рекомбинантно слиты или химически 30 конъюгированы (в том числе как с помощью ковалентных, так и нековалентных конъюгаций) с гетерологичной молекулой (т.е., неродственной молекулой). Слияние необязательно должно быть прямым, а может происходить с использованием линкерных последовательностей.

В некоторых вариантах осуществления такие гетерологичные молекулы представляют собой полипептиды, имеющие по меньшей мере 10, по меньшей мере 20, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 60, по меньшей 35 мере 70, по меньшей мере 80, по меньшей мере 90 или по меньшей мере 100 аминокислот. Такие гетерологичные молекулы в альтернативном случае могут представлять собой ферменты, гормоны, рецепторы клеточной поверхности, лекарственные фрагменты, такие как: специфичные в отношении макрофагов нацеливающие агенты (такие как внутриклеточная карбоксилестераза, hCE1 (Needham, L.A. *et al.* (2011) “Drug Targeting 40 To Monocytes And Macrophages Using Esterase-Sensitive Chemical Motif,” J. Pharmacol. Exp. Ther. DOI:10.1124/jpet.111.183640), хитин и хитозан (Muzzarelli, R.A. (2010) “Chitins And Chitosans As Immunoadjuvants And Non-Allergenic Drug Carriers,” Mar Drugs 8(2):292–312), галактозилированный липопротеин низкой плотности (Wu, F. *et al.* (009) “Galactosylated LDL Nanoparticles: A Novel Targeting Delivery System To Deliver Antigen To Macrophages 45 And Enhance Antigen Specific T Cell Responses,” Molec. Pharm. 6(5):1506–1517), N-formyl-Met-Leu-Phe (fMLF), специфичный в отношении макрофагов хемоаттрактант (Wan, L. *et al.* (2008) “Optimizing Size And Copy Number For PEG-Fmlf (N-Formyl-Methionyl-Leucyl-Phenylalanine) Nanocarrier Uptake By Macrophages,” Bioconjug.

Chem. 19(1):28–38), малеилированный или маннозилированный белок, такой как малеилированный альбумин (Anatelli, F. et al. (2006) “*Macrophage–Targeted Photosensitizer Conjugate Delivered By Intratumoral Injection,*” Mol Pharm. 3(6):654–664; Bansal, P. et al. (1999) “*MHC Class I–Restricted Presentation Of Maleylated Protein Binding To Scavenger Receptors,*” J. Immunol. 162(8):4430–4437); см. также Mukhopadhyay, A. et al. (2003) “*Intracellular Delivery Of Drugs To Macrophages,*” Adv. Biochem. Eng. Biotechnol. 84:183–209), токсины (такие как абрин, рицин А, экзотоксин синегнойной палочки (т.е., РЕ-40), дифтерийный токсин, рицин, гелонин или противовирусный белок лаконоса), белки (такие как фактор некроза опухоли, интерферон (например,  $\alpha$ -интерферон,  $\beta$ -интерферон), фактор роста нервов, тромбоцитарный фактор роста, тканевой активатор плазминогена или апоптический агент (например, фактор некроза опухоли  $\alpha$ , фактор некроза опухоли  $\beta$ ), модификаторы биологического ответа (такие как, например, лимфокин (например, интерлейкин-1 («IL-1»), интерлейкин-2 («IL-2»), интерлейкин-6 («IL-6»)), гранулоцитарно–макрофагальный колониестимулирующий фактор («GM-CSF»), гранулоцитарный колониестимулирующий фактор («G-CSF») или макрофагальный колониестимулирующий фактор («M-CSF»)), или факторы роста (например, гормон роста («GH»))), цитотоксины (например, цитостатический или цитоцидальный агент, такой как паклитаксел, цитохалазин В, грамицидин D, этидия бромид, эметин, митомицин, этопозид, тенопозид, винкристин, винбластин, колхицин, доксорубицин, даунорубицин, дигидроксантрациндион, митоксанtron, митрамицин, актиномицин D, 1-дегидротестостерон, глюокортикоиды, прокаин, тетракаин, лидокаин, пропранолол и пуромицин и их аналоги или гомологи), антиметаболиты (например, метотрексат, 6-меркаптопурин, 6-тиогуанин, цитарабин, 5-фторурацил, дакарбазин), алкилирующие агенты (например, мехлорэтамин, тиотепа, хлорамбуцил, мелфалан, BiCNU® (кармустин; BSNU) и ломустин (CCNU), циклотосфамид, бусульфан, дигромманнитол, стрепрозоцин, митомицин С и цис-диаминодихлорплатина (II) (DDP), цисплатин), антрациклины (например, даунорубицин (ранее называвшийся дауномицин) и доксорубицин), антибиотики (например, дактиномицин (ранее называвшийся актиномицин), блеомицин, митрамицин и антрамицин (AMC)) или антимитотические средства (например, винкристин и винбластин).

В другом варианте осуществления молекулы могут конъюгируют со вторым антителом с образованием гетероконъюгата антитела, описанного Segal в патенте США №4676980. Такие гетероконъюгатные антитела могут дополнительно связываться с гаптенами (такими как флуоресцеин и др.) или клеточными маркерами (например, 4-1-BB, B7-H1, PD-1, CD4, CD8, CD14, CD25, CD27, CD40, CD68, CD163, CTLA4, GITR, LAG-3, OX40, TIM3, TIM4, TLR2, LIGHT и др.) или цитокинами (например, IL-4, IL-7, IL-10, IL-12, IL-15, IL-17, TGF-бета, IFNg, Flt3, BLys) или хемокинами (например, CCL21) и т.д.

Fc–участок слитого белка может отличаться изотипом или подклассом, может быть химерным или гибридным, и/или может быть модифицированным, например, в целях усиления эффекторных функций, контроля времени полужизни, тканевой доступности, улучшения биофизических характеристик, таких как стабильность, и усовершенствования эффективности производства (и меньших затрат). В данной области техники известно много модификаций, пригодных при разработке раскрываемых слитых белков, и способов их получения, см., например, Mueller, J.P. et al. (1997) “*Humanized Porcine VCAM-Specific Monoclonal Antibodies With Chimeric IgG2/G4 Constant Regions Block Human Leukocyte Binding To Porcine Endothelial Cells,*” Mol. Immun. 34(6):441–452, Swann, P.G. (2008) “*Considerations For The Development Of Therapeutic Monoclonal Antibodies,*” Curr.

Opin. Immun. 20:493–499 (2008), и Presta, L.G. (2008) “*Molecular Engineering And Design Of Therapeutic Antibodies,*” Curr. Opin. Immun. 20:460–470. В некоторых вариантах осуществления Fc–участок представляет собой нативный Fc–участок IgG1, IgG2 или IgG4. В некоторых вариантах осуществления Fc–участок является гибридным, например,

- 5 химерным, состоящим из константных Fc–участков IgG2/IgG4. Модификации Fc–участка включают, но не ограничиваясь ими, IgG4, модифицированный в целях предупреждения связывания с Fc–гамма рецепторами и комплементом, IgG1, модифицированный в целях повышения связывания с одним или несколькими Fc–гамма рецепторами, IgG1, модифицированный в целях сведения к минимуму эффекторной функции
- 10 (аминокислотные изменения), IgG1 с измененным гликаном/без гликана (обычно с помощью изменения хозяина экспрессии), и IgG1 с измененным зависимым от pH связыванием с FcRn. Fc–участок может содержать весь шарнирный участок или менее чем весь шарнирный участок.

Терапевтический эффект у пациентов, получавших ритуксимаб (химерное мышь/человек моноклональное антитело IgG1 против CD20) для лечения неходжкинской лимфомы или макролобулинемии Вальденстрема коррелировал с экспрессией у индивидов аллельных вариантов Fc $\gamma$ –рецепторов с отличающимися внутренними аффинностями в отношении Fc–домена IgG1 человека. В частности, пациенты с аллелями высокой аффинности активирующего Fc–рецептора CD16A с низкой аффинностью Fc $\gamma$ RIIIa показали более высокие уровни ответа, а в случае неходжкинской лимфомы – повышенную выживаемость без прогрессирования. Таким образом, Fc–домен раскрываемых антител или их фрагментов может содержать одну или несколько аминокислотных вставок, делеций или замен, которые ослабляют связывание с ингибирующим Fc–рецептором CD32B с низкой аффинностью (Fc $\gamma$ RIV) и сохраняют уровни связывания дикого типа или усиливают связывание с активирующим Fc–рецептором CD16A с низкой аффинностью (Fc $\gamma$ RIIIa).

Другой вариант осуществления включает гибриды IgG2–4 и мутанты IgG4, которые имеют ослабленное связывание с Fc $\gamma$ R, что увеличивает их время полужизни. Иллюстративные гибриды IG2–4 и мутанты IgG4 описаны в Angal, S. et al. (1993) “*A Single Amino Acid Substitution Abolishes The Heterogeneity Of Chimeric Mouse/Human (Igg4) Antibody,*” Molec. Immunol. 30(1):105–108; Mueller, J.P. et al. (1997) “*Humanized Porcine VCAM-Specific Monoclonal Antibodies With Chimeric IgG2/G4 Constant Regions Block Human Leukocyte Binding To Porcine Endothelial Cells,*” Mol. Immun. 34(6):441–452; и патенте США №6982323. В некоторых вариантах осуществления домен IgG1 и/или IgG2 является модифицированным, например, Angal, S. et al. (1993) описывают варианты IgG1 и IgG2, в которых серин 241 замещен пролином.

В некоторых вариантах осуществления Fc–домен таких молекул содержит аминокислотные вставки, делеции и замены, которые усиливают связывание с CD16A. В данной области техники известно большое количество замен в Fc–домене IgG1 человека, которые повышают связывание с CD16A и ослабляют связывание с CD32B и которые описаны в Stavenhagen, J.B. et al. (2007) “*Fc Optimization Of Therapeutic Antibodies Enhances Their Ability To Kill Tumor Cells In Vitro And Controls Tumor Expansion In Vivo Via Low-Affinity Activating Fcgamma Receptors,*” Cancer Res. 57(18):8882–8890.

Иллюстративные варианты Fc–доменов IgG1 человека со ослабленным связыванием с CD32B и/или повышенным связыванием с CD16A, содержат замены F243L, R929P, Y300L, V305I или P296L. Эти аминокислотные замены могут присутствовать в Fc–домене IgG1 человека в любой комбинации. В одном варианте осуществления варианта Fc–домена IgG1 человека содержит замену F243L, R929P и Y300L. В другом варианте осуществления

вариант Fc–домена IgG1 человека содержит замену F243L, R929P, Y300L, V305I и P296L. В другом варианте осуществления вариант Fc–домена IgG1 человека содержит замену N297Q, поскольку эта мутация устраняет связывание FcR.

Методики конъюгирования таких терапевтических фрагментов с антителами хорошо

- 5 известны, см., например, Arnon *et al.*, “*Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy*”, in *Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy*, Reisfeld *et al.* (eds.), 1985, pp. 243–56, Alan R. Liss, Inc.); Hellstrom *et al.*, “*Antibodies For Drug Delivery*”, in *Controlled Drug Delivery (2nd Ed.)*, Robinson *et al.* (eds.), 1987, pp. 623–53, Marcel Dekker, Inc.); Thorpe, “*Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review*”, in *Monoclonal Antibodies*
- 10 ‘84: *Biological And Clinical Applications*, Pinchera *et al.* (eds.), 1985, pp. 475–506); “*Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy*”, in *Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy*, Baldwin *et al.* (eds.), 1985, pp. 303–16, Academic Press; и Thorpe *et al.* (1982) “*The Preparation And Cytotoxic Properties Of Antibody-Toxin Conjugates*,” *Immunol. Rev.* 62:119–158.

- 15 Раскрываемые молекулы могут быть слиты с маркерными последовательностями, такими как пептид, в целях облегчения очистки. В некоторых вариантах осуществления маркерная аминокислотная последовательность представляет собой гексагистидиновый пептид, гемагглютинин с тэгом «HA», который соответствует эпитопу, происходящему из гемагглютининового белка вируса гриппа (Wilson, I.A. *et al.* (1984) “*The Structure Of An Antigenic Determinant In A Protein*,” *Cell*, 37:767–778), и тэгом «flag» (Knappik, A. *et al.* (1994) “*An Improved Affinity Tag Based On The FLAG Peptide For The Detection And Purification Of Recombinant Antibody Fragments*,” *Biotechniques* 17(4):754–761).

- 20 Раскрываемые молекулы, связывающие SIGLEC–15, могут быть конъюгированы с или терапевтическим агентом или другой молекулой, для которой предпочтительным является увеличение времени полужизни в сыворотке. Антитела могут быть использованы в диагностических целях (*in vivo*, *in situ* или *in vitro*), например, для контроля развития или прогрессирования заболевания, нарушения или инфекции в виде части процедуры клинического исследования, например, для определения эффективности определенного режима лечения или выбора пациентов, которые более вероятно ответят
- 25 30 на определенную терапию (таких как таковые, экспрессирующие высокие уровни SIGLEC–15).

- 35 Детекция может быть облегчена в результате связывания молекулы, такой как антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, с детектируемым веществом. Примеры детектируемых веществ включают в себя различные ферменты, простетические группы, флуоресцентные вещества, люминесцентные вещества, биолюминесцентные вещества, радиоактивные вещества, позитрон–эмиссионные металлы и нерадиоактивные ионы парамагнитных металлов. Детектируемое вещество может быть связано или как непосредственно с антителом прямо, так и опосредовано, через посредника (такого как, например, линкер, известный в данной области техники) с помощью методик, известных в данной области техники. См., например, патент США №4741900 в отношении ионов металлов, которые могут быть конъюгированы с антителами для применения в качестве диагностических средств. Такая диагностика и детекция могут осуществляться с помощью соединения антитела с детектируемыми веществами, в том числе, но не ограничиваясь ими, различные ферменты, в том числе, но не ограничиваясь ими, пероксидазу хрена, щелочную фосфатазу, бета–галактозидазу или ацетилхолинэстеразу; комплексы с простетической группой, такие как, но не ограничиваясь ими, стрептавидин/биотин и avidin/биотин; флуоресцентные вещества, такие как, но не ограничиваясь ими, умбеллиферон, флуоресцеин, флуоресцеина

изотиоцинат, родамин, дихлортриазиниламина флуоресцеин, дансильтхорид или фикоэритрин; люминесцентные вещества, такие как, но не ограничиваясь им, люминол; биолюминесцентные вещества, такие как, но не ограничиваясь ими, люцифераза, люциферин и экворин; радиоактивные вещества, такие как, но не ограничиваясь ими,  
<sup>5</sup> висмут (<sup>213</sup>Bi), углерод (<sup>14</sup>C), хром (<sup>51</sup>Cr), кобальт (<sup>57</sup>Co), фтор (<sup>18</sup>F), гадолиний (<sup>153</sup>Gd, <sup>159</sup>Gd), галлий (<sup>68</sup>Ga, <sup>67</sup>Ga), германий (<sup>68</sup>Ge), гольмий (<sup>166</sup>Ho), индий (<sup>115</sup>In, <sup>113</sup>In, <sup>112</sup>In, <sup>111</sup>In), йод (<sup>131</sup>I, <sup>125</sup>I, <sup>123</sup>I, <sup>121</sup>I), лантан (<sup>140</sup>La), лютейций (<sup>177</sup>Lu), марганец (<sup>54</sup>Mn), молибден (<sup>99</sup>Mo), палладий (<sup>103</sup>Pd), фосфор (<sup>32</sup>P), празеодим (<sup>142</sup>Pr), прометий (<sup>149</sup>Pm), рений (<sup>186</sup>Re, <sup>188</sup>Re), родий (<sup>105</sup>Rh), рутений (<sup>97</sup>Ru), самарий (<sup>153</sup>Sm), скандий (<sup>47</sup>Sc), селен (<sup>75</sup>Se), стронций (<sup>85</sup>Sr), сера (<sup>35</sup>S), технеций (<sup>99</sup>Tc), таллий (<sup>201</sup>Ti), олово (<sup>113</sup>Sn, <sup>117</sup>Sn), тритий (<sup>3</sup>H), ксенон (<sup>133</sup>Xe), иттербий (<sup>169</sup>Yb, <sup>175</sup>Yb), иттрий (<sup>90</sup>Y), цинк (<sup>65</sup>Zn);  
<sup>10</sup> позитрон-эмиссионные металлы с использованием различных видов  
<sup>15</sup> позитрон-эмиссионной томографии, а также нерадиоактивные ионы парамагнитных металлов.

Раскрываемые молекулы могут быть прикреплены к твердым подложкам, которые особенно пригодны для иммунологических анализов или очистки целевого антигена или других молекул, которые способны связываться с целевым антигеном, который  
<sup>20</sup> был иммобилизирован на подложке с помощью связывания с антителом или антиген-связывающим фрагментом. Такие твердые подложки включают в себя, но не ограничиваясь ими, стекло, целлюлозу, полиакриламид, нейлон, полистирен, поливинилхорид или полипропилен.

Также раскрыты молекулы нуклеиновых кислот (ДНК или РНК), которые кодируют любые такие антитела, слитые белки или фрагменты, а также векторные молекулы (такие как плазмиды), которые способны переносить или реплицировать такие молекулы нуклеиновых кислот. Нуклеиновые кислоты могут быть одноцепочечными, двуцепочечными, могут содержать одноцепочечные и двуцепочечные участки.

### 3. Способы получения

Молекулы, связывающие SIGLEC-15, могут быть получены с помощью любого способа, известного в данной области техники, пригодного для получения полипептидов, например, синтеза *in vitro*, образования рекомбинантной ДНК и т.п. Гуманизированные антитела в типичном случае получают с помощью технологии рекомбинантной ДНК. Антитела могут быть получены с помощью технологии экспрессии рекомбинантных иммуноглобулинов. Рекомбинантное получение иммуноглобулиновых молекул, в том числе гуманизированных антител, описано в патенте США №4816397 (Boss *et al.*), патентах США №№6331415 и 4816567 (оба принадлежат Cabilly *et al.*), патента Великобритании GB 2188638 (Winter *et al.*) и патента Великобритании GB 2209757.

Методики рекомбинантной экспрессии иммуноглобулинов, в том числе гуманизированных иммуноглобулинов, также можно найти в Goeddel *et al.*, Gene Expression Technology Methods in Enzymology Vol. 185 Academic Press (1991), и Borreback, Antibody Engineering, W. H. Freeman (1992). Дополнительную информацию в отношении генерирования, разработки и экспрессии рекомбинантных антител можно найти в Mayforth, Designing Antibodies, Academic Press, San Diego (1993).

Иллюстративный способ получения рекомбинантных химерных антител может включать следующее: а) конструирование с помощью стандартных методов молекулярной биологии вектора экспрессии, который кодирует и экспрессирует тяжелую цепь антитела, в которой CDR и вариабельный участок анти-SIGLEC-15 антитела

сливают с Fc-участком, происходящим из человеческого иммуноглобулина, приводя тем самым к получению вектора для экспрессии тяжелой цепи химерного антитела; b) конструирование с помощью стандартных методов молекулярной биологии вектора экспрессии, который кодирует и экспрессирует легкую цепь антитела мышного 5 анти-человеческий SIGLEC-15 моноклонального антитела, приводя тем самым к получению вектора для экспрессии легкой цепи химерного антитела; с) перенос векторов экспрессии в клетку-хозяина с помощью стандартных методов молекулярной биологии в целях получения трансфицированной клетки-хозяина для экспрессии химерных антител; и d) культивирование трансфицированной клетки с помощью стандартных 10 методик культивирования клеток в целях получения химерных антител.

Иллюстративный способ получения рекомбинантных гуманизированных антител может включать следующее: а) конструирование с помощью стандартных методов молекулярной биологии вектора экспрессии, который кодирует и экспрессирует тяжелую цепь анти-человеческий SIGLEC-15 антитела, в котором CDR и минимальная часть 15 каркаса вариабельного участка, которые требуются для сохранения специфичности связывания донорского антитела, происходят из гуманизированных вариантов анти-человеческий SIGLEC-15 антитела (антитела), а оставшаяся часть антитела происходит из человеческого иммуноглобулина, приводя тем самым к получению вектора для экспрессии тяжелой цепи гуманизированного антитела; б) конструирование 20 с помощью стандартных методов молекулярной биологии вектора экспрессии, который кодирует и экспрессирует легкую цепь антитела, в котором CDR и минимальная часть каркаса вариабельного участка, которые требуются для сохранения специфичности связывания донорского антитела, происходят из отличного от человеческого иммуноглобулина, такого как раскрываемые мышные анти-человеческий SIGLEC-15 25 антитела, а оставшаяся часть антитела происходит из человеческого иммуноглобулина, приводя тем самым к получению вектора для экспрессии легкой цепи гуманизированного антитела; в) перенос векторов экспрессии в клетку-хозяина с помощью стандартных методов молекулярной биологии в целях получения трансфицированной клетки-хозяина для экспрессии гуманизированных антител; и г) культивирование трансфицированной 30 клетки с помощью стандартных методик культивирования клеток для получения гуманизированных антител.

В отношении каждого иллюстративного способа клетки-хозяева могут быть котрансфицированы такими векторами экспрессии, которые могут содержать различные селектируемые маркеры, однако, за исключением кодирующих последовательностей 35 тяжелой и легкой цепи, могут быть предпочтительно идентичными. Эта процедура обеспечивает равную экспрессию полипептидов тяжелой и легкой цепи. В альтернативном случае может быть использован один вектор, который кодирует полипептиды тяжелой и легкой цепи. Кодирующие последовательности тяжелой и легкой цепи могут включать кДНК или геномную ДНК или и то и другое. 40 Клетка-хозяин, используемая для экспрессии рекомбинантного антитела, может быть как бактериальной клеткой, такой как *Escherichia coli*, так и эукариотической клеткой (например, клеткой яичника китайского хомяка (СНО) или клеткой НЕК-293). Выбор вектора экспрессии зависит от выбора клетки-хозяина, и может быть выбран таким образом, чтобы иметь необходимые характеристики экспрессии и регуляции в выбранной 45 клетке-хозяине. Другие клеточные линии, которые могут быть использованы, включают, но не ограничиваясь ими, СНО-K1, NSO и PER.C6 (Crucell, Лейден, Нидерланды).

Любые из раскрываемых антител могут быть использованы для создания антидиотипических антител с помощью методик, хорошо известных специалистам в

данной области техники (см., например, Greenspan, N.S. *et al.* (1989) "Idiotypes: Structure And Immunogenicity," FASEB J. 7:437–444; и Nisinoff, A. (1991) "Idiotypes: Concepts And Applications," J. Immunol. 147(8):2429–2438).

### **С. Молекулы, связывающие лиганд SIGLEC–15**

Также предложены молекулы, которые связываются с лигандами SIGLEC–15, такими как белки SIGLEC–15, слитые белки SIGLEC–15 и их фрагменты и варианты. Молекула, связывающая лиганд SIGLEC–15, может связываться с лигандом SIGLEC–15, такими как сиалированный гликопротеин, LRRC4C, контрецептор SIGLEC–15 и др. В некоторых вариантах осуществления молекула, связывающая лиганд SIGLEC–15, может индуцировать передачу сигнала с участием лиганда SIGLEC–15. В некоторых вариантах осуществления молекула, связывающая лиганд SIGLEC–15, блокирует или иным образом ослабляет взаимодействие между SIGLEC–15 и его лигандом, не индуцируя передачу сигнала с участием SIGLEC–15 или его лиганда. Молекулы, связывающие лиганд SIGLEC–15, могут быть использованы для модулирования активности SIGLEC–15, как описано более подробно ниже и проиллюстрировано в Примерах, и могут быть использованы в терапевтических целях для лечения субъекта, нуждающегося в этом.

#### **1. Полипептиды SIGLEC–15**

В некоторых вариантах осуществления молекула, связывающая лиганд SIGLEC–15, представляет собой SIGLEC–15 или его фрагмент или вариант. Например, в некоторых вариантах осуществления молекулы, связывающие лиганд SIGLEC–15, включают в себя полипептиды, по меньшей мере на 50, 60, 70, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентичны SEQ ID NO:1 или 2, или его фрагменту, такому как внеклеточный домен или его субдомен, такой как домен IgV, домен IgC или их комбинация. В некоторых вариантах осуществления полипептид SIGLEC–15 является растворенным или иным образом внеклеточным. Например, в некоторых вариантах осуществления SIGLEC–15 не имеет одного или нескольких из трансмембранных домена, цитоплазматического домена или лидерной последовательности.

#### **2. Слитые белки SIGLEC–15**

В некоторых вариантах осуществления молекула, связывающая лиганд SIGLEC–15, представляет собой слитый белок SIGLEC–15. Предложены слитые белки, содержащие полипептиды SIGLEC–15, связанные с другими полипептидами, в целях образования слитых белков. Слитые полипептиды SIGLEC–15 могут иметь первого партнера слияния, представляющего собой все или часть из белка SIGLEC–15, слитого (i) непосредственно со вторым полипептидом, или (ii) необязательно слитого с линкерной пептидной последовательностью, которая слита со вторым полипептидом. Слитые белки необязательно содержат домен, который функционирует таким образом, чтобы димеризовать два или более слитых белков. В некоторых вариантах осуществления слитый белок не подлежит димеризации или мультимеризации или не димеризируется или не мультимеризируется. Пептидный/полипептидный линкерный домен может представлять собой как отдельный домен, так в альтернативном случае содержаться в одном из других доменов (полипептида SIGLEC–15 или второго полипептида) слитого белка. Аналогичным образом, домен, который функционирует таким образом, что димеризовать или мультимеризовать слитые домены, может представлять собой как отдельный домен, так в альтернативном случае содержаться в одном из других доменов (полипептида SIGLEC–15, второго полипептида или пептидного/полипептидного линкерного домена) слитого белка. В некоторых вариантах осуществления домен димеризации/мультимеризации и пептидный/полипептидный линкерный домен представляют собой одно и то же.

Слитые белки, раскрываемые в данном документе, представлены формулой I:  
 $N-R_1-R_2-R_3-C$ ,

где «N» представляет собой N-конец слитого белка, «C» представляет собой C-конец слитого белка, «R<sub>1</sub>» представляет собой полипептид SIGLEC-15, «R<sub>2</sub>» представляет собой необязательный пептидный/полипептидный линкерный домен и «R<sub>3</sub>» представляет собой второй полипептид. В альтернативном случае R<sub>3</sub> может представлять собой полипептид SIGLEC-15 и R<sub>1</sub> может представлять собой второй полипептид.

Слитые белки могут быть димеризованными или мультимеризованными. Димеризация или мультимеризация может происходить между или в пределах одного или нескольких слитых белков с участием доменов димеризации или мультимеризации. В альтернативном случае димеризация или мультимеризация сливных белков может происходить с помощью химического сшивания. Димеры или мультимеры, которые образуются, могут быть гомодимерными/гомомультимерными или гетеродимерными/гетеромультимерными.

Как описано ранее, в некоторых вариантах осуществления сливный белок не подлежит димеризации или мультимеризации или не димеризируется или не мультимеризуется.

В некоторых вариантах осуществления второй полипептид содержит один или несколько доменов константного участка тяжелой цепи иммуноглобулина, например, аминокислотную последовательность, соответствующую шарнирным участкам, участкам С<sub>H</sub>2 и/или С<sub>H</sub>3 цепи Сγ1 человеческого иммуноглобулина, шарнирным участкам, участкам С<sub>H</sub>2 и/или С<sub>H</sub>3 цепи Сγ2а мышного иммуноглобулина, участкам С<sub>H</sub>2 и/или С<sub>H</sub>3 Сγ1 человеческого иммуноглобулина и т.д.

Fc-участок слитого белка может отличаться изотипом или подклассом, может быть химерным или гибридным, и/или может быть модифицированным, например, в целях усиления эффекторных функций, контроля времени полужизни, тканевой доступности, улучшения биофизических характеристик, таких как стабильность, и усовершенствования эффективности производства (и меньших затрат). В данной области техники известно много модификаций, пригодных при разработке раскрываемых слитых белков, и способов их получения, см., например, Mueller, et al., *Mol. Immun.*, 34(6):441–452 (1997), Swann, et al., *Crit. Opin. Immun.*, 20:493–499 (2008), и Presta, *Crit. Opin. Immun.* 20:460–470 (2008). В некоторых вариантах осуществления Fc-участок представляет собой нативный Fc-участок IgG1, IgG2 или IgG4. В некоторых вариантах осуществления Fc-участок является гибридным, например, химерным, состоящим из константных Fc-участков IgG2/IgG4. Модификации Fc-участка включают, но не ограничиваясь ими, IgG4, модифицированный в целях предупреждения связывания с Fc-гамма рецепторами и комплементом, IgG1, модифицированный в целях повышения связывания с одним или несколькими Fc-гамма рецепторами, IgG1, модифицированный в целях сведения к минимуму эффекторной функции (аминокислотные изменения), IgG1 с измененным гликаном/без гликана (обычно с помощью изменения хозяина экспрессии), и IgG1 с измененным зависимым от pH связыванием с FcRn. Fc-участок может содержать весь шарнирный участок или менее чем весь шарнирный участок.

Терапевтический эффект у пациентов, получавших ритуксимаб (химерное мышь/человек моноклональное антитело IgG1 против CD20) для лечения неходжкинской лимфомы или макроглобулинемии Вальденстрема коррелировал с экспрессией у индивидов аллельных вариантов Fcγ-рецепторов с отличающимися внутренними аффинностями в отношении Fc-домена IgG1 человека. В частности, пациенты с аллелями высокой аффинности активирующего Fc-рецептора CD16A с низкой аффинностью

(Fc $\gamma$ RIIA) показали более высокие уровни ответа, а в случае неходжкинской лимфомы – повышенную выживаемость без прогрессирования. В другом варианте осуществления Fc–домен может содержать одну или несколько аминокислотных вставок, делеций или замен, которые ослабляют связывание с ингибирующим Fc–рецептором CD32B с низкой аффинностью (Fc $\gamma$ RIIB) и сохраняют уровни связывания дикого типа или усиливают связывание с активирующим Fc–рецептором CD16A с низкой аффинностью (Fc $\gamma$ RIIA).

Другой вариант осуществления включает гибриды IgG2–4 и мутанты IgG4, которые имеют ослабленное связывание с FcR, что увеличивает их время полужизни.

Иллюстративные гибриды IG2–4 и мутанты IgG4 описаны в Angal, S. et al., *Molecular Immunology*, 30(1):105–108 (1993); Mueller, J. et al., *Molecular Immunology*, 34(6): 441–452 (1997); и патент США №6982323 Wang et al. В некоторых вариантах осуществления домен IgG1 и/или IgG2 удаляют, например, Angal S, et al. описывают IgG1 и IgG2, имеющие серин 241, замещенный пролином.

В некоторых вариантах осуществления Fc–домен содержит аминокислотные вставки,

делеции и замены, которые усиливают связывание с CD16A. В данной области техники известно большое количество замен в Fc–домене IgG1 человека, которые повышают связывание с CD16A и ослабляют связывание с CD32B и которые описаны в Stavenhagen, et al., *Cancer Res.*, 57(18):8882–90 (2007). Иллюстративные варианты Fc–доменов IgG1 человека с ослабленным связыванием с CD32B и/или повышенным связыванием с CD16A, содержат замены F243L, R929P, Y300L, V305I или P296L. Эти аминокислотные замены могут присутствовать в Fc–домене IgG1 человека в любой комбинации. В одном варианте осуществления вариант Fc–домена IgG1 человека содержит замену F243L, R929P и Y300L. В другом варианте осуществления варианта Fc–домена IgG1 человека содержит замену F243L, R929P, Y300L, V305I и P296L. В другом варианте осуществления варианта Fc–домена IgG1 человека содержит замену N297Q, поскольку эта мутация устраняет связывание FcR.

Раскрываемые слитые белки необязательно содержат пептидный или полипептидный линкерный домен, который отделяет полипептид SIGLEC–15 от второго полипептида.

В некоторых вариантах осуществления линкерный домен содержит шарнирный участок иммуноглобулина. В предпочтительном варианте осуществления шарнирный участок происходит из человеческого иммуноглобулина. Подходящие человеческие иммуноглобулины, из которых может происходить шарнир, включают в себя IgG, IgD и IgA. В предпочтительном варианте осуществления шарнирный участок происходит из IgG человека. Аминокислотные последовательности иммуноглобулиновых

шарнирных участков и других доменов хорошо известны в данной области техники.

Иллюстративный слитый белок представляет собой слитый белок SIGLEC15 ECD–Fc IgG1 (L234F/L235E/P331S).

MEWSWVFLFLSVTTGVHS FVRTKIDTENLLNTEVHSSPAQR WSMQVPPEVSAE AGDA A VLPCTFTHPHRHYDGPLTAIWRA GE PYAGPQVFRCAAARGSEL CQTALSLHG RFRLGNP RRN DLSLRVERLALADD RRYFCRVEFAGDVHD RYESRHGVRLHVT AAP RIVNISVLPSAHA FRALC TAE GE PPPALA WSGPAL GNSLAA VRSPREGHGHLVTAEL PALT HDGR YTCTAAN SLGRSEASVY LFRFHGASG DKTHTCPCPAPEFEGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTISKA KGQPREPVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:193).

Мышьячная лидерная последовательность изображена с помощью подчеркивания. Внеклеточный домен SIGLEC–15 (ECD) изображен с помощью курсивного шрифта.

Шарнирный участок изображен с помощью двойного подчеркивания. Оставшаяся последовательность происходит из Fc IgG1. Мутации L234F/L235E/P331S в Fc–домене IgG1 изображены с помощью жирного шрифта и пунктирного подчеркивания.

В некоторых вариантах осуществления лидерная последовательность отделена или иным образом устранена из слитого белка. Например, слитый белок может иметь последовательность:

*FVRTKIDTENLLNTEVHSSPAQRWSMQVPPEVSAEAGDAAVLPCFTHPHRHYDG  
PLTAIWWRAGEPYAGPQVFRCAAARGSELCQTALSLHGRFRLLGNPRRNDLSLRVERL  
ALADDRRYFCRVEFAGDVHDRYESRHGVRLHVTAAPIVNISVLSPAHAFRALCTA  
EGEPPPALAWSGPALGN SLAAVRSPREGHGHLVTAELPALTHDGRYTCTAANSLGRS  
EASVYLFRFHGASG DKTHTCPPCP\_APEFEFGPSVFLFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD  
VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC  
KVSNKALPASIEKTISKAKGQPQREPQVYTLPPSRDEL TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW  
ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV*

15 FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:194).

В некоторых вариантах осуществления слитый белок по меньшей мере на 50, 60, 70, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентичен SEQ ID NO:193 или 194.

В некоторых вариантах осуществления лидерная последовательность, линкер (например, шарнирный участок), второй партнер слияния (например, Fc–домен IgG1) 20 или их комбинация замещены другой (другими) последовательностью (последовательностями) (например, альтернативной лидерной последовательностью, шарниром, Fc–доменом и т.д.). Подходящие заместители хорошо известны в данной области техники. См., например, патент США №9005616, который явно включены посредством ссылки в полном объеме.

25 **3. Нуклеиновые кислоты, кодирующие SIGLEC–15, и клетки, содержащие SIGLEC–15**

Также предложены векторы, кодирующие полипептиды SIGLEC–15, их фрагменты и слитые белки. Нуклеиновые кислоты, такие как таковые, описанные выше, могут быть включены в векторы для экспрессии в клетках. Таким образом, также предложены клетки, содержащие и экспрессирующие полипептиды SIGLEC–15, их фрагменты и 30 слияния. Используемый в данном документе «вектор» представляет собой репликон, такой как плазмиду, фаг, вирус или космиду, в который может быть включен другой сегмент ДНК, таким образом, чтобы приводить к репликации включенного фрагмента. Векторы могут представлять собой векторы экспрессии. «Вектор экспрессии» 35 представляет собой вектор, который включает одну или несколько последовательностей контроля экспрессии, а «последовательность контроля экспрессии» представляет собой последовательность ДНК, которая контролирует и регулирует транскрипцию и/или трансляцию другой последовательности ДНК.

Нуклеиновые кислоты в векторах могут быть функционально связаны с одной или несколькими последовательностями контроля экспрессии. Используемый в данном 40 документе «функционально связанный» означает включенный в генетическую конструкцию таким образом, что последовательности контроля экспрессии эффективно контролируют экспрессию кодирующей последовательности, представляющей интерес. Примеры последовательностей контроля экспрессии включают в себя промоторы, энхансеры и участки терминации транскрипции. Промотор представляет собой 45 последовательность контроля экспрессии, состоящую из участка молекулы ДНК, в типичном случае в пределах 100 нуклеотидов выше точки, в которой начинается транскрипция (как правило, возле сайта инициации в случае РНК–полимеразы II). Для контроля кодирующей последовательности промотором необходимо расположить

сайт инициации трансляции рамки считывания полипептида между первым и около пятидесятым нуклеотидами ниже промотора. Энхансеры обеспечивают специфичность экспрессии с точки зрения времени, положения и уровня. В отличие от промоторов, энхансеры могут функционировать при расположении на различных расстояниях от

5 сайта транскрипции. Энхансер может быть расположен ниже сайта инициации транскрипции. Кодирующая последовательность является «функционально связанной» и находится «под контролем» последовательностей контроля экспрессии в клетке, если РНК–полимераза может транскрибировать кодирующую последовательность в мРНК, которая затем может быть транслирована в белок, кодируемый кодирующей

10 последовательностью.

Подходящие векторы экспрессии включают в себя, но не ограничиваясь ими, плазмиды и вирусные векторы, происходящие, например, из бактериофага, бакуловируса, вируса табачной мозаики, вируса герпеса, цитомегаловируса, ретровирусов, вирусов осповакцины, аденоассоциированных вирусов. Многочисленные векторы

15 и системы экспрессии коммерчески доступны от таких корпораций, как Novagen (Мадисон, Висконсин), Clontech (Пало–Альто, Калифорния), Stratagene (Ла–Хойя, Калифорния) и Invitrogen Life Technologies (Карлсbad, Калифорния).

Вектор экспрессии может содержать тэговые последовательности. Тэговые последовательности в типичном случае экспрессируются в виде слияния с кодируемым 20 полипептидом. Такие тэги могут быть включены в любом месте в пределах полипептида, в том числе как на карбоксильном, так и на аминоконце. Примеры пригодных тэгов включают в себя, но не ограничиваясь ими, зеленый флуоресцентный белок (GFP), глутатион–S–трансферазу (GST), полигистидин, c–мус, гемагглютинин, тэг Flag<sup>TM</sup> (Kodak, Нью–Гейвен, Коннектикут), белок, связывающий мальтозу E, и белок A. В 25 некоторых вариантах осуществления молекула нукleinовой кислоты, кодирующая слитый полипептид SIGLEC–15, присутствует в векторе, содержащем нукleinовые кислоты, которые кодируют один или несколько доменов константного участка тяжелой цепи Ig, например, аминокислотную последовательность, соответствующую шарнирным участкам, участкам С<sub>H</sub>2 и С<sub>H</sub>3 цепи Сγ1 человеческого иммуноглобулина.

30 Векторы, содержащие нукleinовые кислоты, подлежащие экспрессии, могут быть перенесены в клетки–хозяева. Термин «клетка–хозяин» предусматривает включение прокариотических и эукариотических клеток, в которые рекомбинантный вектор экспрессии может быть введен. Используемые в данном документе «трансформированный» и «трансфицированный» включают в себя введение молекулы 35 нукleinовой кислоты (например, вектора) в клетку с помощью одной из ряда методик. Несмотря на то, что отсутствует ограничение определенной методикой, ряд этих методик хорошо известен в данной области техники. Прокариотические клетки могут быть трансформированы нукleinовыми кислотами, например, с помощью электропорации или трансформации, опосредованной хлоридом кальция. Нукleinовые кислоты могут 40 быть трансфицированы в клетки млекопитающих с помощью методик, в том числе, например, копреципитации фосфатом кальция, трансфекции, опосредованной DEAE–декстраном, липофекции, электропорации или микроГЕКции. Клетки–хозяева (например, прокариотическая клетка или эукариотическая клетка, такая как клетка СНО) может быть использована, например, для продуцирования слитых полипептидов 45 SIGLEC–15, описанных в данном документе.

Описанные векторы могут быть использованы для экспрессии SIGLEC–15 в клетках. Иллюстративный вектор включает, но не ограничиваясь им, аденоовирусный вектор. Один подход включает в себя перенос нукleinовых кислот в первичные клетки в

культуре после аутологичной трансплантации *ex vivo* трансформированных клеток, как системно, так и в определенный орган или ткань. Способы *ex vivo* включают, например, этапы сбора клеток от субъекта, культивирования клеток, трансдукции их вектором экспрессии и поддержания клеток в условиях, подходящих для экспрессии кодируемых полипептидов. Эти способы хорошо известны в области молекулярной биологии. Этап трансдукции может быть осуществлен с помощью стандартных средств, используемых для генной терапии *ex vivo*, в том числе, например, копреципитации фосфатом кальция, липофекции, электропорации, вирусной инфекции и биологического переноса генов. В альтернативном случае могут быть использованы липосомы или полимерные микрочастицы. Клетки, которые были успешно трансдуцированы, затем можно селектировать, например, в отношении экспрессии кодирующей последовательности или гена лекарственной устойчивости. Затем клетки могут быть летальным образом облучены (при необходимости) и инъецированы или иплантированы в субъекта. В одном варианте осуществления векторы экспрессии, содержащие нуклеиновые кислоты, кодирующие слитые белки, трансфицируют в клетки, которые вводят субъекту, нуждающемуся в этом.

Терапию нуклеиновыми кислотами *in vivo* можно осуществить с помощью прямого переноса функционально активной ДНК в соматическую ткань или орган млекопитающих *in vivo*. Например, нуклеиновые кислоты, кодирующие полипептиды, раскрываемые в данном документе, можно вводить непосредственно в лимфоидные ткани или опухоли. В альтернативном случае специфичное в отношении лимфоидной ткани нацеливание может быть достигнуто с помощью специфичных в отношении лимфоидной ткани регуляторных элементов транскрипции (TRE), таких как специфичный в отношении В–лимфоцитов, Т–лимфоцитов или дендритных клеток TRE. Специфичные в отношении лимфоидной ткани TRE известны в данной области техники.

Нуклеиновые кислоты также могут быть введены *in vivo* с помощью вирусных средств. Молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие слитые белки, могут быть упакованы в ретровирусные векторы с помощью пакующих клеточных линий, которые продуцируют дефектные по репликации вирусы, как известно в данной области техники. Могут быть использованы другие вирусные векторы, в том числе рекомбинантные аденоовирусы и вирус осповакцины, которые могут быть выполнены нереплицирующими. Помимо оголенной ДНК или РНК или вирусных векторов, в качестве векторов могут быть использованы сконструированные бактерии.

Нуклеиновые кислоты также могут быть доставлены с помощью других носителей, в том числе липосом, полимерных микро– и наночастиц и поликатионов, таких как асиалогликопротеин/полилизин.

Кроме опосредованного вирусами и носителями переноса генов *in vivo*, физические средства, хорошо известные в данной области техники, могут быть использованы для прямого переноса ДНК, в том числе введение плазидной ДНК и перенос генов, опосредованный бомбардировкой частицами.

#### **Д. Фармацевтические композиции**

Предложены фармацевтические композиции, содержащие раскрываемые молекулы, связывающие SIGLEC–15. Фармацевтические композиции, содержащие молекулу, связывающую SIGLEC–15, могут быть предназначены для введения с помощью парентеральных (внутримышечной, интраперitoneальной, внутривенной (в/в) или подкожной инъекции), трансдермальных (как пассивно, так и с помощью ионофореза или электропорации) или трансмукозальных (назальных, вагинальных, ректальных или сублингвальных) путей введения или с помощью биоразлагаемых вкладов и могут

быть разработаны в лекарственных формах, подходящих для каждого пути введения.

В некоторых подходах *in vivo* композиции, раскрываемые в данном документе, вводят субъекту в терапевтически эффективном количестве. Используемый в данном документе термин «эффективное количество» или «терапевтически эффективное

5 количество» означает дозу, достаточную для лечения, ингибиции или нормализации одного или нескольких симптомов нарушения, подлежащего лечению, или для обеспечения иным образом необходимого фармакологического и/или физиологического 10 эффекта. Точная доза будет варьировать в зависимости от ряда факторов, таких как зависящие от субъекта переменные (например, возраст, состояние иммунной системы и т.д.), заболевание и лечение, подлежащее проведению.

В случае раскрываемых молекул, связывающих SIGLEC-15, по мере проведения дополнительных исследований, будет появляться информация в отношении уровней доз для лечения различных состояний у различных пациентов, и специалист в данной области техники, учитывая терапевтический контекст, возраст и общее состояние 15 здоровья реципиента, будет способен определить соответствующую дозу. Выбранная дозировка зависит от необходимого терапевтического эффекта, от пути введения и от длительности необходимого лечения. Как правило, в случае внутривенной инъекции или инфузии, доза может быть более низкой.

Доза, вводимая пациенту, в типичном случае составляет от 0,01 мг/кг до 100 мг/кг 20 веса тела пациента. Доза, вводимая пациенту, может составлять, например, от 0,01 мг/кг до 20 мг/кг, от 0,01 мг/кг до 10 мг/кг, от 0,01 мг/кг до 5 мг/кг, от 0,01 до 2 мг/кг, от 0,01 до 1 мг/кг, от 0,01 мг/кг до 0,75 мг/кг, от 0,01 мг/кг до 0,5 мг/кг, от 0,01 мг/кг до 0,25 мг/кг, от 0,01 до 0,15 мг/кг, от 0,01 до 0,10 мг/кг, от 0,01 до 0,05 мг/кг или от 0,01 25 до 0,025 мг/кг веса тела пациента. Иллюстративные конкретные дозы включают, но не ограничиваясь ими, 0,2 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 6 мг/кг или 10 мг/кг. Доза, как минимум 0,01 мг/кг, считается, подходящей для того, чтобы оказать заметные фармакодинамические эффекты. Предполагается, что уровни доз 0,10–1 мг/кг являются наиболее подходящими. Также предполагается, что более высокие дозы (например, 1–30 мг/кг) были бы активными.

30 Как правило, человеческие антитела имеют более длительное время полужизни в организме человека, чем антитела от других видов, благодаря иммунному ответу на чужеродные полипептиды. Таким образом, более низкие дозы человеческих антител и менее частое введение часто является возможным. Кроме того, доза и частота введения антител по данному изобретению или их фрагментов могут быть снижены с помощью 35 повышенного захвата и проникновения в ткани антител в результате модификаций, таких как, например, липидация.

В определенных вариантах осуществления молекулу, связывающую SIGLEC-15, вводят локально, например, с помощью инъекции непосредственно в участок, подлежащий лечению. В типичном случае инъекция вызывает повышенную локальную 40 концентрацию композиции на основе молекулы, связывающей SIGLEC-15, которая является более высокой, чем таковая, которая может быть достигнута с помощью системного введения. Композиции на основе молекулы, связывающей SIGLEC-15, могут быть комбинированы с матрицей, как описано ниже, для содействия в создании повышенной локальной концентрации полипептидных композиций в результате 45 снижения пассивной диффузии полипептидов вне участка, подлежащего лечению.

### **1. Составы для парентерального введения**

В некоторых вариантах осуществления композиции, раскрываемые в данном документе, вводят в водном растворе с помощью парентеральной инъекции или инфузии.

Состав также может находиться в форме суспензии или эмульсии. В целом предложены фармацевтические композиции, содержащие эффективные количества молекулы, связывающей SIGLEC-15, и необязательно содержащие фармацевтически приемлемые разбавители, консерванты, солюбилизаторы, эмульгаторы, адьюванты и/или носители.

- 5 Такие композиции необязательно содержат одно или несколько из следующего: разбавители, стерильную воду, забуференный физиологический раствор с различным содержанием буфера (например, Трис-НCl, ацетатный, фосфатный), pH и ионной силой; и вспомогательные вещества, такие как детергенты и солюбилизирующие агенты (например, TWEEN 20 (полисорбат-20), TWEEN 80 (полисорбат-80)), антиоксиданты
- 10 (например, аскорбиновую кислоту, метабисульфит натрия) и консерванты (например, тимерасол, бензиловый спирт) и объемообразующие вещества (например, лактозу, маннит). Примеры неводных растворителей и носителей являются пропиленгликоль, полиэтиленгликоль, растительные масла, такие как оливковое масло и кукурузное масло, желатин и инъекционные органические сложные эфиры, такие как этилолеат.
- 15 Составы могут быть лиофилизованными или повторно растворенными/респуспендированными непосредственно перед использованием. Состав может быть стерилизован, например, с помощью фильтрации через фильтр, удерживающий бактерий, с помощью включения стерилизующих агентов в композиции, с помощью облучения композиций или с помощью нагревания композиций.

## 20 2. Полимерные матрицы с контролируемой доставкой

Молекулы, связывающие SIGLEC-15, раскрываемые в данном документе, также могут быть введены в составах с контролируемым высвобождением. Полимерные изделия с контролируемым высвобождением могут быть изготовлены для длительного системного высвобождения после имплантации полимерного изделия (стержня,

- 25 цилиндра, пленки, диска) или инъекции (микрочастицы). Матрица может быть представлена в форме микрочастиц, таких как микросфера, в которых агент диспергирован в твердой полимерной матрице, или микрокапсулы, в которых ядро состоит из материала, отличного от полимерной оболочки, и пептид диспергирован или супспендирован в ядре, которое может быть жидким или твердым по своей природе.
- 30 Если в данном документе специально не определено, то микрочастицы, микросфера и микрокапсулы используются взаимозаменяющими. В альтернативном случае полимер может быть отлит в виде тонкой пластины или пленки, варьирующих от нанометров до четырех сантиметров, порошка, полученного с помощью измельчения или с помощью других стандартных методик, или даже геля, такого как гидрогель.

- 35 Как бионеразлагаемые, так и биоразлагаемые матрицы могут быть использованы для доставки слитых полипептидов или нуклеиновых кислот, кодирующих слитые полипептиды. Они могут представлять собой природные или синтетические полимеры. Синтетические полимеры в типичном случае имеют более хорошую характеристику разложения и профили высвобождения. Полимер выбирают на основе периода времени,
- 40 в течение которого требуется высвобождение. В некоторых случаях самым подходящим может быть линейное высвобождение, хотя, в других случаях импульсное высвобождение или «масштабное высвобождение» могут обеспечить более эффективные результаты. Полимер может находиться в форме гидрогеля (в типичном случае при поглощении до около 90% от веса воды) и может необязательно быть сшитым с многовалентными
- 45 ионами или полимерами.

Матрицы могут быть получены с помощью испарения растворителя, высушивания распылением, экстракции растворителя и другими способами, известными специалистам в данной области техники. Биоразрушающие микросфера могут быть приготовлены с

помощью любых способов, разработанных для получения микросфер в целях лекарственной доставки, например, как описано Mathiowitz and Langer, J. Controlled Release, 5:13–22 (1987); Mathiowitz, et al., Reactive Polymers, 6:275–283 (1987); и Mathiowitz, et al., J. Appl. Polymer Sci., 35:755–774 (1988).

5 Можно разработать изделия для локального высвобождения в целях воздействия на область имплантации или инъекции, которые в типичном случае будут доставлять дозу, которая представляет собой намного меньшую дозу, чем доза для лечения всего организма или системной доставки. Их можно имплантировать или вводить подкожно, в мышцу, жировую ткань или проглатывать.

10 **III. Способы применения**

Также предложены способы применения раскрываемых молекул, связывающих SIGLEC-15, и молекул, связывающих лиганд SIGLEC-15. Раскрыты применения таких молекул в целях повышения иммунных ответов, замедления или предупреждения опухолевого роста, ингибирования опосредованной опухолью иммунной супрессии, 15 уничтожения опухолей и/или истощения или блокирования активности опухоль-ассоциированных макрофагов (ТАМ) таким образом, чтобы изменить их активность, снизить опосредованную ТАМ иммунную супрессию, ослабить или обратить Т-клеточную супрессию. Также предложены применения таких молекул в диагностике и лечении рака и других заболеваний.

20 ТАМ обеспечивают связь между воспалением и раком. Макрофаги представляют собой клетки иммунной системы, происходящие из активированных моноцитов крови. Они главным образом распознаются в качестве участвующих в воспалительных ответах, индуцированных патогенами или повреждением тканей, в результате деятельности, направленной на удаление (т.е. фагоцитоз) патогенов, мертвых клеток, клеточного 25 дебриса и различных компонентов внеклеточного матрикса (ЕСМ). Было обнаружено, что макрофаги являются важным компонентом в опухолевом микроокружении и составляют до 50% опухолевой массы.

Помимо опосредованного фагоцитоза, макрофаги секретируют проангидиогенные факторы роста и протеазы, ремоделирующие матрикс, и, тем самым, играют роль в 30 развитии сосудистой инфраструктуры (т.е., ангиогенеза), необходимой для развития и роста опухоли (Pollard, J.W. (2009), *Nat. Rev. Immunol.* 9:259–270). Наличие макрофагов в опухоли, по-видимому, способствует росту опухоли. Ряд исследований свидетельствует о том, что наличие опухоль-ассоциированных макрофагов в опухоли представляет собой негативный prognostический фактор выживаемости (Farinha, P. et al. (2005), *Blood* 35: 106:2169–2174; Dave, S.S. et al. (2004), *N. Engl. J. Med.* 351:2159–2169; Solinas, G. et al. (2009), *J. Leukoc. Biol.* 86(5):1065–1073). ТАМ, а также нейтрофилы, фибробласты и другие клетки взаимодействуют с опухолевыми клетками для облегчения ангиогенеза в опухолях (Nucera, S. et al. (2011), *Int. J. Dev. Biol.* doi: 10.1387/ijdb.103227sn; Zamarron, B.F. et al. (2011), *Int. J. Biol. Sci.* 7(5):651–658; Liu, J. et al. (2011), *PLoS One.* 6(4):e19495; 40 Rigo, A. et al. (2010), *Molec. Cancer* 9(273):1–13; Lin, J.Y. et al. (2011), *Chin. J. Cancer* 30(4): 280–286; Vergati, M. (2011), *J. Biomed. Biotechnol.* 2011:182413).

Исследования показывают, что SIGLEC-15 индуцируется на ТАМ и усиливает секрецию TGF-β в результате сочетания распознавания опухолевых клеток с

45 путем передачи сигнала DAP12-Syk (Takamiya, et al., *Glycobiology*, 23(2):178–87 (2013)). В конкретной модели, предложенной Takamiya, M-CSF, секретируемый опухолевыми клетками, индуцирует дифференцировку моноцитов в макрофаги, сопровождающую экспрессией SIGLEC-15. Взаимодействие между сиалинированным антигеном Tn и

SIGLEC–15 усиливает продуцирование TGF–β из макрофагов посредством пути DAP12–Syk, способствуя развитию опухолевого микроокружения в направлении иммунной супрессии и, тем самым, прогрессирования опухоли и даже метастазирования.

Связывание функциональных блокирующих или ослабляющих анти–SIGLEC–15

- 5 антител с SIGLEC–15 может приводить к ослаблению, блокированию, антагонизации, нормализации или полному устраниению способности SIGLEC–15 связываться с одним или несколькими его лигандами и, тем самым, снижению или предупреждению передачи ингибирующего иммунного сигнала, в том числе, но не ограничиваясь ей, секреции TGF–β, опосредованной SIGLEC–15. Повышенная экспрессия TGF–β часто коррелирует
- 10 со злокачественностью многих видов рака и нарушением ингибирующего ответа в отношении клеточного роста в ответ на TGF–β и приводит к онкогенезу, обусловленному иммуносупрессией. Ослабление опосредованной SIGLEC–15 секреции TGF–β приводит к общему повышению иммунных ответов и прямому или косвенному снижению прогрессирования опухоли у субъекта.

- 15 Примеры, представленные ниже, показывают, что функциональные ослабляющие и блокирующие анти–SIGLEC–15 антитела, в том числе таковые, раскрываемые в данном документе, могут обращать опосредованную SIGLEC–15 супрессию CD4+ и CD8+ Т–клеточной пролиферации в анализе пролиферации мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC).

- 20 Таким образом, предложены способы ослабления иммунной супрессии и/или повышения иммунного ответа, в наиболее типичном случае в результате введения субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества анти–SIGLEC–15 функционального блокирующего антитела.

- 25 Подходящие антитела, полипептиды и слитые белки раскрыты в данном документе и могут быть дополнительно селектированы с помощью анализов *in vitro*, в том числе, но не ограничиваясь ими: пролиферации, миграции, адгезии, роста на мягком агаре, ангиогенеза, межклеточной связи, апоптоза, транспорта, передачи сигналов и анализов *in vivo*, таких как ингибирование опухолевого роста. Иллюстративные анализы исследования функции раскрываемых антител предложены в Примерах, представленных
- 30 ниже.

- 35 Антитела, предложенные в данном документе, могут также быть пригодными в диагностических и исследовательских применениях. Например, ненейтрализующие антитела могут связываться с конкретным антигеном, не ингибируя связывания с рецептором или биологическую активность антигена, и могут быть использованы в анализах захвата и других анализах с осаждением (например, ИФА). Нейтрализующие (например, функциональные блокирующие) антитела могут быть пригодны в анализах конкурентного связывания.

Антитела могут быть пригодными для количественной оценки полипептидов SIGLEC–15 и их лиганда.

- 40 А. Молекулы, повышающие иммунный ответ

#### 1. Терапевтические и профилактические применения

- Предложено терапевтическое и/или профилактическое применение молекул (особенно антител и их антигенсвязывающих фрагментов), которые иммуноспецифично связывают молекулы, связывающие SIGLEC–15 и лиганд SIGLEC–15 человека, и которые способны ослаблять связывание между SIGLEC–15 и одним или несколькими из его лигандов и/или контрецепторов (например, молекул–антагонистов).

В некоторых вариантах осуществления молекулы ослабляют или предупреждают связывание между SIGLEC–15 и сиалированным гликопротеиновым лигандом, например,

сиализованными гликопротеинами, эндогенно экспрессируемыми клетками субъекта, и ослабляют или предупреждают передачу сигнала, опосредованного SIGLEC-15.

Дополнительно или в альтернативном случае молекулы могут ослаблять или предупреждать связывание между SIGLEC-15 и его контрецептором и ослаблять или

предупреждать передачу сигнала, опосредованного SIGLEC-15 и/или передачу сигнала через контрецептор. Например, раскрываемые молекулы могут связываться с антигенами в одном или нескольких сайтах SIGLEC-15, нарушающих функционирование сайта связывания с сиаловой кислотой (например, эпитопе, содержащем остаток 143 SEQ ID NO:1) и/или сайта связывания, важного в отношении контрецептора SIGLEC-15.

Иллюстративные композиции проиллюстрированы в Примерах, представленных ниже. Например, в некоторых вариантах осуществления 5G12, 6F8, 8C8, 1C3, 1C12, 3H10 и 1B2 представляют собой «сильные блокаторы», а 10G9, 8H8 и 9A5 – «частичные блокаторы». Таким образом, в некоторых вариантах осуществления молекулы, используемые для положительного модулирования иммунного ответа, содержат одну,

две, три, четыре, пять или все шесть CDR 5G12, 6F8, 8C8, 1C3, 1C12, 3H10, 1B2, 10G9, 8H8 или 9A5. В некоторых вариантах осуществления молекулы содержат вариабельный участок легкой цепи и/или вариабельный участок тяжелой цепи 5G12, 6F8, 8C8, 1C3, 1C12, 3H10, 1B2, 10G9, 8H8 или 9A5. В некоторых вариантах осуществления предложено мышиное анти-человеческое антитело 5G12, 6F8, 8C8, 1C3, 1C12, 3H10, 1B2, 10G9, 8H8

или 9A5 или его химерный или гуманизированный вариант.

Как описано выше, взаимодействия между SIGLEC-15 и сиализованными гликопротеиновыми лигандами и/или контрецепторами SIGLEC-15 может ингибировать пролиферацию Т-клеток и повышать продуцирование цитокинов, таких как TGF-β. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления введение раскрываемых молекул, связывающих SIGLEC-15, субъекту, положительно модулирует иммунную систему субъекта в результате блокирования или иным образом антагонизации связывания/взаимодействия лиганда SIGLEC-15 и/или контрецептора. В другом варианте осуществления авидность и/или аффинность анти-SIGLEC-15 антитела могут быть такими, что оно связывается только с клетками, которые экспрессируют очень высокие уровни SIGLEC-15, которые, например, представляют собой опухоль-ассоциированные макрофаги (TAM) или раковые клетки, и, тем самым, обеспечивают специфичное нацеливание на такую клеточную популяцию. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления молекулы ослабляют продуцирование TGF-β, например, в опухолевом микроокружении. В некоторых вариантах осуществления клетки, экспрессирующие SIGLEC-15, представляют собой моноциты. В более конкретных вариантах осуществления клетки, экспрессирующие SIGLEC-15, представляют собой макрофаги, например, TAM.

Как указано выше, раскрываемые антитела и антигенсвязывающие фрагменты могут связываться с TAM и по сути блокировать их с тем, чтобы модулировать их иммунную супрессорную активность. Кроме того, такие антитела могут быть использованы для истощения TAM с SIGLEC-15 в опухолевом микроокружении или снижения концентрации TAM в периферической крови. В одном варианте осуществления такую модуляцию или истощение осуществляют с помощью анти-SIGLEC-15 антител, которые связываются с сайтом с тем, чтобы ослабить или нарушить нормальную функцию SIGLEC-15. Как следствие такого нарушения, активность TAM снижается (модулируется) и/или фактическая или эффективная (функциональная) концентрация макрофагов в опухоли снижается. В альтернативном случае такая модуляция или истощение осуществляется с помощью анти-SIGLEC-15 антител, которые конъюгируют с токсином таким образом,

что их связывание с ТАМ приводит к гибели макрофага.

Кроме того, раскрываемые молекулы–антагонисты молекулы могут быть использованы для индукции, повышения или усиления Т–клеточной пролиферации. В некоторых вариантах осуществления Т–клеточный ответ индуцируется в результате ослабления или предупреждения связывания SIGLEC–15 с контрактором на Т–клетке. Положительная модуляция иммунной системы является особенно предпочтительной при лечении видов рака и хронических инфекций, и, таким образом, раскрываемые композиции могут быть использованы при лечении таких нарушений.

## 2. Субъекты, подлежащие лечению

### а. Лечение рака

Раскрываемые функциональные ослабляющие композиции и способы могут быть использованы для лечения рака. Как правило, способы включают стимуляцию или усиление иммунного ответа в отношении рака, ослабление или предупреждение роста или прогрессирования опухоли или их комбинацию у субъекта с помощью введения субъекту количества молекулы, связывающей SIGLEC–15. Способ может ослаблять один или несколько симптомов рака.

Раковые клетки приобретают характерный набор функциональных возможностей во время своего развития, хотя и посредством разных механизмов. Такие возможности включают в себя уклонение от апоптоза, самодостаточность ростовых сигналов, нечувствительность к антиростовым сигналам, тканевую инвазию/метастазирование, неограниченный экспликативный потенциал и длительный ангиогенез. Термин «раковая клетка» предусматривает включение в себя предзлокачественных и злокачественных раковых клеток. В некоторых вариантах осуществления рак относится к доброкачественной опухоли, которая сохранилась локализованной. В других вариантах осуществления рак относится к злокачественной опухоли, которая инвазировала и разрушила соседние структуры организма и распространилась в отдаленные участки. В еще одних вариантах осуществления рак ассоциирован со специфическим раковым антигеном (например, антигеном, свойственным для всех видов карциномы (KS 1/4), антигеном карциномы яичника (CA125), простатспецифическим антигеном (PSA), раково–эмбриональным антигеном (CEA), CD19, CD20, HER2/neu и др.).

Способы и композиции, раскрываемые в данном документе, пригодны в лечении или предупреждении ряда видов рака и других патологических пролиферативных заболеваний, в том числе (но не ограничиваясь ими) следующих: карциномы, в том числе таковой мочевого пузыря, молочной железы, кишечника, почки, печени, легкого, яичника, поджелудочной железы, желудка, шейки матки, щитовидной железы и кожи; в том числе плоскоклеточной карциномы; гематопоэтических опухолей лимфоидной клеточной линии, в том числе лейкоза, острого лимфоцитарного лейкоза, острого лимфобластного лейкоза, В–клеточной лимфомы, Т–клеточной лимфомы, лимфомы Беркитта; гематопоэтических опухолей миелоидной клеточной линии, в том числе острых и хронических миелогенных лейкозов и промиелоцитарного лейкоза; опухолей мезенхимального происхождения, в том числе фиброзаркомы и рабдомиосаркомы; другие опухоли, в том числе меланомы, семиномы, тератокарциномы, нейробластомы и глиомы; опухолей центральной и перipherической нервной системы, в том числе астроцитомы, нейробластомы, глиомы и шванномы; опухолей мезенхимального происхождения, в том числе фиброзаркомы, рабдомиосаркомы и остеосаркомы; и других опухолей, в том числе меланомы, пигментной ксеродермы, кератоакантому, семиномы, фолликулярного рака щитовидной железы и тератокарциномы.

Виды рака, вызванные нарушениями апоптоза, также могут подлежать лечению с

помощью раскрываемых способов и композиций. Такие виды рака могут включать в себя, но не ограничиваясь ими, фолликулярные лимфомы, карциномы с мутациями p53, гормонзависимые опухоли молочной железы, предстательной железы и яичника, и предраковые поражения, такие как семейный аденоматозный полипоз и

- 5 миелодиспластические синдромы. В конкретных вариантах осуществления злокачественную опухоль или диспролиферативные изменения (такие как метаплазии и дисплазии) или гиперпролиферативные нарушения лечат или предупреждают с помощью этих способов и композиций в яичнике, мочевом пузыре, молочной железе, кишечнике, легком, коже, поджелудочной железе или матке. В других конкретных
- 10 вариантах осуществления саркому, меланому или лейкоз лечат или предупреждают с помощью раскрываемых способов и композиций.

Раскрываемые композиции и способы особенно пригодны для лечения видов рака, которые ассоциированы с клетками, которые экспрессируют аномально высокие уровни самого SIGLEC-15 или гликопротеиновых лигандов SIGLEC-15, видов рака с большим

- 15 количеством опухоль-ассоциированных макрофагов, особенно, если макрофаги экспрессируют SIGLEC-15, и/или рака, при котором другой(другие) тип(типы) клеток экспрессирует(экспрессируют) высокие уровни SIGLEC-15 или лигандов SIGLEC-15.

Конкретные виды рака и соответствующие нарушения, которые можно лечить или предупреждать с помощью способов и композиций, раскрываемых в данном документе,

- 20 включают в себя, но не ограничиваясь ими, лейкозы, в том числе, но не ограничиваясь ими, острый лейкоз, острый лимфоцитарный лейкоз, острые миелоцитарные лейкозы, такие как миелобластические, промиелоцитарные, миеломоноцитарные, моноцитарные лейкозы, эритролейкозы и миелодиспластический синдром, хронические лейкозы, такие как, но не ограничиваясь ими, хронический миелоцитарный (гранулоцитарный) лейкоз,
- 25 хронический лимфоцитарный лейкоз, лейкоз волосковых клеток; истинная полицитемия; лимфомы, такие как, но не ограничиваясь ими, ходжкинская лимфома или неходжкинская лимфома; лимфомы (например, диффузную В-крупноклеточную лимфому (DLBCL), негативную в отношении киназы анапластической лимфомы (ALK); диффузную В-крупноклеточную лимфому (DLBCL), позитивную в отношении киназы
- 30 анапластической лимфомы (ALK); ALK+ анапластическую крупноклеточную лимфому (ALCL), позитивную в отношении киназы анапластической лимфомы (ALK), острую миелоидную лимфому (AML)); множественные миеломы, такие как, но не ограничиваясь ими, тлеющая множественная миелома, несекреторная миелома, остеосклеротическая миелома, лейкоз плазматических клеток, солитарная плазмоцитома и экстрамедуллярная
- 35 плазмоцитома; макроглобулинемия Вальденстрема; моноклональная гаммапатия неустановленной этиологии; доброкачественная моноклональная гаммапатия; болезнь тяжелых цепей; саркомы костей и соединительной ткани, такие как, но не ограничиваясь ими, саркома кости, остеосаркома, хондросаркома, саркома Юинга, гигантоклеточная саркома, фибросаркома кости, хордома, периостальная саркома, саркомы мягких
- 40 тканей, ангиосаркома (гемангiosаркома), фибросаркома, саркома Капоши, лейомиосаркома, липосаркома, лимфангиосаркома, неврилеммома, рабдомиосаркома, синовиальная саркома; опухоли мозга, в том числе, но не ограничиваясь ими, глиому, астроцитому, глиому ствола мозга, эпендимому, олигодендроглиому, неглиалинную опухоль, неврилеммому слухового нерва, крациофарингиому, медуллобластому,
- 45 менингиому, pineоцитому, pineобластому, первичную лимфому мозга; рак молочной железы, в том числе, но не ограничиваясь ими, аденокарциному, лобулярную (мелкоклеточная) карциному, внутрипротоковую карциному, медуллярный рак молочной железы, слизеобразующий рак молочной железы, тубулярный рак молочной

железы, папиллярный рак молочной железы, болезнь Пэджета и отечно–инфилтративный рак молочной железы; рак надпочечников, в том числе, но не ограничиваясь ими, феохромоцитомную и адренокортикальную карциному; рак щитовидной железы, такой как, но не ограничиваясь ими, папиллярный или 5 фолликулярный рак щитовидной железы, медуллярный рак щитовидной железы и анапластический рак щитовидной железы; рак поджелудочной железы, в том числе, но не ограничиваясь ими, инсулинуому, гастриному, глюкагоному, випому, соматостатиному и карциноидную опухоль и опухоль островковых клеток; злокачественные опухоли гипофиза, в том числе, но не ограничиваясь ими, болезнь Кушинга, пролактиному, 10 акромегалию и несахарный диабет; злокачественные опухоли глаз, в том числе, но не ограничиваясь ими, меланому глаза, такую как меланома радужной оболочки, хороидальная меланома и меланома цилиарного тела и ретинобластома; злокачественные опухоли влагалища, в том числе, но не ограничиваясь ими, плоскоклеточную карциному, аденокарциному и меланому; рак вульвы, в том числе, 15 но не ограничиваясь ими, плоскоклеточную карциному, меланому, аденокарциному, карциному базальных клеток, саркому и болезнь Пэджета; злокачественные опухоли шейки матки, в том числе, но не ограничиваясь ими, плоскоклеточную карциному и аденокарциному; злокачественные опухоли матки, в том числе, но не ограничиваясь ими, карциному эндометрия и саркому матки; злокачественные опухоли яичника, в том 20 числе, но не ограничиваясь ими, эпителиальную карциному яичника, пограничную опухоль, эмбрионально–клеточную опухоль и стромальную опухоль; злокачественные опухоли пищевода, в том числе, но не ограничиваясь ими, плоскоклеточный рак, аденокарциному, аденоидно–кистозную карциному, мукоэпидермоидную карциному, аденосквамозную карциному, саркому, меланому, плазмоцитому, бородавчатую 25 карциному и овсяно–клеточную (мелкоклеточную) карциному; злокачественные опухоли желудка, в том числе, но не ограничиваясь ими, аденокарциному, грибовидно разрастающуюся (полипоид), изъязвленную, поверхности распространяющуюся, диффузно распространяющуюся, злокачественную лимфому, липосаркому, фиброзаркому и карциносаркому; злокачественные опухоли кишечника; 30 злокачественные опухоли прямой кишки; злокачественные опухоли печени, в том числе, но не ограничиваясь ими, гепатоцеллюлярную карциному и гепатобластому, злокачественные опухоли желчного пузыря, в том числе, но не ограничиваясь ей, аденокарциному; холангикарциномы, в том числе, но не ограничиваясь ими, папиллярные, узловые и диффузные; злокачественные опухоли легких, в том числе, но 35 не ограничиваясь ими, немелкоклеточный рак легких, плоскоклеточную карциному (эпидермоидную карциному), аденокарциному, крупноклеточную карциному и мелкоклеточный рак легких; злокачественные опухоли яичек, в том числе, но не ограничиваясь ими, герминому, семиному, анапластическую, классическую (типичную), сперматоцитарную, несеминому, эмбриональную карциному, тератому, карциному, 40 хориокарциному (опухоль желточного мешка), злокачественные опухоли предстательной железы, в том числе, но не ограничиваясь ими, аденокарциному, лейомиосаркому и рабдомиосаркому; злокачественные опухоли пениса; злокачественные опухоли ротовой полости, в том числе, но не ограничиваясь ими, плоскоклеточную карциному; базальноклеточные злокачественные опухоли; злокачественные опухоли слюнных 45 желез, в том числе, но не ограничиваясь ими, аденокарциному, мукоэпидермоидную карциному и аденоидо–кистозную карциному; злокачественные опухоли глотки, в том числе, но не ограничиваясь ими, плоскоклеточный рак и бородавчатый рак; злокачественные опухоли кожи, в том числе, но не ограничиваясь ими,

базальноклеточную карциному, плоскоклеточную карциному и меланому, поверхностно распространяющуюся меланому, узелковую меланому, злокачественную меланому лентиго, акральную лентигинозную меланому; злокачественные опухоли почек, в том числе, но не ограничиваясь ими, почечно–клеточный рак, аденокарциному,

- 5 гипернефрому, фибросаркому, рак переходных клеток (почечной лоханки и/или мочеточника); опухоль Вильмса; злокачественные опухоли мочевого пузыря, в том числе, но не ограничиваясь ими, карциному переходных клеток, плоскоклеточный рак, аденокарциному, карциносаркому. Кроме того, виды рака включают в себя миксосаркому, остеогенную саркому, эндотелиосаркому, лимфангиотелиосаркому,
- 10 мезотелиому, синовиому, геманглиобластому, эпителиальную карциному, цистаденосаркому, бронхогенную карциному, карциному потовых желез, карциному сальных желез, папиллярную карциному и папиллярные аденокарциномы (обзор таких нарушений см. в Fishman et al., 1985, Medicine, 2<sup>nd</sup> Ed., J.B. Lippincott Co., Philadelphia and Murphy et al., 1997, Informed Decisions: The Complete Book of Cancer Diagnosis, Treatment, and Recovery, Viking Penguin, Penguin Books U.S.A., Inc., United States of America).
- 15

#### **б. Лечение инфекций**

Раскрываемые функциональные ослабляющие композиции и способы могут быть использованы для лечения инфекций и инфекционный заболеваний. Как правило, способы включают стимуляцию или усиление иммунного ответа в отношении агента, вызывающего инфекцию, ослабление или предупреждение прогрессирования инфекционных заболеваний или их комбинацию у субъекта с помощью введения субъекту количества молекулы, связывающей SIGLEC–15. Способ может ослаблять один или несколько симптомов инфекции.

- 20
- 25 Инфекция или заболевание может быть вызвано бактерией, вирусом, простейшим, гельминтом или другим микробным патогеном, который проникает внутриклеточно и подвергается атаке, например, со стороны цитотоксических Т–лимфоцитов.

Инфекция или заболевание может быть острым или хроническим. Острая инфекция в типичном случае представляет собой инфекцию малой длительности. Во время острой микробной инфекции иммунные клетки начинают экспрессировать иммуномодулирующие рецепторы. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления способ включает повышение иммунного стимулирующего ответа против острой инфекции.

- 30
- 35 Инфекция может быть вызвана, например, но не ограничиваясь ими, *Candida albicans*, *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* или *Mycobacterium*.

В некоторых вариантах осуществления раскрываемые композиции используют для лечения хронических инфекций, например, инфекций, в которых происходило Т–клеточное истощение или Т–клеточная анергия, приводя к тому, что инфекция сохраняется у хозяина в течение длительного периода времени.

- 40
- 45 Иллюстративные инфекции, подлежащие лечению, представляют собой хронические инфекции, вызванные вирусом гепатита, вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ), Т–лимфотропным вирусом человека (HTLV), вирусом герпеса, вирусом Эпштейна–Барр или вирусом папилломы человека.

Поскольку вирусные инфекции удаляются преимущественно Т–клетками, то повышение Т–клеточной активности было бы терапевтически полезным в ситуациях, когда более быстрое или тщательное удаление инфекционного вирусного агента было бы предпочтительным для субъекта–животного или субъекта–человека. Таким образом,

раскрываемые композиции можно вводить для лечения местных или системных вирусных инфекций, в том числе, но не ограничиваясь ими, иммунодефицита (например, ВИЧ), папилломы (например, ВПЧ), герпеса (например, ВПГ), энцефалита, гриппа (например, вируса гриппа А человека) и простуды (например, риновируса человека) и других

- 5 вирусных инфекций, вызванных, например, HTLV, вирусом гепатита, респираторным синцитальным вирусом, вирусом осповакцины и вирусом бешенства. Молекулы могут быть введены местно для лечения вирусных кожных заболеваний, таких как герпетические поражения или опоясывающий герпес или генитальные бородавки. Молекулы также могут быть введены системно для лечения системных вирусных
- 10 заболеваний, в том числе, но не ограничиваясь ими, СПИДа, гриппа, простуды или энцефалита.

Иллюстративные инфекции, которые могут подлежать лечению, включают, но не ограничиваясь ими, инфекции, вызванные микроорганизмами, в том числе, но не ограничиваясь ими, *Actinomyces*, *Anabaena*, *Bacillus*, *Bacteroides*, *Bdellovibrio*, *Bordetella*,

- 15 *Borrelia*, *Campylobacter*, *Caulobacter*, *Chlamydia*, *Chlorobium*, *Chromatium*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Cytophaga*, *Deinococcus*, *Escherichia*, *Francisella*, *Halobacterium*, *Helicobacter*, *Haemophilus*, *Hemophilus influenza* тип В (HIB), *Hypomicrobium*, *Legionella*, *Leptospirosis*, *Listeria*, *Meningococcus A, B и C*, *Methanobacterium*, *Micrococcus*, *Myobacterium*, *Mycoplasma*, *Myxococcus*, *Neisseria*, *Nitrobacter*, *Oscillatoria*, *Prochloron*, *Proteus*, *Pseudomonas*,
- 20 *Phodospirillum*, *Rickettsia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Spirillum*, *Spirochaeta*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Streptomyces*, *Sulfolobus*, *Thermoplasma*, *Thiobacillus*, and *Treponema*, *Vibrio*, *Yersinia*, *Cryptococcus neoformans*, *Histoplasma capsulatum*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Nocardia asteroides*, *Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia typhi*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydial psittaci*, *Chlamydial trachomatis*, *Plasmodium falciparum*, *Trypanosoma brucei*, *Entamoeba histolytica*, *Toxoplasma gondii*, *Trichomonas vaginalis* и *Schistosoma mansoni*.

Другие микроорганизмы, которые могут подлежать лечению с помощью раскрываемых композиций и способов, включают в себя бактерии, такие как таковые *Klebsiella*, *Serratia*, *Pasteurella*; патогены, ассоциированные с холерой, столбняком, ботулизмом, сибирской язвой, чумой и болезнью Лайма; или грибковые или

- 30 паразитические патогены, такие как *Candida (albicans, krusei, glabrata, tropicalis и др.)*, *Cryptococcus*, *Aspergillus (fumigatus, niger и др.)*, *Genus Mucorales (mucor, absidia, rhizophorus)*, *Sporothrix (schenkii)*, *Blastomyces (dermatitidis)*, *Paracoccidioides (brasiliensis)*, *Coccidioides (immitis)* и *Histoplasma (capsulatum)*, *Entamoeba, histolytica*, *Balantidium coli*, *Naegleria fowleri*, *Acanthamoeba sp.*, *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium sp.*, *Pneumocystis carinii*, *Plasmodium vivax*, *Babesia microti*, *Trypanosoma brucei*, *Trypanosoma cruzi*, *Toxoplasma gondii* и др.), *Sporothrix*, *Blastomyces*, *Paracoccidioides*, *Coccidioides*, *Histoplasma*, *Entamoeba*, *Histolytica*, *Balantidium*, *Naegleria*, *Acanthamoeba*, *Giardia*, *Cryptosporidium*, *Pneumocystis*, *Plasmodium*, *Babesia* или *Trypanosoma* и др.
- 35

## В. Молекулы, ослабляющие иммунный ответ

### 40 1. Терапевтические и профилактические применения

Предложено терапевтическое и/или профилактическое применение молекул (особенно антител или их антигенсвязывающих фрагментов), которые связывают SIGLEC-15 человека или его лиганд, и которые способны повышать или усиливать связывание между SIGLEC-15 и одним или несколькими из его лигандов и/или контрецепторов (например, молекул-агонистов), а также предложено непосредственное повышение или усиление сигнала, опосредованного SIGLEC-15 или контрецептором.

Как описано выше, взаимодействия между SIGLEC-15 и сиализованными гликопротеиновыми лигандами и/или контрецепторами SIGLEC-15 может ингибиовать

пролиферацию Т–клеток и повышать продуцирование цитокинов, таких как TGF–β. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления введение функциональных активирующих молекул, связывающих SIGLEC–15, или функциональных активирующих молекул, связывающих лиганд SIGLEC–15, субъекту, отрицательно модулирует

- 5 иммунную систему субъекта в результате индукции или иного агонизирования связывания/взаимодействия лиганда SIGLEC–15 и/или контрецептора или непосредственной стимуляции передачи сигнала с участием SIGLEC–15 или контрецептора SIGLEC–15. В некоторых вариантах осуществления молекулы повышают продуцирование TGF–β и/или его секрецию, например, из моноцитов, таких
- 10 как макрофаги.

Кроме того, раскрытие молекулы–агонисты, связывающие SIGLEC–15 и связывающие лиганд SIGLEC–15, могут быть использованы для ослабления или снижения Т–клеточной пролиферации. В некоторых вариантах осуществления Т–клеточный ответ индуцируется в результате повышения или усиления связывания SIGLEC–15 с контрецептором на

- 15 Т–клетке. Отрицательная модуляция иммунной системы является особенно необходимой при лечении воспалительных и аутоиммунных заболеваний и нарушений и для лечения или предупреждения отторжения трансплантата и/или заболевания «трансплантат против хозяина», и, тем самым, раскрываемые композиции могут быть использованы в лечении таких нарушений.

#### **20 а. Воспалительные ответы**

В некоторых вариантах осуществления молекулы–агонисты SIGLEC–15 используются для лечения или облегчения одного или нескольких симптомов воспаления, например, острого, хронического или персистирующего воспаления.

Иммунный ответ, включающий в себя воспаление, может быть ингибирован или

- 25 ослаблен у субъекта, предпочтительно человека, с помощью введения эффективного количества молекулы, связывающей SIGLEC–15, для ингибирования или ослабления биологической активности иммунной клетки (например, Т–клетка или В–клетка) или для снижения количества провоспалительных молекул в области воспаления.

Иллюстративные провоспалительные молекулы включают в себя, но не ограничиваясь

- 30 ими, IL–1β, TNF–α, IFN–γ, IL–18, IL–17, IL–6, IL–23, IL–22, IL–21 и MMP.

#### **б. Гипервоспалительный ответ**

В некоторых вариантах осуществления молекулы, связывающие SIGLEC–15, оказывают тормозящее действие на иммунную систему. Например, молекула, связывающая SIGLEC–15, может быть использована для контроля иммунного

- 35 стимулирующего ответа в отношении инфекции, которая вызывает повреждение здоровых тканей в результате гипервоспалительного ответа. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления агенты вводят субъекту с инфекций, который также претерпевает гипервоспалительный ответ. В таких случаях контроль избыточных иммунных ответов может быть полезным для субъекта.

#### **40 с. Воспалительные и аутоиммунные заболевания/нарушения**

Раскрываемые композиции также могут быть использованы для лечения воспалительных или аутоиммунных заболеваний и нарушений. Иллюстративные воспалительные или аутоиммунные заболевания/нарушения, которые можно лечить, включают в себя, но не ограничиваясь ими, ревматоидный артрит, системную красную

- 45 волчанку, гнездную алопецию, анкилозирующий спондилит, антифосфолипидный синдром, аутоиммунную болезнь Адиссона, аутоиммунную гемолитическую анемию, аутоиммунный гепатит, аутоиммунное заболевание внутреннего уха, аутоиммунный лимфопролиферативный синдром (ALPS), аутоиммунную тромбоцитопеническую

пурпуро (АТР), болезнь Бехчета, буллезный пемфигоид, кардиомиопатию, спру–целиакию, дерматит, синдром хронической усталости и иммунодефицита (CFIDS), хроническую воспалительную димиелинизирующую полинейропатию, рубцующийся пемфигоид, болезнь холодовых агглютининов, Crest–синдром, болезнь Крона, болезнь

- 5 Дего, дерматомиозит, ювенильный дерматомиозит, дискоидную волчанку, первичную криоглобулинемию смешанного типа, фибромиалгию, фибромиозит, болезнь Грейвса, синдром Гийена–Барре, тиреоидит Хашимото, идиопатический легочный фиброз, идиопатическую тромбоцитопеническую пурпуро (ITP), Ig A–нефропатию, инсулинзависимый сахарный диабет (I типа), ювенильный артрит, болезнь Меньера,
- 10 смешанное заболевание соединительной ткани, рассеянный склероз, миастению gravis, вульгарный пемфигус, пернициозную анемию, узелковые периартерит, полихондрию, полигландулярный синдром, ревматическую полимиалгию, полимиозит и дерматомиозит, первичную агаммаглобулинемию, первичный биллиарный цирроз печени, псориаз, феномен Рейно, синдром Рейтера, ревматическую лихорадку, саркоидоз,
- 15 склеродермию, синдром Шегрена, синдром скованного человека, артериит Такаясу, височный артериит/гигантоклеточный артериит, язвенный колит, увеит, васкулит, витилиго и грануломатоз Вегенера.

В некоторых вариантах осуществления воспалительное или аутоиммунное заболевание вызвано патогеном или представляет собой результат инфекции.

#### 20 d. Трансплантаты

Молекулы, связывающие SIGLEC–15, могут быть использованы для ослабления или ингибирования отторжения трансплантата у субъекта, предпочтительно субъекта–человека. Отторжение трансплантата может быть ингибировано или ослаблено у субъекта с помощью введения эффективного количества молекулы–агониста,

- 25 связывающей SIGLEC–15, для ингибирования или ослабления биологической активности иммунной клетки или для снижения количества провоспалительных цитокинов или других молекул, ассоциированных с воспалением или способствующих воспалению в области трансплантата.

Трансплантируемый материал может представлять собой клетки, ткани, органы,

- 30 конечности, пальцы или части тела, предпочтительно человеческого тела.

Трансплантаты в типичном случае являются аллогенными или ксеногенными.

Молекулу–агонист SIGLEC–15 в типичном случае вводят субъекту в эффективном количестве для ослабления или ингибирования отторжения трансплантата. Молекулу можно вводить системно или локально с помощью любого пути введения. В некоторых

- 35 вариантах осуществления молекулы вводят в область трансплантации до, во время или после трансплантации.

Молекулы можно вводить непосредственно в клетки, ткань или орган, подлежащие трансплантации *ex vivo*. В одном варианте осуществления трансплантируемый материал приводят в контакт с молекулой, связывающей SIGLEC–15, до трансплантации, после

- 40 трансплантации или и то и другое.

В других вариантах осуществления молекулу, связывающую SIGLEC–15, вводят в иммунные ткани или органы, такие как лимфатические узлы или селезенка.

#### i. Клетки

Популяции любых типов клеток могут быть трансплантированы в субъекта. Клетки

- 45 могут быть гомогенными или гетерогенными. Гетерогенный означает, что клеточная популяция содержит более одного типа клеток. Иллюстративные клетки включают в себя клетки–предшественницы, такие как стволовые клетки и плюрипотентные клетки, которые могут быть собраны от донора и трансплантированы субъекту. Перед

трансплантацией клетки необязательно обрабатывают *ex vivo*. Клетки могут представлять собой аутологичные или гетерологичные клетки.

### **ii. Ткани**

Любая ткань может быть использована в качестве трансплантата. Иллюстративные 5 ткани включают в себя кожу, жировую ткань, сердечно–сосудистую ткань, такую как вены, артерии, капилляры, клапаны; нервную ткань, костный мозг, легочную ткань, глазную ткань, такую как роговица и хрусталик, хрящевую, костную и мышечную ткань. Ткань может быть модифицирована, как описано выше.

### **iii. Органы**

Иллюстративные органы, которые могут быть использованы для трансплантата, 10 включают в себя, но не ограничиваясь ими, почку, печень, сердце, селезенку, мочевой пузырь, легкое, желудок, глаз, язык, поджелудочную железу, кишечник и др. Орган, подлежащий трансплантации, также может быть модифицирован перед трансплантацией, как описано выше.

В одном варианте осуществления предложен способ ингибиования или ослабления хронического отторжения трансплантата у субъекта с помощью введения эффективного количества молекулы, связывающей SIGLEC–15, для ингибиования или ослабления хронического отторжения трансплантата по сравнению с контролем.

### **е. Заболевание «трансплантат против хозяина» (GVHD)**

Молекулы также могут быть использованы для лечения заболевания «трансплантат 20 против хозяина» (GVHD) с помощью введения эффективного количества молекулы, связывающей SIGLEC–15, для облегчения одного или нескольких симптомов, ассоциированных с GVHD. GVHD представляет собой основное осложнение, ассоциированное с аллогенной трансплантацией гематopoэтических стволовых клеток,

25 при котором функциональные стволовые клетки в трансплантированном костном мозге распознают реципиента как «чужеродного» и организовывают иммунологическую атаку. При определенных обстоятельствах это также может иметь место при переливании крови. Симптомы GVD включают в себя кожную сыпь или изменение цвета или текстуры кожи, диарею, тошноту, нарушение печеночной функции, пожелтение кожи, повышенную восприимчивость к инфекции, сухость и раздражительность глаз и чувствительность 30 или сухость во рту.

### **f. Сахарный диабет**

Молекулы–агонисты, связывающие SIGLEC–15, могут быть использованы для 35 лечения сахарного диабета. Способ включает трансплантацию инсулин–продуцирующих клеток субъекту и введение субъекту эффективного количества молекулы для ослабления или ингибиования отторжения трансплантата. Предпочтительно инсулин–продуцирующие клетки представляют собой бета–клетки или островковые клетки. В определенных вариантах осуществления инсулин–продуцирующие клетки 40 представляют собой рекомбинантные клетки, разработанные в целях продуцирования инсулина.

Инсулин–продуцирующие клетки могут быть покрыты капсулой с матрицей, такой как полимерная матрица, с помощью подходящих полимеров, в том числе, но не ограничиваясь ими, альгината, агарозы, гиалуроновой кислоты, коллагена, синтетических мономеров, альбумина, фибриногена, фибронектина, витронектина, 45 ламинина, декстрана, сульфата декстрана, хондроитинсульфата, дерматансульфата, кератансульфата, хитина, хитозана, гепарана, гепарансульфата или их комбинации.

### **С. Терапевтическое ингибиование резорбции костной ткани остеокластами**

Исследования показывают, что экспрессия и функция SIGLEC–15 важны при

остеокластогенезе (Stuible, et al., *J. Biol Chem.*, 289(10): 6498–6512 (2014), Ishida–Kitagawa, *J. Biol. Chem.*, 287, 17493–17502 (2012), каждая из которых явно включена посредством ссылки в полном объеме). Несмотря на то, что белок SIGLEC–15 является значительно активируется во время дифференцировки остеокластов, этот белок не подлежит

- 5 выявлению в недифференцированных клетках. Результаты указывают на то, что SIGLEC–15 и DAP12 образуют комплекс при эндогенных уровнях экспрессии в остеокластах. Мыши с нокаутом по SIGLEC–15(–/–) проявляют умеренный остеопороз.

Исследования *in vivo* также показывают, что анти–SIGLEC–15 антитело может ингибировать активность остеокластов в физиологическом контексте и обеспечивать 10 терапевтическую стратегию в целях ослабления потери костной ткани. Несмотря на то, что активация рецепторов на клеточной поверхности и их эндоцитозная отрицательная регуляция часто являются сочетанными в качестве средства ограничения интенсивности и длительности передачи сигнала, передача сигнала и эндоцитоз с 15 участием SIGLEC–15, по–видимому, происходят исключительно друг с другом, в зависимости от того, индуцирует ли лигирование антител кластеризацию или просто димеризацию рецепторов.

SIGLEC–15 представляет собой рецептор, характерный для остеокластов, с 20 высокоограниченным паттерном экспрессии, и, тем самым, виды терапии, нацеленные на SIGLEC–15, являются избирательными. Анти–SIGLEC–15 антитела ингибируют дифференцировку остеокластов на сравнительно поздней стадии, тем самым, сохраняя 25 сочетанную связь между остеокластами и остеобластами и предупреждая осложнения существующих видов терапии, нацеленных на остеокласты, которые могут индуцировать гибель остеокластов (бисфосфонаты) или предупреждать их дифференцировку на ранней стадии (деносумаб), приводя к нежелательным побочным эффектам, в том числе 30 остеонекроз челюсти и атипичные переломы бедра.

Таким образом, в некоторых вариантах осуществления раскрываемые молекулы 35 (особенно антитела или их антигенсвязывающие фрагменты), которые иммunoспецифично связывают SIGLEC–15 человека и которые способны ослаблять или блокировать связывание между SIGLEC–15 и одним или несколькими из его лигандов и/или контрецепторов (например, молекулами–агонистами), также можно вводить 40 субъекту, нуждающемуся в этом, в эффективном количестве для ослабления или ингибирования дифференцировки остеокластов, их функционирования или комбинации. В некоторых вариантах осуществления молекулы вводят в эффективном количестве для ослабления потери костной ткани, повышения костеобразования, повышения 45 минеральной плотности костной ткани или их комбинации.

#### **D. Нацеливание и детекция**

Раскрываемые молекулы, связывающие SIGLEC–15 и связывающие лиганд SIGLEC–15, вне зависимости от их воздействия на функцию SIGLEC–15, могут быть использованы для доставки терапевтического груза и/или детекции наличия SIGLEC–15 или его лиганда 40 соответственно на клетках или тканях. Например, молекулы, связывающие SIGLEC–15 и связывающие рецептор SIGLEC–15, могут быть конъюгированы с биологической молекулой, представляющей интерес, с образованием конъюгата. Груз, содержащий фармакологически активные молекулы, такие как неорганические и органические 45 молекулы, фармацевтические агенты, лекарственные препараты, пептиды, белки, генетический материал и др., может быть конъюгирован с молекулой, связывающей SIGLEC–15 или связывающей лиганд SIGLEC–15, которая затем может нацеливать груз в клетки или ткани, экспрессирующие SIGLEC–15 или его лиганд соответственно. Молекулы SIGLEC–15 могут быть химически связаны с полипептидом с помощью

пептидной связи или с помощью химической или пептидной линкерной молекулы. Способы присоединения лекарственного препарата или другого низкомолекулярного фармацевтического препарата к фрагменту антитела хорошо известны и включают в себя химические линкеры, такие как N–сукцинимидил(4–йодацетил)–аминобензоат;

- 5 сульфосукцинимидил(4–йодацетил)–аминобензоат;
- 4–сукцинимидил–оксикарбонил–А–инвертированный.–(2–пиридилтио)толуол; сульфосукцинимидил–6–[альфа.–метил–А–инвертированный.–(пиридилдитиол)–толуами–до]гексаноат; N–сукцинимидил–3–(–2–пиридилтио)–проприонат; сукцинимидил–6–[3–(–2–пиридилтио)–проприонамило]гексаноат;
- 10 сульфосукцинимидил–6–[3–(–2–пиридилдитио)–проприонамило]гексаноат; 3–(2–пиридилдитио)–пропионилгидразин, реактив Эдмана, дихлортриазиновую кислоту, S–(2–тиопиридилил)–L–цистеин и т.п.

Слитые белки могут быть сконструированы таким образом, чтобы расположить белок, представляющий интерес, на амино– или карбоксиконце как тяжелой, так и легкой цепи антитела, хотя вся тяжелая цепь может не потребоваться. Потенциальные конфигурации включают в себя применение усеченных участков тяжелой и легкой цепи со спейсерными последовательностями или без них, при необходимости, в целях поддержания функциональной целостности присоединяемого белка.

В альтернативном случае может быть разработана универсальная система носителей.

- 20 Например, различные белки или ДНК могут быть конъюгированы с распространенным носителем, таким как белок А, поли–L–лизин, гексагистидин и т.п. Конъюгированный носитель впоследствии может образовывать комплекс с молекулами, связывающими SIGLEC–15 или связывающими лиганд SIGLEC–15. Небольшая часть молекулы–носителя, которая отвечает за связывание иммуноглобулина, могла быть использована в качестве носителя. Другие аналогичные конфигурации включают в себя конструирование носителей, которые взаимодействуют с белками, разработанными в тяжелой или легкой цепи антитела.

В некоторых вариантах осуществления молекулы, связывающие SIGLEC–15 или связывающие лиганд SIGLEC–15, конъюгируют или иным образом включают в или на наноноситель для нацеливания на клетки, позитивные в отношении SIGLEC–15 или лиганда SIGLEC–15. Наноноситель, например, микро– или нанополимерные частицы, липосомы, нанотрубки и т.д. могут содержать активный агент для доставки в клетки, позитивные в отношении SIGLEC–15 или лиганда SIGLECr–15, или их микроокружение.

Аналогичным образом, молекулы, связывающие SIGLEC–15 или лиганд SIGLEC–15, могут быть конъюгированы с детектируемым маркером или могут быть неконъюгированными и детектируемыми с помощью вторичного реагента в целях детекции экспрессии SIGLEC–15 или лиганда SIGLEC–15 соответственно, *in vitro* или *in vivo*. Таким образом, молекулы могут быть использованы для визуализации, имmunогистохимического анализа и других анализов.

#### 40 IV. Комбинированные виды терапии

Раскрываемые молекулы, связывающие SIGLEC–15 и лиганд SIGLEC–15, можно вводить субъекту, нуждающемуся в этом, в отдельности или в комбинации с одним или несколькими дополнительными терапевтическими агентами. В некоторых вариантах осуществления молекулу, связывающую SIGLEC–15 или связывающую лиганд SIGLEC–15, и дополнительный терапевтический агент вводят раздельно, но одновременно. Молекулу, связывающую SIGLEC–15 или связывающую лиганд SIGLEC–15, и дополнительный терапевтический агент можно также вводить в виде части одной и той же композиции. В некоторых вариантах осуществления молекулу,

связывающую SIGLEC–15 и связывающую лиганд SIGLEC–15, и второй терапевтический агент вводят раздельно и в различное время, однако в виде части одной и той же схемы лечения.

Субъекту можно вводить первый терапевтический агент за 1, 2, 3, 4, 5, 6 или более

- 5 часов или за 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или более дней до введения второго терапевтического агента. В некоторых вариантах осуществления субъекту можно вводить одну или несколько доз первого агента каждые 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 14, 21, 28, 35 или 48 дней до первого введения второго агента. Молекула, связывающая SIGLEC–15 или связывающая лиганд SIGLEC–15, может представлять собой первый или второй терапевтический агент. В
- 10 некоторых вариантах осуществления одну или несколько молекул, связывающих SIGLEC–15, и одну или несколько молекул, связывающих лиганд SIGLEC–15, вводят в комбинации.

Молекулу, связывающую SIGLEC–15 и/или связывающую лиганд SIGLEC–15, и дополнительный терапевтический агент можно вводить в виде части схемы лечения.

- 15 Например, если первый терапевтический агент можно вводить субъекту на каждый четвертый день, то второй терапевтический агент можно вводить на первый, второй, третий или четвертый день или их комбинации. Первый терапевтический агент или второй терапевтический агент можно вводить повторно в течение всей схемы лечения.

Иллюстративные молекулы включают, но не ограничиваясь ими, цитокины,

- 20 химиотерапевтические агенты, радионуклиды, другие иммунотерапевтические препараты, ферменты, антибиотики, противовирусные препараты (особенно ингибиторы протеаз в отдельности или в комбинации с нуклеозидами для лечения ВИЧ или гепатита В или С), противопаразитарные препараты (для лечения гельминтов, простейших), факторы роста, ингибиторы роста, гормоны, антагонисты гормонов, антитела и их
- 25 биоактивные фрагменты (в том числе гуманизированные, одноцепочечные и химерные антитела), препараты на основе антигенов и вакцин (в том числе адьюванты), пептидные лекарственные препараты, противовоспалительные препараты, лиганда, которые связываются с Toll–подобными рецепторами (в том числе, но не ограничиваясь ими, полиинозиновая:полицитидиловая кислота (polyI:C) и олигонуклеотиды CpG) в целях
- 30 активации врожденной иммунной системы, молекулы, которые мобилизуют и адаптируют иммунную систему, другие молекулы, которые активируют или усиливают действие цитотоксических Т–лимфоцитов, естественных клеток–киллеров и Т–хелперов, а также других молекул, которые дезактивируют или оказывают отрицательную регуляцию на супрессорные или регуляторные Т–клетки.

- 35 Дополнительные терапевтические агенты выбирают на основе патологического состояния, нарушения или заболевания, подлежащих лечению. Например, молекулу, связывающую SIGLEC–15, можно вводить совместно с одним или несколькими дополнительными агентами, которые функционируют таким образом, чтобы усиливать или активировать иммунный ответ или ослаблять или ингибировать иммунный ответ.

#### 40 А. Химиотерапевтические агенты

- Молекулы, связывающие SIGLEC–15 и связывающие лиганд SIGLEC–15, можно комбинировать с одним или несколькими химиотерапевтическими агентами и проапоптическими агентами. Иллюстративные химиотерапевтические агенты включают в себя, но не ограничиваясь ими, амсакрин, блеомицин, бусульфан, капецитабин, карбоплатин, карmustин, хлорамбуцил, цисплатин, кладрибин, клофарабин, кризантаспазу, циклофосфамид, цитарabin, дакарбазин, дактиномицин, даунорубицин, доцетаксел, доксорубицин, эпирюбицин, этопозид, флударабин, фторурацил, гемцитабин, гидроксикарбамид, идарубицин, ифосфамид, иринотекан, лейковорин, липосомальный

доксорубицин, липосомальный даунорубицин, ломустин, мелфалан, меркаптопурин, месну, метотрексат, митомицин, митоксанtron, оксалиплатин, паклитаксел, пеметрексед, пентостатин, прокарбазин, ралтитрексид, сатраплатин, стрептозоцин, тегафур–урацил, темозоломид, тенипозид, тиотепу, тиогуанин, топотекан, треосульфан, винblastин,  
 5 винクリстин, виндезин, винорелбин или их комбинацию. Иллюстративные  
 10 проапоптические агенты включают в себя, но не ограничиваясь ими, флударабин, стаurosпорин, циклогексимид, актиномицин D, лактозилкерамид, 15d-PGJ(2) и их комбинации.

#### В. Другие иммуномодуляторы

##### 1. Антагонисты PD–1

В некоторых вариантах осуществления молекулы, связывающие SIGLEC–15 и связывающие лиганд SIGLEC–15, вводят совместно с антагонистом PD–1. Белок программируемой смерти–1 (PD–1) представляет собой члена семейства рецепторов CD28, который доставляет отрицательный иммунный ответ при индуцировании на  
 15 Т–клетках. Контакт между PD–1 и одним из его лигандом (B7–H1 или B7–DC) индуцирует ингибирующий ответ, который снижает Т–клеточную мультипликацию и/или силу и/или длительность Т–клеточного ответа. Подходящие антагонисты PD–1 описаны в патентах США №№8114845, 8609089 и 8709416, которые явно включены в данный документ посредством ссылки в полном объеме, и включают в себя соединения или  
 20 агенты, которые как связываются с лигандом PD–1, так и блокируют его в целях нарушения или ингибирования связывания лиганда с рецептором PD–1, или связываются непосредственно с рецептором PD–1 и блокируют его, не индуцируя передачу ингибирующего сигнала через рецептор PD–1.

В некоторых вариантах осуществления антагонист рецептора PD–1 связывается

25 непосредственно с рецептором PD–1, не вызывая передачу ингибирующего сигнала, и также связывается с лигандом рецептора PD–1 в целях ослабления или ингибирования передачи сигнала с помощью лиганда через рецептор PD–1. Благодаря снижению числа и/или содержания лигандов, которые связываются с рецептором PD–1 и вызывают передачу ингибирующего сигнала, меньше клеток ослабляется в результате  
 30 отрицательного сигнала, доставляемого с помощью передачи сигнала с участием PD–1, и может быть достигнут более устойчивый иммунный ответ.

Считается, что передача сигнала с участием PD–1 регулируется с помощью связывания с лигандом PD–1 (таким как B7–H1 или B7–DC) в непосредственной близости к пептидному антигену, презентируемому главным комплексом гистосовместимости  
 35 (МНС) (см., например, Freeman, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 105:10275–10276 (2008)). Таким образом, белки, антитела или малые молекулы, которые предупреждают колигирование PD–1 и TCR на Т–клеточной мембране также являются пригодными антагонистами PD–1.

В некоторых вариантах осуществления антагонисты рецептора PD–1 представляют  
 40 собой низкомолекулярные антагонисты или антитела, которые ослабляют или нарушают передачу сигнала с участием рецептора PD–1 в результате связывания с лигандами PD–1 или с самим PD–1, особенно в случаях, если колигирование PD–1 с TCR не следует за таким связыванием, тем самым, не вызывая передачу ингибирующего сигнала через рецептор PD–1.

45 Другие антагонисты PD–1, предусмотренные способами данного изобретения, включают в себя антитела, которые связываются с PD–1 или лигандами PD–1 и другими антителами.

Подходящие анти–PD–1 антитела включают в себя, но не ограничиваясь ими, таковые,

описанные в следующих патентах США: 7332582, 7488802, 7521051, 7524498, 7563869, 7981416, 8088905, 8287856, 8580247, 8728474, 8779105, 9067999, 9073994, 9084776, 9205148, 9358289, 9387247, 9492539, 9492540, все из которых включены посредством ссылки в полном объеме.

<sup>5</sup> См. также Berger et al., Clin. Cancer Res., 14:30443051 (2008).

Иллюстративные анти–B7–H1 (также называемые анти–PD–L1) антитела включают в себя, но не ограничиваясь ими, таковые, описанные в следующих патентах США: 8383796, 9102725, 9273135, 9393301 и 9580507, все из которых явно включены в данный документ посредством ссылки в полном объеме.

<sup>10</sup> В отношении анти–B7–DC (также называемых анти–PD–L2) антитела см. патенты США №№: 7411051, 7052694, 7390888, 8188238 и 9255147, все из которых явно включены в данный документ посредством ссылки в полном объеме.

<sup>15</sup> Другие иллюстративные антагонисты рецептора PD–1 включают в себя, но не ограничиваясь ими, полипептиды B7–DC, в том числе гомологи и варианты таковых, а также активные фрагменты любого из вышеуказанных и слитые белки, которые включают любой из них. В некоторых вариантах осуществления сливные белки включают в себя растворенный участок B7–DC, связанный с Fc–участком антитела, такого как IgG человека, и не включает все или часть из трансмембранных участков B7–DC человека.

<sup>20</sup> Антагонист PD–1 также может представлять собой фрагмент B7–H1 млекопитающего, например, от мыши или примата, такого как человека, при этом фрагмент связывается с PD–1 и блокирует его, но не приводит к передаче ингибирующего сигнала через PD–1. Фрагменты также могут представлять собой часть сливного белка, например, сливного белка Ig.

<sup>25</sup> Другие пригодные полипептиды–антагонисты PD–1 включают в себя таковые, которые связываются с лигандами рецептора PD–1. Они включают в себя рецепторный белок PD–1 или их растворенные фрагменты, которые связываются с лигандами PD–1, такими как B7–H1 или B7–DC, и предупреждают связывание с эндогенным рецептором PD–1, тем самым предупреждая передачу ингибирующего сигнала. Также было показано, что B7–H1 связывается с белком B7.1 (Butte et al., *Immunity*, Vol. 27, pp. 111–122, (2007)).

<sup>30</sup> Такие фрагменты также включают в себя растворенную часть ECD белка PD–1, который содержит мутации, такие как мутация A99L, которая повышает связывание с природными лигандами (Molnar et al., *PNAS*, 105:10483–10488 (2008)). B7–1 или его растворенные фрагменты, которые связываются с лигандом B7–H1 и предупреждают связывание с эндогенным рецептором PD–1, тем самым предупреждая передачу ингибирующего сигнала, также являются пригодными.

<sup>35</sup> Антисмыловые нуклеиновые кислоты PD–1 и B7–H1, как ДНК, так и РНК, а также молекулы миРНК, также могут представлять собой антагонисты PD–1. Такие антисмыловые молекулы предупреждают экспрессию PD–1 на Т–клетках, а также продуцирование Т–клеточных лигандов, таких как B7–H1, PD–L1 и/или PD–L2.

<sup>40</sup> Например, миРНК (например, около 21 нуклеотида в длину, которая является специфичной в отношении гена, кодирующего PD–1 или кодирующими лигандом PD–1, и олигонуклеотиды которой можно легко приобрести коммерчески), образующие комплексы с носителями, такими как полиэтиленимин (см. Cubillos–Ruiz et al., *J. Clin. Invest.* 119(8): 2231–2244 (2009)), легко захватывается клетками, которые экспрессируют PD–1, а также лиганды PD–1, и ослабляют экспрессию этих рецепторов и лигандов в целях достижения снижения передачи ингибирующего сигнала в Т–клетках, тем самым, активируя Т–клетки.

## 2. Антагонисты CTLA4

Другие молекулы, пригодные в опосредовании эффектов Т-клеток в иммунном ответе, также предусмотрены в качестве дополнительных терапевтических агентов. В некоторых вариантах осуществления молекула представляет собой антагонист CTLA4, например, антагонистическое анти-CTLA4 антитело. Пример анти-CTLA4 антитела 5 для применения в способах данного изобретения включает в себя антитело, описанное в PCT/US2006/043690 (Fischkoff et al., WO/2007/056539).

Дозы анти-PD-1, анти-B7-H1 и анти-CTLA4 антитела известны в данной области техники и могут находиться в диапазоне, например, от 0,1 до 100 мг/кг или в более коротких диапазонах от 1 до 50 мг/кг или от 10 до 20 мг/кг. Подходящая доза для 10 субъекта-человека может составлять от 5 до 15 мг/кг, при этом 10 мг/кг антитела (например, человеческого анти-PD-1 антитела) представляет собой конкретный вариант осуществления.

Конкретные примеры анти-CTLA4 антитела, пригодного в способах данного изобретения, представляют собой ипилимумаб, человеческое анти-CTLA4 антитело, 15 вводимое в дозе, например, около 10 мг/кг, и тремелимумаб, человеческое анти-CTLA4 антитело, вводимое в дозе, например, около 15 мг/кг. См. также Sammartino, et al., *Clinical Kidney Journal*, 3(2):135–137 (2010), опубликованную он-лайн в декабре 2009 г.

В других вариантах осуществления антагонист представляет собой малую молекулу. Было показано, что ряд малых органических молекул связывается с лигандом B7-1 с 20 предупреждением связывания с CTLA4 (см. Erbe et al., *J. Biol. Chem.*, 277:7363–7368 (2002)). Такие малые органические молекулы можно вводить в отдельности или совместно с анти-CTLA4 антителом в целях ослабления передачи ингибирующего сигнала Т-клеток.

### 3. Потенцирующие агенты

В некоторых вариантах осуществления дополнительные терапевтические агенты 25 включают в себя потенцирующий агент. Потенцирующий агент действует в целях повышения эффективности положительного регулятора иммунного ответа, возможно, в результате более одного механизма, несмотря на то, что точный механизм действия не является обязательным для широкого практического применения данного изобретения.

В некоторых вариантах осуществления потенцирующий агент представляет собой 30 циклофосфамид. Циклофосфамид (CTX, Cytoxan<sup>®</sup> или Neosar<sup>®</sup>) представляет собой оксазофосфориновый лекарственный препарат, а аналоги включают в себя ифосфамид (IFO, ифекс), перфосфамид, трофосфамид (трофосфамид; иксотен) и фармацевтически приемлемые соли, сольваты, пролекарственные препараты и их метаболиты (заявка 35 на патент США 20070202077, которая включена в полном объеме). Ифосфамид (МИТОХАНА<sup>®</sup>) представляет собой структурный аналог циклофосфамида и считается, что его механизм действия является идентичным или по сути аналогичным таковому циклофосфамида. Перфосфамид (4-гидропероксициклофосфамид) и трофосфамид 40 также представляют собой алкилирующие агенты, которые являются структурно связанными с циклофосфамидом. Например, перфосфамид алкилирует ДНК, тем самым ингибируя репликацию ДНК и синтез РНК и белков. Новые оксазофосфориновые производные были разработаны и оценены в целях повышения избирательности и 45 ответа при пониженной токсичности для хозяина (Liang J, Huang M, Duan W, Yu XQ, Zhou S. Design of new oxazaphosphorine anticancer drugs. *Curr Pharm Des.* 2007;13(9):963–78. Review). Они включают в себя мафосфамид (NSC 345842), глусфосфамад (D19575, бета-D-глюкозилфосфорамидиприте), S-(–)-бромфосфамид (СВМ-11), NSC 612567 (алдофосфамид пергидротиазин) и NSC 613060 (алдофосфамид тиазолидин).

Мафосфамид представляет собой оксазофосфориновый аналог, который представляет

собой химически стабильную соль 4-тиоэтансульфоновой кислоты 4-гидрокси-СРА. Глюфосфамид представляет собой производное IFO, в котором изофосфорамидиприте, алкилирующий метаболит IFO, гликозидически связан с молекулой бета-D-глюкозы. Дополнительные циклофосфамидные аналоги описаны в патенте США 5190929 под 5 названием «Циклофосфамидные аналоги, пригодные в качестве противоопухолевых агентов», который включен в данный документ посредством ссылки в полном объеме.

Несмотря на то, что сам по себе СТХ является нетоксичным, некоторые из его 10 метаболитов представляют собой цитотоксические алкилирующие агенты, которые вызывают сшивание ДНК, а в более высоких дозах разрывы нитей. Многие клетки являются устойчивыми к СТХ, поскольку они экспрессируют высокие уровни детоксифицирующего фермента альдегиддегидрогеназы (ALDH). СТХ нацеливается на пролиферирующие лимфоциты, поскольку лимфоциты (но не гепатопоэтический 15 стволовые клетки) экспрессируют лишь незначительные уровни ALDH, а делящиеся клетки являются наиболее чувствительными к агентам алкилирования ДНК.

Низкие дозы СТХ (<200 мг/кг) могут оказывать иммуностимулирующие эффекты, в том числе стимуляцию противоопухолевых иммунных ответов у человека и в мышиных 20 моделях рака (Brode & Cooke *Crit Rev. Immunol.* 28:109–126 (2008)). Такие низкие дозы являются субтерапевтическими и не имеют прямой противоопухолевой активности. В отличие от этого, высокие дозы СТХ ингибируют противоопухолевый ответ. Несколько 25 механизмов могут объяснить роль СТХ в потенциации противоопухолевого иммунного ответа: (а) истощение CD4+CD25+FoxP3+ Treg (и, в частности, пролиферирующих Treg, которые могут быть особенно супрессивными), (б) истощение В-лимфоцитов; (с) индукция оксида нитрита (NO), приводящая к супрессии роста опухолевых клеток; (д) мобилизация и экспансия CD11b+Gr-1+ MDSC. Эти первичные эффекты оказывают 30 многочисленные вторичные эффекты; например, после истощения Treg макрофаги продуцируют больше IFN- $\gamma$  и меньше IL-10. Также было показано, что СТХ индуцирует экспрессию IFN I типа и активирует гомеостатическую пролиферацию лимфоцитов.

Истощение Treg наиболее часто указывается в качестве механизма, с помощью 35 которого СТХ потенцирует противоопухолевый ответ. Это заключение основано отчасти на результатах экспериментов по адаптивному переносу. В опухолевой модели АВ1-НА обработка СТХ на сутки 9 приводит к 75% уровню излечения. Перенос очищенных Treg на сутки 12 почти полностью ингибировал ответ со стороны СТХ (van der Most et al. *Cancer Immunol. Immunother.* 58:1219–1228 (2009)). Аналогичный результат наблюдался в опухолевой модели ННД2: адаптивный перенос CD4+CD25+ Treg после 40 предварительной обработки СТХ устранил терапевтический ответ на вакцину (Taieb, J. J. *Immunol.* 176:2722–2729 (2006)).

Многочисленные клинические исследования у человека продемонстрировали, что 45 низкодозовый СТХ является безопасный, хорошо переносимым и эффективным агентом для активации противоопухолевых ответов (Bas, & Mastrangelo *Cancer Immunol. Immunother.* 47:1–12 (1998)).

Оптимальная доза СТХ для потенцирования противоопухолевого иммунного ответа представляет собой таковую, которая снижает общее количество Т-клеток в результате снижения уровней Treg ниже нормального диапазона, но который остается субтерапевтическим (см. Machiels et al. *Cancer Res.* 61:3689–3697 (2001)).

В клинических исследованиях у человека, в которых был использован СТХ в качестве 50 иммунопотенцирующего агента, обычно использовали дозу 300 мг/м<sup>2</sup>. В случае среднего мужчины (6 футов (182 см), 170 фунтов (78 кг) с площадью поверхности тела 1,98 м<sup>2</sup>), 300 мг/м<sup>2</sup> составляет 8 мг/кг или 624 мг от общего белка. В мышиных моделях

рака эффективность была показана при дозах, находящихся в диапазоне 15–150 мг/кг, что соответствует 0,45–4,5 мг от общего белка у мыши весом 30 г (Machiels et al. *Cancer Res.* 61:3689–3697 (2001), Hengst et al *Cancer Res.* 41:2163–2167 (1981), Hengst *Cancer Res.* 40:2135–2141 (1980)).

5 В случае более крупных млекопитающих, таких как примат, таких как пациент–человек, могут быть использованы такие дозы в мг/м<sup>2</sup>, однако также могут быть использованы однократные дозы в течение конечного периода времени. Такие однократные дозы можно вводить на ежедневной основе в течение конечного периода времени, такого как до 3 дней, или до 5 дней, или до 7 дней, или до 10 дней, или до 15 10 дней или до 20 дней или до 25 дней, все они явно предусмотрены данным изобретением. Та же самая схема может быть использована в отношении других потенцирующих агентов, упомянутых в данном документе.

15 В других вариантах осуществления потенцирующий агент представляет собой агент, который снижает активность и/или число регуляторных Т–лимфоцитов (T-reg), таких как синитиниб (SUTENT®), анти–TGFβ антитело или иматиниб (GLEEVAC®). Упомянутая схема лечения может также включать в себя введение адьюванта.

20 Пригодные потенцирующие агенты также включают ингибиторы митоза, такие как паклитаксол, ингибиторы ароматазы (например, летрозол) и ингибиторы аngиогенеза (ингибиторы VEGF, например, авастин, VEGF–Trap) (см., например, Li et al., *Clin Cancer Res.* 2006 Nov 15; 12(22):6808–16.), антрациклины, оксалиплатин, доксорубицин, антагонисты TLR4 и антагонисты IL–18.

### **С. Противомикробные препараты**

25 В одном варианте осуществления молекулы, связывающие SIGLEC–15 и связывающие лиганд SIGLEC–15, могут быть использованы в превентивной или профилактической роли в лечении и предупреждении заболевания, как описано в данном документе, а также в контексте тяжелых травматических повреждений, таких как большой ожог, открытый перелом, случайная ампутация или другие раны. Таким образом, молекулы, связывающие SIGLEC–15 или связывающие лиганд SIGLEC–15, можно вводить субъекту 30 в комбинации с противомикробным препаратом, таким как антибиотик, противогрибковый препарат, противовирусный препарат, противопаразитарный препарат или эфирное масло.

35 В некоторых вариантах осуществления субъекту вводят молекулы, связывающие SIGLEC–15, и/или противомикробный препарат во время приема в больницу в целях предупреждения последующих бактериальных, грибковых или вирусных осложнений. Антибиотик может нацеливаться на патогены, а молекулы, связывающие SIGLEC–15 или связывающие лиганд SIGLEC–15, могут стимулировать иммунную систему обеспечивать усиленный ответ на лечение или предупреждать последующую инфекцию или заболевание.

### **40 Д. Иммуносупрессивные агенты**

В некоторых вариантах осуществления иммунный ответ или воспалительное/аутоиммунное заболевание/нарушение лечат с помощью введения субъекту молекулы, связывающей SIGLEC–15 или связывающей лиганд SIGLEC–15, и второго агента, которые представляют собой иммуносупрессор. Иммуносупрессивные агенты включают 45 в себя, но не ограничиваясь ими, антитела против других лимфоцитарных поверхностных маркеров (например, CD40, альфа–4 интегрина) или против цитокинов, слитые белки (например, CTLA–4–Ig (Orencia®), TNFR–Ig (Enbrel®)), блокаторы TNF–α, такие как энбрел, ремикейд, цимзия и хумира, циклофосфамид (CTX) (например, Endoxan®, Cytoxan®, Neosar®, Procytox®, Revimmune™), метотрексат (MTX) (например, Rheumatrex®,

Trexall®), белимумаб (например, Benlysta®) или другие иммуносупрессивные препараты (например, циклоспорин А, FK506-подобные соединения, рапамициновые соединения или стероиды), антипролиферативные препараты, цитотоксические агенты или другие соединения, которые могут содействовать иммуносупрессии.

- 5 Терапевтический агент может представлять собой слитый белок CTLA-4, такой как CTLA-4-Ig (абатацепт). Слитые белки CTLA-4-Ig конкурируют с костимулирующим рецептором, CD28, на Т-клетках за связывание с CD80/CD86 (B7-1/B7-2) на антигенпрезентирующих клетках, и, тем самым, функционируют таким образом, чтобы ингибировать Т-клеточную активность. В другом варианте осуществления
- 10 терапевтический агент представляет собой слитый белок CTLA-4-Ig, известный как белатацепт. Белатацепт содержит две аминокислотные замены (L104E и A29Y), которые значительным образом повышают его авидность в отношении CD86 *in vivo*. В другом варианте осуществления терапевтический агент представляет собой Maxy-4.

В другом варианте осуществления терапевтический агент представляет собой

- 15 циклофосфамид (CTX). Циклофосфамид (генерическое название Endoxan®, Cytoxan®, Neosar®, Procytox®, Revimmune™), также известный как цитофосфан, представляет собой алкилирующий агент на основе азотистого иприта из группы оксазофоринов. Он используется для лечения различных типов рака и некоторых аутоиммунных нарушений. Циклофосфамид (CTX) представляет собой основной лекарственный
- 20 препарат, используемый для лечения диффузного пролиферативного гломерулонефрита у пациентов с почечной волчанкой.

Терапевтический агент можно вводить в эффективном количестве для снижения уровней анти-двунитевая ДНК антител (анти-ds DNA) в крови и сыворотке крови и/или снижения протеинурии у пациента, нуждающегося в этом.

- 25 В другом варианте осуществления терапевтический агент повышает количество аденоцина в сыворотке крови, см., например, WO 08/147482. Например, второй терапевтический агент может представлять собой CD73-Ig, рекомбинантный CD73 или другой агент (например, цитокин или моноклональное антитело или малую молекулу), который повышает экспрессию CD73, см., например, WO 04/084933. В другом варианте осуществления терапевтический агент представляет собой интерферон-бета.

Терапевтический агент может представлять собой тизабри или другой лекарственный препарат для лечения MS. В другом варианте осуществления второй терапевтический агент предпочтительно лечит хроническое воспаление, при этом схема лечения нацелена как на острое, так и хроническое воспаление. В предпочтительном варианте

- 35 осуществления второй терапевтический препарат представляет собой блокатор TNF- $\alpha$ .

Терапевтический агент может представлять собой молекулу, которая ингибирует или ослабляет дифференцировку, пролиферацию, активность и/или продуцирование и/или секрецию цитокинов Th1, Th17, Th22, и/или другими клетками, которые секретируют или заставляют другие клетки секretировать воспалительные молекулы, в том числе, 40 но не ограничиваясь ими, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-18 IL-17, IL-6, IL-23, IL-22, IL-21 и MMP. В другом варианте осуществления терапевтический агент представляет собой малую молекулу, которая взаимодействует с Treg, усиливает активность Treg, активируют или усиливает секрецию IL-10 Treg, повышает число Treg, повышает супрессивную способность Treg или их комбинации.

- 45 В некоторых вариантах осуществления композиция повышает активность или продуцирование Treg. Иллюстративные агенты, усиливающие Treg, включают, но не ограничиваясь ими, глюкокортикоид флутиказон, сальметерол, антитела против IL-12, IFN- $\gamma$  и IL-4; витамин D3 и дексаметазон и их комбинации.

В некоторых вариантах осуществления терапевтический агент представляет собой антитело, например, функциональное блокирующее антитело против провоспалительной молекулы, такой как IL-6, IL-23, IL-22 или IL-21.

Используемый в данном документе термин «рапамициновое соединение» включает

- 5 в себя нейтральное трициклическое соединение рапамицин, производные рапамицина, аналоги рапамицина и другие макролидные соединения, которые, как предполагается, имеют тот же самый механизм действия, что и рапамицин (например, ингибирование функции цитокинов). Выражение «рапамициновые соединения» включает в себя соединения, со структурным сходством в отношении рапамицина, например, соединения
- 10 с аналогичной макроциклической структурой, которые были модифицированы в целях усиления терапевтической эффективности. Иллюстративные рапамициновые соединения известны в данной области техники (см., например, WO95122972, WO 95116691, WO 95104738, патент США №6015809; 5989591; патент США №5567709; 5559112; 5530006; 5484790; 5385908; 5202332; 5162333; 5780462; 5120727).

- 15 Выражение «FK506–подобные соединения» включает в себя FK506 и производные и аналоги FK506, например, соединения со структурным сходством в отношении FK506, например, соединения с аналогичной макроциклической структурой, которые были модифицированы в целях усиления терапевтической эффективности. Примеры FK506–подобных соединений включают в себя, например, таковые, описанные в WO 20 00101385. Предпочтительно, выражение «рапамициновое соединение», используемое в данном документе, не включает в себя FK506–подобные соединения.

#### **Е. Противовоспалительные препараты**

- Другие подходящие терапевтические агенты включают в себя, но не ограничиваясь ими, противовоспалительные агенты. Противовоспалительный агент может быть
- 25 стероидным, нестериодным или их комбинацией. В одном варианте осуществления предложены композиции для перорального применения, содержащие от около 1% (вес/вес) до около 5% (вес/вес), в типичном случае около 2,5% (вес/вес) противовоспалительного агента. Иллюстративные примеры нестериодных противовоспалительных агентов включают в себя, но не ограничиваясь ими, оксикамы, такие как пиroxикам, изоксикам, теноксикам, судоксикам; салицилаты, такие как аспирин, дисалцид, бенорилат, трилизат, сафаприн, солприн, дифлунизал и фендоузал; производные уксусной кислоты, такие как диклофенак, фенклофенак, индометацин, сулиндак, толметин, изоксепак, фуроференак, тиопинак, зидометацин, ацематацин, фентиазак, зомепирак, клинданак, оксепинак, фелбинак и кеторолак; фенаматы, такие
  - 30 как мефенамовая, меクロфенамовая, флуфенамовая, нифлуминовая и толфенамовая кислоты; производные пропионовой кислоты, такие как ибупрофен, напроксен, беноксапрофен, флурубипрофен, кетопрофен, фенопрофен, фенбуфен, индолпрофен, пирпрофен, карпрофен, оксапрозин, пранопрофен, миропрофен, тиоксапрофен, супрофен, алминопрофен и тиапрофен; пиразолы, такие как фенилбутазон, 40 оксиленбутазон, фепразон, азапропазон и триметазон. Также могут быть использованы смеси этих нестериодных противовоспалительных агентов.

- Иллюстративные примеры стероидных противовоспалительных препаратов включают, но не ограничиваясь ими, кортикостероиды, такие как гидрокортизон, гидроксилтриамцинолон, альфа–метилдексаметазон, дексаметазона фосфат, 45 беклометазона дипропионаты, клобетазола валерат, дезодин, дезоксиметазон, дезоксикортикостерона ацетат, дексаметазон, дихлоризон, дифлоразона диацетат, дифлукортолона валерат, флуадренолон, флуклоролона ацетонид, флудрокортизон, флуметазона пивалат, флуозинолона ацетонид, флуоцинонид, флукорттина бутилэстеразы,

флуокортолон, флупреднидена (флупреднилидена) ацетат, флурандренолон, галциноид, гидрокортизона ацетат, гидрокортизона бутират, метилпреднизолон, триамцинолона ацетонид, кортизон, кортодоксон, флуэтонид, флудрокортизон, дифлуорозона диацетат, флурадренолон, флудрокортизон, дифлуорозона диацетат, флурадренолона ацетонид, 5 медризон, амцинафел, амцинамид, бетаметазон и сумма его сложных эфиров, хлорпреднизон, хлорпреднизона ацетат, клокортелон, клесинолон, дихлоризон, дифлурпреднат, флуклоронид, флунизолид, флуорометалон, флуперолон, флупреднизолон, гидрокортизона валерат, гидрокортизона циклопентилпропионат, мепреднизон, параметазон, преднизолон, преднизон, беклометазона дипропионат, 10 триамцинолон и их смеси.

#### V. Способы диагностики

Молекулы, связывающие SIGLEC-15, в частности, антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, могут быть использованы для диагностических целей, например, для выявления, диагностики или контроля заболеваний, нарушений или инфекций, 15 ассоциированных с экспрессией SIGLEC-15, или для определения или содействия в определении или идентификации подходящих популяций или профилей пациентов. Любой из способов может сочетаться со способом лечения субъекта, например, с помощью введения субъекту эффективного количества одного или нескольких терапевтических молекул, связывающих SIGLEC-15.

Выявление или диагностика заболевания, нарушения или инфекции, в том числе, но не ограничиваясь этим, рака, может включать в себя: (a) анализ экспрессии SIGLEC-15 или его производных в клетках, сыворотке крови, плазме крови, крови или в образце ткани (например, опухолевом образце) субъекта с помощью одного или нескольких антител (или их фрагментов), которые иммуноспецифично связываются с такими антигенами; и (b) сравнение уровня антигена с контрольным уровнем, например, уровнями в образцах нормальных тканей, при этом повышение анализируемого уровня антигена по сравнению с контрольным уровнем антигена свидетельствует о заболевании, нарушении или инфекции. Такие антитела и фрагменты предпочтительно могут быть использованы в иммунологических анализах, таких как иммуноферментный анализ 30 (ИФА), радиоиммунологический анализ (RIA) и проточная цитометрия (FACS).

В некоторых вариантах осуществления антитела или их фрагменты используются для анализа ИНС в клетках образца ткани *in vitro* или *in situ* или *in vivo*. Таким образом, антитела и фрагменты можно использовать при выявлении и диагностике заболевания, нарушения или инфекции у человека. В одном варианте осуществления такая диагностика 35 включает в себя: а) введение субъекту (например, парентерально, подкожно или интраперitoneально) эффективного количества такого меченого антитела или антигенсвязывающего фрагмента; б) ожидание в течение периода времени после введения, необходимого для обеспечения предпочтительного концентрирования меченой молекулы в участках у субъекта, где экспрессируется SIGLEC-15 (и в случае несвязанной 40 меченой молекулы восстановления к исходному уровню); с) определение исходного уровня; и д) детекция меченого антитела у субъекта таким образом, что локализованная детекция меченого антитела выше или ниже исходного уровня свидетельствует о том, что субъект имеет заболевание, нарушение или инфекцию, и показывает положение и относительную уровень экспрессии SIGLEC-15+ ткани. В соответствии с этим вариантом 45 осуществления антитело может быть помечено визуализирующим фрагментом, который является детектируемым *in vivo* с помощью системы визуализации, известной специалисту в данной области техники. Исходный уровень может быть определен с помощью различных способов, в том числе сравнения количества детектируемой меченой

молекулы со стандартным значением, ранее определенным для конкретной системы.

Другие способы включают, например, контроль прогрессирования заболевания, нарушения или инфекции в результате (а) анализа экспрессии SIGLEC-15 в клетках или в образце ткани субъекта, полученных в первой временной точке и более поздней

5 временной точке с помощью молекулы, связывающей SIGLEC-15; и (б) сравнения уровня экспрессии SIGLEC-15 в клетках или в образце ткани субъекта в первой и более поздних временных точках, при этом повышение анализируемого уровня SIGLEC-15 в более поздней временной точке по сравнению с первой временной точкой указывает на прогрессирование заболевания, нарушения или инфекции.

10 Способ контроля ответа на лечение может включать (а) анализ экспрессии SIGLEC-15 в клетках или в образце ткани субъекта до и после лечения с помощью молекулы, связывающей SIGLEC-15; и (б) сравнение уровня SIGLEC-15 в динамике, при этом снижение анализируемого уровня SIGLEC-15 после лечения по сравнению с уровнем SIGLEC-15 до лечения указывает на благоприятный ответ на лечение.

15 Специалисту в данной области техники будет понятно, что размер субъекта и используемая система визуализации будут определять количество визуализационного фрагмента, необходимого для получения диагностических изображений.

В зависимости от нескольких переменных, в том числе типа используемой метки и способа введения, период времени после введения, необходимый для обеспечения 20 предпочтительного концентрирования меченой молекулы в участках у субъекта, и для восстановления несвязанной меченой молекулы к исходному уровню, составляет от 6 до 48 часов или от 6 до 24 часов или от 6 до 12 часов. В другом варианте осуществления периода времени после введения составляет от 5 до 20 дней или от 5 до 10 дней.

25 В одном варианте осуществления контроль заболевания, нарушения или инфекции проводят путем повторения способа диагностики заболевания, нарушения или инфекции, например, через один месяц после первоначального диагноза, через шесть месяцев после первоначального диагноза, через один год после первоначального диагноза и т.д.

30 Наличие меченой молекулы у субъекта можно выявить с помощью способов, известных в данной области техники для визуализации *in vivo*. Эти способы зависят от типа используемой метки. Специалисты в данной области техники смогут определить соответствующий способ детекции конкретной метки. Способы и изделия, которые могут быть использованы в способах диагностики, включают, но не ограничиваясь ими, компьютерную томографию (КТ), полноразмерную визуализацию, такую как 35 позитрон-эмиссионную томографию (ПЭТ), магнитно-резонансную томографию (МРТ) и сонографию.

40 В конкретном варианте осуществления молекулу метят радиоизотопом и выявляют у пациента с помощью чувствительного к излучению хирургического инструмента (Thurston *et al.*, патент США №5441050). В другом варианте осуществления молекулу метят флуоресцентным соединением и выявляют у пациента с помощью чувствительного к флуоресценции сканирующего инструмента. В другом варианте осуществления молекулу метят позитрон-эмиссионным металлом и выявляют у пациента с помощью позитрон-эмиссионной томографии. В еще одном варианте осуществления молекулу 45 метят парамагнитной меткой и выявляют у пациента с помощью магнитно-резонансной томографии (МРТ).

## VI. Наборы

Раскрываемые молекулы, связывающие SIGLEC-15, или связывающие лиганд SIGLEC-15, могут быть упакованы в герметичный контейнер, такой как ампула или

саше, с указанием количества. Молекулы могут поставляться в виде сухого стерилизованного лиофилизированного порошка или безводного концентрата в герметичном контейнере и могут быть разведены, например, водой или физиологическим раствором до соответствующей концентрации для введения субъекту. Например,

- 5 молекулы могут поставляться в виде сухого стерильного лиофилизированного порошка в герметическом контейнере в лекарственной форме по меньшей мере 5 мг, или по меньшей мере 10 мг, по меньшей мере 15 мг, по меньшей мере 25 мг, по меньшей мере 35 мг, по меньшей мере 45 мг, по меньшей мере 50 мг или по меньшей мере 75 мг.
- Лиофилизированные молекулы могут храниться при температуре от 2 до 8°C в своем
- 10 исходном контейнере и в типичном случае вводятся в течение 12 часов или в течение 6 часов или в течение 5 часов или в течение 3 часов или в течение 1 часа после разведения.

В альтернативном варианте осуществления молекулы поставляются в жидкой форме в герметичном контейнере с указанием количества и концентрации. В некоторых вариантах осуществления жидкую форму молекул поставляется в герметичном

- 15 контейнере, содержащем по меньшей мере 1 мг/мл или по меньшей мере 2,5 мг/мл, по меньшей мере 5 мг/мл, по меньшей мере 8 мг/мл, по меньшей мере 10 мг/мл, по меньшей мере 15 мг/мл, по меньшей мере 25 мг/мл, по меньшей мере 50 мг/мл, по меньшей мере 100 мг/мл, по меньшей мере 150 мг/мл, по меньшей мере 200 мг/мл молекул.

Также предложены фармацевтические упаковки и наборы, содержащие один или

- 20 несколько контейнеров, наполненных молекулами, связывающими SIGLEC-15, или связывающими лиганд SIGLEC-15. Кроме того, один или несколько других профилактических или терапевтических агентов, пригодных для лечения заболевания, также могут быть включены в фармацевтическую упаковку или или набор.

Фармацевтическая упаковка или набор также может содержать один или несколько

- 25 контейнеров, наполненных одним или несколькими из компонентов раскрываемых фармацевтических композиций. Необязательно вместе с таким контейнером (контейнерами) может находиться уведомление в форме, предписанной государственным органом, регулирующим производство, применение или продажу фармацевтических препаратов или биологических продуктов, при этом уведомление указывает на

30 разрешение органом производства, применения или продажи для введения человеком.

Также предложены наборы, разработанные для вышеописанных способов. Варианты осуществления в типичном случае включают в себя одну или несколько молекул, связывающих SIGLEC-15, или связывающих лиганд SIGLEC-15. В конкретных вариантах осуществления набор также содержит один или несколько других профилактических

- 35 или терапевтических агентов, пригодных для лечения рака, в одном или нескольких контейнерах.

### Примеры

**Пример 1: Анти-SIGLEC-15 антитела и последовательности их тяжелых и легких цепей**

**Материалы и методы**

40 *Мышьи анти-человеческий SIGLEC-15 моноклональные антитела*

Мышь с нокаутом по SIGLEC-15 ( $n=2$ ) иммунизировали hS15.mIg (внеклеточным доменом SIGLEC-15 человека [ECD], слитым с IgG2a мыши), эмульгированным с CFA (полным адьювантом Фрейнда). Мыши также получали инъекцию GM-CSF и анти-CD40 антитела. Через 2 недели мышей также стимулировали тем же самым иммуногеном.

- 45 Титр антисыворотки анализировали с помощью исследования сыворотки, собранной при кровотечении при надрезе хвоста в планшет для ИФА, покрытый hS15.hIg (ECD SIGLEC 15 человека, слитым с IgG1 человека) при различном разведении, от 1:1000 до 1:100000000. На Фиг. 1 изображено, что анти-hS15 антитела детектировали при

разведении >1:100000. Через две недели мыши получали 3-ю дозу антигена. Через три дня после окончательной стимуляции спленоциты мышей собирали и ресуспенсировали в RPMI с добавлением 10% FBS и глутамина, а позже сливали с образованием гибридом.

*Электрослияние спленоцитов с нокаутом по SIGLEC-15 (S15 KO)*

Слитые клетки высевали в метилцеллюлозный гель/среду; в слитом состоянии клетки криоконсервировали и их можно было размораживать для другой партии клонирования.

Единичные клоны отбирали и помещали в 10×96-луночных планшетов (960 клонов).

Через 2 недели собирали супернатант.

*RACE*

Идентификацию RACE (быструю амплификацию концов кДНК) тяжелой и легкой цепей осуществляли в соответствии со следующим протоколом: (1) денатурация мРНК, (2) синтез кДНК, (3) реакция 5'RACE, (4) анализ результатов ПЦР (на агарозном геле для визуализации амплифицированного фрагмента ДНК – соответствующие фрагменты ДНК вариабельного участка антитела должны иметь размер 500–700 пар оснований, (5) клонированиес с помощью ТОРО ПЦР-позитивных полос; (6) ПЦР-амплификация клонов ТОРО с последующим гель-электрофорезом и извлечением из агарозного геля, (7) сиквенирование в целом 218 клонов, (8) проведение анализа CDR с помощью данных о сиквенировании (участки CDR определяли с помощью VBASE2, доступной через vbase2.org).

**Результаты**

Антитела противлонировали с помощью методов RACE. После сиквенирования 218 клонированных фрагментов ДНК с помощью анализа последовательности антител идентифицировали одну тяжелую цепь и одну легкую цепь для 24 образцов антител, называемых в данном документе 1B2, 1C3, 1H3, 1C12, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5, 10G9, 6A, 28A, 63A, 71A, 77A, 80A, 82B, 83B, 92A, 93B, 99B, 104B и 105A.

Последовательности представлены ниже и выше. Последовательности тяжелых и легких цепей и CDR представлены выше, ниже и изображены на Фиг. 2А–3С.

**ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 1B2:**

Аминокислотная последовательность VL 1B2 в формате FASTA

DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSIVHSNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNR  
FSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFQGSHPWTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO:3)

Нуклеотидная последовательность VL 1B2 в формате FASTA

GATGTTTGATGACCCAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTGGAGATCAAG  
CCTCCATCTCTGCAGATCTAGTCAGAGCATTGTACATAGTAATGGAAACACCTATT  
TAGAATGGTACCTGCAGAAACCAGGCCAGTCTCAAAGCTCCTGATCTACAAAGTT  
TCCAACCGATTTCTGGGGTCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGA  
TTTCACACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGGCTGAGGATCTGGGAGTTATTACTGCTT  
TCAAGGTTCACATGTTCCGTGGACGTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAG  
(SEQ ID NO:74)

Аминокислотная последовательность VH 1B2 в формате FASTA

EVQLVESGGGVVKPG GSLKLSCAASGFTFS DYGMHW VRQAPEKGLEWVAYISSGSS  
IIY YADTVKGRFTISRDNAKNTLFLQMTSLRSEDTAMY CARDHYHGNGSDYWGQGT  
TLTVSS (SEQ ID NO:13)

Нуклеотидная последовательность VH 1B2 в формате FASTA

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTCGTGAAGCCTGGAGGGTCCCTG  
AAACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACTTCAGTGACTATGGAATGCACTGGGTT  
CGTCAGGCTCCAGAGAAGGGCTGGAGTGGTTGCATACATTAGTAGTGGCAGTAG

TATCATCTACTATGCAGACACAGTGAAGGGCCGATTCAACCCTCAGAGACAATG  
 CCAAGAACACCCCTGTTCTGCAAATGACCAGTCTGAGGTCTGAGGACACGGCCATG  
 TATTACTGTGCAAGGGACCACTACCATGGTAACGGTCCGACTACTGGGCCAAGG  
 CACCACTCTCACAGTCTCCTCA (SEQ ID NO:85)

**5 ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 1C3:**

Аминокислотная последовательность VL 1C3 в формате FASTA

DIVMTQAAPSVPVTPGESVSICRSSKSLLHSNGNTLYWFLQRPGQSPQLIYRMSNL  
 ASGVPDRFGSGSGTAFTLRISRVEAEDVGFYYCMQHLEYPYTFGGGTRLEIK (SEQ ID  
 NO:4)

10 Нуклеотидная последовательность VL 1C3 в формате FASTA

GATATTGTGATGACTCAGGCTGCACCCTCTGTACCTGTCACTCCTGGAGAGTCAG  
 TATCCATCTCCTGCAGGTCTAGTAAGAGTCTCCTGCATAGTAATGGCAACACTTACT  
 TATATTGGTTCCCTGCAGAGGCCAGGCCAGTCTCCTCAGCTCCTGATATATCGGATGT  
 CCAACCTTGCCCTCAGGAGTCCCAGACAGGTTCGGTGGCAGTGGTCAGGAACGTGCT  
 15 TTCACACTGAGAATCAGTAGAGTGGAGGCTGAGGATGTGGGTTTTATTACTGTATG  
 CAACATCTAGAATATCCGTACACGTTGGAGGGGGACCAGGCTGGAAATAAAA  
 (SEQ ID NO:75)

Аминокислотная последовательность VH 1C3 в формате FASTA

QVQLKQSGAELVKPGASVKISCKASGYIFTDYYVNWKQRPGQGLEWIKIGPGSV

20 SIY YNEKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCASYYYGFAYWGQGTLTV  
 SA (SEQ ID NO:14)

Нуклеотидная последовательность VH 1C3 в формате FASTA

CAGGTCCAGCTGAAGCAGTCTGGAGCTGAGCTGGTAAGCCTGGGCTTCAGTG  
 AAGATATCCTGCAAGGCTTCTGGCTACATCTTCACTGACTATTATGTAACACTGGGTG  
 25 AAGCAGAGGCCTGGACAGGGCCTTGAGTGGATTGGAAAGATTGGCCTGGAAAGTGT  
 TAGTATTACTACAATGAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACACTGACTGCAGACAAAT  
 CCTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCT  
 ATTCTGTGCAAGTTATTACTACGGTTGCTTACTGGGCCAAGGGACTCTGGTCA  
 CTGTCTCTGCA (SEQ ID NO:86)

**30 ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 1H3:**

Аминокислотная последовательность VL 1H3 в формате FASTA

DIQMTQASSSLSVLGGRVITCKASDHINNWLAWYQQKPGNAPRLLISGATSLETG  
 VP SRFSGSGSGKDYTLSITSLQTEDVATYYCQQYWSSPLTFGAGTKLELK (SEQ ID NO:  
 5)

35 Нуклеотидная последовательность VL 1H3 в формате FASTA

GACATCCAGATGACACAGGCTTCATCCTCCTTGTCTGTATCTCTAGGAGGGCAGAG  
 TCACCATTACTTGCAAGGCAAGTGACCACATTAATAATTGGTTGGCCTGGTATCAGC  
 AGAAACCAGGAAATGCTCCTAGGCTCTTAATATCTGGTGCACCCAGTTGGAAACT  
 GGGGTTCTTCAAGATTCAAGTGGCAGTGGATCTGGAAAGGATTACACTCTCAGCATT  
 40 ACCAGTCTTCAGACTGAAGATGTTGCTACTTATTACTGTCAACAGTATTGGAGTTCT  
 CCTCTCACGTTGGCTGGACCAAGCTGGAGCTGAAA (SEQ ID NO:76)

Аминокислотная последовательность VH 1H3 в формате FASTA

QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLSNYGVHWVRQPPGKLEWLVLIWSDGST  
 TY NSALKSRLSISKDNSKSQVFLKMNSLQTGDTAMYCARHPYDDYSGYYYTMDYW  
 45 GQGTSVTVSS (SEQ ID NO:15)

Нуклеотидная последовательность VH 1H3 в формате FASTA

CAGGTGCAGCTGAAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTCACAGAGCCTG  
 TCCATCACATGCACCGTCTCAGGGTTCTCATTAAGCAATTATGGTGTACACTGGGGT

CGCCAGCCTCCAGGAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGTACTGATATGGAGTGATGGAAG  
 CACAACCTATAATTCAAGCTCTCAAATCCAGACTGAGCATCAGCAAGGACAACCTCCA  
 AGAGCCAAGTTTCTAAAAATGAACAGTCTCCAAACTGGTGACACAGCCATGTAC  
 TACTGTGCCAGACATCCCTATGATGATTATTCCGGCTATTACTATACTATGGACTAC  
 5 TGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:87)

**ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 1C12:**

Аминокислотная последовательность VL 1C12 в формате FASTA

DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSIVHSNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNR  
 FSGVPDRFSGSGSDFTLKRISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPWTFGGGTKLEIK (SEQ ID  
 10 NO:3)

Нуклеотидная последовательность VL 1C12 в формате FASTA

GATGTTTGATGACCCAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTGGAGATCAAG  
 CCTCCATCTCTGCAGATCTAGTCAGAGCATTGTACATAGTAATGGAAACACCTATT  
 TAGAATGGTACCTGCAGAAACCAGGCCAGTCTCAAAGCTCCTGATCTACAAAGTT  
 15 TCCAACCGATTTCTGGGGTCCCAGACAGGTTAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGA  
 TTTCACACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTTATTACTGCTT  
 TCAAGGTTCACATGTTCCGTGGACGTTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAA (SEQ  
 ID NO:77)

Аминокислотная последовательность VH 1C12 в формате FASTA

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFSFSDYGMHWVRQAPEKGLEWVAYISSGSS  
 ILY YADIVKGRFTISRDNAKNTLFLQMTSLRSEDTAMYCARDHYHGNNSDYWGQGT  
 TLTVSS (SEQ ID NO:16)

Нуклеотидная последовательность VH 1C12 в формате FASTA

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTAGTGAAGCCTGGAGGGTCCCTG  
 25 AAACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGTTCTTTAGTGAAGCCTGGAGGGTCCCTG  
 GTCAGGCTCCAGAGAAAGGGGCTGGAGTGGGTTGCATACATTAGTAGTGGCAGTAGT  
 ATCCTCTACTATGCAGACATAGTGAAGGGCGATTCACCATCTCCAGAGACAATGC  
 CAAGAACACCCTGTTCCGTCAAATGACCAGTCTGAGGTCTGAGGACACGCCATGT  
 ATTACTGTGCAAGGGACCACTACCATGGTAACGGGTCCGACTACTGGGCCAAGGC  
 30 ACCACTCTCACAGTCTCCTCA (SEQ ID NO:88)

**ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 3H10:**

Аминокислотная последовательность VL 3H10 в формате FASTA

QIILTQSPAIMSASPGEKVTMTCASSSTSFMHWYQQKPGTSPKRWIFDTSKLASGVPG  
 RFIGSGSGTSYSLTISTMEAEDAATYYCHQRSAYPWTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO:6)

Нуклеотидная последовательность VL 3H10 в формате FASTA

CAAATTATTCTCACCCAGTCTCCAGCAATCATGTCTGCATCTCCAGGGGAGAAGG  
 TCACCATGACCTGCAGTGCAGCTCAAGTACAAGTTCATGCACTGGTACCAAGCAG  
 AAGCCAGGCACCTCCCCAAAAGATGGATTTGACACATCCAAACTGGCTTCTGG  
 AGTCCCTGGTCGCTTCATTGGTAGTGGGCTGGGACCTCTTATTCTCTCACAATCAG  
 40 CACCATGGAGGCTGAAGATGCTGCCACTTATTACTGCCATCAGCGGAGTGCTTACCC  
 ATGGACGTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAA (SEQ ID NO:78)

Аминокислотная последовательность VH 3H10 в формате FASTA

EVQLQQSGAELVRPGASVKLSCTASGFNIKYMHWVKERPEQGLEWIGRIDPEDG  
 DIE YDPKFQGKATMTADTSSNTAYLFQSSLTSEDTAVYYCVTDYDGGWFAYWGQG  
 45 TLTVSA (SEQ ID NO:17)

Нуклеотидная последовательность VH 3H10 в формате FASTA

GAGGTTCAGCTGCAGCAGTCTGGGGCAGAGCTTGAGGCCAGGGGCCTCAGTC  
 AAGTTGCCTGCACAGCTCTGGCTCAACATTAAAGACTACTATGCACTGGGTG

AAAGAGAGGCCTGAACAGGGCCTGGAGTGGATTGGAAGGATTGATCCTGAGGATG  
 GTGATATTGAATATGACCCGAAGTTCCAGGGCAAGGCCACTATGACTGCAGATACA  
 TCCTCCAACACAGCCTACCTGCAGTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACACTGCCGTC  
 TATTATTGTGTACGGACTATGATTACGACGGAGGCTGGTTGCTTACTGGGGCAA  
 5 GGGACTCTGGTCACTGTCTTGCA (SEQ ID NO:89)

**ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 5G12:**

Аминокислотная последовательность VL 5G12 в формате FASTA

DIKMTQSPSSMYASLGERVTITCKASQDINSYLSWFQQKPGKSPKTLIYRANRLVDG  
 VP SRFSGSGSGQDYSLTISSLEYEDMGIYYCLQYDEFPYTFGGGTKLEIKR (SEQ ID NO:  
 10 7)

Нуклеотидная последовательность VL 5G12 в формате FASTA

GACATCAAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCATGTATGCATCTCTAGGAGAGAGAG  
 TCACTATCACTTGCAAGGCAGTCAGGACATTAATAGCTATTAAAGCTGGTCCAGC  
 AGAAAACCAGGGAAATCTCCTAACAGACCTGATCTATCGTGCAAACAGATTGGTAGAT  
 15 GGGGTCCCCTCAAGGTTCAAGGTTCAAGGCTGGATCTGGCAAGATTATTCTCTCACCATC  
 AGCAGCCTGGAGTATGAAGATATGGGAATTATTATTGTCTACAGTATGATGAGTT  
 CCGTACACGTTGGAGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAA (SEQ ID NO:79)

Аминокислотная последовательность VH 5G12 в формате FASTA

QVQLQQPGAEIVKPGASVKMSCKASGYTFTSYWITWVIQRPGQGLEWIGDIYCGSD  
 20 TMH YNEKFKNKATLTVDTSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARWWWDYGSSYDYFDYW  
 GQGTTLVSS (SEQ ID NO:18)

Нуклеотидная последовательность VH 5G12 в формате FASTA

CAGGTCCAAC TG CAG CAG C CTGGG CTGAG C TGT G AAG C CTGGG CTTCAGTG  
 AAG ATG T C CTG CAAG G C TTG G CT ACAC C TT C ACC AG C T ACT GG AT AAC C TT GGG TG  
 25 ATACAGAGGCCGGACAAGGCCTTGAGTGGATTGGAGATATTATTGTGGTAGTGA  
 TACTATGCACTACAATGAGAAGTCAGAACAAAGGCCACACTGACTGTAGACACAT  
 CCTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCCT  
 ATTACTGTGCAAGATGGTGGACTACGGTAGTAGCTACGACTACTTGACTACTGGG  
 GCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA (SEQ ID NO:90)

**ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 6F8:**

Аминокислотная последовательность VL 6F8 в формате FASTA

DIVMTQAAPSVPVTPGESVSISCRSSKSLLHSNGNTLYWFLQRPGQSPQLLIYRMSNL  
 ASGVPDRFGSGSGTAFTLRISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPYTFGGGTLEIKR (SEQ  
 ID NO:8)

Нуклеотидная последовательность VL 6F8 в формате FASTA

GATATTGTGATGACTCAGGCTGCACCCCTCTGTACCTGTCACTCCTGGAGAGTCAG  
 TATCCATCTCCTGCAGGTCTAGTAAGAGTCTCCTGCATAGTAATGGCAACACTTACT  
 TGTATTGGTCTGCAGAGGCCAGGCCAGTCTCCTCAGCTCCTGATATATCGGATGT  
 CCAACCTTGCCCTCAGGAGTCCCAGACAGGTTCGGTGGCAGTGGGTAGGAACGTGCT  
 40 TTCACACTGAGAATCAGTAGAGTGGAGGCTGAGGATGTGGGTGTTATTATTGTATG  
 CAACATCTAGAATATCCGTACACGTTGGAGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAA  
 (SEQ ID NO:80)

Аминокислотная последовательность VH 6F8 в формате FASTA

QVQLKQSGPELVRPGASVKISCEASGYTFTDYYVNWKQRPGRGLIEWIGKIGPGSVS  
 45 IY YNEKFKD KATLTADKSSSTAYMQLSLTSEDSAVYFCASYYYGFAYWGQGTLVT  
 SA (SEQ ID NO:19)

Нуклеотидная последовательность VH 6F8 в формате FASTA

CAGGTCCAGCTGAAGCAGTCTGGACCTGAACCTGGTGAGGCCTGGGCTTCAGTG

AAGATATCCTGCGAGGCTTCTGGCTACACCTCACTGACTATTATGTAAACTGGGTG  
 AAGCAGAGGCCTGGACGGGGCCTGAGTGGATTGGAAAGATTGGCCTGGAAGTGT  
 TAGTATTACTACAATGAGAAGTTCAAGGACAAGGCCACACTGACTGCAGACAAAT  
 CCTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTCAGCGGCCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCT  
 5 ATTTCTGTGCAAGTTACTACGGTTTGCTTACTGGGCCAAGGGACTCTGGTCA  
 CTGTCTTGCA (SEQ ID NO:91)

**ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 8C8:**

Аминокислотная последовательность VL 8C8 в формате FASTA

DIVMTQAAPSVPVTPGESVSISCRSSKSLLHSNGNTYLYWFLQRPGQSPQLIYRMSNL

10 ASGVPDRFGSGSGTAFTLRISRVEAEDGVYYCMQHLEYPYTFGGGTKLEIK (SEQ ID  
 NO:9)

Нуклеотидная последовательность VL 8C8 в формате FASTA

GATATTGTGATGACTCAGGCTGCACCCTCTGTACCTGTCACTCCTGGAGAGTCAG  
 TATCCATCTCCTGCAGGTCTAGTAAGAGTCTCCTGCATAGTAATGGCAACACTTACT  
 15 TGTATTGGTTCCCTGCAGAGGCCAGGCCAGTCTCCTCAGCTCCTGATATATCGGATGT  
 CCAACCTTGCCCTCAGGAGTCCCAGACAGGTTGGCAGTGGGTCAAGGAAGTGC  
 TTCACACTGAGAACATCAGTAGAGTGGAGGCTGAGGATGTGGGTGTTATTACTGTATG  
 CAACATCTAGAACATCCGTACACGTTGGAGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAA  
 (SEQ ID NO:81)

Аминокислотная последовательность VH 8C8 в формате FASTA

QVQLKQSGAELVKPGASVKISCKASGYTFTDYYVNWKQRPGQGLEWIGKIGPESV  
 SIY YSEKFKAATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCASYYYGFAYWGQGTLTV  
 SA (SEQ ID NO:20)

Нуклеотидная последовательность VH 8C8 в формате FASTA

25 CAGGTCCAGCTGAAGCAGTCTGGAGCTGAGCTGGTAAGCCTGGGGCTTCAGTG  
 AAGATATCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTCACTGACTATTATGTAAACTGGGTG  
 AAGCAGAGGCCTGGACAGGGCCTGAGTGGATTGGAAAGATTGGCCTGAAAGTGT  
 TAGTATTATTACAGTGAGAACATGCAACTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCT  
 CCTCCAGCACAGCCTACATGCAACTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCT  
 30 ATTTCTGTGCAAGTTACTACGGTTTGCTTACTGGGCCAAGGGACTCTGGTCA  
 CTGTCTTGCA (SEQ ID NO:92)

**ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 8H8:**

Аминокислотная последовательность VL 8H8 в формате FASTA

QAVVTQESALTTSPGETVTLTCRSSSSAVTTGNFANWVQEKPDLHLFTGLIGGTNNRA

35 PG VPARFSGSLIGDKAALTITGAQTEDEAIYFCALWYSNHWVFGGGTKLTVL (SEQ ID  
 NO:10)

Нуклеотидная последовательность VL 8H8 в формате FASTA

CAGGCTGTTGTGACTCAGGAATCTGCACTCACCACATCACCTGGTGAACAGTC  
 CACTCACTTGTGCGCTCAAGTTCTGGGGCTGTTACAACCTGGTAACCTTGCCA  
 40 TCCAAGAAAAACCAGATCATTTATTCACTGGTCAATAGGTGGTACCAACAACCGA  
 GCTCCAGGTGTTCCCTGCCAGATTCTCAGGCTCCCTGATTGGAGACAAGGCTGCCCTC  
 ACCATCACAGGGGCACAGACTGAGGATGAGGAATATATTCTGTGCTATGGTA  
 CAGCAACCACCTGGGTGTTGGAGGAACCAAACGTACTGTCCTA (SEQ ID NO:82)

Аминокислотная последовательность VH 8H8 в формате FASTA

45 EVQLLETGGGLVQPGGSRGLSCEGSGFTFSGFWMSWVRQTPGKLEWIGDINSGSA  
 IN YAPSIKDRFTIFRDNDKNTLYLQMNNVRSEDTATYFCVRYDDYGYFDVWGTGTTVT  
 VSS (SEQ ID NO:21)

Нуклеотидная последовательность VH 8H8 в формате FASTA

GAAGTGCAGCTGTTGGAGACTGGAGGAGGCTGGTGCACCGGGGGGGTCACGG  
 GGA CTC TGT GAAGGCTCAGGGTCACTTTAGTGGCTCTGGATGAGCTGGTT  
 CGACAGACACCTGGGAAGACCCTGGAGTGGATTGGAGACATTAATTCTGATGGCAG  
 TGCAATAAAACTACGCACCATCCATAAAGGATCGATTCACTATCTCAGAGACAATG  
 5 ACAAGAACACCCCTGTACCTGCAGATGAACAATGTGCGATCGGAGGACACAGCCACG  
 TATTCTGTGTGAGATATGATGATTACGGGTACTTCGATGTCTGGGCACAGGGACC  
 ACGGTACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:93)

**ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 9A5:**

Аминокислотная последовательность VL 9A5 в формате FASTA

10 DVVMTQTPLTLSVTIGQSASISCKSSQSLLSDGKTYLNWLLQRPGQSPKRЛИYLVSKL  
 DSGVPDRFTGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCWQGTHFPFTFGSGTKLEIK (SEQ ID  
 NO:11)

Нуклеотидная последовательность VL 9A5 в формате FASTA

GATGTTGTGATGACCCAGACTCCACTCACTTGTGCGTTACCATTGGACAGTCAG  
 15 CCTCCATCTTGCAAGTCAGTCAGAGCCTCTTAGATAGTGA TGGAAAGACATATT  
 TGAATTGGTTGTTACAGAGGCCAGGCCAGTCTCAAAGCGCCTAATCTATCTGGTGT  
 CTAAACTGGACTCTGGAGTCCCTGACAGGTTCACTGGCAGTGGATCAGGGACAGAT  
 TTCACACTGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATTGGAGTTATTATTGCTG  
 GCAAGGTACACATTTCATTACGTTCCGGCTCGGGACAAAGTTGGAAATAAAA

20 (SEQ ID NO:83)

Аминокислотная последовательность VH 9A5 в формате FASTA

HVQLQQSGAELARPGASVKLSCKASGYTFTSYGLIWVKQRTGQGLEWIGEIYPRSGN  
 TY YNEKFKGKATLTADISSSTAYMELRSLTSEDAVYFCASSSPHGDYWGQGTTLVSS  
 (SEQ ID NO:22)

Нуклеотидная последовательность VH 9A5 в формате FASTA

CACGTTCAGCTGCAGCAGTCTGGAGCTGAGTGGCGAGGCCTGGGCTTCAGTGA  
 AGCTGTCCTGCAAGGCTCTGGCTACACCTCACAGCTATGGTTAATCTGGGTGA  
 AGCAGAGAACTGGACAGGGCCTGAGTGGATTGGAGAGATTATCCTAGAAGTGGT  
 AATACTTACTACAATGAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACACTGACTGCAGACATATC  
 30 CTCCAGCACAGCGTACATGGAGCTCCGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTCT  
 ATTTCTGTGCAAGTCCCTCCTCACGGGGACTACTGGGCCAAGGCACCACTCTCA  
 CAGTCTCCTCA (SEQ ID NO:94)

**ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 10G9:**

Аминокислотная последовательность VL 10G9 в формате FASTA

35 QAVVTQESALTTSPGETVTLTCRSSTGAVTSNYANWVQEKPDLHLFTGLIGGTNNRA  
 PG VPARFSGSLIGDKAALTITGAQTEDEAIYFCALWYSNHWFGGGTKLTVL (SEQ ID  
 NO:12)

Нуклеотидная последовательность VL 10G9 в формате FASTA

CAGGCTGTTGACTCAGGAATCTGCACTCACCACATCACCTGGTGAAACAGTC  
 40 CACTCACTTGTGCTCAAGTACTGGGCTGTTACAACTAGTAACATGCCAAGTGG  
 TCCAAGAAAAACCAGATCATTATTCACTGGTCTAACAGGTGGTACCAACAACCGA  
 GCTCCAGGTGTTCCCTGCCAGATTCTCAGGCTCCCTGATTGGAGACAAGGCTGCCCTC  
 ACCATCACAGGGGCACAGACTGAGGATGAGGCAATATATTCTGTGCTATGGTA  
 CAGCAACCACTGGGTGTTGGAGGAACCAAACGTGACTGTCCTA (SEQ ID NO:84)

45 Аминокислотная последовательность VH 10G9 в формате FASTA

EVQLLETGGGLVQPGGSRGLSCEGSGFTFSDFWMSWVRQTPGKTLIEWIGDINS  
 VN YAPSIKDQFTIFRDNDKRTLHLQMINVRSEDTATYFCVRYDDYGYFDVWGT  
 VSS (SEQ ID NO:23)

Нуклеотидная последовательность VH 10G9 в формате FASTA

GAAGTGCAGCTGTTGGAGACTGGAGGAGGCTTAGTGCAACCTGGGGGGTCACGG  
 5 GGAECTCTGTGAAGGCTCAGGGTCACTTTAGTGACTCTGGATGAGCTGGGTT  
 CGACAGACACCTGGAAAGACCCCTGGAGTGGAGACATTAATTCTGATGGCAG  
 TGCAGTTAACTACGCACCACATCAAAGGATCAATTCACTATCTCAGAGACAATGA  
 CAAGAGGACCCCTGCACCTGCAGATGATCAATGTTGATCGGAGGACACAGCCACGT  
 ATTTCTGTGTGAGATATGATGATTACGGGTACTCGATGTCGGGCACAGGGACCA  
 CGGTACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:95)

**ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 6А:**Аминокислотная последовательность VL 6A в формате FASTA

DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSIVHSNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNR  
 FSGVPDRFSGSGSGTDFTLRISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPLTFGAGTKLELK (SEQ ID  
 NO:96)

Нуклеотидная последовательность VL 6A в формате FASTA

15 GATGTTTGATGACCCAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTGGAGATCAAG  
 CCTCCATCTCTGCAGATCTAGTCAGAGTATTGTACATAGTAATGGAAACACCTATT  
 TAGAATGGTACCTGCAGAACGCCAGGCCAGTCTCAAAGCTCCTGATCTACAAAGTT  
 TCCAACCGATTCTGGGGTCCCAGACAGGTTCACTGGCAGTGGATCAGGGACAGA  
 TTTCACACTCAGGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTTATTACTGCTT  
 20 TCAAGGTTCACATGTTCCGCTCACGTTGGCTGGACCAAGCTGGAGCTGAAA  
 (SEQ ID NO:120)

Аминокислотная последовательность VH 6A в формате FASTA

EVQLQQSGAELVRPGASVKLSCTASGFNIKDDYMHWVKQRPEQGLEWIGCIDPENG  
 DTE YASKFQDKATITTDTSNTAYLQLSSLTSEDTAVYYCTTYVGFAYWGQGTLTVST  
 25 (SEQ ID NO:108)

Нуклеотидная последовательность VH 6A в формате FASTA

GAGGTTCAGCTGCAGCAGTCTGGGGCTGAACCTTGAGGCCAGGGGCCTCAGTC  
 AAGTTGCCTGCACAGCTCTGGCTTAACATTAAAGACGACTATATGCACTGGGTG  
 AAACAGAGGCCTGAACAGGGCCTGGAGTGGATTGGATGCATTGATCCTGAGAATGG  
 30 TGATACTGAATATGCCTCGAAATTCCAGGACAAGGCCACTATAACAACAGACACAT  
 CCTCCAACACAGCCTACCTGCAGCTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACACTGCCGTCT  
 ATTACTGTAACATACGTTGGATTGCTTACTGGGCCAAGGGACTCTGGTCAGT  
 TCTCTACA (SEQ ID NO:133)

**ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 28А:**Аминокислотная последовательность VL 28A в формате FASTA

DVVMTQTPLTLSIPIGQPASISCKSSQSLLSDGKTYLNWLLQRPGQSPKRLIYLVSEL  
 DSGVPDRFTGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCWQGTHFPFTFGSGTKLEIK (SEQ ID  
 NO:97)

Нуклеотидная последовательность VL 28A в формате FASTA

40 GATGTTGTGATGACCCAGACTCCACTCACTTGTCGATTCCCATGGACAACCAG  
 CCTCCATCTCTGTAAAGTCAGTCAGAGCCTCTAGATAGTGATGGAAAGACATATT  
 TGAATTGGTTTTACAGAGGCCAGGCCAGTCTCAAAGCGCCTCATCTATCTGGTGT  
 CTGAACCTGGACTCTGGAGTCCCTGACAGGTTCACTGGCAGTGGATCAGGGACAGAT  
 TTCACACTGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAAGATTGGGAGTTATTATTGTTGG  
 45 CAAGGTACACATTTCATTACGTTGGCTGGGACAAAGTTGGAAATAAAA (SEQ  
 ID NO:121)

Аминокислотная последовательность VH 28A в формате FASTA

QVQLQQSGAELARPGASVKLSCKASGYTFISYGITWVKQRTGQGLEWIGEIHPRSGN

TY YNENFKDRASLTADKSSSTAYMEVRSLTSEDSAVYFCARGGPGDYWGQGTTLVSS  
(SEQ ID NO:109)

Нуклеотидная последовательность VH 28A в формате FASTA

CAGGTTCAGCTGCAGCAGTCTGGAGCTGAGCTGGCGAGGCCTGGGCTTCAGTG

5 AAGCTGCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTCATAAGCTATGGTATAACCTGGGTG  
AAGCAGAGAACTGGACAGGGCCTTGAGTGGATTGGAGAGATTCATCCTAGAAGTGG  
TAATACTTACTACAATGAGAATTCAAGGACAGGGCCTCACTGACTGCAGACAAAT  
CCTCCAGCACAGCGTACATGGAGGTCCGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTG  
TATTCTGTGCAAGGGTGGGCCGGGGACTACTGGGCCAAGGCACCACTCTCAC

10 AGTCTCCTCA (SEQ ID NO:134)

**ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 63А:**

Аминокислотная последовательность VL 63A в формате FASTA

DVVMTQTPLTLSVTIGQPASISCKSSQSLLSDGKYLNWLLQRPGQSPKRLIYLVSKL  
DSGPVPDRFTGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCWQGTHFPPFTFGSGTKLEIK (SEQ ID  
15 NO:98)

Нуклеотидная последовательность VL 63A в формате FASTA

GATGTTGTGATGACCCAGACTCCACTCACTTGTGGTTACCATTGGACAACCAAG  
CCTCCATCTCTGCAAGTCAGTCAGAGGCCTCTTAGATAGTGTGAAAGACATATT  
TGAATTGGTTGTTACAGAGGCCAGGCCAGTCTCAAAGCGCCTAACATCTATCTGGTGT  
20 CTAAACTGGACTCTGGAGTCCCTGACAGGTTCACTGGCAGTGGATCAGGGACAGAT  
TTCACACTGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATTGGAGTTATTATTGTTGG  
CAAGGTACACATTTCCATTACGTTGGCTCGGGACAAAGTTGAAATAAAA (SEQ  
ID NO:122)

Аминокислотная последовательность VH 63A в формате FASTA

25 QVQLQQSGAELARPGASVKLSCKASGYTFTSYGISWVKQRTGQGLEWIGQIYPRSDN  
TY YNERFKKGATLTADKSSSTAYMALRSLTSEDSAVYFCAREGGPDYWGQGTTLVSS  
(SEQ ID NO:110)

Нуклеотидная последовательность VH 63A в формате FASTA

CAGGTTCAGCTGCAGCAGTCTGGAGCTGAGCTGGCGAGGCCTGGGCTTCAGTG

30 AAGCTGCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTCACAAGCTATGGTATAAGCTGGGTG  
AAGCAGAGAACTGGACAGGGCCTTGAGTGGATTGGACAGATTATCCTAGAAGTGA  
CAATACTTACTACAATGAGAGGTTCAAGGGCAAGGCCACACTGACTGCAGACAAAT  
CCTCCAGCACAGCGTACATGGCGCTCCGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTCT  
ATTCTGTGCAAGAGAGGGGGTCCCAGACTACTGGGCCAAGGCACCACTCTCAC

35 GTCTCCTCA (SEQ ID NO:135)

**ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 71А:**

Аминокислотная последовательность VL 71A в формате FASTA

DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSIVHSNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNR  
FSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFQGSHPPLTFAGTKLELK (SEQ ID  
40 NO:99)

Нуклеотидная последовательность VL 71A в формате FASTA

GACGTTTGATGACCCAAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTGGAGATCAAG  
CCTCCATCTCTGAGATCTAGTCAGAGTATTGTACATAGTAATGGAAACACCTATT  
TAGAATGGTACCTACAGAAACCAGGCCAGTCTCAAAGCTCCTGATCTACAAAGTT

45 TCCAACCGATTCTGGGGTCCCAGACAGGTTCACTGGCAGTGGATCAGGGACAGA  
TTTCACACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTTATTACTGCTT  
TCAAGGTTCACATGTTCCGCTCACGTTGGCTGGGCCAAGCTGGAGCTGAAA  
(SEQ ID NO:123)

Аминокислотная последовательность VH 71A в формате FASTA

EVQLQQSGAELVRPGASVQLSCTASGFNIKDDYMHWVKQRPEQGLEWIGCIDPENG  
 DIE YASRFQGKATMTADTSSNTAYLQLTSLTSADTA<sup>5</sup>YYCTTYVFGYWQGTLVT  
 SA (SEQ ID NO:111)

Нуклеотидная последовательность VH 71A в формате FASTA

GAGGTTCAGCTGCAGCAGTCAGCTGGGGCTGAGCTTGTGAGGCCAGGGCCCTCAGTC  
 AAGTTGCCTGCACAGCTCTGGCTTAACATTAAAGACGACTATATGCACTGGGTG  
 AAACAGAGGCCTGAACAGGGCCTGGAGTGGATTGGATGCATTGATCCTGAGAATGG  
 TGATATTGAATATGCCTCGAGGTTCCAGGGCAAGGCCACTATGACAGCAGACACAT  
<sup>10</sup> CCTCCAACACAGCCTACCTGCAGCTCACCGCCTGACATCTGCGGACACTGCCGTCT  
 ATTACTGTACTACATACGTTGGATTGGTACTGGGCCAAGGGACTCTGGTCAGTG  
 TCTCTGCA (SEQ ID NO:136)

**ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 77A:**Аминокислотная последовательность VL 77A в формате FASTA

DVLMTQSPLSLPVSLGDQASISCRSSQNIVHSNGNTYLEWYLKKPGQSPKLLIYKVS  
<sup>15</sup> NR FSGVPDRFSGSGTDFTLKISRVEAEDLGMYYCFQGSHVPLTFGAGTKLELK (SEQ  
 ID NO:100)

Нуклеотидная последовательность VL 77A в формате FASTA

GATGTTTGATGACCCAAAGTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTGGAGATCAAG  
<sup>20</sup> CCTCCATCTCTGCAGATCTAGTCAGAACATAGTACATAGTAATGGTAACACCTATT  
 TAGAATGGTACCTGAAGAAACCAGGCCAGTCTCAAAGCTCCTGATCTACAAAGTC  
 TCCAACCGATTTCTGGGGTCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGA  
 TTTCACACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGGCTGAGGATCTGGGAATGTATTACTGCT  
 TTCAAGGTTCACATGTTCCGCTCACGTTGGAGCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAA  
<sup>25</sup> (SEQ ID NO:124)

Аминокислотная последовательность VH 77A в формате FASTA

EVQLQQSGAELVRPGASVQLSCTASGFNIKDDYMHWVKQRPEQGLEWIGCIDPENG  
 DTE YASKFQGKATITADTSSNTVYLQLSSLTSEDTAVYYCTTYVFGYWQGTLVT  
 SA (SEQ ID NO:112)

Нуклеотидная последовательность VH 77A в формате FASTA

GAGGTTCAGCTGCAGCAGTCAGCTGGGGCTGAGCTTGTGAGGCCAGGGCCCTCAGTC  
 AAGTTGCCTGCACAGCTCTGGCTTAACATTAAAGACGACTATATGCACTGGGTG  
 AAACAGAGGCCTGAACAGGGCCTGGAGTGGATTGGATGTATTGATCCTGAGAATGG  
 TGATACTGAATATGCCTCGAACGTTCCAGGGCAAGGCCACTATAACAGCAGACACAT  
<sup>35</sup> CCTCCAACACAGTCTACCTGCAGCTCACGAGCCTGACATCTGAGGACACTGCCGTCT  
 ATTACTGTACTACATACGTTGGATTGGTACTGGGCCAGGGACTCTGGTCAGTG  
 TCTCTGCA (SEQ ID NO:137)

**ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 80A:**Аминокислотная последовательность VL 80A в формате FASTA

DIVMTQSPSSLVTAGEKVTMSCKSNQSLNSDQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYW  
<sup>40</sup> AST RESGVVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAIYYCQNDYSYPLTFGAGTKLELK (SEQ  
 ID NO:101)

Нуклеотидная последовательность VL 80A в формате FASTA

GACATTGTGATGACACAGTCAGCTCCATCCTCCCTGACTGTGACAGCAGGAGAGAAG  
<sup>45</sup> GTCACTATGAGCTGCAAGTCCAATCAGAGTCTGTTAACACAGTGGAGATCAAAAGAA  
 CTACTTGACCTGGTACCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCTAAACTATTGATCTACTG  
 GGCATCCACTAGGGAATCTGGGGTCCCTGATCGCTTCACAGGCAGTGGATCTGGAA  
 CAGATTCACTCTACCACAGCAGTGTGCAGGCTGAAGACCTGGCAATTATTACT

GTCAGAATGATTATAGTTATCCACTCACGTTGGTGCTGGGACCAAGCTGGAGCTGA  
AA (SEQ ID NO:125)

Аминокислотная последовательность VH 80A в формате FASTA

QVQLKQSGAELVRPGASVKLSRASGYTFTDFYINWVKQRPGQGLEWIARIYPGSDE

5 TY YNEKFKDVKTLTAEKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCALWFFDVWGTGTTVTVSS  
(SEQ ID NO:113)

Нуклеотидная последовательность VH 80A в формате FASTA

CAGGTCCAAGTGAAGCAGTCTGGGCTGAAGTGGTGGAGGCCTGGGCTTCAGTG  
AAGCTGCTGCAGGGCTCTGGCTACACTTCACTGACTTCTACATAAACTGGGTG  
10 AAGCAGAGGCCTGGACAGGGACTTGAGTGGATTGCAAGGATTATCCTGGAAGTGA  
TGAGACTTACTACAATGAGAAGTTAAGGACAAGGTACACTGACTGCAGAAAAAT  
CCTCCAGCACTGCCTACATGCAGCTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCTGTCT  
ATTCTGTGCCCTCTGGTTCTCGATGTCCTGGGACAGGGACCACGGTCACCGTCT  
CCTCA (SEQ ID NO:138)

15 ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 82B:

Аминокислотная последовательность VL 82B в формате FASTA

DVVMTQTPLTLSVTIGQSASISCKSSQSLSDGNTYLNWLLQRPGQSPKRLIYLVSEL  
DSGPVPDRFTGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCWQGTHFPFTFGSGTKLEIK (SEQ ID  
NO:102)

20 Нуклеотидная последовательность VL 82B в формате FASTA

GATGTTGTGATGACCCAGACTCCACTCACTTGTGGTTACTATTGGACAATCAG  
CCTCCATCTTGCAAGTCAGTCAGAGCCTCTAGATAGTGTGATGGAAACACATATT  
TGAATTGGTTGTTACAGAGGCCAGGCCAGTCTCAAAGCGCCTAACATCTATTGGTGT  
CTGAACCTGGACTCTGGAGTCCCTGACAGGTTACTGGCAGTGGATCAGGGACAGAT  
25 TTCACACTGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATTGGAGTTATTGGAGTTATTGCTG  
GCAAGGTACACATTTCATTCACTGTTGGCTCGGGACAAAGTTGGAAATAAAA  
(SEQ ID NO:126)

Аминокислотная последовательность VH 82B в формате FASTA

QVQLQQSGAELARPGASVKLSCKASGYTFTSDGITWVKQRTGQGLEWIGQIHPRSGN

30 TY YNGKFKGKATLTADRSSLTYMELRSLTSEDSAVYFCAKTGTGDYWGQGTTLVSS  
(SEQ ID NO:114)

Нуклеотидная последовательность VH 82B в формате FASTA

CAGGTTCAGCTGCAGCAGTCTGGAGCTGAGTGGCGAGGCCTGGGCTTCAGTG  
AAGCTGCTGCAGGGCTCGGGCTACACCTTCACAAGCGATGGTATTACCTGGGTG  
35 AAGCAGAGAACTGGACAGGGCCTTGAGTGGATTGGACAGATTCTAGAAGTGG  
TAATACCTACTACAATGGGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACACTGACTGCAGACAGAT  
CCTCCAGCACAACGTACATGGAACCTCCGAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTC  
TATTCTGTGAAAAACTGGGACGGGGACTACTGGGCCAAGGCACCACTCTCAC  
AGTCTCCTCA (SEQ ID NO:139)

40 ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 83B:

Аминокислотная последовательность VL 83B в формате FASTA

EIQMTQSPSSMSASLGDRITITCQATQDIVKNLNWYQQKPGKPPSFLIYYATELAEGVP  
SRFSGSGSGSDYSLTISNLESEDFAFYCLQFYEFPYTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO:103)

Нуклеотидная последовательность VL 83B в формате FASTA

45 GAAATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCTATGTCTGCATCTGGGAGACAGAA  
TAACCATCACTGCCAGGCAACTCAAGACATTGTTAAGAATTAAACTGGTATCAGC  
AGAAACCAGGGAAACCCCCTCATTCCTGATCTATTATGCAACTGAAGTGGCAGAA  
GGGGTCCCCTCAAGGTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGTAGACTATTCTCTGACAATC

AGCAACCTGGAGTCTGAAGAGTTGCAGACTATTACTGTCTACAGTTTATGAATT  
CCGTACACGTTGGAGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAA (SEQ ID NO:127)

Аминокислотная последовательность VH 83B в формате FASTA

EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTDYNMHWVKQSHGKSLEWIGYINPNN

5 GGTS YNQKFKDATALTVNKSSSTAFMELRSLASEDSAVYYCARSDWEDCWGQGTTLV  
VSS (SEQ ID NO:115)

Нуклеотидная последовательность VH 82B в формате FASTA

GAGGTCCAGCTGCAACAGTCTGGACCTGAGCTGGTAAGCCTGGGCTTCAGTG  
AAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACATTCACTGACTACAACATGCACTGGGTG

10 AAGCAGAGCCATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTGGATATATTAACCCTAACAAATGG  
TGGTACTAGCTACAACCAGAACGTTCAAGGACAAGGCCACATTGACTGTAAACAAGT  
CCTCCAGCACAGCCTTCATGGAGCTCCGCAGCCTGGCATCGGAGGATTCTGCAGTCT  
ATTACTGTGCAAGGTCTGACTGGGAAGACTGCTGGGCCAAGGCACCACTCTCACA  
GTCTCCTCA (SEQ ID NO:140)

15 ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 92A:

Аминокислотная последовательность VL 92A в формате FASTA

QIVLTQSPAAMSASLGEEITLICSASSSVSYMHWYQQKSGTSPKLLIYRTSNLASGVPS  
RFSGSGSGTFYSLTISSVEAEDAADYYCHQWSSWTFGGGTQLEIK (SEQ ID NO:104)

Нуклеотидная последовательность VL 92A в формате FASTA

20 CAAATTGTTCTCACCCAGTCTCCAGCAATCATGTCTGCATCTAGGGGAGGAGA  
TCACCCCTAATTGAGTGCAGTGCAGCTCGAGTGTAAAGTTACATGCACTGGTACCAGCAGA  
AGTCAGGCACCTCTCCCAAACCTCTGATTATCGCACATCCAACCTGGCTTCTGGAG  
TCCCTTCTCGCTTCAGTGGCAGTGGCTGGGACCTTATTCTCTTACAATCAGCAG  
TGTGGAGGGCTGAAGATGCTGCCATTACTGCCATCAGTGGAGTAGTTGGACGTT  
25 CGGTGGAGGCACCCAGCTGGAAATCAA (SEQ ID NO:128)

Аминокислотная последовательность VH 92A в формате FASTA

DVQLQESGPGLVKFSQSLSLCSVGYSITSGYYWNWIRQFPGNKLEWMGYIRHDGS  
NN YNPSLKNRISITRDTSKNQFFLKLNSVITEDTATYYCVREIYDGSSGYFDVWGTGTT  
VTVSS (SEQ ID NO:116)

30 Нуклеотидная последовательность VH 92A в формате FASTA

GATGTACAGCTTCAGGAGTCAGGACCTGGCCTCGTGAAATTTCTCAGTCTCTGT  
CTCTCACCTGCTCTGCACTGGCTACTCCATCACCAGTGGTTATTACTGGAACCTGGA  
TCCGGCAGTTCCAGGAAACAAACTGGAATGGATGGCTACATAAGACACGATGGT  
AGCAATAACTACAACCCGTCTCTCAAAATCGAATCTCCATCACTCGTACACATCT

35 AAGAACAGTTTCCTGAAGTTGAATTCTGTGATTACTGAGGACACAGCCACATAT  
TACTGTGTAAGAGAGATCTATGATGGTCCCTCCGGTACTCGATGTCTGGGCACA  
GGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:141)

ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 93B:

Аминокислотная последовательность VL 93B в формате FASTA

40 DIVMTQSPSSLVTAGEKVTMSCKSSQSLNSGNQKNYLWYQQKPGQPPKLLIYW  
ASTRESGPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQPEDLAVYYCQNDYSFPFTFGSGTELEMK (SEQ  
ID NO:105)

Нуклеотидная последовательность VL 93B в формате FASTA

45 GACATTGTGATGACACAGTCTCCATCCTCCCTGACTGTGACAGCAGGAGAGAAG  
GTCACTATGAGCTGCAAGTCCAGTCAGAGTCTGTTAACACAGTGGAAATCAAAGAA  
TTACTTGACCTGGTACCAAGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAACTGTTGATCTACTG  
GGCATCCACTAGGGAATCTGGGTCCTGATCGCTTACAGGCAGTGGATCTGGAA  
CAGATTCACTCTCACCATTAGCAATGTGCAAGACCTGGCAGTTATTACT

GTCAGAATGATTATAGTTTCCATTACGGCTCGGGGACAGAGTTGGAAATGA  
AA (SEQ ID NO:129)

Аминокислотная последовательность VH 93B в формате FASTA

QVQLKQSGAELVRPGASVVLCKASGYTFTDYYINWVKQRPGQGLEWIARIYPGNG

5 NTD YNEKFKDATALTAEKSSTAYIQLSSLTSEDSAVYFCCFLWYFDVWGTGTTVTVSS  
(SEQ ID NO:117)

Нуклеотидная последовательность VH 93B в формате FASTA

CAGGTCCAGCTGAAGCAGTCTGGGCTGAACCTGGTGAGGCCTGGGCTTCAGTG  
AAGCTGCTGCAAGGCTCTGGCTACACTTCACTGACTACTATATAAACTGGGTG  
10 AAGCAGAGGCCTGGACAGGGACTTGAGTGGATTGCAAGGATTATCCTGGAAATGG  
TAATACTGACTACAATGAGAAGTCAGGACAAGGCCACACTGACTGCAGAAAAAT  
CCTCCACCACTGCCTACATACAACTCAGCAGTCTGACATCTGAGGACTCTGCTGTCT  
ATTCTGTTGCCTCTGGTACTTCGATGTCCTGGGACAGGAACCACGGTCACCGTCT  
CCTCA (SEQ ID NO:142)

15 ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 99B:

Аминокислотная последовательность VL 99B в формате FASTA

DVVMTQTPLTLSVTIGQPASISCKSSQSLSDGKTYLNWLLQRPGQSPKRLIYLVSKL  
DSGPVPDRFTGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGIYYCWQGTHFPFTFGSGTKLEIK (SEQ ID  
NO:106)

20 Нуклеотидная последовательность VL 99B в формате FASTA

GATGTTGTGATGACCCAGACTCCACTCACTTGTGCGTTACCATTGGACAACCAAG  
CCTCCATCTCTGCAAGTCAGTCAGAGCCTCTTAGATAGTGATGGAAAGACATATT  
TGAATTGGTTGTTACAGAGGCCAGGCCAGTCTCAAAGCGCCTAACATCTATCTGGTGT  
CTAAACTGGACTCTGGAGTCCCTGACAGGTTACTGGCAGTGGATCAGGGACAGAT  
25 TTCACACTGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATTGGGAATTATTATTGCTG  
GCAAGGTACACATTTCATTACGTTCCATTACGTTGGCTCGGGACAAAGTTGGAAATAAAA  
(SEQ ID NO:130)

Аминокислотная последовательность VH 99B в формате FASTA

QVQLQQSGAELARPGASVVLCKASGYTFTSDGITWLKQRTQGLEWIGQIHPRSGN

30 TY YNEKFKGKATLTADKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYFCAKTGTGDYWGQGTTLVSS  
(SEQ ID NO:118)

Нуклеотидная последовательность VH 99B в формате FASTA

CAGGTTCAGCTGCAGCAGTCTGGAGCTGAGCTGGCGAGGCCTGGGCTTCAGTG  
AAGCTGCTGCAAGGCTCGGGCTACACCTTCACAAGCGACGGTATAAACCTGGCT  
35 GAAACAGAGAACTGGACAGGGCCTTGAGTGGATTGGACAGATTCATCCTAGAAGTG  
GTAATACCTACTACAATGAGAAGTCAGGGCAAGGCCACACTGACTGCAGACAAA  
TCCTCCAGCACAGCGTACATGGAACCTCCGAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTC  
TATTCTGTGAAAAACTGGGACGGGGACTACTGGGCCAAGGCACCACTCTCAC  
AGTCTCCTCA (SEQ ID NO:143)

40 ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 104B:

Аминокислотная последовательность VL 104B в формате FASTA

DVVMTQTPLTLSVTIGQPASISCKSSLSLSDGKTYLNWLLQRPGQSPKRLIYLVSKL  
DSGPVPDRFTGSGSGTDFTLKIRVEAEDLGIYYCWQGTHFPFTFGSGTKLEVK (SEQ ID  
NO:107)

45 Нуклеотидная последовательность VL 104B в формате FASTA

GATGTTGTGATGACCCAGACTCCACTCACTTGTGCGTTACCATTGGACAACCAAG  
CCTCCATCTCTGCAAGTCAGTCAGAGCCTCTTAGATAGTGATGGAAAGACATATT  
TGAATTGGTTGTTACAGAGGCCAGGCCAGTCTCAAAGCGCCTAACATCTATCTGGTGT

CTAAACTGGACTCTGGAGTCCCTGACAGGTTCACTGGCAGTGGATCAGGGACAGAT  
 TTCACACTGAAAATCATCAGAGTGGAGGCTGAGGATTGGAAATTATTATTGCTGG  
 CAAGGTACACATTTCCATTACGTCGGCTGGGGACAAAGTTGGAAGTAAAAA (SEQ  
 ID NO:131)

5 Аминокислотная последовательность VH 104B в формате FASTA

QVQLQQSGPELARPGASVKLSCKASGYTFTSYGISWVKQRTGQGLEWIGQIHPNSGN  
 TY YNENFKGKATLTAAKSSSTAYLELRSLTSEDSAVYFCAREGGPDYWQQGTTLVSS  
 (SEQ ID NO:119)

Нуклеотидная последовательность VH 104B в формате FASTA

10 CAGGTTCAGCTGCAGCAGTCTGGGCCTGAGCTGGCGAGGCCCTGGGGCCTCAGTG  
 AAGCTGTCCTGCAAGGCTCTGGCTACACCTCACAAAGCTATGGTATAAGCTGGGTG  
 AAGCAAAGAACTGGACAGGGCCTTGAGTGGATTGGACAGATTCATCCTAGAAGTGG  
 TAATACTTACTACAATGAGAACTTCAAGGGCAAGGCCACACTGACTGCAGCCAAAT  
 CCTCCAGCACAGCGTACCTGGAGCTCCGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTCT  
 15 ATTTCTGTGCAAGAGAGGGGGTCCCACACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACA  
 GTCTCCTCA (SEQ ID NO:144)

**ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 105A:**

Аминокислотная последовательность VL 105A в формате FASTA

DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSIVHSNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNR  
 20 FSGVPDRFSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPLTFGAGTKLELK (SEQ ID  
 NO:99)

Нуклеотидная последовательность VL 105A в формате FASTA

GATGTTTGATGACCCAAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTGGAGATCAAG  
 CCTCCATCTCTGCAGATCTAGTCAGAGTATTGTACATAGTAATGGAAACACCTATT  
 25 TAGAATGGTACCTACAGAAACCAGGCCAGTCTCAAAGCTCCTGATCTACAAAGTT  
 TCCAACCGATTTCTGGGGTCCCAGACAGGTTCACTGGCAGTGGATCAGGGACAGA  
 TTTCACACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGAGTTATTACTGCTT  
 TCAAGGTTCACATGTTCCGCTCACGTTGGCTGGACCAAGCTGGAGCTGAAA  
 (SEQ ID NO:132)

30 Аминокислотная последовательность VH 105A в формате FASTA

EVQLQQSGAELVRPGASVKLSCTASGFNIKDDYMHWVKQRPEQGLEWIGCIDPENG  
 DIE YASRFQGKATMTADTSSNTAYLQLTSADTAVYYCTTYVGFGYWGQGLTVV  
 SA (SEQ ID NO:111)

Нуклеотидная последовательность VH 105A в формате FASTA

35 GAGGTTCAGCTGCAGCAGTCTGGGGCTGAGCTTGAGGCCAGGGGCCTCAGTC  
 AAGTTGTCCTGCACAGCTCTGGCTTAACATTAAGACGACTATATGCACTGGGTG  
 AAACAGAGGCCCTGAACAGGGCCTGGAGTGGATTGGATGCATTGATCCTGAGAATGG  
 TGATATTGAATATGCCTCGAGGTTCCAGGGCAAGGCCACTATGACAGCAGACACAT  
 CCTCCAACACAGCCTACCTGCAGCTCACCGCTGACATCTGCGGACACTGCCGTCT  
 40 ATTACTGTAACATACGTTGGATTGTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCAGT  
 TCTCTGCA (SEQ ID NO:145)

**Пример 2: Анти-huS15 антитела связываются с клетками, экспрессирующими S15 человека или S15 мыши**

**Материалы и методы**

45 Линии опухолевых клеток 293T человека и CRC MC38 мыши трансдудицировали  
 лентивектором, несущим SIGLEC 15 человека или SIGLEC 15 мыши. Клетки сортировали  
 для определения стабильных клеточных линий S15 человека и S15 мыши. Стабильные  
 клетки 293T.hS15 и MC38.mS15 ресуспендировали в буфере для FACS и Fc-рецепторы

перед инкубацией блокировали с очищенными анти–SIGLEC–15 mAb. 1E05 клеток в 100 мкл буфера для FACS разделяли на аликвоты в целях разделения пробирок и добавляли 1 мкг очищенного mAb. Клетки инкубировали при 4 С в течение 30 минут, затем промывали дважды буфером для FACS. Клетки ресуспенсировали в 100 мкл

буфера для FACS и 0,005 мкг анти–мышиный IgG–PE вторичное антитело добавляли к образцам, инкубировали в течение 30 минут и промывали дважды с избытком буфера для FACS. Клетки фиксировали в буфере для фиксации и затем анализировали с помощью проточной цитометрии.

Анализ представлен на Фиг. 4А.

#### **Результаты**

Анти–huS15 антитела, в том числе 1B2, 1C3, 1C12, 1H3, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5, 10G9 (Фиг. 4В) и 6A (NC6), 28A (NC28), 63A (NC63), 71A (NC71), NC74, 77A (NC77), 80A (NC80), 82B (NC82), 83B (NC83), NC87, 92A (NC92), 93B (NC93), 99B (NC99), 104B (NC104), 105A (NC105) (Фиг. 4С) исследовали в отношении связывания с клетками,

экспрессирующими S15 человека или S15 мыши. Результаты представлены на Фиг. 4В–4С.

Анти–huS15 антитела, в том числе 1B2, 1C3, 1C12, 1H3, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5, 10G9 и 6A (NC6), 28A (NC28), 63A (NC63), 77A (NC77), 80A (NC80), 82B (NC82), 83B (NC83), 92A (NC92), 93B (NC93), 99B (NC99), 104B (NC104) или 105A (NC105), также

исследованы в отношении связывания с клетками, фиксированными в формалине.

Результаты показаны на Фиг. 4Д.

#### **Пример 3: Очищенные антитела связываются с SIGLEC–15 мыши и человека**

##### **Материалы и методы**

Клетки 293T, транзиентно трансфицированные S15–TM (Operetta)

Клетки K562, транзиентно трансфицированные S15–TM (FACS)

Клетки 293T транзиентно трансфицировали плазидной ДНК с SIGLEC–15 мыши с помощью липофектминовой системы, а клетки K562 трансфицировали плазмидной ДНК с SIGLEC–15 человека с помощью электропорации. 1e5 трансфицированных

клеток в 100 мкл буфера для FACS (PBS, содержащий 0,5% сыворотки крови) разделяли на аликвоты в целях разделения пробирок и добавляли 1 мкг очищенного mAb. Клетки инкубировали при 4 С в течение 30 минут, затем промывали дважды буфером для FACS. Клетки ресуспенсировали в 100 мкл буфера для FACS и 0,005 мкг анти–мышиный IgG–PE вторичное антитело добавляли к образцам, инкубировали в течение 30 минут и промывали дважды с избытком буфера для FACS. Клетки фиксировали в буфере для фиксации (2% формальдегид в PBS) и затем анализировали с помощью проточной цитометрии.

Клетки U87 ресуспенсировали в буфере для FACS и Fc–рецепторы блокировали до инкубации с очищенными анти–SIGLEC–15 mAb. 1e5 клеток в 100 мкл буфера для FACS разделяли на аликвоты в целях разделения пробирок и добавляли 1 мкг очищенного mAb. Клетки инкубировали при 4 С в течение 30 минут, затем промывали дважды буфером для FACS. Клетки ресуспенсировали в 100 мкл буфера для FACS и 0,005 мкг анти–мышиный IgG–PE вторичное антитело добавляли к образцам, инкубировали в течение 30 минут и промывали дважды с избытком буфера для FACS. Клетки фиксировали в буфере для фиксации и затем анализировали с помощью проточной цитометрии.

##### **Результаты**

Очищенные антитела 1B2, 1C3, 1H3, 1C12, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5 и 10G9 исследовали в отношении связывания с SIGLEC–15 мыши (mS15), экспрессируемым

клетками 293T (производная с высокой способностью к трансфекции человеческих эмбриональных клеток почки 293) и SIGLEC-15 человека (hS15), экспрессируемым клетками K-562 (плевральный выпот женщины в возрасте 53 лет с хроническим миелогенным лейкозом в терминальном бластном кризе). Результаты представлены на Фиг. 5А–5С.

Очищенные антитела 1B2, 1C3, 1H3, 1C12, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5, 10G9 и 5F10 также исследовали в отношении связывания с клетками глиомы U87 человека, которые эндогенно экспрессируют SIGLEC-15 человека (hS15). Результаты изображены на Фиг. 6А–6С, которые показывают, процент hS15+ клеток (Фиг. 6А и 6С) и среднюю интенсивность флуоресценции (MFI) (Фиг. 6В) соответственно для каждого антитела.

#### **Пример 4: Анти-SIGLEC-15 антитела могут блокировать функцию SIGLEC-15**

##### **Материалы и методы**

###### ***Получение hS15.hG1***

Мономер слитого белка S15, содержащий весь внеклеточный домен S15, слитый с

остовом IgG, получали для анализов аффинности и конкурентных анализов.

Расщепляемую тромбином κДНК hS15.hFc субклонировали в pEE17.4

Фрагментированные слитые белки наблюдаются в транзиентно трансфицированных клетках CHO, но не в клетках 293 при 37°C. Интактный слитый белок экспрессируется более эффективно при 31°C.

Слитый белок имеет последовательность:

MEWSWVFLFFLSVTGVHS FVRTKIDTENLLNTEVHSSPAQR WSMQVPPEVSAE AGDA A VLPCTFTPHRH YDGPLTAIWRAGEPYAGPQVFRCAAARGSELCQTALSLHG RFRLGNPRRN DLSLRVERL ALADD RYFCR VEFAGDVHDR YESRHGVRLHVTAAAP RIVNISVLPSAHAFRALC TAEGEPPPALA WSGPALGN SLAA VRSPREGHGHL VTAEL PALTHDGR YTCTAANSLGR SEASVY LFRFHGASG DKTHTCPPCPAPEFE GGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:193).

Слитый сигнальный белок с отщепляемой сигнальной последовательностью представляет собой:

FVRTKIDTENLLNTEVHSSPAQR WSMQVPPEVSAEAGDAAVLPCTFTPHRH YDGPLTAIWRAGEPYAGPQVFRCAAARGSELCQTALSLHG RFRLGNPRRN DLSLRVERL ALADD RYFCR VEFAGDVHDR YESRHGVRLHVTAAAP RIVNISVLPSAHAFRALC TAEGEPPPALA WSGPALGN SLAA VRSPREGHGHL VTAEL PALTHDGR YTCTAANSLGR SEASVY LFRFHGASG DKTHTCPPCPAPEFE GGPSVFLFP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:194).

Мышьяная лидерная последовательность изображена с помощью подчеркивания. Внеклеточный домен SIGLEC-15 (ECD) изображен с помощью курсивного шрифта. Шарнирный участок изображен с помощью двойного подчеркивания. Оставшаяся последовательность происходит из Fc IgG1. Мутации L234F/L235E/P331S в Fc-домене IgG1 изображены с помощью жирного шрифта и пунктирного подчеркивания.

##### ***Блокирующий анализ***

Клетки 293T.LRRC4C создавали с помощью 2 циклов трансдукции Lenti-LRRC4C.

Стабильные клетки 293T.LRRC4C ресуспендировали в буфере для FACS и

Fc–рецепторы перед инкубацией блокировали. 1E05 клеток в 100 мкл буфера для FACS разделяли на аликвоты в целях разделения пробирок и сначала добавляли 2 мкг очищенного mAb, с последующим добавлением 0,2 мкг hSIGLEC–15hFc. Клетки инкубировали при 4 С в течение 30 минут, затем промывали дважды буфером для FACS.

5 Клетки ресуспенсировали в 100 мкл буфера для FACS и 0,005 мкг анти–человеческий IgG–PE вторичное антитело добавляли к образцам, инкубировали в течение 30 минут и промывали дважды с избытком буфера для FACS. Клетки фиксировали в буфере для фиксации и затем анализировали с помощью проточной цитометрии в целях определения связывания SIGLEC–15 с LRRC4C.

10 1 мкг/мл hS15.hG1+100 мкг супа или 33 мкг/мл Cl №3, №1

Анализ представлен на Фиг. 7A.

### Результаты

Результаты представлены на Фиг. 7B–7E.

**Полные блокаторы взаимодействия S15/LRRC4C включают, но не ограничиваясь ими:**

15 5G12, 6F8, 8C8, 1C3, 1C12, 3H10, 1B2

**Частичные блокаторы включают, но не ограничиваясь ими:**

10G9, 8H8, 9A5

**Пример 5: анти–S15 mAb обращает опосредованную hS15.hG1 супрессию T–клеток человека**

20 **Материалы и методы**

#### *Анализ пролиферации PBMC*

Покрытое анти–CD3 антитело @ 0,05 мкг/мл

Все PBMC человека +/- 5 мкг/мл hS15.hFc и **12 мкг/мл анти–SIGLEC–15 mAb** или контролей, как указано

25 Анти–человеческий CD3 (клон OKT3) антитело наносили при 0,03 мкг/мл в 100 мкл PBS на лукне 96–луночного плоскодонного планшета для культивирования тканей в течение ночи при 4 С. PBS и несвязанный CD3 аспирировали непосредственно перед добавлением компонентов для анализа. Все PBMC от здорового донора–человека метили 5 мкМ CFSE в течение 10 минут в полной среде RPMI (содержащей 10% FBS)

30 при 37 С и промывали 2 раза перед супенсированием в целях добавления в лунки при концентрации 2,5E05 клеток/лунка. Растворенное hSiglec–15hFc или контроли добавляли в лунки в конечной концентрации 5 мкг/мл, в то время как очищенные анти–SIGLEC–15 mAb или контроли добавляли к лункам в конечной концентрации 12 мкг/мл. Планшеты инкубировали при 37 С в CO<sub>2</sub> инкубаторе в течение 72 часов. После удаления небольшого

35 количестве супернатанта для анализа цитокинов клетки переносили в круглодонный планшет, Fc–рецепторы блокировали и клетки окрашивали CD4 и CD8 флуоресцентными mAb в течение 30 минут при 4 С. Клетки промывали в буфере для FACS, с последующей фиксацией для анализа с помощью проточной цитометрии. Уровни IFN–гамма в кондиционированном супернатанте анализировали с помощью набора для ИФА MSD.

40 Анализы изображены на Фиг. 8A и 9A.

### Результаты

Очищенные антитела 1B2, 1C3, 1H3, 1C12, 3H10, 5G12, 6F8, 8C8, 8H8, 9A5 и 10G9 исследовали в анализе пролиферации PBMC (Фиг. 8B, 8C, 8D и 8E) и 6A (NC6), 28A (NC28), 63A (NC63), 77A (NC77), 80A (NC80), 82B (NC82), 83B (NC83), 92A (NC92), 93B (NC93), 99B (NC99), 104B (NC104), 105A (NC105) (Фиг. 8F и 8G). CD4+ и CD8+ T–клетки гейтировали и анализировали в отношении разведения CFSE в качестве показателя клеточного деления (пролиферации). Повышенное разведение указывало на более высокую клеточную пролиферацию. Эти результаты показывают, что определенные

анти-S15 mAb могут обращать опосредованную hS15.hG1 супрессию Т-клеток человека.

Однако блокирование взаимодействия hS15 и LRRC4C не коррелирует с усилением Т-клеточной функции. Результаты показаны на Фиг. 8Н и 8I.

Также идентифицировали анти-S15 mAb, которые обращают опосредованное

5 hS15.hG1 ослабление продуцирования IFN $\gamma$  в Т-клетках человека. Результаты представлены на Фиг. 9В.

**Пример 6: Анти-S15 mAb могут блокировать образование остеокластов**

**Материалы и методы**

Свежеприготовленные PBMC выделяли и обогащали в отношении моноцитов 2

10 путями:

с помощью сортировки с использованием колонки MACS (Фиг.10, левая панель); или

с помощью прикрепления к пластмассе в бессывороточной среде (Фиг. 10, правая панель).

15 Клетки культивировали с M-CSF и RANKL в течение 8 дней с анти-25E9 или анти-S15 mAb и анализировали в отношении TRAP (устойчивой к тартрату кислой фосфатазе).

**Результаты**

Результаты, изображенные на Фиг. 15, показывают, что анти-S15 mAb могут блокировать образование остеокластов.

20 **Пример 7: Гуманизированные антитела 5G12**

Клон 5G12 гуманизировали, получая три гуманизированные тяжелые цепи и пять гуманизированных легких цепей (Фиг. 12А и 12В).

**hVL1 5G12**

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINSYLSWFQQKPGKAPKTLIYRANRLVDGV

25 PSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCLQYDEFPYTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:219)

**CDR1 hVL1 5G12**

KASQDINSYLS (SEQ ID NO:28)

**CDR2 hVL1 5G12**

RANRLVD (SEQ ID NO:36)

30 **CDR3 hVL1 5G12**

LQYDEFPYT (SEQ ID NO:43)

**hVL2 5G12**

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINTYLSWFQQKPGKAPKTLIYRANRLVDG

VP SRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCLQYDEFPYTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:

35 195)

**CDR1 hVL2 5G12**

KASQDINTYLS (SEQ ID NO:196)

**CDR2 hVL2 5G12**

RANRLVD (SEQ ID NO:36)

40 **CDR3 hVL2 5G12**

LQYDEFPYT (SEQ ID NO:43)

**hVL3 5G12**

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINVYLSWFQQKPGKAPKTLIYRANRLVDG

VP SRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCLQYDEFPYTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:

45 197)

**CDR1 hVL3 5G12**

KASQDINVYLS (SEQ ID NO:198)

**CDR2 hVL3 5G12**

RANRLVD (SEQ ID NO:36)  
CDR3 hVL3 5G12  
LQYDEFPYT (SEQ ID NO:43)  
hVL4 5G12

5 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDIQSYLSWFQQKPGKAPKTLIYRANRLVDG  
VP SRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCLQYDEFPYTFGGGTKEIK (SEQ ID NO:  
199)  
CDR1 hVL4 5G12  
KASQDIQSYLS (SEQ ID NO:200)

10 CDR2 hVL4 5G12  
RANRLVD (SEQ ID NO:36)  
CDR3 hVL4 5G12  
LQYDEFPYT (SEQ ID NO:43)  
hVL5 5G12

15 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINVYLSWFQQKPGKAPKTLIYRANRLTSG  
VP SRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCLQYDEFPYTFGGGTKEIK (SEQ ID NO:  
201)  
CDR1 hVL5 5G12  
KASQDINVYLS (SEQ ID NO:198)

20 CDR2 hVL5 5G12  
RANRLTS (SEQ ID NO:202)  
CDR3 hVL5 5G12  
LQYDEFPYT (SEQ ID NO:43)  
hVH1 5G12

25 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWITWVRQAPGQGLEWMGDIYSGS  
DTMH YAEKFQGRVLTVDSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARWWDYGSSYDYFDY  
WGQGTLTVSS (SEQ ID NO:203)  
CDR1 hVH1 5G12  
SYWIT (SEQ ID NO:204)

30 CDR2 hVH1 5G12  
DIYSGSDTMHYAEKFQG (SEQ ID NO:205)  
CDR3 hVH1 5G12  
WWDYGSSYDYFDY (SEQ ID NO:71)  
hVH2 5G12

35 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWITWVRQAPGQGLEWMGDIYSGS  
DTTH YAEKFQGRVLTVDSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARWWDYGSSYDYFDY  
GQGTLTVSS (SEQ ID NO:206)  
hVH2 CDR1  
SYWIT (SEQ ID NO:204)

40 hVH2 CDR2  
DIYSGSDTTHYAEKFQG (SEQ ID NO:374)  
hVH2 CDR3  
WWDYGSSYDYFDY (SEQ ID NO:71)  
hVH3 5G12

45 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWISWVRQAPGQGLEWMGDIYSGS  
DTTH YAEKFQGRVLTVDSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARWWDYGSSYDYFDY  
GQGTLTVSS (SEQ ID NO:207)  
CDR1 hVH3 5G12 SYWIS (SEQ ID NO:208)

CDR2 hVH3 5G12

DIYSGSDTTHYAEKFQG (SEQ ID NO:374)

CDR3 hVH3 5G12

WWDYGSSYDYFDY (SEQ ID NO:71)

**Пример 8: Мембранные связанный S15 является иммуносупрессорным.****Материалы и методы**Способ для анализа Т–клеточной супрессии в РМВС *in vitro*:

периферические мононуклеарные клетки крови (РВМС), полученные в результате афереза богатых лейкоцитами продуктов здорового донора (KeyBiologics, Мемфис,

10 Теннеси), собирали с помощью стандартной процедуры с использованием градиента фиколла с последующей криоконсервацией. В день анализа замороженные РВМС размораживали, промывали полной средой RPMI (RPMI–C, RPMI [ThermoFisher] + 10% сывороткой FetalClone III [HyClone]) и подсчитывали. Клетки метили 5 мкМ CFSE

15 (ThermoFisher) в RPMI–C в течение 10 минут при 37°C, с последующими двумя

промываниями RPMI–C. Все РМВС (3Е05 клеток/лунка) высевали в 96–луночные плоскодонные планшеты Corning Costar, которые предварительно покрывали анти–человеческий CD3 антителом (OKT3, 50 нг/мл; eBioScience) в течение ночи при

4°C. Слитый белок SIGLEC–15–Fc hG1 добавляли в лунки в указанных конечных

20 концентрациях. Клетки культивировали в течение 72 часов при 37°C. Через 72 часа 50 мкл супернатанта собирали из лунок и незамедлительно замораживали для анализа уровней цитокинов. Затем клетки собирали из каждой лунки с помощью пипетирования и переносили в круглодонный планшет для проточно–цитометрического окрашивания

25 и анализа. Fc–рецепторы блокировали FcX TruStain (2 мкл/лунка; Biolegend), с последующим окрашиванием антителами против CD4 APC–eFluor 780 (2 мкл/лунка; ThermoFisher) и CD8 eFluor 450 (2 мкл/лунка; ThermoFisher) в течение одного часа при

4°C. После инкубации планшеты промывали дважды буфером для FACS (PBS, содержащий 1% сыворотку FetalClone III). Клетки ресуспендировали в 150 мкл буфера

30 для фиксации (3% формальдегид в PBS) и анализировали с помощью проточного цитометра YETI (Propel Labs). Данные анализировали с помощью FlowJo. Данные представляли в виде процента клеток, которые делятся, на основании разведения CFSE

по сравнению с нестимулированными CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т–клетками. Супернатанты анализировали с помощью набора U–PLEX (Meso Scale Diagnostics [MSD]) в отношении

35 IFN–γ, TNF–α и IL–6 в соответствии с инструкциями. U–PLEX считывали с помощью инструмента Meso QuickPlex SQ 120.

**Результаты**

Мембранные связанный S15 является иммуносупрессорным. На Фиг. 14А изображена линейная диаграмма % пролиферации Т–клеток против человеческого Fc S15 (мкг/мл), которая показывает, что % пролиферации Т–клеток снижается по мере того, как

40 повышается концентрация Fc S15. РВМА человека метили CFSE и добавляли к анти–0CD3 (OKT3) антителам, покрывающим 96–луночные планшеты, и культивировали в течение 3 дней со слитым белком Fc S15 человека при указанных концентрациях. На Фиг. 14В изображена столбиковая диаграмма пг/мл IFN–γ в кондиционированных супернатантах из клеток, обработанных 0 или 5 мкг/мл Fc S15. На Фиг. 14С изображена столбиковая

45 диаграмма пг/мл TNF–α в кондиционированных супернатантах из клеток, обработанных 0 или 5 мкг/мл Fc S15. На Фиг. 14Д изображена столбиковая диаграмма пг/мл IL–6 в кондиционированных супернатантах из клеток, обработанных 0 или 5 мкг/мл Fc S15.

**Пример 9: Связывания анти–s15 mAb, очищенного из гибридомы, с клетками,**

экспрессирующими S15 человека или s15 мыши.

#### Материалы и методы

Клетки 293T, стабильно экспрессирующие S15 человека (293T.hS15), и клетки MC38, стабильно экспрессирующие S15 мыши (MC38.mS15), собирали из культуры тканей.

- 5 После одной промывки PBS клетки засевали в 96–луночный планшет с U–образным дном (5E04 клеток/лунка) в целях окрашивания. Сначала клетки смешивали с 1 мкг указанных антител, очищенных из гибридом мыши в буфере для окрашивания для FACS (PBS, содержащий 1% сыворотки FetalClone III) и инкубировали в течение 30 минут на льду. Затем клетки промывали один раз буфером для FACS с последующей 10 инкубацией с конъюгированным PE анти–мышиной Ig антителом (eBioscience) в течение 30 минут на льду. Клетки промывали один раз буфером для FACS и ресуспенсировали в 100 мкл буфера для FACS перед анализом с помощью проточного цитометра YETI (Propel Labs). Данные анализировали с помощью FlowJo. Данные представляли в виде процента клеток, которые являются PE позитивными в общей клеточной популяции, 15 гейтированной с помощью прямого светорассеяния (FSC) и бокового светорассеяния (SSC).

#### Результаты

На Фиг. 15А и 15В изображен процент позитивных клеток в отношении связывания анти–S15 mAb, очищенного из гибридомы, с клетками, экспрессирующими человеческий S15 или мышиный S15. Связывание оценивали с помощью анализа FACS клеток, инкубированных с указанными антителами с последующим инкубированием с PE конъюгированным анти–мышиной Ig антителом. Клетки анализировали в отношении PE<sup>+</sup> популяций с помощью FACS.

- 25 Пример 10: Очищенные анти–S15 mAb из гибридом обращают опосредованную мембраносвязанным S15 супрессию.

#### Материалы и методы

Способ исследования обращения опосредованной Fc SIGLEC–15 супрессии с помощью анти–SIGLEC–15 mAb в анализе Т–клеточной пролиферации во всех PBMC:

- 30 так же, как и на Фиг. 14, выше, с незначительными изменениями:  
периферические мононуклеарные клетки крови (PBMC), полученные в результате афереза богатых лейкоцитами продуктов здорового донора (KeyBiologics, Мемфис, Теннеси), собирали с помощью стандартной процедуры с использованием градиента фиколла с последующей криоконсервацией. В день анализа замороженные PBMC  
35 размораживали, промывали полной средой RPMI (RPMI–C, RPMI [ThermoFisher] + 10% сывороткой FetalClone III [HuClone]) и подсчитывали. Клетки метили 5 мкМ CFSE (ThermoFisher) в RPMI–C в течение 10 минут при 37°C, с последующими двумя промываниями RPMI–C. Все PMBC (3E05 клеток/лунка) высевали в 96–луночные плоскодонные планшеты Corning Costar, которые предварительно покрывали  
40 анти–человеческий CD3 антителом (OKT3, 50 нг/мл; eBioScience) в течение ночи при 4°C. Слитый белок SIGLEC–15–hG1 добавляли в лунки при 5 мкг/мл (конечная концентрация). Указанные анти–SIGLEC–15 mAb затем добавляли к указанным лункам при 12 мкг/мл (конечная концентрация). Клетки культивировали в течение 72 часов при 37°C. Через 72 часа 50 мкл супернатанта собирали из лунок и незамедлительно  
45 замораживали для анализа уровней цитокинов. Затем клетки собирали из каждой лунки с помощью пипетирования и переносили в круглодонный планшет для проточно–цитометрического окрашивания и анализа. Fc–рецепторы блокировали FcX TruStain (2 мкл/лунка; Biolegend), с последующим окрашиванием антителами против CD4 APC–eFluor 780 (2 мкл/лунка; ThermoFisher) и CD8 eFluor 450 (2 мкл/лунка;

ThermoFisher) в течение одного часа при 4°C. После инкубации планшеты промывали дважды буфером для FACS (PBS, содержащий 1% сыворотку FetalClone III). Клетки ресуспенсировали в 150 мкл буфера для фиксации (3% формальдегид в PBS) и анализировали с помощью проточного цитометра YETI (Propel Labs). Данные

5 анализировали с помощью FlowJo. Данные представляли в виде процента клеток, которые делятся, на основании разведения CFSE по сравнению с нестимулированными CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-клетками. Супернатанты анализировали с помощью набора U-PLEX (Meso Scale Diagnostics [MSD]) в отношении IFN-γ, TNF-α и IL-6 в соответствии с инструкциями. U-PLEX считывали с помощью инструмента Meso QuickPlex SQ 120.

10 **Результаты**

На Фиг. 16А и 16В изображены столбиковые диаграммы процента поделившихся CD8+ Т-клеток, обработанных указанными антителами. На Фиг. 16С и 16Д изображены столбиковые диаграммы процента поделившихся CD4+ Т-клеток, обработанных указанными антителами.

15 **Пример 11: биологическая активность *in vivo* очищенных 5G12 в трех опухолевых моделях.**

**Материалы и методы**

Способы для опухолевых моделей *in vivo*:

***Модель колоректальной опухоли***

20 Фиг. 17А: Опухолевые клетки MC38 (ATCC), трансдуцированные и отсортированные в отношении сверхэкспрессии SIGLEC-15, инъектировали подкожно по 2E05 клеток в 100 мкл в выбранный правый бок мышей C57BL/6N (Charles River). Пяти мышам/группа обработки вводили 200 мкг контрольного IgG (Innovative Research) или очищенного не содержащего эндотоксина анти-SIGLEC-15 антитела против луона 5G12 через шесть 25 дней после инъекции. Обработки продолжали каждые четыре дня в общей сложности четырьмя дозами. Опухоль измеряли 3 раза на каждой неделе. Объем опухоли рассчитывали в виде (длина × ширина<sup>2</sup>)<sup>\*</sup>0,5. Мышей выводили из эксперимента, когда опухоль достигала 2000 мм<sup>3</sup>.

30 ***Опухолевая модель лимфомы***

Фиг. 17В: Опухолевые клетки EG7 (ATCC) представляют собой опухолевые клетки EL4, трансфицированные в целях экспрессии овальбумина куриного яйца (OVA). Клетки культивировали в течение 10 дней перед подкожной инъекцией 2E05 опухолевых клеток в выбранный правый бок мышей C57BL/6N (Charles River). Десять мышей/группа обработки обрабатывали 200 мкг контрольного IgG или очищенного не содержащего эндотоксина анти-SIGLEC-15 антитела против луона 5G12. Обработки начинали через восемь дней после инъекции EG7 и мышей обрабатывали каждые четыре дня в общей сложности четырьмя дозами. Объем опухоли рассчитывали в виде (длина × ширина<sup>2</sup>)<sup>\*</sup>0,5. Мышей выводили из эксперимента, когда опухоль достигала 2000 мм<sup>3</sup> или когда 40 опухоль достигала среднего диаметра 15 см.

***Модель рака яичника***

Фиг. 17С: Опухолевые клетки ID8-OVA представляют собой клеточную линию ID8 рака яичников мышей, стабильно трансфицированную в целях экспрессии овальбумина куриного яйца (OVA). Клетки культивировали в течение 10 дней перед 45 интраперitoneальной инъекцией 5E06 клеток. Через три недели мышам адаптивно переносили с помощью интраперitoneальной инъекции 5E05 OT-I Tg/Rag2<sup>-/-</sup> Т-клеток, которые выделяли с помощью CD8<sup>+</sup> Т-клеточной негативной селекции (Miltenyi Biotec). Обработку начинали через один день (день 22; n=10/группа). Мыши получали 200 мкг

каждые четыре дня в общей сложности 5 доз контрольного IgG или очищенного не содержащего эндотоксина анти-SIGLEC-15 антитела противлона 5G12. Мышей взвешивали через 30 дней после инъекции опухоли и опухоловую нагрузку анализировали с помощью прибавки веса. Данные представляли в виде процента прибавки веса на мышь от исходного веса в течение 30 дней. Мышей выводили из эксперимента при достижении 150% прибавки веса или более 30 грамм.

### Результаты

5G12 показало повышение процента выживаемости в колоректальной модели (Фиг. 17А) и модели лимфомы (Фиг. 17В). 5G12 также показало снижение опухоловой нагрузки (Фиг. 17С). На Фиг. 18 изображен процент выживаемости после инокуляции ID8/OVA.

### **Пример 12: Оценка аффинности рекомбинантных mAb в отношении мономерного белка S15**

Эксперименты с оптимизированной  $K_D$  осуществляли с использованием инструмента ForteBio Octet RED96 с помощью сенсоров захвата анти-человеческий Fc антитела (АНС, 18–5060; ForteBio). Буфер для анализа представлял собой PBS, содержащий 0,05% Твин-20, а буфер для регенерации представлял собой 10 mM глицин (рН 1,5). Сначала антитела загружали при 1 мкг/мл в течение 600 секунд. Затем следовал второй исходный этап длительностью 60 секунд, этап ассоциации длительностью 300 секунд в мономере внеклеточного домена (ECD) S15 и в конечном итоге этап диссоциации длительностью 1200 секунд. Концентрации мономера варьировали от 100 нМ до 1,56 нМ в сериях с двухкратным разведением, также включали холостую лунку. Данные обрабатывали с помощью компьютерной программы для анализа данных ForteBio версии 7.0; использовали глобальное сходство в сочетании с вычитанием эталонных лунок.

Описанные значения представляют собой среднее по меньшей мере из трех независимых октетных циклов.

Результаты представлены в Табл. 1.

### **Таблица 1: Оценка аффинности рекомбинантных mAb в отношении мономерного белка S15 (n=3–6 циклов)**

	Аффинность (нМ)	$K_{on}$ (1E+5/Mc)	$K_{off}$ (1E-4/c)	Полный $\chi^2$	Полный $R^2$
1H3	0,11 ± 0,02	3,59	0,39	0,1897	0,9971
5G12	0,30 ± 0,04	4,21	1,23	0,3913	0,9952
6F8	0,44 ± 0,08	3,04	1,34	0,2128	0,9977
NC80	0,50 ± 0,02	3,48	1,75	0,1249	0,9987
10G9	0,55 ± 0,08	2,77	1,52	0,3085	0,998
1C3	0,58 ± 0,13	3,17	1,74	0,217	0,9979
3H10	0,60 ± 0,14	3,06	1,78	0,3725	0,9968
NC93	0,88 ± 0,10	1,85	1,62	0,2795	0,9973
8C8	0,89 ± 0,25	2,92	2,3	0,1765	0,9976
NC83	1,19 ± 0,09	3,53	4,15	0,4121	0,9927
8H8	1,30 ± 0,33	2,09	2,7	0,3012	0,9977
NC105	1,39 ± 0,16	0,72	1,02	0,1331	0,9979
NC92	1,42 ± 0,11	0,99	1,4	0,1138	0,9989
NC77	1,93 ± 0,29	0,72	1,43	0,1377	0,9964
NC6	2,94 ± 0,42	0,73	2,11	0,1085	0,9944
NC104	3,08 ± 0,96	0,23	0,59	0,0489	0,998
NC99	3,86 ± 1,40	0,32	1,02	0,0431	0,9952
1C12	4,01 ± 1,05	1,05	4,23	0,1694	0,993
1B2	4,33 ± 0,75	1,43	6,09	0,2432	0,9883
NC82	4,84 ± 1,66	0,23	1,00	0,0494	0,9966

### **Пример 13: Эпитоп-специфическая сортировка анти-S15 mAb**

Эксперименты с эпитоп–специфической сортировкой осуществляли с использованием инструмента ForteBio Octet RED96 с помощью стрептавидиновых (SA, 18–5019; ForteBio) сенсоров. После второго исходного этапа длительностью 30 секунд меченный биотином слитый белок S15–mG1 загружали на сенсоры при 10 мкг/мл в течение 600 секунд. За 5 этим следовал второй этап ассоциации длительностью 600 секунд в 1-м антителе (30 мкг/мл), второй исходный этап длительностью 30 секунд и второй этап ассоциации длительностью 400 секунд во 2-м антителе (15 мкг/мл). Буфер для анализа представлял собой PBS, а буфер для регенерации представлял собой 10 мМ глицин (рН 3,0). Данные обрабатывали с помощью компьютерной программы для анализа данных ForteBio 10 версии 7.0, а кривые в отношении 2-го антитела отдельно анализировали в отношении конкурентного связывания. Кривая во время второго этапа ассоциации, которая отличается от таковой первого этапа ассоциации, указывает на связывание с незанятым эпитопом. Отсутствие дополнительного связывания указывает на блокирование эпитопа.

Результаты представлены в Табл. 2.

**Таблица 2: Эпитоп–специфическая сортировка S15**

Сортировка 1	5G12, NC80, NC93
Сортировка 2	6F8, 1C3, 3H10, NC92
Сортировка 3	10G9, 8H8
Сортировка 4	1H3
Сортировка 5	NC83, NC105

**Пример 14: Анти–человеческий S15 антитело клона 1H3 ингибитирует образование остеокластов у человека *in vitro***

**Материалы и методы**

PBMC выделяли в результате афереза богатых лейкоцитами продукта, приобретенного в Key Biologics, LLC. Богатый лейкоцитами продукт наслаждали на прокладку из фиколла и центрифугировали в течение 30 минут при 400 RCF. Клетки в интерфазе фиколла удаляли, промывали 3 раза в PBS и затем замораживали в FBS с 10% DMSO. В день эксперимента флакон замороженных PBMC удаляли из хранения в жидком азоте и размораживали. Моноциты выделяли с помощью набора для выделения моноцитов MACS (130–096–537; Miltenyi Biotec) согласно инструкциям производителя. Выделенные клетки на 99% были жизнеспособными. Клетки высевали в 96–луночные плоскодонные планшеты для культивирования тканей при плотности 3E05 клеток/см<sup>2</sup>, 1E05 клеток в 100 мкл среды для анализа на лунку. Среда для анализа состояла из среды α–MEM (Gibco 32571–036) с добавлением 10% FBS, 1 мМ пирувата натрия, 25 нг/мл 25 макрофагального колониестимулирующего фактора человека (Miltenyi, 103–096–491) и 30 нг/мл RANKL человека (Miltenyi, 130–093–988). Клетки прикреплялись к планшету за 3,5 часа до добавления 10 мкл 50 мкг/мл анти–S15 антитела, конечная концентрация составляла 4,55 мкг/мл. Для каждого антитела оценивали три лунки. Через три дня 30 35 40 после инкубации среду заменяли и добавляли свежие антитела. На седьмые сутки супернатанты переносили из исходных планшетов в круглодонные 96–луночные планшеты и центрифугировали с удалением клеточного дебриса. Моноциты/остеокласты окрашивали с помощью набора для окрашивания TRAP от B–Bridge International, Inc. (PMC–AK04F–COS) согласно инструкциям производителя и получали изображение с 45 помощью Invitrogen EVOS FL Color. Для оценки уровней TRAP (устойчивой к тартрату кислой фосфатазы) в супернатанте 50 мкл буфера из набора для окрашивания TRAP комбинировали с 9 мкл супернатанта и инкубировали при 37°C в течение трех часов. Фиксировали поглощение в каждой лунке при 540 нМ. Оставшийся супернатант

замораживали при  $-80^{\circ}\text{C}$  для более позднего анализа цитокинов.

#### Результаты

На Фиг. 19А изображена схематическая диаграмма, которая показывает CD14+ моноциты человека, собранные из PBMC человека с помощью магнитных гранул для 5 культивирования моноцитов Miltenyi после высеивания в 96-луночных планшетах в присутствии M-CSF человека и RANKL человека совместно с указанными антителами. На Фиг. 19В изображена микрофотография, показывающая остеокласты. На Фиг. 19С изображена столбиковая диаграмма поглощения при 540 нм супернатанта, собранного через 7 дней, для анализа устойчивой к тартрату кислотой фосфатазы.

**Пример 15: 1H3 ослабляет продуцирование IL-6 и TNF- $\alpha$ , опосредованной M-CSF и RANKL в моноцитах человека**

#### Материалы и методы

Супернатанты из лунок с No-RANKL (только M-CSF), контрольным mAb (M-CSF+RANKL+контрольное mAb) и 1H3 (M-CSF+RANKL+1H3) из эксперимента, описанного 15 выше, собирали и исследовали для анализа цитокинов.

#### Результаты

На Фиг. 20 изображена столбиковая диаграмма, которая показывает цитокины (пг/мл) INF- $\gamma$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A и TNF- $\alpha$ .

**Пример 16: Анти-человеческий S15 mAb 1H3 предупреждает образование остеокластов 20 у мыши *in vitro***

#### Материалы и методы

Макрофаги мышей RAW 264.7 высевали в плоскодонный 96-луночный планшет при 25 плотности 1,5E04 клеток/ $\text{cm}^2$ , 4800 клеток в 90 мкл среды на лунку. Среда состояла из DMEM с 10% FBS, 1 мМ пирувата натрия и 50 нг/мл RANKL мыши (eBioscience, 14-8612-80). Клетки оставляли для прикрепления в течение двух часов перед добавлением 10 мкл указанного антитела (50 мкг/мл) в лунки, приводя к конечной концентрации 5 мкг/мл; антитела оценивали в трех лунках. Клетки дифференцировались в течение пяти дней, в течение этого времени клетки окрашивали и супернатант анализировали в отношении содержания TRAP, как описано выше.

#### Результаты

На Фиг. 21 изображена столбиковая диаграмма поглощения при 540 нм макрофагов RAW 264.7 мыши, культивированных в присутствии RANKL совместно с указанными антителами.

**Пример 17: Экспрессия SIGLEC-15 повышена в макрофагах M2 человека**

#### Материалы и методы

#### *Экспрессия SIGLEC-15*

CD14+ моноциты человека выделяли из PBMC человека с помощью набора магнитных гранул для негативной селекции (Miltenyi Biotec) и обрабатывали M-CSF в течение 3 дней, затем клетки культивировали в присутствии IL-10 (поляризация макрофагов M2) 40 или IFN- $\gamma$ /LipiA (поляризация макрофагов M1) еще в течение 3 дней. Экспрессию SIGLEC-15 на клеточной поверхности выявляли с помощью окрашивания анти-SIGLEC-15 антителом с последующим анализом FACS.

#### *Индукция экспрессии SIGLEC-15*

Клетки костного мозга мыши собирали от мышей Balb/C. Прикрепившиеся клетки 45 удаляли с помощью присоединения к пластмассовой чашке для культивирования. Плавающие гематopoэтические клетки мыши собирали и обрабатывали M-CSF в течение 3 дней с последующей прямой обработкой M-CSF или обработкой M-CSF+IL-10 еще в течение 4 дней. Обработанные клетки собирали и окрашивали маркерами миелоидных

клеток (CD11b и F4/80) и мечеными РЕ анти–S15 антителами с помощью анализа FACS. Средняя интенсивность флуоресценции РЕ изображена на графике в нижней панели. M-CSF слегка повышал экспрессию S15.

### **Результаты**

5 Экспрессию SIGLEC–15 наблюдали в макрофагах М2 человека (Фиг. 25А), но не в макрофагах М1 человека (Фиг. 25В).

M-CSF и IL–10 повышают экспрессию S15 в миелоидных клетках, происходящих из костного мозга мыши (Фиг. 25С–25Е).

Пример 18: SIGLEC–15 способствует выживанию миелоидных клеток человека и

10 повышает продуцирование провоспалительных цитокинов

### **Материалы и методы**

CD14+ моноциты человека сначала выделяли из PBMC человека (от 2 здоровых доноров) с помощью набора магнитных гранул для негативной селекции (Miltenyi Biotec) и высевали в 96–луночном планшете, покрытым слитым белком SIGLEC–15

15 (иммунизированный SIGLEC–15) или без покрытия, но с добавлением слитого белка SIGLEC–15 в культуральную среду (растворенный SIGLEC–15) в концентрации, показанной на фигуре. Через шесть дней кондиционированный супернатант собирали для анализа цитокинов с помощью набора MSD. Жизнеспособность клеток оценивали с помощью добавления в планшет XTT (ThermoFisher). Через 2 часа после

20 культивирования клеточный метаболизм/жизнеспособность измеряли с помощью считывания поглощения при 450 нм.

### **Результаты**

Более высокое поглощение выявляли в лунках, как с иммунизированным Fc SIGLEC–15, так и с растворенным Fc SIGLEC–15. Анализ цитокинов показал, что S15 25 дозозависимо повышал продуцирование TNF–α, IL–6 и IL–1β в обработанных лунках (данные из лунок с растворенным S15 представлены в данном документе).

Пример 19: Обработанные Fc SIGLEC–15 миелоидные клетки человека влияют на функцию Т–клеток человека

### **Материалы и методы**

30 На Фиг. 27А изображена схематическая диаграмма для следующего эксперимента. CD14+ моноциты человека выделяли из PBMC человека (от 2 здоровых доноров) с помощью набора магнитных гранул для негативной селекции (Miltenyi Biotec) и обрабатывали Fc SIGLEC–15 в течение 6 дней, как описано выше, или поляризовали в отношении макрофагов М2 или М1, или обрабатывали GM–CSF и IL–4 для

35 дифференцировки клеток до незрелых дендритных клеток (imDC). Клетки собирали с помощью осторожного соскребывания из чашки для культивирования. После центрифугирования клетки ресуспендировали и кокульттивировали с меченными CFSE негативно селектированными аутологичными всеми Т клетками при соотношении 1 миелоидная клетка: 2 Т–клетки совместно с анти–CD3/CD28 гранулами (1 клетка из

40 всех Т–клеток: 2 гранулы). Через пять дней кондиционированный супернатант собирали для анализа цитокинов с помощью мультиплексного набора MSD от MSD. Клетки собирали и окрашивали анти–CD4 и анти–CD8 антителами. Т–клеточную пролиферацию анализировали с помощью анализа FACS в целях измерения разведенной CFSE клеточной популяции.

45 **Результаты**

Данные показали, что обработанные Fc SIGLEC–15 миелоидные клетки ослабляли опосредованную анти–CD3/CD28 гранулами CD4 и CD8 Т–клеточную пролиферацию с использованием клеток от этого конкретного донора (донор №1707), а супрессия не

была такой же выраженной, как в случае макрофагов M2 (Фиг. 27В–27Г). Анализ цитокинов показал, что обработанные S15 миелоидные клетки значимо нарушали опосредованное анти-CD3/CD28 гранулами продуцирование IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-6 и IL-10. Данные от других исследуемых доноров показали, что обработанные S15 клетки ограничивали супрессию Т-клеточной пролиферации, однако в большинстве случаев замечена супрессия продукции цитокинов.

**Пример 20: Анти-SIGLEC-15 mAb дозозависимо блокировало опосредованный S15 эффект выживания миелоидных клеток человека**

**Материалы и методы**

CD14+ моноциты человека выделяли из РВМС человека (от 2 здоровых доноров) с помощью набора магнитных гранул для негативной селекции (Miltenyi Biotec) и высевали в 96-луночный планшет с 5 мкг/мл слитого белка Fc S15 совместно с mAb в случае SIGLEC-15, серийно разведенного в соотношении 1:2 исходя из 20 мкг/мл. Клетки культивировали в течение 7 дней. Жизнеспособность/метаболизм клеток оценивали с помощью добавления в планшет XTT (ThermoFisher). Через 2 часа после культивирования клеточный метаболизм/жизнеспособность измеряли с помощью считывания поглощения при 450 нм. Высокое поглощение выявляли в лунках со слитым белком Fc S15 без каких-либо антител (mAb отсутствует). Низкое поглощение получали в лунках без слитого белка Fc S15 (Fc S15 отсутствует).

**Результаты**

Анти-SIGLEC-15 mAb дозозависимо снижало поглощение (нижняя линия). Контрольное антитело (верхняя линия) не оказывало влияния на выживание и метаболизм клеток. На Фиг. 28А (донор 1709) и 28В (донор 1713) изображено, что анти-S15 mAb дозозависимо блокировало опосредованный S15 эффект выживания в миелоидных клетках человека.

**Пример 21: SIGLEC-15 играет основную роль в образовании остеокластов**

M-CSF, экспрессируемый на остеобластах и стромальных клетках, индуцирует экспрессию SIGLEC-15 на миелоидных клетках, который взаимодействуют с партнером по связыванию SIGLEC-15 как в цис-, так и транс-положении и стимулирует миелоидные клетки производить провоспалительные цитокины, такие как TNF- $\alpha$ , IL-6 и IL-1 $\beta$  и повышать экспрессию  $\alpha_v\beta_3$  интегрина. Совместно с передачей сигнала с участием RANKL, клетки-предшественники остеокластов сливаются и образуют многоядерные остеокласты (Фиг. 29).

**Пример 22: SIGLEC-15 индуцирует экспрессию интегрина  $\alpha_v\beta_3$  в CD14 $^+$  моноцитах человека**

**Материалы и методы**

CD14 $^+$  моноциты человека выделяли из РВМС человека с помощью набора магнитных гранул для негативной селекции (Miltenyi Biotec) и обрабатывали 5 мкг/мл слитого белка Fc S15 в течение 6 дней. Через шесть дней обработанные Fc S15 миелоидные клетки собирали и окрашивали анти- $\alpha_v\beta_3$  интегрин антителом (клон 23C6).

**Результаты**

По сравнению с окрашиванием изотипическим контрольным антителом, а также окрашиванием клеток до обработки Fc S15 на сутки 0, экспрессия  $\alpha_v\beta_3$  интегрина была повышенной в миелоидных клетках с обработкой Fc S15 (Фиг. 30А и 30В).

Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в данном документе, имеют те же самые значения, как обычно понимается специалистом в области техники, к которой принадлежит раскрываемое изобретение. Публикации, цитируемые



	130	135	140
	Glu Phe Ala Gly Asp Val His Asp Arg Tyr Glu Ser Arg His Gly Val		
145	150	155	160
	Arg Leu His Val Thr Ala Ala Pro Arg Ile Val Asn Ile Ser Val Leu		
5	165	170	175
	Pro Ser Pro Ala His Ala Phe Arg Ala Leu Cys Thr Ala Glu Gly Glu		
	180	185	190
	Pro Pro Pro Ala Leu Ala Trp Ser Gly Pro Ala Leu Gly Asn Ser Leu		
	195	200	205
10	Ala Ala Val Arg Ser Pro Arg Glu Gly His Gly His Leu Val Thr Ala		
	210	215	220
	Glu Leu Pro Ala Leu Thr His Asp Gly Arg Tyr Thr Cys Thr Ala Ala		
225	230	235	240
	Asn Ser Leu Gly Arg Ser Glu Ala Ser Val Tyr Leu Phe Arg Phe His		
15	245	250	255
	Gly Ala Ser Gly Ala Ser Thr Val Ala Leu Leu Leu Gly Ala Leu Gly		
	260	265	270
	Phe Lys Ala Leu Leu Leu Gly Val Leu Ala Ala Arg Ala Ala Arg		
	275	280	285
20	Arg Arg Pro Glu His Leu Asp Thr Pro Asp Thr Pro Pro Arg Ser Gln		
	290	295	300
	Ala Gln Glu Ser Asn Tyr Glu Asn Leu Ser Gln Met Asn Pro Arg Ser		
305	310	315	320
	Pro Pro Ala Thr Met Cys Ser Pro		
25	325		
	<210> 2		
	<211> 342		
	<212> Белок		
	<213> Mus musculus		
30	<400> 2		
	Met Glu Gly Ser Leu Gln Leu Leu Ala Cys Leu Ala Cys Val Leu Gln		
1	5	10	15
	Met Gly Ser Leu Val Lys Thr Arg Arg Asp Ala Ser Gly Asp Leu Leu		
	20	25	30
35	Asn Thr Glu Ala His Ser Ala Pro Ala Gln Arg Trp Ser Met Gln Val		
	35	40	45
	Pro Ala Glu Val Asn Ala Glu Ala Gly Asp Ala Ala Val Leu Pro Cys		
	50	55	60
	Thr Phe Thr His Pro His Arg His Tyr Asp Gly Pro Leu Thr Ala Ile		
40	65	70	75
	Trp Arg Ser Gly Glu Pro Tyr Ala Gly Pro Gln Val Phe Arg Cys Thr		
	85	90	95
	Ala Ala Pro Gly Ser Glu Leu Cys Gln Thr Ala Leu Ser Leu His Gly		
	100	105	110
45	Arg Phe Arg Leu Leu Gly Asn Pro Arg Arg Asn Asp Leu Ser Leu Arg		
	115	120	125
	Val Glu Arg Leu Ala Leu Ala Asp Ser Gly Arg Tyr Phe Cys Arg Val		
	130	135	140

## RU 2759334 C2

Glu Phe Thr Gly Asp Ala His Asp Arg Tyr Glu Ser Arg His Gly Val  
 145 150 155 160  
 Arg Leu Arg Val Thr Ala Ala Ala Pro Arg Ile Val Asn Ile Ser Val  
 165 170 175  
 5 Leu Pro Gly Pro Ala His Ala Phe Arg Ala Leu Cys Thr Ala Glu Gly  
 180 185 190  
 Glu Pro Pro Pro Ala Leu Ala Trp Ser Gly Pro Ala Pro Gly Asn Ser  
 195 200 205  
 Ser Ala Ala Leu Gln Gly Gln Gly His Gly Tyr Gln Val Thr Ala Glu  
 10 210 215 220  
 Leu Pro Ala Leu Thr Arg Asp Gly Arg Tyr Thr Cys Thr Ala Ala Asn  
 225 230 235 240  
 Ser Leu Gly Arg Ala Glu Ala Ser Val Tyr Leu Phe Arg Phe His Gly  
 245 250 255  
 15 Ala Pro Gly Thr Ser Thr Leu Ala Leu Leu Leu Gly Ala Leu Gly Leu  
 260 265 270  
 Lys Ala Leu Leu Leu Leu Gly Ile Leu Gly Ala Arg Ala Thr Arg Arg  
 275 280 285  
 Arg Leu Asp His Leu Val Pro Gln Asp Thr Pro Pro Arg Ser Gln Ala  
 20 290 295 300  
 Gln Glu Ser Asn Tyr Glu Asn Leu Ser Gln Met Ser Pro Pro Gly His  
 305 310 315 320  
 Gln Leu Pro Arg Val Cys Cys Glu Glu Leu Leu Ser His His His Leu  
 325 330 335  
 25 Val Ile His His Glu Lys  
 340  
 <210> 3  
 <211> 112  
 <212> Белок  
 30 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 3  
 Asp Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly  
 35 1 5 10 15  
 Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser  
 20 25 30  
 Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
 35 40 45  
 40 Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro  
 50 55 60  
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
 65 70 75 80  
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly  
 45 85 90 95  
 Ser His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
 100 105 110  
 <210> 4

<211> 112  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 5 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 4  
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ala Ala Pro Ser Val Pro Val Thr Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Ser Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser  
 10 20 25 30  
 Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Phe Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser  
 35 40 45  
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Met Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro  
 50 55 60  
 15 Asp Arg Phe Gly Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ala Phe Thr Leu Arg Ile  
 65 70 75 80  
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Phe Tyr Tyr Cys Met Gln His  
 85 90 95  
 Leu Glu Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys  
 20 100 105 110  
 <210> 5  
 <211> 107  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 25 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 5  
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ala Ser Ser Ser Leu Ser Val Ser Leu Gly  
 1 5 10 15  
 30 Gly Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Asp His Ile Asn Asn Trp  
 20 25 30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Asn Ala Pro Arg Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Ser Gly Ala Thr Ser Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 35 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Lys Asp Tyr Thr Leu Ser Ile Thr Ser Leu Gln Thr  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Trp Ser Ser Pro Leu  
 85 90 95  
 40 Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys  
 100 105  
 <210> 6  
 <211> 106  
 <212> Белок  
 45 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 6

Gln Ile Ile Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Thr Ser Phe Met  
 20 25 30  
 5 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Phe  
 35 40 45  
 Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ile Gly Ser  
 50 55 60  
 Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Thr Met Glu Ala Glu  
 10 65 70 75 80  
 Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Arg Ser Ala Tyr Pro Trp Thr  
 85 90 95  
 Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
 100 105  
 15 <210> 7  
 <211> 108  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 20 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 7  
 Asp Ile Lys Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Met Tyr Ala Ser Leu Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Ser Tyr  
 25 20 25 30  
 Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Thr Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Arg Ala Asn Arg Leu Val Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 30 Ser Gly Ser Gly Gln Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Tyr  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Met Gly Ile Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Glu Phe Pro Tyr  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg  
 35 100 105  
 <210> 8  
 <211> 113  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 40 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 8  
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ala Ala Pro Ser Val Pro Val Thr Pro Gly  
 1 5 10 15  
 45 Glu Ser Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser  
 20 25 30  
 Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Phe Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser  
 35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Met Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro  
       50                     55                     60  
 Asp Arg Phe Gly Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ala Phe Thr Leu Arg Ile  
       65                     70                     75                     80  
 5 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln His  
       85                     90                     95  
 Leu Glu Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
       100                    105                    110  
 Arg  
 10 <210> 9  
 <211> 112  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 15 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 9  
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ala Ala Pro Ser Val Pro Val Thr Pro Gly  
   1              5                     10                     15  
 Glu Ser Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser  
 20               20                     25                     30  
 Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Phe Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser  
       35                     40                     45  
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Met Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro  
       50                     55                     60  
 25 Asp Arg Phe Gly Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ala Phe Thr Leu Arg Ile  
       65                     70                     75                     80  
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln His  
       85                     90                     95  
 Leu Glu Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
 30               100                    105                    110  
 <210> 10  
 <211> 109  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 35 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 10  
 Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser Pro Gly Glu  
   1              5                     10                     15  
 40 Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Ser Gly Ala Val Thr Thr Gly  
       20                     25                     30  
 Asn Phe Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly  
       35                     40                     45  
 Leu Ile Gly Gly Thr Asn Asn Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe  
 45       50                     55                     60  
 Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala  
       65                     70                     75                     80  
 Gln Thr Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn

	85	90	95	
	His Trp Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu			
	100	105		
	<210> 11			
5	<211> 112			
	<212> Белок			
	<213> Искусственная последовательность			
	<220>			
	<223> Синтетическая конструкция			
10	<400> 11			
	Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Thr Leu Ser Val Thr Ile Gly			
	1	5	10	15
	Gln Ser Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser			
	20	25	30	
15	Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser			
	35	40	45	
	Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro			
	50	55	60	
	Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile			
20	65	70	75	80
	Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly			
	85	90	95	
	Thr His Phe Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys			
	100	105	110	
25	<210> 12			
	<211> 109			
	<212> Белок			
	<213> Искусственная последовательность			
	<220>			
30	<223> Синтетическая конструкция			
	<400> 12			
	Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser Pro Gly Glu			
	1	5	10	15
	Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser			
35	20	25	30	
	Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly			
	35	40	45	
	Leu Ile Gly Gly Thr Asn Asn Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe			
	50	55	60	
40	Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala			
	65	70	75	80
	Gln Thr Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn			
	85	90	95	
	His Trp Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu			
45	100	105		
	<210> 13			
	<211> 119			
	<212> Белок			

<213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 13

5 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Phe Val Lys Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr  
 20 25 30  
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 10 35 40 45  
 Ala Tyr Ile Ser Ser Gly Ser Ser Ile Ile Tyr Tyr Ala Asp Thr Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Phe  
 65 70 75 80  
 15 Leu Gln Met Thr Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Asp His Tyr His Gly Asn Gly Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110  
 Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser  
 20 115  
 <210> 14  
 <211> 116  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

25 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 14

Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15  
 30 Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Asp Tyr  
 20 25 30  
 Tyr Val Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45  
 Gly Lys Ile Gly Pro Gly Ser Val Ser Ile Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe  
 50 55 60  
 35 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80  
 Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys  
 85 90 95  
 40 Ala Ser Tyr Tyr Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
 100 105 110  
 Thr Val Ser Ala  
 115  
 <210> 15  
 45 <211> 123  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>

<223> Синтетическая конструкция  
<400> 15

Gln	Val	Gln	Leu	Lys	Glu	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val	Ala	Pro	Ser	Gln
1															15

5      Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Asn Tyr  
              20                          25                          30

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

10     Val Leu Ile Trp Ser Asp Gly Ser Thr Thr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys  
              50                          55                          60

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

15     Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Gly Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala  
              85                          90                          95

Arg	His	Pro	Tyr	Asp	Asp	Tyr	Ser	Gly	Tyr	Tyr	Tyr	Thr	Met	Asp	Tyr
															100
															105
															110

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

<210> 16

20     <211> 119

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

25     <400> 16

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Asp Tyr  
              20                          25                          30

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

30     Ala Tyr Ile Ser Ser Gly Ser Ser Ile Leu Tyr Tyr Ala Asp Ile Val  
              50                          55                          60

Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Thr	Leu	Phe
															65

35     65                          70                          75                          80

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

Ala	Arg	Asp	His	Tyr	His	Gly	Asn	Gly	Ser	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly
															100
															105

40     100                          105                          110

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser  
              115

<210> 17

<211> 120

<212> Белок

45     <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 17

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Tyr  
 20 25 30  
 5 Tyr Met His Trp Val Lys Glu Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45  
 Gly Arg Ile Asp Pro Glu Asp Gly Asp Ile Glu Tyr Asp Pro Lys Phe  
 50 55 60  
 Gln Gly Lys Ala Thr Met Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr  
 10 65 70 75 80  
 Leu Gln Phe Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Val Thr Asp Tyr Asp Tyr Asp Gly Gly Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln  
 100 105 110  
 15 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala  
 115 120  
 <210> 18  
 <211> 122  
 <212> Белок  
 20 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 18  
 Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala  
 25 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr  
 20 25 30  
 Trp Ile Thr Trp Val Ile Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45  
 30 Gly Asp Ile Tyr Cys Gly Ser Asp Thr Met His Tyr Asn Glu Lys Phe  
 50 55 60  
 Lys Asn Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80  
 Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys  
 35 85 90 95  
 Ala Arg Trp Trp Asp Tyr Gly Ser Ser Tyr Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp  
 100 105 110  
 Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser  
 115 120  
 40 <210> 19  
 <211> 116  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 45 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 19  
 Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala  
 1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Glu Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr  
                  20                     25                     30  
 Tyr Val Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile  
                  35                     40                     45  
 5      Gly Lys Ile Gly Pro Gly Ser Val Ser Ile Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe  
                  50                     55                     60  
 Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr  
                  65                     70                     75                     80  
 Met Gln Leu Ser Gly Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys  
 10     85                     90                     95  
 Ala Ser Tyr Tyr Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
                  100                     105                     110  
 Thr Val Ser Ala  
                  115  
 15    <210> 20  
 <211> 116  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 20    <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 20  
 Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala  
          1                     5                     10                     15  
 Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr  
 25     20                     25                     30  
 Tyr Val Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
                  35                     40                     45  
 Gly Lys Ile Gly Pro Glu Ser Val Ser Ile Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe  
                  50                     55                     60  
 30    Lys Ala Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr  
          65                     70                     75                     80  
 Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys  
                  85                     90                     95  
 Ala Ser Tyr Tyr Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
 35     100                     105                     110  
 Thr Val Ser Ala  
                  115  
 <210> 21  
 <211> 118  
 40    <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 21  
 45    Glu Val Gln Leu Leu Glu Thr Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
          1                     5                     10                     15  
 Ser Arg Gly Leu Ser Cys Glu Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Phe  
                  20                     25                     30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Gly Lys Thr Leu Glu Trp Ile  
                   35                  40                  45  
 Gly Asp Ile Asn Ser Asp Gly Ser Ala Ile Asn Tyr Ala Pro Ser Ile  
                   50                  55                  60  
 5 Lys Asp Arg Phe Thr Ile Phe Arg Asp Asn Asp Lys Asn Thr Leu Tyr  
                   65                  70                  75                  80  
 Leu Gln Met Asn Asn Val Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys  
                   85                  90                  95  
 Val Arg Tyr Asp Asp Tyr Gly Tyr Phe Asp Val Trp Gly Thr Gly Thr  
 10                  100                  105                  110  
 Thr Val Thr Val Ser Ser  
                   115  
 <210> 22  
 <211> 116  
 15 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 22  
 His Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala  
 20 1                  5                  10                  15  
 Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr  
                   20                  25                  30  
 Gly Leu Ile Trp Val Lys Gln Arg Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
 25 35                  40                  45  
 Gly Glu Ile Tyr Pro Arg Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe  
                   50                  55                  60  
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Ile Ser Ser Ser Thr Ala Tyr  
                   65                  70                  75                  80  
 30 Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys  
                   85                  90                  95  
 Ala Ser Ser Ser Pro His Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu  
                   100                  105                  110  
 Thr Val Ser Ser  
 35                  115  
 <210> 23  
 <211> 118  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 40 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 23  
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Thr Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 45 1                  5                  10                  15  
 Ser Arg Gly Leu Ser Cys Glu Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Phe  
                   20                  25                  30  
 Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Gly Lys Thr Leu Glu Trp Ile  
                   35                  40                  45

Gly Asp Ile Asn Ser Asp Gly Ser Ala Val Asn Tyr Ala Pro Ser Ile  
       50                     55                     60  
 Lys Asp Gln Phe Thr Ile Phe Arg Asp Asn Asp Lys Arg Thr Leu His  
       65                     70                     75                     80  
 5 Leu Gln Met Ile Asn Val Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys  
       85                     90                     95  
 Val Arg Tyr Asp Asp Tyr Gly Tyr Phe Asp Val Trp Gly Thr Gly Thr  
       100                    105                    110  
 Thr Val Thr Val Ser Ser  
 10                          115  
 <210> 24  
 <211> 16  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 15 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 24  
 Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu  
   1                      5                         10                     15  
 20 <210> 25  
 <211> 16  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 25 <223> Stnthetic construct  
 <400> 25  
 Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr  
   1                      5                         10                     15  
 <210> 26  
 30 <211> 11  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 35 <400> 26  
 Lys Ala Ser Asp His Ile Asn Asn Trp Leu Ala  
   1                      5                         10  
 <210> 27  
 <211> 10  
 40 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 27  
 45 Ser Ala Ser Ser Ser Thr Ser Phe Met His  
   1                      5                         10  
 <210> 28  
 <211> 11

<212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 5 <400> 28  
 Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Ser Tyr Leu Ser  
 1 5 10  
 <210> 29  
 <211> 14  
 10 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 29  
 15 Arg Ser Ser Ser Gly Ala Val Thr Thr Gly Asn Phe Ala Asn  
 1 5 10  
 <210> 30  
 <211> 16  
 <212> Белок  
 20 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 30  
 Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn  
 25 1 5 10 15  
 <210> 31  
 <211> 14  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 30 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 31  
 Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn  
 1 5 10  
 35 <210> 32  
 <211> 7  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 40 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 32  
 Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser  
 1 5  
 <210> 33  
 45 <211> 7  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>

<223> Синтетическая конструкция  
 <400> 33  
 Arg Met Ser Asn Leu Ala Ser  
 1 5  
 5 <210> 34  
 <211> 7  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 10 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 34  
 Gly Ala Thr Ser Leu Glu Thr  
 1 5  
 <210> 35  
 15 <211> 6  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 20 <400> 35  
 Asp Thr Ser Lys Leu Ala  
 1 5  
 <210> 36  
 <211> 7  
 25 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 36  
 30 Arg Ala Asn Arg Leu Val Asp  
 1 5  
 <210> 37  
 <211> 7  
 <212> Белок  
 35 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 37  
 Gly Thr Asn Asn Arg Ala Pro  
 40 1 5  
 <210> 38  
 <211> 7  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 45 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 38  
 Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser

1 5  
 <210> 39  
 <211> 9  
 <212> Белок  
 5 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 39  
 Phe Gln Gly Ser His Val Pro Trp Thr  
 10 1 5  
 <210> 40  
 <211> 9  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 15 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 40  
 Met Gln His Leu Glu Tyr Pro Tyr Thr  
 1 1 5  
 20 <210> 41  
 <211> 9  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 25 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 41  
 Gln Gln Tyr Trp Ser Ser Pro Leu Thr  
 1 1 5  
 <210> 42  
 30 <211> 9  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 35 <400> 42  
 His Gln Arg Ser Ala Tyr Pro Trp Thr  
 1 1 5  
 <210> 43  
 <211> 9  
 40 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 43  
 45 Leu Gln Tyr Asp Glu Phe Pro Tyr Thr  
 1 1 5  
 <210> 44  
 <211> 9

<212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 5 <400> 44  
 Ala Leu Trp Tyr Ser Asn His Trp Val  
 1 5  
 <210> 45  
 <211> 9  
 10 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 45  
 15 Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Phe Thr  
 1 5  
 <210> 46  
 <211> 10  
 <212> Белок  
 20 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 46  
 Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Gly Met His  
 25 1 5 10  
 <210> 47  
 <211> 10  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 30 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 47  
 Gly Tyr Ile Phe Thr Asp Tyr Tyr Val Asn  
 1 5 10  
 35 <210> 48  
 <211> 5  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 40 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 48  
 Asn Tyr Gly Val His  
 1 5  
 <210> 49  
 45 <211> 10  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>

<223> Синтетическая конструкция  
 <400> 49  
 Gly Phe Ser Phe Ser Asp Tyr Gly Met His  
 1 5 10  
 5 <210> 50  
 <211> 10  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 10 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 50  
 Gly Phe Asn Ile Lys Asp Tyr Tyr Met His  
 1 5 10  
 <210> 51  
 15 <211> 10  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 20 <400> 51  
 Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Thr  
 1 5 10  
 <210> 52  
 <211> 10  
 25 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 52  
 30 Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Val Asn  
 1 5 10  
 <210> 53  
 <211> 10  
 <212> Белок  
 35 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 53  
 Gly Phe Thr Phe Ser Gly Phe Trp Met Ser  
 40 1 5 10  
 <210> 54  
 <211> 10  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 45 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 54  
 Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Gly Leu Ile

1	5	10
<210> 55		
<211> 10		
<212> Белок		
5	<213> Искусственная последовательность	
<220>		
<223> Синтетическая конструкция		
<400> 55		
Gly Phe Thr Phe Ser Asp Phe Trp Met Ser		
10	1	5
<210> 56		
<211> 17		
<212> Белок		
<213> Искусственная последовательность		
15	<220>	
<223> Синтетическая конструкция		
<400> 56		
Tyr Ile Ser Ser Gly Ser Ser Ile Ile Tyr Tyr Ala Asp Thr Val Lys		
20	1	5
10		
15		
Gly		
<210> 57		
<211> 17		
<212> Белок		
<213> Искусственная последовательность		
25	<220>	
<223> Синтетическая конструкция		
<400> 57		
Lys Ile Gly Pro Gly Ser Val Ser Ile Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe Lys		
30	1	5
10		
15		
Gly		
<210> 58		
<211> 16		
<212> Белок		
<213> Искусственная последовательность		
35	<220>	
<223> Синтетическая конструкция		
<400> 58		
Leu Ile Trp Ser Asp Gly Ser Thr Thr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser		
40	1	5
10		
15		
<210> 59		
<211> 16		
<212> Белок		
<213> Искусственная последовательность		
<220>		
45	<223> Синтетическая конструкция	
<400> 59		
Tyr Ile Ser Ser Gly Ser Ser Ile Leu Tyr Tyr Ala Asp Ile Val Lys		
1	5	10
15		

<210> 60  
 <211> 17  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 5 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 60  
 Arg Ile Asp Pro Glu Asp Gly Asp Ile Glu Tyr Asp Pro Lys Phe Gln  
 1 5 10 15  
 10 Gly  
 <210> 61  
 <211> 17  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 15 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 61  
 Asp Ile Tyr Cys Gly Ser Asp Thr Met His Tyr Asn Glu Lys Phe Lys  
 1 5 10 15  
 20 Asn  
 <210> 62  
 <211> 17  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 25 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 62  
 Lys Ile Gly Pro Gly Ser Val Ser Ile Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe Lys  
 1 5 10 15  
 30 Asp  
 <210> 63  
 <211> 17  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 35 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 63  
 Lys Ile Gly Pro Glu Ser Val Ser Ile Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe Lys  
 1 5 10 15  
 40 Ala  
 <210> 64  
 <211> 17  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 45 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 64  
 Asp Ile Asn Ser Asp Gly Ser Ala Ile Asn Tyr Ala Pro Ser Ile Lys

1	5	10	15
Asp			
<210>	65		
<211>	17		
5	<212> Белок		
	<213> Искусственная последовательность		
	<220>		
	<223> Синтетическая конструкция		
	<400> 65		
10	Glu Ile Tyr Pro Arg Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe Lys		
	1 5 10 15		
Gly			
<210>	66		
<211>	17		
15	<212> Белок		
	<213> Искусственная последовательность		
	<220>		
	<223> Синтетическая конструкция		
	<400> 66		
20	Asp Ile Asn Ser Asp Gly Ser Ala Val Asn Tyr Ala Pro Ser Ile Lys		
	1 5 10 15		
Asp			
<210>	67		
<211>	10		
25	<212> Белок		
	<213> Искусственная последовательность		
	<220>		
	<223> Синтетическая конструкция		
	<400> 67		
30	Asp His Tyr His Gly Asn Gly Ser Asp Tyr		
	1 5 10		
<210>	68		
<211>	7		
	<212> Белок		
35	<213> Искусственная последовательность		
	<220>		
	<223> Синтетическая конструкция		
	<400> 68		
Tyr Tyr Tyr Gly Phe Ala Tyr			
40	1 5		
<210>	69		
<211>	15		
	<212> Белок		
	<213> Искусственная последовательность		
45	<220>		
	<223> Синтетическая конструкция		
	<400> 69		
His Pro Tyr Asp Asp Tyr Ser Gly Tyr Tyr Tyr Thr Met Asp Tyr			

1	5	10	15
<210> 70			
<211> 11			
<212> Белок			
5	<213> Искусственная последовательность		
<220>			
<223> Синтетическая конструкция			
<400> 70			
Asp Tyr Asp Tyr Asp Gly Gly Trp Phe Ala Tyr			
10	5	10	
<210> 71			
<211> 13			
<212> Белок			
<213> Искусственная последовательность			
15	<220>		
<223> Синтетическая конструкция			
<400> 71			
Trp Trp Asp Tyr Gly Ser Ser Tyr Asp Tyr Phe Asp Tyr			
20	5	10	
<210> 72			
<211> 9			
<212> Белок			
<213> Искусственная последовательность			
<220>			
25	<223> Синтетическая конструкция		
<400> 72			
Tyr Asp Asp Tyr Gly Tyr Phe Asp Val			
30	5		
<210> 73			
<211> 7			
<212> Белок			
<213> Искусственная последовательность			
<220>			
<223> Синтетическая конструкция			
35	<400> 73		
Ser Ser Pro His Gly Asp Tyr			
40	5		
<210> 74			
<211> 336			
<212> ДНК			
<213> Искусственная последовательность			
<220>			
<223> Синтетическая конструкция			
45	<400> 74		
gatgttttga tgacccaaac tccactctcc ctgcctgtca gtcttgaga tcaaggctcc 60			
atctcttgca gatctagtca gagcattgt a c a g t a a t g a a a c a c a c t a 120			
t a c c t g c a g a a a c c a g g c c a g t c t c c a a a g 180			
t c t g g g t c c a g a c a g g t t c a g t g g c a g t g a a g g a 240			

	agcagagtgg aggctgagga tctgggagtt tattactgct ttcaagggttc acatgttccg	300
	tggacgttcg gtggaggcac caagctggaa atcaag	336
	<210> 75	
	<211> 336	
5	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетическая конструкция	
	<400> 75	
10	gatattgtga tgactcaggc tgcaccctct gtacctgtca ctccctggaga gtcagtatcc	60
	atctcctgca ggtctagtaa gagtctcctg catagtaatg gcaaacactta cttatattgg	120
	ttcctgcaga ggccaggcca gtctcctcag ctccctgatat atcggatgtc caaccttgcc	180
	tcaggaggc cagacaggtt cgggtggcagt gggtcaggaa ctgccttcac actgagaatc	240
	agtagagtg aggctgagga tgtgggttt tattactgta tgcaacatct agaatatccg	300
15	tacacgttcg gaggggggac caggctggaa ataaaa	336
	<210> 76	
	<211> 321	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
20	<220>	
	<223> Синтетическая конструкция	
	<400> 76	
	gacatccaga tgacacagggc ttcatccctcc ttgtctgtat ctctaggagg cagagtcacc	60
	attacttgca aggcaagtga ccacattaat aattggttgg cctggtatca gcagaaacca	120
25	ggaaatgctc ctaggctctt aatatctggt gcaaccagtt tggaaactgg ggttccttca	180
	agattcagtg gcagtggatc tggaaaggat tacactctca gcattaccag tcttcagact	240
	gaagatgttgc tcttttataa ctgtcaacag tattggagtt ctcccttcac gttcggtgct	300
	gggaccaagc tggagctgaa a	321
	<210> 77	
30	<211> 335	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетическая конструкция	
35	<400> 77	
	gatgttttga tgacccaaac tccactctcc ctgcctgtca gtctggaga tcaaggctcc	60
	atctcttgca gatctagtca gagcattgtt catagtaatg gaaacaccta tttagaatgg	120
	tacctgcaga aaccaggcca gtctccaaag ctccctgatct acaaagtttc caaccgattt	180
	tctggggtcc cagacaggtt cagttggcagt ggttcaggaa cagatttcac actcaagatc	240
40	agcagagtgg aggctgagga tctgggagtt tattactgct ttcaagggttc acatgttccg	300
	tggacgttcg gtggaggcac caagctggaa atcaa	335
	<210> 78	
	<211> 318	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетическая конструкция	
	<400> 78	



<213>	Искусственная последовательность	
<220>		
<223>	Синтетическая конструкция	
<400>	82	
5	caggctgttg tgactcagga atctgcactc accacatcac ctggtaaac agtcacactc acttgcgct caagttctgg ggctgttaca actggtaact ttgccaactg ggtccaagaa aaaccagatc atttattcac tggtaataa ggtggtagca acaaccgagc tccaggttt cctgccagat tctcaggctc cctgatttga gacaaggctg ccctcaccat cacagggca cagactgagg atgaggcaat atatttctgt gctctatgtt acagcaacca ctgggtgttc	60 120 180 240 300
10	ggtggaggaa ccaaactgac tgtccta	327
<210>	83	
<211>	336	
<212>	ДНК	
<213>	Искусственная последовательность	
15	<220>	
<223>	Синтетическая конструкция	
<400>	83	
20	gatgttgtga tgacccagac tccactcact ttgtcggtt ccattggaca gtcagccccc atctcttgca agtcaagtca gagcctctta gatagtgtat gaaagacata tttgaattgg ttgttacaga ggccaggcca gtctccaaag cgcctaattct atctgggttc taaaactggac tctggagtcc ctgacaggtt cactggcagt ggtcaggga cagatttcac actgaaaaatc agcagagtgg aggctgagga tttggagtt tattattgtt ggcaaggtac acattttcca ttcacgttgc gtcggggac aaagttggaa ataaaa	60 120 180 240 300 336
<210>	84	
25	<211> 327	
<212>	ДНК	
<213>	Искусственная последовательность	
<220>		
<223>	Синтетическая конструкция	
30	<400> 84	
caggctgttg tgactcagga atctgcactc accacatcac ctggtaaac agtcacactc acttgcgct caagtactgg ggctgttaca acttagtaact atgccaactg ggtccaagaa aaaccagatc atttattcac tggtaataa ggtggtagca acaaccgagc tccaggttt cctgccagat tctcaggctc cctgatttga gacaaggctg ccctcaccat cacagggca cagactgagg atgaggcaat atatttctgt gctctatgtt acagcaacca ctgggtgttc	60 120 180 240 300	
35	ggtggaggaa ccaaactgac tgtccta	327
<210>	85	
<211>	357	
<212>	ДНК	
<213>	Искусственная последовательность	
<220>		
<223>	Синтетическая конструкция	
<400>	85	
40	gaggtgcagc tggggggagtc tggggggaggc ttgtgaagc ctgggggtc cctgaaactc tcctgtgcag cctctggatt cactttcgtt gactatggaa tgcactgggt tcgtcaggct ccagagaagg ggctggagtg ggtgcatac attagtagt gtcgtatcatctactat gcagacacag tgaaggccg attcaccatc tccagagaca atgccaagaa caccctgttc ctgcaaatga ccagtctgag gtctgaggac acggccatgt attactgtgc aagggaccac	60 120 180 240 300
45		

	taccatggta acgggtccga ctactgggc caaggcacca ctctcacagt ctcctca	357
	<210> 86	
	<211> 348	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетическая конструкция	
	<400> 86	
	caggtccagc tgaagcagtc tggagctgag ctggtaagc ctggggcttc agtgaagata	60
10	tcctgcaagg cttctggcta catcttcaact gactattatg taaactgggt gaagcagagg	120
	cctggacagg gccttgagtg gattggaaag attggtcctg gaagtgttag tatttactac	180
	aatgagaagt tcaaggggcaa ggccacactg actgcagaca aatcctccag cacagcctac	240
	atgcagctca gcagcctgac atctgaggac tctgcagtc atttctgtgc aagttattac	300
	tacgggtttgc ttactgggg ccaaggact ctggtaactg tctctgca	348
15	<210> 87	
	<211> 369	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
20	<223> Синтетическая конструкция	
	<400> 87	
	caggtgcagc tgaaggagtc aggacctggc ctggtggcgc cctcacagag cctgtccatc	60
	acatgcacccg tctcagggtt ctcattaagc aattatggtg tacactgggt tcgccagcct	120
	ccagggaaagg gtctggagtg gctggtaactg atatggagtg atggaagcac aacctataat	180
25	tcagctctca aatccagact gagcatcagc aaggacaact ccaagagcca agttttctta	240
	aaaatgaaca gtctccaaac tggtgacaca gccatgtact actgtgccag acatccctat	300
	gatgattatt ccggctatta ctatactatg gactactggg gtcaaggaac ctcagtcacc	360
	gtctcctca	369
	<210> 88	
30	<211> 357	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетическая конструкция	
35	<400> 88	
	gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttatgtgaagc ctggagggtc cctgaaactc	60
	tcctgtcag cctctggttt ctcttcagt gactatggaa tgcactgggt tcgtcaggct	120
	ccagagaagg ggctggagtg gggtgcatac attagtagtg gcagtagtat cctctactat	180
	gcagacatag tgaaggggccg attcaccatc tccagagaca atgccaagaa caccctgttc	240
40	ctgc当地atga ccagtctgag gtctgaggac acggccatgt attactgtgc aagggaccac	300
	taccatggta acgggtccga ctactgggc caaggcacca ctctcacagt ctcctca	357
	<210> 89	
	<211> 360	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетическая конструкция	
	<400> 89	

gaggttcagc tgcagcagtc tggggcagag cttgtgaggc caggggcctc agtcaagttg tcctgcacag cttctggctt caacattaaa gactactata tgcactgggt gaaagagagg cctgaacagg gcctggagtg gatttggagg attgtatcctg aggatggta tattgaat gaccggaaatg tccaggcCAA ggccactatg actgcagata catcctccaa cacagcctac 5 ctgcagttca gcagcctgac atctgaggac actgcctgtct attattgtgt cacggactat gattacgacg gaggctggtt tgcttactgg ggccaaggga ctctggtcac tgtctctgca <210> 90 <211> 366 <212> ДНК	60 120 180 240 300 360
10 <213> Искусственная последовательность <220> <223> Синтетическая конструкция <400> 90	
caggtccaaac tgcagcagcc tggggcttag cttgtgaagc ctggggcttc agtgaagatg 15 tcctgcagg cttctggcta caccccttacc agtacttgaa taacctgggt gatacagagg ccgggacaag gccttgagtg gattggagat atttattgtg gtatgtatac tatgcactac aatgagaatg tcaagaacaa ggccacactg actgttagaca catcctccag cacagcctac atgcagttca gcagcctgac atctgaggac tctgcgggtct attactgtgc aagatggtgg gactacggta gtagctacga ctactttgac tactggggcc aaggcaccac tctcacagtc 20 tcctca <210> 91 <211> 348 <212> ДНК <213> Искусственная последовательность	60 120 180 240 300 360 366
25 <220> <223> Синтетическая конструкция <400> 91	
caggtccagc tgaaggcagtc tggacctgaa ctgggtgaggc ctggggcttc agtgaagata tcctgcgagg cttctggcta caccccttact gactattatg taaactgggt gaagcagagg 30 cctggacggg gccttgagtg gattggaaag attggccttg gaagtgttag tatttactac aatgagaatg tcaaggacaa ggccacactg actgcagaca aatcctccag cacagcctac atgcagttca gcggcctgac atctgaggac tctgcagtct atttctgtgc aagttattac tacgggtttg ctactgggg ccaaggact ctggtcactg tctctgca <210> 92	60 120 180 240 300 348
35 <211> 348 <212> ДНК <213> Искусственная последовательность <220> <223> Синтетическая конструкция	
40 <400> 92	
caggtccagc tgaaggcagtc tggagctgag ctgggtgaaagc ctggggcttc agtgaagata tcctgcagg cttctggcta caccccttact gactattatg taaactgggt gaagcagagg cctggacagg gccttgagtg gattggaaag attggccttg aaagtgttag tatttattac 45 agtggaaatg tcaaggccaa ggccacactg actgcagaca aatcctccag cacagcctac atgcactca gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct atttctgtgc aagttattac tacgggtttg ctactgggg ccaaggact ctggtcactg tctctgca <210> 93 <211> 354	60 120 180 240 300 348

<212>	ДНК		
<213>	Искусственная последовательность		
<220>			
<223>	Синтетическая конструкция		
5 <400>	93		
	gaagtgcagc tggaggaggc ttgggtgcaac cgggggggtc acggggactc	60	
	tcttgtgaag gctcagggtt cacttttagt ggcttctgga tgagctgggt tcgacagaca	120	
	cctggaaaga ccctggagtg gattggagac attaattctg atggcagtgc aataaactac	180	
10	gcaccatcca taaaggatcg attcactatc ttcagagaca atgacaagaa caccctgtac	240	
	ctgcagatga acaatgtgcf atcggaggac acagccacgt atttctgtgt gagatatgtat	300	
	gattacgggt acttcgatgt ctggggcaca gggaccacgg tcaccgtctc ctca	354	
	<210> 94		
	<211> 348		
	<212> ДНК		
15	<213> Искусственная последовательность		
	<220>		
	<223> Синтетическая конструкция		
	<400> 94		
	cacgttcagc tgcagcagtc tggagctgag ttggcgaggc ctggggcttc agtgaagctg	60	
20	tcctgcagg cttctggcta caccttcaca agctatggtt taatctgggt gaagcagaga	120	
	actggacagg gccttgagt gattggagag atttaccta gaagtggtaa tacttactac	180	
	aatgagaagt tcaagggcaa gcccacactg actgcagaca tatcctccag cacagcgtac	240	
	atggagctcc gcagcctgac atctgaggac tctgcggctc atttctgtgc aagttccctct	300	
	cctcacgggg actactgggg ccaaggcacc actctcacag tctcctca	348	
25	<210> 95		
	<211> 354		
	<212> ДНК		
	<213> Искусственная последовательность		
	<220>		
30	<223> Синтетическая конструкция		
	<400> 95		
	gaagtgcagc tggaggaggc tttagtgcaac ctgggggggtc acggggactc	60	
	tcttgtgaag gctcagggtt cacttttagt gacttctgga tgagctgggt tcgacagaca	120	
	cctggaaaga ccctggagtg gattggagac attaattctg atggcagtgc agttaactac	180	
35	gcaccatcca taaaggatca attcactatc ttcagagaca atgacaagag gaccctgcac	240	
	ctgcagatga tcaatgttcg atcggaggac acagccacgt atttctgtgt gagatatgtat	300	
	gattacgggt acttcgatgt ctggggcaca gggaccacgg tcaccgtctc ctca	354	
	<210> 96		
	<211> 112		
40	<212> Белок		
	<213> Искусственная последовательность		
	<220>		
	<223> Синтетическая конструкция		
	<400> 96		
45	Asp Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly		
	1 5 10 15		
	Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser		
	20 25 30		

	Asn	Gly	Asn	Thr	Tyr	Leu	Glu	Trp	Tyr	Leu	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser
	35							40				45				
	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Lys	Val	Ser	Asn	Arg	Phe	Ser	Gly	Val	Pro
	50						55				60					
5	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Arg	Ile
	65						70			75				80		
	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Leu	Gly	Val	Tyr	Tyr	Cys	Phe	Gln	Gly
				85					90				95			
	Ser	His	Val	Pro	Leu	Thr	Phe	Gly	Ala	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Leu	Lys
10				100					105			110				
	<210>	97														
	<211>	112														
	<212>	Белок														
	<213>	Искусственная последовательность														
15	<220>															
	<223>	Синтетическая конструкция														
	<400>	97														
	Asp	Val	Val	Met	Thr	Gln	Thr	Pro	Leu	Thr	Leu	Ser	Ile	Pro	Ile	Gly
	1					5				10				15		
20	Gln	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Asp	Ser
						20			25				30			
	Asp	Gly	Lys	Thr	Tyr	Leu	Asn	Trp	Leu	Leu	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	Ser
				35					40			45				
	Pro	Lys	Arg	Leu	Ile	Tyr	Leu	Val	Ser	Glu	Leu	Asp	Ser	Gly	Val	Pro
25				50				55			60					
	Asp	Arg	Phe	Thr	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Lys	Ile
				65			70			75			80			
	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Leu	Gly	Val	Tyr	Tyr	Cys	Trp	Gln	Gly
					85				90			95				
30	Thr	His	Phe	Pro	Phe	Thr	Phe	Gly	Ser	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys
				100				105			110					
	<210>	98														
	<211>	112														
	<212>	Белок														
35	<213>	Искусственная последовательность														
	<220>															
	<223>	Синтетическая конструкция														
	<400>	98														
	Asp	Val	Val	Met	Thr	Gln	Thr	Pro	Leu	Thr	Leu	Ser	Val	Thr	Ile	Gly
40	1				5				10				15			
	Gln	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Asp	Ser
					20				25			30				
	Asp	Gly	Lys	Thr	Tyr	Leu	Asn	Trp	Leu	Leu	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	Ser
				35				40			45					
45	Pro	Lys	Arg	Leu	Ile	Tyr	Leu	Val	Ser	Lys	Leu	Asp	Ser	Gly	Val	Pro
				50			55			60						
	Asp	Arg	Phe	Thr	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Lys	Ile
				65			70			75			80			

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly  
                       85                     90                     95  
 Thr His Phe Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
                      100                    105                 110  
 5     <210> 99  
 <211> 112  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 10    <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 99  
 Asp Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly  
  1              5                     10                 15  
 Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser  
 15           20                    25                 30  
 Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
   35                40                 45  
 Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro  
   50                55                 60  
 20    Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
   65                70                 75                 80  
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly  
   85                90                 95  
 Ser His Val Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys  
 25           100                 105                 110  
 <210> 100  
 <211> 112  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 30    <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 100  
 Asp Val Leu Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly  
  1              5                     10                 15  
 35    Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Asn Ile Val His Ser  
   20                25                 30  
 Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Lys Lys Pro Gly Gln Ser  
   35                40                 45  
 Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro  
 40    50                55                 60  
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
   65                70                 75                 80  
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Met Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly  
   85                90                 95  
 45    Ser His Val Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys  
   100             105                 110  
 <210> 101  
 <211> 113

<212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 5 <400> 101  
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val Thr Ala Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Asn Gln Ser Leu Leu Asn Ser  
 20 25 30  
 10 Gly Asp Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln  
 35 40 45  
 Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val  
 50 55 60  
 Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr  
 15 65 70 75 80  
 Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Ile Tyr Tyr Cys Gln Asn  
 85 90 95  
 Asp Tyr Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu  
 100 105 110  
 20 Lys  
 <210> 102  
 <211> 112  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 25 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 102  
 Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Thr Leu Ser Val Thr Ile Gly  
 1 5 10 15  
 30 Gln Ser Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser  
 20 25 30  
 Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser  
 35 40 45  
 Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Glu Leu Asp Ser Gly Val Pro  
 50 55 60  
 35 Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
 65 70 75 80  
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly  
 85 90 95  
 40 Thr His Phe Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
 100 105 110  
 <210> 103  
 <211> 107  
 <212> Белок  
 45 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 103

Glu Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Met Ser Ala Ser Leu Gly  
 1 5 10 15  
 Asp Arg Ile Thr Ile Thr Cys Gln Ala Thr Gln Asp Ile Val Lys Asn  
 20 25 30  
 5 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Pro Pro Ser Phe Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Tyr Ala Thr Glu Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Ser Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Ser  
 10 65 70 75 80  
 Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Tyr Cys Leu Gln Phe Tyr Glu Phe Pro Tyr  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
 100 105  
 15 <210> 104  
 <211> 104  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 20 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 104  
 Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Leu Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Glu Ile Thr Leu Ile Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met  
 25 20 25 30  
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr  
 35 40 45  
 Arg Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser  
 50 55 60  
 30 Gly Ser Gly Thr Phe Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Val Glu Ala Glu  
 65 70 75 80  
 Asp Ala Ala Asp Tyr Tyr Cys His Gln Trp Ser Ser Trp Thr Phe Gly  
 85 90 95  
 Gly Gly Thr Gln Leu Glu Ile Lys  
 35 100  
 <210> 105  
 <211> 113  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 40 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 105  
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val Thr Ala Gly  
 1 5 10 15  
 45 Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser  
 20 25 30  
 Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln  
 35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val  
       50                     55                     60  
 Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr  
       65                     70                     75                     80  
 5 Ile Ser Asn Val Gln Pro Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn  
       85                     90                     95  
 Asp Tyr Ser Phe Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Glu Leu Glu Met  
       100                    105                    110  
 Lys  
 10 <210> 106  
 <211> 112  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 15 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 106  
 Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Thr Leu Ser Val Thr Ile Gly  
   1              5                     10                     15  
 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser  
 20               20                     25                     30  
 Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser  
       35                     40                     45  
 Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro  
       50                     55                     60  
 25 Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
       65                     70                     75                     80  
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Ile Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly  
       85                     90                     95  
 Thr His Phe Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
 30               100                    105                    110  
 <210> 107  
 <211> 112  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 35 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 107  
 Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Thr Leu Ser Val Thr Ile Gly  
   1              5                     10                     15  
 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser  
       20                     25                     30  
 Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser  
       35                     40                     45  
 Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro  
 45       50                     55                     60  
 Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
       65                     70                     75                     80  
 Ile Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Ile Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly

	85	90	95
	Thr His Phe Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Val Lys		
	100	105	110
	<210> 108		
5	<211> 115		
	<212> Белок		
	<213> Искусственная последовательность		
	<220>		
	<223> Synthetic construct		
10	<400> 108		
	Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala		
	1	5	10
			15
	Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Asp		
	20	25	30
15	Tyr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile		
	35	40	45
	Gly Cys Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Glu Tyr Ala Ser Lys Phe		
	50	55	60
	Gln Asp Lys Ala Thr Ile Thr Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr		
20	65	70	75
	Leu Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
	85	90	95
	Thr Thr Tyr Val Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr		
	100	105	110
25	Val Ser Thr		
	115		
	<210> 109		
	<211> 115		
	<212> Белок		
30	<213> Искусственная последовательность		
	<220>		
	<223> Синтетическая конструкция		
	<400> 109		
	Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala		
35	1	5	10
			15
	Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ile Ser Tyr		
	20	25	30
	Gly Ile Thr Trp Val Lys Gln Arg Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile		
	35	40	45
40	Gly Glu Ile His Pro Arg Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu Asn Phe		
	50	55	60
	Lys Asp Arg Ala Ser Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr		
	65	70	75
	Met Glu Val Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys		
45	85	90	95
	Ala Arg Gly Gly Pro Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr		
	100	105	110
	Val Ser Ser		

115

<210> 110  
<211> 115  
<212> Белок  
5 <213> Искусственная последовательность  
<220>  
<223> Синтетическая конструкция  
<400> 110

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

25 <210> 111  
<211> 115  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность  
<220>  
30 <223> Синтетическая конструкция  
<400> 111

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala  
1 5 10 15  
Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Asp  
35 20 25 30  
Tyr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
35 35 40 45  
Gly Cys Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Ile Glu Tyr Ala Ser Arg Phe  
50 50 55 60  
40 Gln Gly Lys Ala Thr Met Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr  
65 65 70 75 80  
Leu Gln Leu Thr Ser Leu Thr Ser Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 85 90 95  
Thr Thr Tyr Val Gly Phe Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr  
45 100 105 110  
Val Ser Ala  
115  
<210> 112

<211> 115  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 5 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 112  
 Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Asp  
 10 20 25 30  
 Tyr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45  
 Gly Cys Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Glu Tyr Ala Ser Lys Phe  
 50 55 60  
 15 Gln Gly Lys Ala Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Val Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Thr Thr Tyr Val Gly Phe Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr  
 20 100 105 110  
 Val Ser Ala  
 115  
 <210> 113  
 <211> 114  
 25 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 113  
 30 Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Phe  
 20 25 30  
 Tyr Ile Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 35 40 45  
 Ala Arg Ile Tyr Pro Gly Ser Asp Glu Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe  
 50 55 60  
 Lys Asp Lys Val Thr Leu Thr Ala Glu Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80  
 40 Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys  
 85 90 95  
 Ala Leu Trp Phe Phe Asp Val Trp Gly Thr Gly Thr Thr Val Thr Val  
 100 105 110  
 Ser Ser  
 45 <210> 114  
 <211> 115  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетическая конструкция  
<400> 114

	Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Leu	Ala	Arg	Pro	Gly	Ala
5	1				5				10				15			
	Ser	Val	Lys	Leu	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp
			20					25				30				
	Gly	Ile	Thr	Trp	Val	Lys	Gln	Arg	Thr	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile
		35					40				45					
10	Gly	Gln	Ile	His	Pro	Arg	Ser	Gly	Asn	Thr	Tyr	Tyr	Asn	Gly	Lys	Phe
		50				55				60						
	Lys	Gly	Lys	Ala	Thr	Leu	Thr	Ala	Asp	Arg	Ser	Ser	Ser	Thr	Thr	Tyr
	65				70				75				80			
	Met	Glu	Leu	Arg	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Ser	Ala	Val	Tyr	Phe	Cys
15					85				90				95			
	Ala	Lys	Thr	Gly	Thr	Gly	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Leu	Thr
			100				105				110					
	Val	Ser	Ser													
			115													
20	<210>	115														
	<211>	115														
	<212>	Белок														
	<213>	Искусственная последовательность														
	<220>															
25	<223>	Синтетическая конструкция														
	<400>	115														
	Glu	Val	Gln	Leu	Gln	Gln	Ser	Gly	Pro	Glu	Leu	Val	Lys	Pro	Gly	Ala
	1				5				10				15			
	Ser	Val	Lys	Met	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Asp	Tyr
30				20				25				30				
	Asn	Met	His	Trp	Val	Lys	Gln	Ser	His	Gly	Lys	Ser	Leu	Glu	Trp	Ile
		35				40			45							
	Gly	Tyr	Ile	Asn	Pro	Asn	Asn	Gly	Gly	Thr	Ser	Tyr	Asn	Gln	Lys	Phe
		50				55			60							
35	Lys	Asp	Lys	Ala	Thr	Leu	Thr	Val	Asn	Lys	Ser	Ser	Ser	Thr	Ala	Phe
		65				70			75				80			
	Met	Glu	Leu	Arg	Ser	Leu	Ala	Ser	Glu	Asp	Ser	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
			85				90			95						
	Ala	Arg	Ser	Asp	Trp	Glu	Asp	Cys	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Leu	Thr
40				100			105			110						
	Val	Ser	Ser													
			115													
	<210>	116														
	<211>	121														
45	<212>	Белок														
	<213>	Искусственная последовательность														
	<220>															
	<223>	Синтетическая конструкция														

<400> 116  
Asp Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Phe Ser Gln  
1 5 10 15  
Ser Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly  
5 20 25 30  
Tyr Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Asn Lys Leu Glu Trp  
35 40 45  
Met Gly Tyr Ile Arg His Asp Gly Ser Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu  
50 55 60  
10 Lys Asn Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe  
65 70 75 80  
Leu Lys Leu Asn Ser Val Ile Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys  
85 90 95  
Val Arg Glu Ile Tyr Asp Gly Ser Ser Gly Tyr Phe Asp Val Trp Gly  
15 100 105 110  
Thr Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
115 120  
<210> 117  
<211> 114  
20 <212> Белок  
<213> Искусственная последовательность  
<220>  
<223> Синтетическая конструкция  
<400> 117  
25 Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala  
1 5 10 15  
Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr  
20 25 30  
Tyr Ile Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
30 35 40 45  
Ala Arg Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asn Thr Asp Tyr Asn Glu Lys Phe  
50 55 60  
Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ala Glu Lys Ser Ser Thr Thr Ala Tyr  
65 70 75 80  
35 Ile Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys  
85 90 95  
Cys Leu Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Thr Gly Thr Thr Val Thr Val  
100 105 110  
Ser Ser  
40 <210> 118  
<211> 115  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность  
<220>  
45 <223> Синтетическая конструкция  
<400> 118  
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala  
1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Asp  
                  20                     25                     30  
 Gly Ile Thr Trp Leu Lys Gln Arg Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
                  35                     40                     45  
 5      Gly Gln Ile His Pro Arg Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe  
                  50                     55                     60  
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr  
                  65                     70                     75                     80  
 Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys  
 10     85                     90                     95  
 Ala Lys Thr Gly Thr Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr  
                  100                     105                     110  
 Val Ser Ser  
                  115  
 15    <210> 119  
 <211> 115  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 20    <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 119  
 Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala  
          1                     5                     10                     15  
 Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr  
 25    20                     25                     30  
 Gly Ile Ser Trp Val Lys Gln Arg Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
                  35                     40                     45  
 Gly Gln Ile His Pro Arg Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu Asn Phe  
                  50                     55                     60  
 30    Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Ala Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr  
          65                     70                     75                     80  
 Leu Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys  
                  85                     90                     95  
 Ala Arg Glu Gly Gly Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr  
 35    100                     105                     110  
 Val Ser Ser  
                  115  
 <210> 120  
 <211> 336  
 40    <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 120  
 45    gatgttttga tgacccaaac tccactctcc ctgcctgtca gtcttgaga tcaaggctcc    60  
 atctcttgca gatctagtca gagtattgta catagtaatg gaaacaccta tttagaatgg    120  
 tacctgcaga agccaggcca gtctccaaag ctcctgatct acaaagttc caaccgattt    180  
 tctggggtcc cagacaggtt cagtggcagt ggatcaggga cagattcac actcaggatc    240

	agcagagtgg aggctgagga tctgggagtt tattactgct ttcaagggttc acatgttccg	300
	ctcacgttcg gtgctgggac caagctggag ctgaaa	336
<210>	121	
<211>	336	
5	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетическая конструкция	
	<400> 121	
10	gatgttgtga tgacccagac tccactcaact ttgtcgattc ccattggaca accagcctcc	60
	atctcttgta agtcaagtca gagcctctta gatagtgatg gaaagacata tttgaattgg	120
	ttgttacaga ggccaggcca gtctccaaag cgcctcatct atctgggtgc tgaactggac	180
	tctggagtcc ctgacaggtt cactggcagt ggatcagggc cagatttcac actgaaaatc	240
	agcagagtgg aggctgaaga tttgggagtt tattattttt ggcaaggtac acatttcca	300
15	ttcacgttcg gctcggggac aaagttggaa ataaaa	336
	<210> 122	
	<211> 336	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
20	<220>	
	<223> Синтетическая конструкция	
	<400> 122	
	gatgttgtga tgacccagac tccactcaact ttgtcggtt ccattggaca accagcctcc	60
	atctcttgca agtcaagtca gagcctctta gatagtgatg gaaagacata tttgaattgg	120
25	ttgttacaga ggccaggcca gtctccaaag cgcctaattct atctgggtgc taaactggac	180
	tctggagtcc ctgacaggtt cactggcagt ggatcagggc cagatttcac actgaaaatc	240
	agcagagtgg aggctgagga tttgggagtt tattattttt ggcaaggtac acatttcca	300
	ttcacgttcg gctcggggac aaagttggaa ataaaa	336
	<210> 123	
30	<211> 336	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетическая конструкция	
35	<400> 123	
	gacgttttga tgacccaaac tccactctcc ctgcctgtca gtctggaga tcaaggctcc	60
	atctcttgca gatctagtca gagtattgtt catagtaatg gaaacaccta tttagaatgg	120
	tacctacaga aaccaggcca gtctccaaag ctcctgtatc acaaagtttc caaccgattt	180
	tctgggtcc cagacaggtt cagtggcagt ggatcagggc cagatttcac actcaagatc	240
40	agcagagtgg aggctgagga tctgggagtt tattactgct ttcaagggttc acatgttccg	300
	ttcacgttcg gtgctgggac caagctggag ctgaaa	336
	<210> 124	
	<211> 336	
	<212> ДНК	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетическая конструкция	
	<400> 124	

gatgtttga tgacccaaag tccactctcc ctgcctgtca gtcttgaga tcaaggcctcc	60
atctcttgca gatctagtca gaacatagta catagtaatg gtaaacaccta tttagaatgg	120
tacctgaaga aaccaggcca gtctccaaag ctcctgatct acaaagtctc caaccgattt	180
5 tctggggtcc cagacaggtt cagttggcagt ggatcagggg cagatttcac actcaagatc	240
agcagagtgg aggctgagga tctggaaatg tattactgct ttcaagggttc acatgttccg	300
ctcacgttcg gagctggac caagctggag ctgaaa	336
<210> 125	
<211> 339	
<212> ДНК	
10 <213> Искусственная последовательность	
<220>	
<223> Синтетическая конструкция	
<400> 125	
gacatttgta tgacacagtc tccatcctcc ctgactgtga cagcaggaga gaaggtaact	60
15 atgagctgca agtccaatca gagtctgtta aacagtggag atcaaaagaa ctacttgacc	120
tggtaccaggc agaaaaccagg gcagcctcct aaactattga tctactgggc atccactagg	180
gaatctgggg tccctgatcg cttcacagggc agtggatctg gaacagattt cactctcacc	240
atcagcagtg tgcaggctga agacctggca atttattact gtcagaatga ttatagttat	300
ccactcacgt tcggtgctgg gaccaagctg gagctgaaa	339
20 <210> 126	
<211> 336	
<212> ДНК	
<213> Искусственная последовательность	
<220>	
25 <223> Синтетическая конструкция	
<400> 126	
gatgttgtga tgacccagac tccactcaact ttgtcggtta ctattggaca atcagcctcc	60
atctcttgca agtcaagtca gagcctccta gatagtgtat gaaacacata tttagattgg	120
ttgttacaga ggccaggcca gtctccaaag cgccataatct atttgggtgc tgaactggac	180
30 tctggagtcc ctgacaggtt cactggcagt ggatcagggg cagatttcac actgaaaatc	240
agcagagtgg aggctgagga ttgggagtt tattattgct ggcaagggtac acatttcca	300
ttcacgttcg gctcgaaaaac aaagttggaa ataaaa	336
<210> 127	
<211> 321	
35 <212> ДНК	
<213> Искусственная последовательность	
<220>	
<223> Синтетическая конструкция	
<400> 127	
40 gaaatccaga tgacccagtc tccatcctct atgtctgcat ctctggaga cagaataacc	60
atcaacttgcc aggcaactca agacattgtt aagaattttaa actggtatca gcagaaacca	120
gggaaacccc cttcattcct gatctattat gcaactgaac tggcagaagg ggtcccatca	180
aggttcagtg gcagtgggtc tgggtcagac tattctctga caatcagcaa cctggagttc	240
gaagatttg cagactatta ctgtctacag ttttatgaat ttccgtacac gttcggaggg	300
45 gggaccaagc tggaaataaa a	321
<210> 128	
<211> 312	
<212> ДНК	

<213>	Искусственная последовательность	
<220>		
<223>	Синтетическая конструкция	
<400>	128	
5	caaattgttc tcacccagtc tccagcaatc atgtctgcat ctcttagggga ggagatcacc ctaatttgca gtgcaggcgtc gagtgtaagt tacatgcact ggtaccagca gaagtcaggc acttctccca aactcttgcata ttatcgacaca tccaacctgg cttctggagt cccttctcgc ttcagtgccca gtgggtctgg gacctttat tctcttacaa tcagcagtgt ggaggctgaa gatgctgccg attattactg ccatcagtgg agtagttgga cgttcggtgg aggcacccag ctggaaatca aa	60 120 180 240 300 312
10	<210> 129	
	<211> 339	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
15	<220>	
	<223> Синтетическая конструкция	
	<400> 129	
20	gacatttgta tgacacagtc tccatcctcc ctgactgtga cagcaggaga gaaggtcact atgagctgca agtccagtca gagtctgtta aacagtggaa atcaaaagaa ttacttgacc tggtaccagc agaaaaccagg acagcctccct aaactgttga tctactggc atccactagg gaatctgggg tccctgatcg cttcacagggc agtggatctg gaacagattt cactctcacc attagcaatg tgcaagcctga agacctggca gtttattact gtcagaatga ttatagttt ccattcacgt tcggctcggg gacagagttg gaaatgaaa	60 120 180 240 300 339
25	<210> 130	
	<211> 336	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
30	<220>	
	<223> Синтетическая конструкция	
	<400> 130	
35	gatgttgta tgacccagac tccactcaact ttgtcggtta ccattggaca accagcctcc atctcttgca agtcaagtca gagcctctta gatagtgtatg gaaagacata ttgttgttgg ttgttacaga ggccaggcga gtctccaaag cgccataatct atctgggtgc taaaactggac tctggaggtcc ctgacaggtt cactggcagt ggatcaggga cagatttcac actgaaaatc agcagagtggtt aggctgagga ttgggaaatt tattattgtt ggcaaggtac acatttcca ttcacgttgc gctcggggac aaagttggaa ataaaaa	60 120 180 240 300 336
40	<210> 131	
	<211> 336	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
45	<220>	
	<223> Синтетическая конструкция	
	<400> 131	
	gatgttgta tgacccagac tccactcaact ttgtcggtta ccattggaca accagcctcc atctcttgca agtcaagtctt gagcctctta gatagtgtatg gaaagacata ttgttgttgg ttgttacaga ggccaggcga gtctccaaag cgccataatct atctgggtgc taaaactggac tctggaggtcc ctgacaggtt cactggcagt ggatcaggga cagatttcac actgaaaatc atcagagtggtt aggctgagga ttgggaaatt tattattgtt ggcaaggtac acatttcca	60 120 180 240 300

	ttcacgttcg gctcggggac aaagttggaa gtaaaa	336
	<210> 132	
	<211> 336	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетическая конструкция	
	<400> 132	
	gatgtttga tgacccaaac tccactctcc ctgcctgtca gtcttgaga tcaaggctcc	60
10	atctcttgca gatctagtca gagtattgt atagtaatg gaaacaccta tttagaatgg	120
	tacctacaga aaccaggcca gtctccaaag ctcctgatct acaaagttc caaccgattt	180
	tctgggtcc cagacaggtt cagttggcagt ggatcaggga cagatttcac actcaagatc	240
	agcagagttgg aggctgagga tctggagtt tattactgtct ttcaagggttc acatgttccg	300
	ctcacgttcg gtgctggac caagctggag ctgaaa	336
15	<210> 133	
	<211> 345	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
20	<223> Синтетическая конструкция	
	<400> 133	
	gaggttcagc tgcagcagtc tggggctgaa cttgtgaggc caggggcctc agtcaagttg	60
	tcctgcacag cttctggctt taacattaaa gacgactata tgcactgggt gaaacagagg	120
	cctgaacagg gcctggagtg gattggatgc attgatcctg agaatggta tactgaatat	180
25	gcctcgaaat tccaggacaa ggccactata acaacagaca catcctccaa cacagcctac	240
	ctgcagctca gcagcctgac atctgaggac actgccgtct attactgtac tacatacggtt	300
	ggatttgctt actggggcca agggactctg gtcactgtct ctaca	345
	<210> 134	
	<211> 345	
30	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетическая конструкция	
	<400> 134	
35	caggttcagc tgcagcagtc tggagctgag ctggcgaggc ctggggcttc agtgaagctg	60
	tcctgcagg cttctggcta cacccata agctatggta taacctgggt gaagcagaga	120
	actggacagg gccttgagtg gattggagag attcatccta gaagtggta tacttactac	180
	aatgagaatt tcaaggacag ggccctcactg actgcagacaa atccctccag cacagcgtac	240
	atggaggtcc gcagcctgac atctgaggac tctgcgggtct atttctgtgc aagggggtggg	300
40	ccgggggact actggggcca aggcaccact ctcacagtct cctca	345
	<210> 135	
	<211> 345	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
45	<220>	
	<223> Синтетическая конструкция	
	<400> 135	
	caggttcagc tgcagcagtc tggagctgag ctggcgaggc ctggggcttc agtgaagctg	60

	tcctgcaagg cttctggcta cacccata agctatggta taagctgggt gaagcagaga	120
	actggacagg gccttgagt gattggacag atttaccta gaagtacaa tacttactac	180
	aatgagaggt tcaaggcca ggccacactg actgcagaca aatcctccag cacagcgatc	240
	atggcgctcc gcagcctgac atctgaggac tctgcggtct atttctgtgc aagagagggg	300
5	ggtcccgaact ctggggcca aggcaccact ctcacagtct cctca	345
	<210> 136	
	<211> 345	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
10	<220>	
	<223> Синтетическая конструкция	
	<400> 136	
	gaggttcagc tgcagcagtc tggggctgag cttgtgaggc caggggcctc agtcaagttg	60
	tcctgcacag cttctggctt taacattaaa gacgactata tgcactgggt gaaacagagg	120
15	cctgaacagg gcctggagt gattggatgc attgatcctg agaatggta tattgaatat	180
	gcctcgaggt tccaggcca ggccactatg acagcagaca catcctccaa cacagcctac	240
	ctgcagctca ccagcctgac atctgaggac actgccgtct attactgtac tacatacg	300
	ggatttggtt actggggcca agggactctg gtcactgtct ctgca	345
	<210> 137	
20	<211> 345	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетическая конструкция	
25	<400> 137	
	gaggttcagc tgcagcagtc tggggctgag cttgtgaggc caggggcctc agtcaagttg	60
	tcctgcacag cttctggctt taacattaaa gacgactata tgcactgggt gaaacagagg	120
	cctgaacagg gcctggagt gattggatgt attgatcctg agaatggta tactgaatat	180
	gcctcgaagt tccaggcca ggccactata acagcagaca catcctccaa cacagctac	240
30	ctgcagctca gcagcctgac atctgaggac actgccgtct attactgtac tacatacg	300
	ggatttggtt actggggcca ggggactctg gtcactgtct ctgca	345
	<210> 138	
	<211> 342	
	<212> ДНК	
35	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетическая конструкция	
	<400> 138	
	caggtccaac tgaagcagtc tggggctgaa ctgggtgaggc ctggggcttc agtgaagctg	60
40	tcctgcaggg cttctggcta cacttcaact gacttctaca taaactgggt gaagcagagg	120
	cctggacagg gacttgagt gattgcaagg atttaccta gaagtatgt gacttactac	180
	aatgagaagt ttaaggacaa ggtcacactg actgcagaaa aatcctccag cactgcctac	240
	atgcagctca gcagcctgac atctgaggac tctgcgtct atttctgtgc cctctgggttc	300
	ttcgatgtct ggggcacagg gaccacggc accgtctcct ca	342
45	<210> 139	
	<211> 345	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	

<220>		
<223>	Синтетическая конструкция	
<400>	139	
5	caggttcagc tgcagcagtc tggagctgag ttggcgaggc ctggggcttc agtgaagctg tcctgcaagg cttctggcta cacccatcaca agcgatggta ttacctgggt gaagcagaga actggacagg gccttgagtg gattggacag attcatccta gaagtggtaa tacctactac aatggaaagt tcaaggggcaa ggcccacactg actgcagaca gatcctccag cacaacgtac atggaactcc gcagcctgac atctgaggac tctgcggctt atttctgtgc aaaaactggg acggggact actggggcca aggcaccact ctcacagtct cctca	60 120 180 240 300 345
10	<210> 140	
	<211> 345	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
<220>		
15	<223> Синтетическая конструкция	
<400>	140	
20	gaggtccagc tgcaaacagtc tggacctgag ctggtaagc ctggggcttc agtgaagatg tcctgcaagg cttctggata cacattcaact gactacaaca tgcactgggt gaagcagagc catggaaaga gccttgagtg gattggatata attaacccta acaatggtgg tactagctac aaccagaagt tcaaggacaa ggcccacattg actgtaaaca agtccctccag cacagccttc atggagctcc gcagcctggc atcggaggat tctgcagtttctt attactgtgc aaggcttgac tggaaagact gctggggcca aggcaccact ctcacagtct cctca	60 120 180 240 300 345
	<210> 141	
	<211> 363	
25	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
<220>		
	<223> Синтетическая конструкция	
<400>	141	
30	gatgtacagc ttcaaggagtc aggacctggc ctcgtaaat tttctcagtc tctgtctctc acctgtctg tcactggcta ctccatcacc agtggttatt actggaaactg gatccggcag tttccaggaa acaaaactgga atggatgggc tacataagac acgatggtag caataactac aaccctgtctc tcaaaaatcg aatctccatc actcgtgaca catctaagaa ccagttttc ctgaagttga attctgtat tactgaggac acagccacat attactgtgt aagagagatc 35	60 120 180 240 300 360 363
	<210> 142	
	<211> 342	
	<212> ДНК	
40	<213> Искусственная последовательность	
<220>		
	<223> Синтетическая конструкция	
<400>	142	
45	caggtccagc tgaaggagtc tggggctgaa ctggtgaggc ctggggcttc agtgaagctg tcctgcaagg cttctggcta cactttcaact gactactata taaactgggt gaagcagagg cctggacagg gacttgagtg gattgcaagg atttacccctg gaaatggtaa tactgactac aatgagaagt tcaaggacaa ggcccacactg actgcagaaaa aatcctccac cactgcctac atacaactca gcagtcgtac atctgaggac tctgcgttctt atttctgttg cctctgtac	60 120 180 240 300

	ttcgatgtct ggggcacagg aaccacggc accgtctcct ca	342
	<210> 143	
	<211> 345	
	<212> ДНК	
5	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетическая конструкция	
	<400> 143	
	caggttcagc tgcagcagtc tggagctgag ctggcgaggc ctggggcttc agtgaagctg	60
10	tcctgcaagg cttcgggcta caccttcaca agcgacggta taacctggct gaaacagaga	120
	actggacagg gccttgagtg gattggacag attcatccta gaagtggtaa tacctactac	180
	aatgagaagt tcaagggcaa ggcccacactg actgcagaca aatcctccag cacagcgtac	240
	atggaactcc gcagcctgac atctgaggac tctgcggctt atttctgtgc aaaaactggg	300
	acggggact actggggcca aggcaccact ctcacagtct cctca	345
15	<210> 144	
	<211> 345	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
20	<223> Синтетическая конструкция	
	<400> 144	
	caggttcagc tgcagcagtc tgggcctgag ctggcgaggc ctggggcctc agtgaagctg	60
	tcctgcaagg cttctggcta caccttcaca agctatggta taagctgggt gaagcaaaga	120
	actggacagg gccttgagtg gattggacag attcatccta gaagtggtaa tacttactac	180
25	aatgagaact tcaagggcaa ggcccacactg actgcagcaca aatcctccag cacagcgtac	240
	ctggagctcc gcagcctgac atctgaggac tctgcggctt atttctgtgc aagagagggg	300
	ggtcccgact actggggcca aggcaccact ctcacagtct cctca	345
	<210> 145	
	<211> 345	
30	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетическая конструкция	
	<400> 145	
35	gaggttcagc tgcagcagtc tgggcctgag cttgtgaggc caggggcctc agtcaagttg	60
	tcctgcacag cttctggctt taacattaaa gacgactata tgcactgggt gaaacagagg	120
	cctgaacagg gcctggagtg gattggatgc attgatcctg agaatggta tattgaatat	180
	gcctcgaggt tccagggcaa ggccactatg acagcagaca catcctccaa cacagcctac	240
	ctgcagctca ccagcctgac atctgcggac actgccgtct attactgtac tacatacggtt	300
40	ggatttggtt actggggcca agggactctg gtcactgtct ctgca	345
	<210> 146	
	<211> 16	
	<212> Белок	
	<213> Искусственная последовательность	
45	<220>	
	<223> Синтетическая конструкция	
	<400> 146	

Arg Ser Ser Gln Asn Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu

1	5	10	15
<210> 147			
<211> 17			
<212> Белок			
5	<213> Искусственная последовательность		
<220>			
<223> Синтетическая конструкция			
<400> 147			
Lys Ser Asn Gln Ser Leu Leu Asn Ser Gly Asp Gln Lys Asn Tyr Leu			
10	5	10	15
Thr			
<210> 148			
<211> 16			
<212> Белок			
15	<213> Искусственная последовательность		
<220>			
<223> Синтетическая конструкция			
<400> 148			
Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asn			
20	5	10	15
<210> 149			
<211> 11			
<212> Белок			
<213> Искусственная последовательность			
25	<220>		
<223> Синтетическая конструкция			
<400> 149			
Gln Ala Thr Gln Asp Ile Val Lys Asn Leu Asn			
1	5	10	
30	<210> 150		
<211> 10			
<212> Белок			
<213> Искусственная последовательность			
<220>			
35	<223> Синтетическая конструкция		
<400> 150			
Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His			
1	5	10	
<210> 151			
40	<211> 17		
<212> Белок			
<213> Искусственная последовательность			
<220>			
<223> Синтетическая конструкция			
45	<400> 151		
Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu			
1	5	10	15
Thr			

<210> 152  
 <211> 16  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 5 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 152  
 Lys Ser Ser Leu Ser Leu Leu Asp Ser Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn  
 1 5 10 15  
 10 <210> 153  
 <211> 7  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 15 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 153  
 Leu Val Ser Glu Leu Asp Ser  
 1 5  
 <210> 154  
 20 <211> 7  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 25 <400> 154  
 Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser  
 1 5  
 <210> 155  
 <211> 7  
 30 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 155  
 35 Tyr Ala Thr Glu Leu Ala Glu  
 1 5  
 <210> 156  
 <211> 7  
 <212> Белок  
 40 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 156  
 Arg Thr Ser Asn Leu Ala Ser  
 45 1 5  
 <210> 157  
 <211> 9  
 <212> Белок

<213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 157

5 Phe Gln Gly Ser His Val Pro Leu Thr  
 1 5  
 <210> 158  
 <211> 9  
 <212> Белок

10 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 158

Gln Asn Asp Tyr Ser Tyr Pro Leu Thr  
 15 1 5  
 <210> 159  
 <211> 9  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

20 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 159

Leu Gln Phe Tyr Glu Phe Pro Tyr Thr  
 1 5

25 <210> 160  
 <211> 7  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>

30 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 160

His Gln Trp Ser Ser Trp Thr  
 1 5  
 <210> 161

35 <211> 9  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция

40 <400> 161

Gln Asn Asp Tyr Ser Phe Pro Phe Thr  
 1 5  
 <210> 162  
 <211> 5

45 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 162  
 Asp Asp Tyr Met His  
 1 5  
 <210> 163  
<sup>5</sup> <211> 5  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
<sup>10</sup> <400> 163  
 Ser Tyr Gly Ile Thr  
 1 5  
 <210> 164  
 <211> 5  
<sup>15</sup> <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 164  
<sup>20</sup> Ser Tyr Gly Ile Ser  
 1 5  
 <210> 165  
 <211> 5  
 <212> Белок  
<sup>25</sup> <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 165  
 Asp Phe Tyr Ile Asn  
<sup>30</sup> 1 5  
 <210> 166  
 <211> 5  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
<sup>35</sup> <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 166  
 Ser Asp Gly Ile Thr  
 1 5  
<sup>40</sup> <210> 167  
 <211> 5  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
<sup>45</sup> <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 167  
 Asp Tyr Asn Met His  
 1 5

<210> 168  
 <211> 6  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 5 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 168  
 Ser Gly Tyr Tyr Trp Asn  
 1 5  
 10 <210> 169  
 <211> 5  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 15 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 169  
 Asp Tyr Tyr Ile Asn  
 1 5  
 <210> 170  
 20 <211> 17  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 25 <400> 170  
 Cys Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Glu Tyr Ala Ser Lys Phe Gln  
 1 5 10 15  
 Asp  
 <210> 171  
 30 <211> 17  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 35 <400> 171  
 Glu Ile His Pro Arg Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu Asn Phe Lys  
 1 5 10 15  
 Asp  
 <210> 172  
 40 <211> 18  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 45 <400> 172  
 Gln Ile Tyr Pro Arg Ser Asp Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu Arg Phe Lys  
 1 5 10 15  
 Gly Lys

<210> 173  
 <211> 17  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 5 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 173  
 Cys Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Ile Glu Tyr Ala Ser Arg Phe Gln  
 1 5 10 15  
 10 Gly  
 <210> 174  
 <211> 17  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 15 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 174  
 Cys Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Glu Tyr Ala Ser Lys Phe Gln  
 1 5 10 15  
 20 Gly  
 <210> 175  
 <211> 17  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 25 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 175  
 Arg Ile Tyr Pro Gly Ser Asp Glu Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe Lys  
 1 5 10 15  
 30 Asp  
 <210> 176  
 <211> 17  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 35 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 176  
 Gln Ile His Pro Arg Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Gly Lys Phe Lys  
 1 5 10 15  
 40 Gly  
 <210> 177  
 <211> 17  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 45 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 177  
 Tyr Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Lys

1	5	10	15
Asp			
<210> 178			
<211> 16			
5	<212> Белок		
<213> Искусственная последовательность			
<220>			
<223> Синтетическая конструкция			
<400> 178			
Tyr Ile Arg His Asp Gly Ser Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Asn			
10	5	10	15
<210> 179			
<211> 17			
<212> Белок			
15	<213> Искусственная последовательность		
<220>			
<223> Синтетическая конструкция			
<400> 179			
Arg Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asn Thr Asp Tyr Asn Glu Lys Phe Lys			
20	5	10	15
Asp			
<210> 180			
<211> 17			
<212> Белок			
25	<213> Искусственная последовательность		
<220>			
<223> Синтетическая конструкция			
<400> 180			
Gln Ile His Pro Arg Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe Lys			
30	5	10	15
Gly			
<210> 181			
<211> 17			
<212> Белок			
35	<213> Искусственная последовательность		
<220>			
<223> Синтетическая конструкция			
<400> 181			
Gln Ile His Pro Arg Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu Asn Phe Lys			
40	5	10	15
Gly			
<210> 182			
<211> 6			
<212> Белок			
45	<213> Искусственная последовательность		
<220>			
<223> Синтетическая конструкция			
<400> 182			

Tyr Val Gly Phe Ala Tyr  
 1 5  
 <210> 183  
 <211> 6  
 5 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 183

10 Gly Gly Pro Gly Asp Tyr  
 1 5  
 <210> 184  
 <211> 6  
 <212> Белок  
 15 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 184

Glu Gly Gly Pro Asp Tyr  
 20 1 5  
 <210> 185  
 <211> 6  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 25 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 185

Tyr Val Gly Phe Gly Tyr  
 1 5  
 30 <210> 186  
 <211> 5  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 35 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 186

Trp Phe Phe Asp Val  
 1 5  
 <210> 187  
 40 <211> 6  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 45 <400> 187

Thr Gly Thr Gly Asp Tyr  
 1 5  
 <210> 188

<211> 6  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 5 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 188  
 Ser Asp Trp Glu Asp Cys  
 1 5  
 <210> 189  
 10 <211> 15  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 15 <400> 189  
 Glu Ile Tyr Asp Gly Ser Ser Gly Tyr Phe Asp Val Trp Gly Thr  
 1 5 10 15  
 <210> 190  
 <211> 5  
 20 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 190  
 25 Trp Tyr Phe Asp Val  
 1 5  
 <210> 191  
 <211> 6  
 <212> Белок  
 30 <213> Homo sapiens  
 <400> 191  
 Ser Asn Tyr Glu Asn Leu  
 1 5  
 <210> 192  
 35 <211> 640  
 <212> Белок  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 192  
 Met Leu Asn Lys Met Thr Leu His Pro Gln Gln Ile Met Ile Gly Pro  
 40 1 5 10 15  
 Arg Phe Asn Arg Ala Leu Phe Asp Pro Leu Leu Val Val Leu Leu Ala  
 20 25 30  
 Leu Gln Leu Leu Val Val Ala Gly Leu Val Arg Ala Gln Thr Cys Pro  
 35 40 45  
 45 Ser Val Cys Ser Cys Ser Asn Gln Phe Ser Lys Val Ile Cys Val Arg  
 50 55 60  
 Lys Asn Leu Arg Glu Val Pro Asp Gly Ile Ser Thr Asn Thr Arg Leu  
 65 70 75 80

## RU 2759 334 C2

	Leu Asn Leu His Glu Asn Gln Ile Gln Ile Ile Lys Val Asn Ser Phe			
	85	90	95	
	Lys His Leu Arg His Leu Glu Ile Leu Gln Leu Ser Arg Asn His Ile			
	100	105	110	
5	Arg Thr Ile Glu Ile Gly Ala Phe Asn Gly Leu Ala Asn Leu Asn Thr			
	115	120	125	
	Leu Glu Leu Phe Asp Asn Arg Leu Thr Thr Ile Pro Asn Gly Ala Phe			
	130	135	140	
	Val Tyr Leu Ser Lys Leu Lys Glu Leu Trp Leu Arg Asn Asn Pro Ile			
10	145	150	155	160
	Glu Ser Ile Pro Ser Tyr Ala Phe Asn Arg Ile Pro Ser Leu Arg Arg			
	165	170	175	
	Leu Asp Leu Gly Glu Leu Lys Arg Leu Ser Tyr Ile Ser Glu Gly Ala			
	180	185	190	
15	Phe Glu Gly Leu Ser Asn Leu Arg Tyr Leu Asn Leu Ala Met Cys Asn			
	195	200	205	
	Leu Arg Glu Ile Pro Asn Leu Thr Pro Leu Ile Lys Leu Asp Glu Leu			
	210	215	220	
	Asp Leu Ser Gly Asn His Leu Ser Ala Ile Arg Pro Gly Ser Phe Gln			
20	225	230	235	240
	Gly Leu Met His Leu Gln Lys Leu Trp Met Ile Gln Ser Gln Ile Gln			
	245	250	255	
	Val Ile Glu Arg Asn Ala Phe Asp Asn Leu Gln Ser Leu Val Glu Ile			
	260	265	270	
25	Asn Leu Ala His Asn Asn Leu Thr Leu Leu Pro His Asp Leu Phe Thr			
	275	280	285	
	Pro Leu His His Leu Glu Arg Ile His Leu His His Asn Pro Trp Asn			
	290	295	300	
	Cys Asn Cys Asp Ile Leu Trp Leu Ser Trp Trp Ile Lys Asp Met Ala			
30	305	310	315	320
	Pro Ser Asn Thr Ala Cys Cys Ala Arg Cys Asn Thr Pro Pro Asn Leu			
	325	330	335	
	Lys Gly Arg Tyr Ile Gly Glu Leu Asp Gln Asn Tyr Phe Thr Cys Tyr			
	340	345	350	
35	Ala Pro Val Ile Val Glu Pro Pro Ala Asp Leu Asn Val Thr Glu Gly			
	355	360	365	
	Met Ala Ala Glu Leu Lys Cys Arg Ala Ser Thr Ser Leu Thr Ser Val			
	370	375	380	
	Ser Trp Ile Thr Pro Asn Gly Thr Val Met Thr His Gly Ala Tyr Lys			
40	385	390	395	400
	Val Arg Ile Ala Val Leu Ser Asp Gly Thr Leu Asn Phe Thr Asn Val			
	405	410	415	
	Thr Val Gln Asp Thr Gly Met Tyr Thr Cys Met Val Ser Asn Ser Val			
	420	425	430	
45	Gly Asn Thr Thr Ala Ser Ala Thr Leu Asn Val Thr Ala Ala Thr Thr			
	435	440	445	
	Thr Pro Phe Ser Tyr Phe Ser Thr Val Thr Val Glu Thr Met Glu Pro			
	450	455	460	

## RU 2759334 C2

Ser Gln Asp Glu Ala Arg Thr Thr Asp Asn Asn Val Gly Pro Thr Pro  
 465 470 475 480  
 Val Val Asp Trp Glu Thr Thr Asn Val Thr Thr Ser Leu Thr Pro Gln  
 485 490 495  
 5 Ser Thr Arg Ser Thr Glu Lys Thr Phe Thr Ile Pro Val Thr Asp Ile  
 500 505 510  
 Asn Ser Gly Ile Pro Gly Ile Asp Glu Val Met Lys Thr Thr Lys Ile  
 515 520 525  
 Ile Ile Gly Cys Phe Val Ala Ile Thr Leu Met Ala Ala Val Met Leu  
 10 530 535 540  
 Val Ile Phe Tyr Lys Met Arg Lys Gln His His Arg Gln Asn His His  
 545 550 555 560  
 Ala Pro Thr Arg Thr Val Glu Ile Ile Asn Val Asp Asp Glu Ile Thr  
 565 570 575  
 15 Gly Asp Thr Pro Met Glu Ser His Leu Pro Met Pro Ala Ile Glu His  
 580 585 590  
 Glu His Leu Asn His Tyr Asn Ser Tyr Lys Ser Pro Phe Asn His Thr  
 595 600 605  
 Thr Thr Val Asn Thr Ile Asn Ser Ile His Ser Ser Val His Glu Pro  
 20 610 615 620  
 Leu Leu Ile Arg Met Asn Ser Lys Asp Asn Val Gln Glu Thr Gln Ile  
 625 630 635 640  
 <210> 193  
 <211> 486  
 25 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 193  
 30 Met Glu Trp Ser Trp Val Phe Leu Phe Phe Leu Ser Val Thr Thr Gly  
 1 5 10 15  
 Val His Ser Phe Val Arg Thr Lys Ile Asp Thr Thr Glu Asn Leu Leu  
 20 25 30  
 Asn Thr Glu Val His Ser Ser Pro Ala Gln Arg Trp Ser Met Gln Val  
 35 35 40 45  
 Pro Pro Glu Val Ser Ala Glu Ala Gly Asp Ala Ala Val Leu Pro Cys  
 50 55 60  
 Thr Phe Thr His Pro His Arg His Tyr Asp Gly Pro Leu Thr Ala Ile  
 65 70 75 80  
 40 Trp Arg Ala Gly Glu Pro Tyr Ala Gly Pro Gln Val Phe Arg Cys Ala  
 85 90 95  
 Ala Ala Arg Gly Ser Glu Leu Cys Gln Thr Ala Leu Ser Leu His Gly  
 100 105 110  
 Arg Phe Arg Leu Leu Gly Asn Pro Arg Arg Asn Asp Leu Ser Leu Arg  
 45 115 120 125  
 Val Glu Arg Leu Ala Leu Ala Asp Asp Arg Arg Tyr Phe Cys Arg Val  
 130 135 140  
 Glu Phe Ala Gly Asp Val His Asp Arg Tyr Glu Ser Arg His Gly Val

## RU 2759334 C2

	145	150	155	160
	Arg Leu His Val Thr Ala Ala Pro Arg Ile Val Asn Ile Ser Val Leu			
	165	170	175	
	Pro Ser Pro Ala His Ala Phe Arg Ala Leu Cys Thr Ala Glu Gly Glu			
5	180	185	190	
	Pro Pro Pro Ala Leu Ala Trp Ser Gly Pro Ala Leu Gly Asn Ser Leu			
	195	200	205	
	Ala Ala Val Arg Ser Pro Arg Glu Gly His Gly His Leu Val Thr Ala			
	210	215	220	
10	Glu Leu Pro Ala Leu Thr His Asp Gly Arg Tyr Thr Cys Thr Ala Ala			
	225	230	235	240
	Asn Ser Leu Gly Arg Ser Glu Ala Ser Val Tyr Leu Phe Arg Phe His			
	245	250	255	
	Gly Ala Ser Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro			
15	260	265	270	
	Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys			
	275	280	285	
	Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val			
	290	295	300	
20	Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp			
	305	310	315	320
	Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr			
	325	330	335	
	Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp			
25	340	345	350	
	Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu			
	355	360	365	
	Pro Ala Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg			
	370	375	380	
30	Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys			
	385	390	395	400
	Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp			
	405	410	415	
	Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys			
35	420	425	430	
	Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser			
	435	440	445	
	Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser			
	450	455	460	
40	Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser			
	465	470	475	480
	Leu Ser Leu Ser Pro Gly			
	485			
	<210> 194			
45	<211> 467			
	<212> Белок			
	<213> Искусственная последовательность			
	<220>			

&lt;223&gt; Синтетическая конструкция

&lt;400&gt; 194

	Phe Val Arg Thr Lys Ile Asp Thr Thr Glu Asn Leu Leu Asn Thr Glu	
1	5	10
5	15	
	Val His Ser Ser Pro Ala Gln Arg Trp Ser Met Gln Val Pro Pro Glu	
	20	25
	30	
	Val Ser Ala Ala Gly Asp Ala Ala Val Leu Pro Cys Thr Phe Thr	
	35	40
	45	
	His Pro His Arg His Tyr Asp Gly Pro Leu Thr Ala Ile Trp Arg Ala	
10	50	55
	60	
	Gly Glu Pro Tyr Ala Gly Pro Gln Val Phe Arg Cys Ala Ala Ala Arg	
	65	70
	75	80
	Gly Ser Glu Leu Cys Gln Thr Ala Leu Ser Leu His Gly Arg Phe Arg	
	85	90
	95	
15	Leu Leu Gly Asn Pro Arg Arg Asn Asp Leu Ser Leu Arg Val Glu Arg	
	100	105
	110	
	Leu Ala Leu Ala Asp Asp Arg Arg Tyr Phe Cys Arg Val Glu Phe Ala	
	115	120
	125	
	Gly Asp Val His Asp Arg Tyr Glu Ser Arg His Gly Val Arg Leu His	
20	130	135
	140	
	Val Thr Ala Ala Pro Arg Ile Val Asn Ile Ser Val Leu Pro Ser Pro	
	145	150
	155	160
	Ala His Ala Phe Arg Ala Leu Cys Thr Ala Glu Gly Glu Pro Pro Pro	
	165	170
	175	
25	Ala Leu Ala Trp Ser Gly Pro Ala Leu Gly Asn Ser Leu Ala Ala Val	
	180	185
	190	
	Arg Ser Pro Arg Glu Gly His Gly His Leu Val Thr Ala Glu Leu Pro	
	195	200
	205	
	Ala Leu Thr His Asp Gly Arg Tyr Thr Cys Thr Ala Ala Asn Ser Leu	
30	210	215
	220	
	Gly Arg Ser Glu Ala Ser Val Tyr Leu Phe Arg Phe His Gly Ala Ser	
	225	230
	235	240
	Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu	
	245	250
	255	
35	Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu	
	260	265
	270	
	Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser	
	275	280
	285	
	His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu	
40	290	295
	300	
	Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr	
	305	310
	315	320
	Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn	
	325	330
	335	
45	Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Ser	
	340	345
	350	
	Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln	
	355	360
	365	

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val  
                  370                     375                     380  
 Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val  
                  385                     390                     395                     400  
 5 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Thr Thr Pro  
                  405                     410                     415  
 Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr  
                  420                     425                     430  
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val  
 10           435                     440                     445  
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu  
                  450                     455                     460  
 Ser Pro Gly  
         465  
 15 <210> 195  
 <211> 107  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 20 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 195  
 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 Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Thr Tyr  
 25           20                     25                     30  
 Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Thr Leu Ile  
              35                     40                     45  
 Tyr Arg Ala Asn Arg Leu Val Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
              50                     55                     60  
 30 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
     65             70                     75                     80  
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Glu Phe Pro Tyr  
              85                     90                     95  
 Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 35           100                     105  
 <210> 196  
 <211> 11  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 40 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 196  
 Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Thr Tyr Leu Ser  
     1             5                     10  
 45 <210> 197  
 <211> 107  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетическая конструкция  
<400> 197

	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly	
5	1 5 10 15	
	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Val Tyr	
	20 25 30	
	Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Thr Leu Ile	
	35 40 45	
10	Tyr Arg Ala Asn Arg Leu Val Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly	
	50 55 60	
	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro	
15	65 70 75 80	
	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Glu Phe Pro Tyr	
	85 90 95	
	Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys	
	100 105	
	<210> 198	
	<211> 11	
20	<212> Белок	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетическая конструкция	
	<400> 198	
25	Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Val Tyr Leu Ser	
	1 5 10	
	<210> 199	
	<211> 107	
	<212> Белок	
30	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Синтетическая конструкция	
	<400> 199	
	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly	
35	1 5 10 15	
	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Gln Ser Tyr	
	20 25 30	
	Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Thr Leu Ile	
	35 40 45	
40	Tyr Arg Ala Asn Arg Leu Val Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly	
	50 55 60	
	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro	
45	65 70 75 80	
	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Glu Phe Pro Tyr	
	85 90 95	
	Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys	
	100 105	
	<210> 200	

<211> 11  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 5 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 200  
 Lys Ala Ser Gln Asp Ile Gln Ser Tyr Leu Ser  
 1 5 10  
 <210> 201  
 10 <211> 107  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 15 <400> 201  
 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 Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Val Tyr  
 20 25 30  
 20 Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Thr Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Arg Ala Asn Arg Leu Thr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 25 65 70 75 80  
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Glu Phe Pro Tyr  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105  
 30 <210> 202  
 <211> 7  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 35 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 202  
 Arg Ala Asn Arg Leu Thr Ser  
 1 5  
 <210> 203  
 40 <211> 122  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 45 <400> 203  
 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 Ser Tyr

	20	25	30
5	Trp Ile Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met		
	35	40	45
	Gly Asp Ile Tyr Ser Gly Ser Asp Thr Met His Tyr Ala Glu Lys Phe		
	50	55	60
	Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Ala Tyr		
	65	70	75
	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
	85	90	95
10	Ala Arg Trp Trp Asp Tyr Gly Ser Ser Tyr Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp		
	100	105	110
	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
	115	120	
	<210> 204		
15	<211> 5		
	<212> Белок		
	<213> Искусственная последовательность		
	<220>		
	<223> Синтетическая конструкция		
20	<400> 204		
	Ser Tyr Trp Ile Thr		
	1	5	
	<210> 205		
	<211> 17		
25	<212> Белок		
	<213> Искусственная последовательность		
	<220>		
	<223> Синтетическая конструкция		
	<400> 205		
30	Asp Ile Tyr Ser Gly Ser Asp Thr Met His Tyr Ala Glu Lys Phe Gln		
	1	5	10
	Gly		15
	<210> 206		
	<211> 122		
35	<212> Белок		
	<213> Искусственная последовательность		
	<220>		
	<223> Синтетическая конструкция		
	<400> 206		
40	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 Ser Tyr		
	20	25	30
	Trp Ile Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met		
45	35	40	45
	Gly Asp Ile Tyr Ser Gly Ser Asp Thr Thr His Tyr Ala Glu Lys Phe		
	50	55	60
	Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Ala Tyr		

	65	70	75	80												
	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
		85				90								95		
	Ala	Arg	Trp	Trp	Asp	Tyr	Gly	Ser	Ser	Tyr	Asp	Tyr	Phe	Asp	Tyr	Trp
5																
		100				105								110		
	Gly	Gln	Gly	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser					
		115			120											
	<210>	207														
	<211>	122														
10	<212>	Белок														
	<213>	Искусственная последовательность														
	<220>															
	<223>	Синтетическая конструкция														
	<400>	207														
15	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	Ser	Tyr
		20								25					30	
	Trp	Ile	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
20																
		35							40					45		
	Gly	Asp	Ile	Tyr	Ser	Gly	Ser	Asp	Thr	Thr	His	Tyr	Ala	Glu	Lys	Phe
															50	
		50				55						60				
	Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Leu	Thr	Val	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr
															65	
						70					75				80	
25	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
												85			90	
															95	
	Ala	Arg	Trp	Trp	Asp	Tyr	Gly	Ser	Ser	Tyr	Asp	Tyr	Phe	Asp	Tyr	Trp
															100	
											105				110	
	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser						
30												115			120	
	<210>	208														
	<211>	5														
	<212>	Белок														
	<213>	Искусственная последовательность														
35	<220>															
	<223>	Синтетическая конструкция														
	<400>	208														
	Ser	Tyr	Trp	Ile	Ser											
	1				5											
40	<210>	209														
	<211>	107														
	<212>	Белок														
	<213>	Искусственная последовательность														
	<220>															
45	<223>	Синтетическая конструкция														
	<400>	209														
	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 Lys Ala Ser Asp His Ile Asn Asn Trp		
	20	25	30
	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile		
	35	40	45
5	Ser Gly Ala Thr Ser Leu Glu Thr Gly Val 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		
	65	70	75
	Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Trp Ser Ser Pro Leu		
10	85	90	95
	Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys		
	100	105	
	<210> 210		
	<211> 107		
15	<212> Белок		
	<213> Искусственная последовательность		
	<220>		
	<223> Синтетическая конструкция		
	<400> 210		
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 Lys Ala Ser Asp His Ile Asn Asn Trp		
	20	25	30
	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile		
25	35	40	45
	Ser Gly Ala Thr Ser Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
	50	55	60
	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro		
	65	70	75
	Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Trp Ser Ser Pro Leu		
30	85	90	95
	Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys		
	100	105	
	<210> 211		
	<211> 107		
35	<212> Белок		
	<213> Искусственная последовательность		
	<220>		
	<223> Синтетическая конструкция		
40	<400> 211		
	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 Lys Ala Ser Asp His Ile Asn Asn Trp		
	20	25	30
45	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile		
	35	40	45
	Ser Gly Ala Thr Ser Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
	50	55	60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Trp Ser Ser Pro Leu  
 85 90 95  
 5 Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105  
 <210> 212  
 <211> 123  
 <212> Белок  
 10 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 212  
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu  
 15 1 5 10 15  
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Asn Tyr  
 20 20 25 30  
 Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45  
 20 Val Leu Ile Trp Ser Asp Gly Ser Thr Thr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys  
 50 55 60  
 Ser Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu  
 65 65 70 75 80  
 Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
 25 85 90 95  
 Arg His Pro Tyr Asp Asp Tyr Ser Gly Tyr Tyr Tyr Thr Met Asp Tyr  
 100 105 110  
 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120  
 30 <210> 213  
 <211> 122  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 35 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 213  
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu  
 1 1 5 10 15  
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Asn Tyr  
 40 20 25 30  
 Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 35 40 45  
 Gly Leu Ile Trp Ser Asp Gly Ser Thr Thr Tyr Ala Ser Ala Leu Lys  
 50 50 55 60  
 45 Ser Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu  
 65 65 70 75 80  
 Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
 85 85 90 95

Arg His Pro Tyr Asp Asp Tyr Ser Gly Tyr Tyr Tyr Thr Met Asp Tyr  
                   100                  105                  110  
 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser  
                   115                  120

5      <210> 214  
 <211> 16  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>

10     <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 214  
 Leu Ile Trp Ser Asp Gly Ser Thr Thr Tyr Ala Ser Ala Leu Lys Ser  
  1              5                  10                  15  
 <210> 215

15     <211> 122  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>

20     <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 215  
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu  
  1              5                  10                  15  
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Asn Tyr  
   20              25                  30

25     Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
   35              40                  45  
 Gly Leu Ile Trp Ser Asp Gly Ser Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys  
   50              55                  60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu  
 30     65              70                  75                  80  
 Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
   85              90                  95

Arg His Pro Tyr Asp Asp Tyr Ser Gly Tyr Tyr Tyr Thr Met Asp Tyr  
   100              105                  110

35     Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser  
                   115                  120  
 <210> 216  
 <211> 122  
 <212> Белок

40     <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 216  
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu  
 45     1              5                  10                  15  
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Asn Tyr  
   20              25                  30  
 Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

	35	40	45
	Gly Leu Ile Trp Ser Glu Gly Ser Thr Thr Tyr Ala Ser Ala Leu Lys		
	50	55	60
	Ser Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu		
5	65	70	75
	Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala		80
	85	90	95
	Arg His Pro Tyr Asp Asp Tyr Ser Gly Tyr Tyr Tyr Thr Met Asp Tyr		
	100	105	110
10	Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser		
	115	120	
	<210> 217		
	<211> 16		
	<212> Белок		
15	<213> Искусственная последовательность		
	<220>		
	<223> Синтетическая конструкция		
	<400> 217		
	Leu Ile Trp Ser Glu Gly Ser Thr Thr Tyr Ala Ser Ala Leu Lys Ser		
20	1	5	10
			15
	<210> 218		
	<211> 16		
	<212> Белок		
	<213> Искусственная последовательность		
25	<220>		
	<223> Синтетическая конструкция		
	<400> 218		
	Leu Ile Trp Ser Asp Gly Ser Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser		
	1	5	10
			15
30	<210> 219		
	<211> 107		
	<212> Белок		
	<213> Искусственная последовательность		
	<220>		
35	<223> Синтетическая конструкция		
	<400> 219		
	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 Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Ser Tyr		
40	20	25	30
	Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Thr Leu Ile		
	35	40	45
	Tyr Arg Ala Asn Arg Leu Val Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
	50	55	60
45	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro		
	65	70	75
	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Glu Phe Pro Tyr		80
	85	90	95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
                   100                     105  
 <210> 220  
 <211> 40  
 5      <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 220  
 10     Asp Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly  
       1              5                 10                 15  
 Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser  
       20                 25                 30  
 Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp  
 15     35                 40  
 <210> 221  
 <211> 40  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 20     <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 221  
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ala Ala Pro Ser Val Pro Val Thr Pro Gly  
   1              5                 10                 15  
 25     Glu Ser Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser  
       20                 25                 30  
 Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp  
       35                 40  
 <210> 222  
 30     <211> 35  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 35     <400> 222  
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ala Ser Ser Ser Leu Ser Val Ser Leu Gly  
   1              5                 10                 15  
 Gly Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Asp His Ile Asn Asn Trp  
       20                 25                 30  
 40     Leu Ala Trp  
       35  
 <210> 223  
 <211> 34  
 <212> Белок  
 45     <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 223

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

*5* His Trp  
 <210> 224  
 <211> 35  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

*10* <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 224

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

*15* Glu Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Ser Tyr  
 20 25 30

Leu Ser Trp  
 35  
 <210> 225  
*20* <211> 37  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция

*25* <400> 225

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

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

*30* Asn Phe Ala Asn Trp  
 35  
 <210> 226  
 <211> 40  
 <212> Белок  
*35* <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 226

Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Thr Leu Ser Val Thr Ile Gly  
*40* 1 5 10 15

Gln Ser Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser  
 20 25 30

Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp  
 35 40

*45* <210> 227  
 <211> 37  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 227  
 Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser Pro Gly Glu  
 5 1 5 10 15  
 Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser  
 20 25 30  
 Asn Tyr Ala Asn Trp  
 35  
 10 <210> 228  
 <211> 40  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 15 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 228  
 Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Thr Leu Ser Ile Pro Ile Gly  
 1 5 10 15  
 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser  
 20 20 25 30  
 Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp  
 35 40  
 <210> 229  
 <211> 40  
 25 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 229  
 30 Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Thr Leu Ser Val Thr Ile Gly  
 1 5 10 15  
 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser  
 20 25 30  
 Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp  
 35 40  
 <210> 230  
 <211> 40  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 40 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 230  
 Asp Val Leu Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly  
 1 5 10 15  
 45 Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Asn Ile Val His Ser  
 20 25 30  
 Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp  
 35 40

<210> 231  
 <211> 41  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 5 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 231  
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val Thr Ala Gly  
 1 5 10 15  
 10 Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Asn Gln Ser Leu Leu Asn Ser  
 20 25 30  
 Gly Asp Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp  
 35 40  
 <210> 232  
 15 <211> 40  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 20 <400> 232  
 Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Thr Leu Ser Val Thr Ile Gly  
 1 5 10 15  
 Gln Ser Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser  
 20 25 30  
 25 Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp  
 35 40  
 <210> 233  
 <211> 35  
 <212> Белок  
 30 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 233  
 Glu Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Met Ser Ala Ser Leu Gly  
 35 1 5 10 15  
 Asp Arg Ile Thr Ile Thr Cys Gln Ala Thr Gln Asp Ile Val Lys Asn  
 20 25 30  
 Leu Asn Trp  
 35  
 40 <210> 234  
 <211> 34  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 45 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 234  
 Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Leu Gly  
 1 5 10 15

Glu Glu Ile Thr Leu Ile Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met  
                   20                      25                      30

His Trp  
 <210> 235

5   <211> 41  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция

10   <400> 235

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

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser  
   20                  25                      30

15   Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp  
       35                      40

<210> 236  
 <211> 40  
 <212> Белок

20   <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 236

Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Thr Leu Ser Val Thr Ile Gly  
 25   1                  5                      10                    15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Leu Ser Leu Leu Asp Ser  
   20                  25                      30

Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp  
       35                      40

30   <210> 237  
 <211> 35  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>

35   <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 237

Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val  
   1                  5                      10                    15

Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser  
 40   20                      25                      30

Gly Thr Asp  
       35

<210> 238  
 <211> 35

45   <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 238  
 Phe Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Met  
 1 5 10 15  
 Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Gly Gly Ser Gly Ser  
 5 20 25 30  
 Gly Thr Ala  
 35  
 <210> 239  
 <211> 35  
 10 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 239  
 15 Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Asn Ala Pro Arg Leu Leu Ile Ser Gly Ala  
 1 5 10 15  
 Thr Ser Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser  
 20 25 30  
 Gly Lys Asp  
 20 35  
 <210> 240  
 <211> 35  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 25 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 240  
 Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Phe Asp Thr  
 1 5 10 15  
 30 Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ile Gly Ser Gly Ser  
 20 25 30  
 Gly Thr Ser  
 35 35  
 <210> 241  
 35 <211> 35  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 40 <400> 241  
 Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Thr Leu Ile Tyr Arg Ala  
 1 5 10 15  
 Asn Arg Leu Val Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser  
 20 25 30  
 45 Gly Gln Asp  
 35  
 <210> 242  
 <211> 35

<212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 5 <400> 242  
 Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly Leu Ile Gly Gly Thr  
 1 5 10 15  
 Asn Asn Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Ile  
 20 25 30  
 10 Gly Asp Lys  
 35  
 <210> 243  
 <211> 35  
 <212> Белок  
 15 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 243  
 Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val  
 20 1 5 10 15  
 Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser  
 20 25 30  
 Gly Thr Asp  
 35  
 25 <210> 244  
 <211> 35  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 30 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 244  
 Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val  
 1 5 10 15  
 Ser Glu Leu Asp Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser  
 35 20 25 30  
 Gly Thr Asp  
 35  
 <210> 245  
 <211> 35  
 40 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 245  
 45 Tyr Leu Lys Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val  
 1 5 10 15  
 Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser  
 20 25 30

Gly Thr Asp  
           35  
 <210> 246  
 <211> 35  
 5      <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 246

10     Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala  
        1               5               10               15  
    Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser  
              20               25               30

Gly Thr Asp  
 15      35  
 <210> 247  
 <211> 35  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 20      <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 247  
       Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Pro Pro Ser Phe Leu Ile Tyr Tyr Ala  
       1               5               10               15

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

Gly Ser Asp  
       35  
 <210> 248  
 30      <211> 35  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 35      <400> 248  
       Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Thr  
       1               5               10               15  
    Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser  
              20               25               30

40     Gly Thr Phe  
       35  
 <210> 249  
 <211> 37  
 <212> Белок  
 45      <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 249

**RU 2759334 C2**

Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr  
1 5 10 15  
Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr  
20 25 30  
5 Lys Leu Glu Ile Lys  
35  
<210> 250  
<211> 37  
<212> Белок  
10 <213> Искусственная последовательность  
<220>  
<223> Синтетическая конструкция  
<400> 250  
Phe Thr Leu Arg Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Phe Tyr  
15 1 5 10 15  
Tyr Cys Met Gln His Leu Glu Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr  
20 25 30  
Arg Leu Glu Ile Lys  
35  
20 <210> 251  
<211> 37  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность  
<220>  
25 <223> Синтетическая конструкция  
<400> 251  
Tyr Thr Leu Ser Ile Thr Ser Leu Gln Thr Glu Asp Val Ala Thr Tyr  
1 5 10 15  
Tyr Cys Gln Gln Tyr Trp Ser Ser Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr  
30 20 25 30  
Lys Leu Glu Leu Lys  
35  
<210> 252  
<211> 37  
35 <212> Белок  
<213> Искусственная последовательность  
<220>  
<223> Синтетическая конструкция  
<400> 252  
40 Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Thr Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr  
1 5 10 15  
Tyr Cys His Gln Arg Ser Ala Tyr Pro Trp Thr Phe Gly Gly Thr  
20 25 30  
Lys Leu Glu Ile Lys  
45 35  
<210> 253  
<211> 37  
<212> Белок

<213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 253

5 Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Tyr Glu Asp Met Gly Ile Tyr  
 1 5 10 15  
 Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Glu Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr  
 20 25 30  
 Lys Leu Glu Ile Lys

10 35  
 <210> 254  
 <211> 37  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

15 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 254  
 Phe Thr Leu Arg Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr  
 1 5 10 15  
 20 Tyr Cys Met Gln His Leu Glu Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr  
 25 30  
 Lys Leu Glu Ile Lys

35  
 <210> 255  
 <211> 37  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция

30 <400> 255  
 Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Thr Glu Asp Glu Ala Ile Tyr  
 1 5 10 15  
 Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn His Trp Val Phe Gly Gly Thr  
 20 25 30  
 35 Lys Leu Thr Val Leu

35  
 <210> 256  
 <211> 37  
 <212> Белок

40 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 256  
 Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr

45 1 5 10 15  
 Tyr Cys Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr  
 20 25 30  
 Lys Leu Glu Ile Lys

35

<210> 257  
<211> 37  
<212> Белок  
5 <213> Искусственная последовательность  
<220>  
<223> Синтетическая конструкция  
<400> 257  
Phe Thr Leu Arg Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr  
10 1 5 10 15  
Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr  
20 25 30  
Lys Leu Glu Leu Lys  
35  
15 <210> 258  
<211> 37  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность  
<220>  
20 <223> Синтетическая конструкция  
<400> 258  
Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Met Tyr  
1 5 10 15  
Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr  
25 20 25 30  
Lys Leu Glu Leu Lys  
35  
<210> 259  
<211> 37  
30 <212> Белок  
<213> Искусственная последовательность  
<220>  
<223> Синтетическая конструкция  
<400> 259  
35 Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Ile Tyr  
1 5 10 15  
Tyr Cys Gln Asn Asp Tyr Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr  
20 25 30  
Lys Leu Glu Leu Lys  
40 35  
<210> 260  
<211> 37  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность  
45 <220>  
<223> Синтетическая конструкция  
<400> 260  
Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Ser Glu Asp Phe Ala Asp Tyr

1	5	10	15	
Tyr Cys Leu Gln Phe Tyr Glu Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr				
	20	25	30	
Lys Leu Glu Ile Lys				
5	35			
<210> 261				
<211> 35				
<212> Белок				
<213> Искусственная последовательность				
10	<220>			
<223> Синтетическая конструкция				
<400> 261				
Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Val Glu Ala Glu Asp Ala Ala Asp Tyr				
1	5	10	15	
Tyr Cys His Gln Trp Ser Ser Trp Thr Phe Gly Gly Thr Gln Leu				
	20	25	30	
Glu Ile Lys				
	35			
<210> 262				
20	<211> 37			
<212> Белок				
<213> Искусственная последовательность				
<220>				
<223> Синтетическая конструкция				
25	<400> 262			
Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Pro Glu Asp Leu Ala Val Tyr				
1	5	10	15	
Tyr Cys Gln Asn Asp Tyr Ser Phe Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr				
	20	25	30	
30	Glu Leu Glu Met Lys			
	35			
<210> 263				
<211> 37				
<212> Белок				
35	<213> Искусственная последовательность			
<220>				
<223> Синтетическая конструкция				
<400> 263				
Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Ile Tyr				
40	1	5	10	15
Tyr Cys Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr				
	20	25	30	
Lys Leu Glu Ile Lys				
	35			
45	<210> 264			
<211> 37				
<212> Белок				
<213> Искусственная последовательность				

<220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 264  
 Phe Thr Leu Lys Ile Ile Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Ile Tyr  
 5 1 5 10 15  
 Tyr Cys Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr  
 20 25 30  
 Lys Leu Glu Val Lys  
 35  
 10 <210> 265  
 <211> 37  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 15 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 265  
 Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr  
 1 5 10 15  
 Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr  
 20 25 30  
 Lys Leu Glu Leu Lys  
 35  
 <210> 266  
 <211> 40  
 25 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 266  
 30 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Phe Val Lys Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr  
 20 25 30  
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala  
 35 35 40  
 <210> 267  
 <211> 40  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 40 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 267  
 Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15  
 45 Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Asp Tyr  
 20 25 30  
 Tyr Val Asn Trp Val Lys Gln Arg  
 35 40

<210> 268  
 <211> 40  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 5 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 268  
 Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln  
 1 5 10 15  
 10 Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Asn Tyr  
 20 25 30  
 Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro  
 35 40  
 <210> 269  
 15 <211> 40  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 20 <400> 269  
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Asp Tyr  
 20 25 30  
 25 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala  
 35 40  
 <210> 270  
 <211> 40  
 <212> Белок  
 30 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 270  
 Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala  
 35 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Tyr  
 20 25 30  
 Tyr Met His Trp Val Lys Glu Arg  
 35 40  
 40 <210> 271  
 <211> 40  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 45 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 271  
 Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr  
                   20                     25                     30  
 Trp Ile Thr Trp Val Ile Gln Arg  
                   35                     40  
 5      <210> 272  
 <211> 40  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 10     <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 272  
 Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala  
 1              5                     10                     15  
 Ser Val Lys Ile Ser Cys Glu Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr  
 15     20                     25                     30  
 Tyr Val Asn Trp Val Lys Gln Arg  
               35                     40  
 <210> 273  
 <211> 40  
 20     <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 273  
 25     Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala  
 1              5                     10                     15  
 Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr  
               20                     25                     30  
 Tyr Val Asn Trp Val Lys Gln Arg  
 30     35                     40  
 <210> 274  
 <211> 40  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 35     <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 274  
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Thr Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1              5                     10                     15  
 40     Ser Arg Gly Leu Ser Cys Glu Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Phe  
               20                     25                     30  
 Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Thr  
               35                     40  
 <210> 275  
 45     <211> 40  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>

<223> Синтетическая конструкция  
<400> 275

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

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

Gly Leu Ile Trp Val Lys Gln Arg  
35 40

<210> 276

10 <211> 40

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

15 <400> 276

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

Ser Arg Gly Leu Ser Cys Glu Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Phe  
20 25 30

20 Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Thr  
35 40

<210> 277

<211> 40

<212> Белок

25 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 277

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala  
30 1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Asp  
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Lys Gln Arg  
35 40

35 <210> 278

<211> 40

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

40 <223> Синтетическая конструкция

<400> 278

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

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ile Ser Tyr  
45 20 25 30

Gly Ile Thr Trp Val Lys Gln Arg  
35 40

<210> 279

<211> 40  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 5 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 279  
 Gln Val Gln Leu Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr  
 10 20 25 30  
 Gly Ile Ser Trp Val Lys Gln Arg  
 35 40  
 <210> 280  
 <211> 40  
 15 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 280  
 20 Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Phe  
 20 25 30  
 Tyr Ile Asn Trp Val Lys Gln Arg  
 35 40  
 <210> 281  
 <211> 40  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 30 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 281  
 Gln Val Gln Leu Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Asp  
 35 20 25 30  
 Gly Ile Thr Trp Val Lys Gln Arg  
 35 40  
 <210> 282  
 40 <211> 40  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 45 <400> 282  
 Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

	20	25	30	
	Asn Met His Trp Val Lys Gln Ser			
	35	40		
	<210> 283			
5	<211> 41			
	<212> Белок			
	<213> Искусственная последовательность			
	<220>			
	<223> Синтетическая конструкция			
10	<400> 283			
	Asp Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Phe Ser Gln			
	1	5	10	15
	Ser Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly			
	20	25	30	
15	Tyr Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Phe			
	35	40		
	<210> 284			
	<211> 40			
	<212> Белок			
20	<213> Искусственная последовательность			
	<220>			
	<223> Синтетическая конструкция			
	<400> 284			
	Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala			
25	1	5	10	15
	Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr			
	20	25	30	
	Tyr Ile Asn Trp Val Lys Gln Arg			
	35	40		
30	<210> 285			
	<211> 40			
	<212> Белок			
	<213> Искусственная последовательность			
	<220>			
35	<223> Синтетическая конструкция			
	<400> 285			
	Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala			
	1	5	10	15
	Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Asp			
40	20	25	30	
	Gly Ile Thr Trp Leu Lys Gln Arg			
	35	40		
	<210> 286			
	<211> 40			
45	<212> Белок			
	<213> Искусственная последовательность			
	<220>			
	<223> Синтетическая конструкция			

<400> 286  
 Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr  
 5 20 25 30  
 Gly Ile Ser Trp Val Lys Gln Arg  
 35 40  
 <210> 287  
 <211> 41  
 10 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 287  
 15 Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Tyr Ile Ser Ser Gly Ser Ser  
 1 5 10 15  
 Ile Ile Tyr Tyr Ala Asp Thr Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg  
 20 25 30  
 Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Phe Leu  
 20 35 40  
 <210> 288  
 <211> 41  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 25 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 288  
 Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Lys Ile Gly Pro Gly Ser Val  
 1 5 10 15  
 30 Ser Ile Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala  
 20 25 30  
 Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met  
 35 35 40  
 <210> 289  
 35 <211> 40  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 40 <400> 289  
 Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Val Leu Ile Trp Ser Asp Gly Ser  
 1 5 10 15  
 Thr Thr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Ser Ile Ser Lys Asp  
 20 25 30  
 45 Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu  
 35 40  
 <210> 290  
 <211> 41

<212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 5 <400> 290  
 Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Tyr Ile Ser Ser Gly Ser Ser  
 1 5 10 15  
 Ile Leu Tyr Tyr Ala Asp Ile Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg  
 20 25 30  
 10 Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Phe Leu  
 35 40  
 <210> 291  
 <211> 41  
 <212> Белок  
 15 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 291  
 Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asp Pro Glu Asp Gly  
 20 1 5 10 15  
 Asp Ile Glu Tyr Asp Pro Lys Phe Gln Gly Lys Ala Thr Met Thr Ala  
 20 25 30  
 Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr Leu  
 35 40  
 25 <210> 292  
 <211> 41  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 30 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 292  
 Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Asp Ile Tyr Cys Gly Ser Asp  
 1 5 10 15  
 Thr Met His Tyr Asn Glu Lys Phe Lys Asn Lys Ala Thr Leu Thr Val  
 35 20 25 30  
 Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met  
 35 40  
 <210> 293  
 <211> 41  
 40 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 293  
 45 Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile Gly Lys Ile Gly Pro Gly Ser Val  
 1 5 10 15  
 Ser Ile Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ala  
 20 25 30

Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met  
                  35                        40  
 <210> 294  
 <211> 41  
 5      <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 294  
 10     Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Lys Ile Gly Pro Glu Ser Val  
       1                 5                 10                        15  
 Ser Ile Tyr Tyr Ser Glu Lys Phe Lys Ala Lys Ala Thr Leu Thr Ala  
       20                 25                        30  
 Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met  
 15     35                        40  
 <210> 295  
 <211> 41  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 20     <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 295  
 Pro Gly Lys Thr Leu Glu Trp Ile Gly Asp Ile Asn Ser Asp Gly Ser  
   1                 5                 10                        15  
 25     Ala Ile Asn Tyr Ala Pro Ser Ile Lys Asp Arg Phe Thr Ile Phe Arg  
       20                 25                        30  
 Asp Asn Asp Lys Asn Thr Leu Tyr Leu  
       35                        40  
 <210> 296  
 30     <211> 41  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 35     <400> 296  
 Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Glu Ile Tyr Pro Arg Ser Gly  
   1                 5                 10                        15  
 Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala  
       20                 25                        30  
 40     Asp Ile Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met  
       35                        40  
 <210> 297  
 <211> 41  
 <212> Белок  
 45     <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 297

Pro Gly Lys Thr Leu Glu Trp Ile Gly Asp Ile Asn Ser Asp Gly Ser  
 1 5 10 15  
 Ala Val Asn Tyr Ala Pro Ser Ile Lys Asp Gln Phe Thr Ile Phe Arg  
 20 25 30  
 5 Asp Asn Asp Lys Arg Thr Leu His Leu  
 35 40  
 <210> 298  
 <211> 41  
 <212> Белок  
 10 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 298  
 Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Cys Ile Asp Pro Glu Asn Gly  
 15 1 5 10 15  
 Asp Thr Glu Tyr Ala Ser Lys Phe Gln Asp Lys Ala Thr Ile Thr Thr  
 20 25 30  
 Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr Leu  
 35 40  
 20 <210> 299  
 <211> 41  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 25 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 299  
 Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Glu Ile His Pro Arg Ser Gly  
 1 5 10 15  
 Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu Asn Phe Lys Asp Arg Ala Ser Leu Thr Ala  
 30 20 25 30  
 Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met  
 35 40  
 <210> 300  
 <211> 41  
 35 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 300  
 40 Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Gln Ile Tyr Pro Arg Ser Asp  
 1 5 10 15  
 Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu Arg Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala  
 20 25 30  
 Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met  
 45 35 40  
 <210> 301  
 <211> 41  
 <212> Белок

<213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 301

5 Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Cys Ile Asp Pro Glu Asn Gly  
 1 5 10 15  
 Asp Thr Glu Tyr Ala Ser Lys Phe Gln Gly Lys Ala Thr Ile Thr Ala  
 20 25 30  
 Asp Thr Ser Ser Asn Thr Val Tyr Leu  
 10 35 40  
 <210> 302  
 <211> 41  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

15 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 302  
 Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Ala Arg Ile Tyr Pro Gly Ser Asp  
 1 5 10 15  
 20 Glu Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe Lys Asp Lys Val Thr Leu Thr Ala  
 20 25 30  
 Glu Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met  
 35 40  
 <210> 303

25 <211> 41  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция

30 <400> 303  
 Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Gln Ile His Pro Arg Ser Gly  
 1 5 10 15  
 Asn Thr Tyr Tyr Asn Gly Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala  
 20 25 30  
 35 Asp Arg Ser Ser Ser Thr Thr Tyr Met  
 35 40  
 <210> 304  
 <211> 41  
 <212> Белок

40 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 304  
 His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Asn Pro Asn Asn Gly

45 1 5 10 15  
 Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val  
 20 25 30  
 Asn Lys Ser Ser Ser Thr Ala Phe Met

	35	40	
<210>	305		
<211>	40		
<212>	Белок		
5	<213>	Искусственная последовательность	
	<220>		
	<223>	Синтетическая конструкция	
	<400>	305	
	Pro Gly Asn Lys Leu Glu Trp Met Gly Tyr Ile Arg His Asp Gly Ser		
10	1	5	10
	Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Asn Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp		15
	20	25	30
	Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe Leu		
	35	40	
15	<210>	306	
	<211>	41	
	<212>	Белок	
	<213>	Искусственная последовательность	
	<220>		
20	<223>	Синтетическая конструкция	
	<400>	306	
	Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Ala Arg Ile Tyr Pro Gly Asn Gly		
	1	5	10
	Asn Thr Asp Tyr Asn Glu Lys Phe Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ala		15
25	20	25	30
	Glu Lys Ser Ser Thr Thr Ala Tyr Ile		
	35	40	
	<210>	307	
	<211>	41	
30	<212>	Белок	
	<213>	Искусственная последовательность	
	<220>		
	<223>	Синтетическая конструкция	
	<400>	307	
35	Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Gln Ile His Pro Arg Ser Gly		
	1	5	10
	Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala		15
	20	25	30
	Asp Lys Ser Ser Thr Ala Tyr Met		
40	40	40	
	<210>	308	
	<211>	41	
	<212>	Белок	
	<213>	Искусственная последовательность	
45	<220>		
	<223>	Синтетическая конструкция	
	<400>	308	
	Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Gln Ile His Pro Arg Ser Gly		

1	5	10	15													
Asn	Thr	Tyr	Tyr	Asn	Glu	Asn	Phe	Lys	Gly	Lys	Ala	Thr	Leu	Thr	Ala	
		20					25							30		
5				Ala	Lys	Ser	Ser	Ser	Thr	Ala	Tyr	Leu				
		35					40									
	<210>	309														
	<211>	41														
	<212>	Белок														
	<213>	Искусственная последовательность														
10				<220>												
				<223>	Синтетическая конструкция											
	<400>	309														
	Pro	Glu	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile	Gly	Cys	Ile	Asp	Pro	Glu	Asn	Gly
15					1	5			10					15		
	Asp	Ile	Glu	Tyr	Ala	Ser	Arg	Phe	Gln	Gly	Lys	Ala	Thr	Met	Thr	Ala
					20				25					30		
	Asp	Thr	Ser	Ser	Asn	Thr	Ala	Tyr	Leu							
		35				40										
	<210>	310														
20				<211>	38											
				<212>	Белок											
				<213>	Искусственная последовательность											
				<220>												
				<223>	Синтетическая конструкция											
25				<400>	310											
	Gln	Met	Thr	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Met	Tyr	Tyr	Cys	Ala
		1			5				10				15			
	Arg	Asp	His	Tyr	His	Gly	Asn	Gly	Ser	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr
					20				25				30			
30	Thr	Leu	Thr	Val	Ser	Ser										
		35														
	<210>	311														
	<211>	35														
	<212>	Белок														
35				<213>	Искусственная последовательность											
				<220>												
				<223>	Синтетическая конструкция											
				<400>	311											
	Gln	Leu	Ser	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Ser	Ala	Val	Tyr	Phe	Cys	Ala
40		1			5				10				15			
	Ser	Tyr	Tyr	Tyr	Gly	Phe	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr
					20				25				30			
	Val	Ser	Ala													
		35														
45				<210>	312											
				<211>	43											
				<212>	Белок											
				<213>	Искусственная последовательность											

<220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 312  
 Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Gly Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala  
 5 1 5 10 15  
 Arg His Pro Tyr Asp Asp Tyr Ser Gly Tyr Tyr Tyr Thr Met Asp Tyr  
 20 25 30  
 Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser  
 35 40  
 10 <210> 313  
 <211> 39  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 15 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 313  
 Gln Phe Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val  
 1 5 10 15  
 Thr Asp Tyr Asp Tyr Asp Gly Gly Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly  
 20 25 30  
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ala  
 35  
 <210> 314  
 <211> 41  
 25 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 314  
 30 Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
 1 5 10 15  
 Arg Trp Trp Asp Tyr Gly Ser Ser Tyr Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly  
 20 25 30  
 Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser  
 35 35 40  
 <210> 315  
 <211> 35  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 40 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 315  
 Gln Leu Ser Gly Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala  
 1 5 10 15  
 45 Ser Tyr Tyr Tyr Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr  
 20 25 30  
 Val Ser Ala  
 35

<210> 316  
 <211> 37  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 5 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 316  
 Gln Met Asn Asn Val Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Val  
 1 5 10 15  
 10 Arg Tyr Asp Asp Tyr Gly Tyr Phe Asp Val Trp Gly Thr Gly Thr Thr  
 20 25 30  
 Val Thr Val Ser Ser  
 35  
 <210> 317  
 15 <211> 35  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 20 <400> 317  
 Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala  
 1 5 10 15  
 Ser Ser Ser Pro His Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr  
 20 25 30  
 25 Val Ser Ser  
 35  
 <210> 318  
 <211> 37  
 <212> Белок  
 30 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 318  
 Gln Met Ile Asn Val Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Val  
 35 1 5 10 15  
 Arg Tyr Asp Asp Tyr Gly Tyr Phe Asp Val Trp Gly Thr Gly Thr Thr  
 20 25 30  
 Val Thr Val Ser Ser  
 35  
 40 <210> 319  
 <211> 34  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 45 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 319  
 Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr  
 1 5 10 15

Thr Tyr Val Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val  
                  20                     25                     30

Ser Thr  
 <210> 320

5      <211> 34  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция

10     <400> 320  
 Glu Val Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala  
       1             5                 10                 15

Arg Gly Gly Pro Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val  
       20                 25                     30

15     Ser Ser  
 <210> 321  
 <211> 34  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

20     <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 321  
 Ala Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala  
       1             5                 10                 15

25     Arg Glu Gly Gly Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val  
       20                 25                     30

Ser Ser  
 <210> 322  
 <211> 34

30     <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 322

35     Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr  
       1             5                 10                 15

Thr Tyr Val Gly Phe Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val  
       20                 25                     30

Ser Ala  
 40     <210> 323  
 <211> 33  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>

45     <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 323  
 Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala  
       1             5                 10                 15

Leu Trp Phe Phe Asp Val Trp Gly Thr Gly Thr Thr Val Thr Val Ser  
                  20                         25                         30  
 Ser  
 <210> 324  
 5      <211> 34  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 10     <400> 324  
 Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala  
       1                 5                 10                 15  
 Lys Thr Gly Thr Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val  
       20                 25                         30  
 15     Ser Ser  
 <210> 325  
 <211> 34  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 20     <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 325  
 Glu Leu Arg Ser Leu Ala Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
       1                 5                 10                 15  
 25     Arg Ser Asp Trp Glu Asp Cys Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val  
       20                 25                         30  
 Ser Ser  
 <210> 326  
 <211> 43  
 30     <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 326  
 35     Lys Leu Asn Ser Val Ile Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Val  
       1                 5                 10                 15  
 Arg Glu Ile Tyr Asp Gly Ser Ser Gly Tyr Phe Asp Val Trp Gly Thr  
       20                 25                         30  
 Gly Thr Thr Val Thr Val Val Thr Val Ser Ser  
 40     35                                40  
 <210> 327  
 <211> 33  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 45     <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 327  
 Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Cys

1	5	10	15
Leu Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Thr Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser			
	20	25	30
Ser			
5 <210> 328			
<211> 34			
<212> Белок			
<213> Искусственная последовательность			
<220>			
10 <223> Синтетическая конструкция			
<400> 328			
Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala			
1 5 10 15			
Arg Glu Gly Gly Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val			
	20	25	30
Ser Ala			
<210> 329			
<211> 34			
<212> Белок			
20 <213> Искусственная последовательность			
<220>			
<223> Синтетическая конструкция			
<400> 329			
Gln Leu Thr Ser Leu Thr Ser Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr			
25 1 5 10 15			
Thr Tyr Val Gly Phe Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val			
	20	25	30
Ser Ala			
<210> 330			
30 <211> 72			
<212> Белок			
<213> Искусственная последовательность			
<220>			
<223> Синтетическая конструкция			
35 <400> 330			
Asp Ile Lys Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Met Tyr Ala Ser Leu Gly			
1 5 10 15			
Glu Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Ser Tyr			
	20	25	30
40 Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Thr Leu Ile			
	35	40	45
Tyr Arg Ala Asn Arg Leu Val Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly			
	50	55	60
Ser Gly Ser Gly Gln Asp Tyr Ser			
45 65 70			
<210> 331			
<211> 72			
<212> Белок			

<213> Искусственная последовательность  
<220>  
<223> Синтетическая конструкция  
<400> 331

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 Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Ser Tyr  
20 25 30  
Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Thr Leu Ile  
10 35 40 45  
Tyr Arg Ala Asn Arg Leu Val Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60  
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr  
65 70

15 <210> 332  
<211> 72  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность  
<220>

20 <223> Синтетическая конструкция  
<400> 332

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

30 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr  
65 70

<210> 333  
<211> 72  
<212> Белок

35 <213> Искусственная последовательность  
<220>  
<223> Синтетическая конструкция  
<400> 333

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
40 1 5 10 15  
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Val Tyr  
20 25 30  
Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Thr Leu Ile  
35 40 45

45 Tyr Arg Ala Asn Arg Leu Val Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60  
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr  
65 70

<210> 334  
 <211> 72  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 5 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 334  
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15  
 10 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Gln Ser Tyr  
 20 25 30  
 Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Thr Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Arg Ala Asn Arg Leu Val Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 15 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr  
 65 70  
 <210> 335  
 <211> 72  
 20 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 335  
 25 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 Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Val Tyr  
 20 25 30  
 Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Thr Leu Ile  
 30 35 40 45  
 Tyr Arg Ala Asn Arg Leu Thr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr  
 65 70  
 35 <210> 336  
 <211> 35  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 40 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 336  
 Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Tyr Glu Asp Met Gly Ile Tyr Tyr Cys  
 1 5 10 15  
 Leu Gln Tyr Asp Glu Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu  
 45 20 25 30  
 Glu Ile Lys  
 35  
 <210> 337

<211> 35  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 5 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 337  
 Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys  
 1 5 10 15  
 Leu Gln Tyr Asp Glu Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val  
 10 20 25 30  
 Glu Ile Lys  
 35  
 <210> 338  
 <211> 74  
 15 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Synthetic construct  
 <400> 338  
 20 Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr  
 20 25 30  
 Trp Ile Thr Trp Val Ile Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
 25 35 40 45  
 Gly Asp Ile Tyr Cys Gly Ser Asp Thr Met His Tyr Asn Glu Lys Phe  
 50 55 60  
 Lys Asn Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr  
 65 70  
 30 <210> 339  
 <211> 74  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 35 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 339  
 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 Ser Tyr  
 40 20 25 30  
 Trp Ile Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45  
 Gly Asp Ile Tyr Ser Gly Ser Asp Thr Met His Tyr Ala Glu Lys Phe  
 50 55 60  
 45 Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr  
 65 70  
 <210> 340  
 <211> 74

<212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 5 <400> 340  
 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 Ser Tyr  
 20 25 30  
 10 Trp Ile Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45  
 Gly Asp Ile Tyr Ser Gly Ser Asp Thr Thr His Tyr Ala Glu Lys Phe  
 50 55 60  
 Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr  
 15 65 70  
 <210> 341  
 <211> 74  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 20 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 341  
 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 Ser Tyr  
 20 25 30  
 25 Trp Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45  
 Gly Asp Ile Tyr Ser Gly Ser Asp Thr Thr His Tyr Ala Glu Lys Phe  
 30 50 55 60  
 Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr  
 65 70  
 <210> 342  
 <211> 48  
 35 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 342  
 40 Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp  
 1 5 10 15  
 Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Trp Trp Asp Tyr Gly Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser  
 45 35 40 45  
 <210> 343  
 <211> 48  
 <212> Белок

<213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 343

5 Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp  
 1 5 10 15  
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Trp Trp Asp Tyr Gly Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 10 35 40 45  
 <210> 344  
 <211> 60  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

15 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 344  
 Asp Ile Lys Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Met Tyr Ala Ser Leu Gly  
 1 5 10 15  
 20 Glu Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Ser Tyr  
 25 30  
 Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Thr Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Arg Ala Asn Arg Leu Val Asp Gly Val Pro Ser

25 50 55 60  
 <210> 345  
 <211> 60  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

30 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 345  
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15  
 35 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Ser Tyr  
 20 25 30  
 Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Thr Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Arg Ala Asn Arg Leu Val Asp Gly Val Pro Ser

40 50 55 60  
 <210> 346  
 <211> 60  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

45 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 346  
 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 Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Thr Tyr			
20	25	30	
Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Thr Leu Ile			
5	35	40	45
Tyr Arg Ala Asn Arg Leu Val Asp Gly Val Pro Ser			
50	55	60	
<210> 347			
<211> 60			
10 <212> Белок			
<213> Искусственная последовательность			
<220>			
<223> Синтетическая конструкция			
<400> 347			
15 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 Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Val Tyr			
20 25 30			
Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Thr Leu Ile			
20 35 40 45			
Tyr Arg Ala Asn Arg Leu Val Asp Gly Val Pro Ser			
50 55 60			
<210> 348			
<211> 60			
25 <212> Белок			
<213> Искусственная последовательность			
<220>			
<223> Синтетическая конструкция			
<400> 348			
30 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 Lys Ala Ser Gln Asp Ile Gln Ser Tyr			
20 25 30			
Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Thr Leu Ile			
35 35 40 45			
Tyr Arg Ala Asn Arg Leu Val Asp Gly Val Pro Ser			
50 55 60			
<210> 349			
<211> 60			
40 <212> Белок			
<213> Искусственная последовательность			
<220>			
<223> Синтетическая конструкция			
<400> 349			
45 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 Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Val Tyr			
20 25 30			

Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Thr Leu Ile  
                  35                        40                        45

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

**5**      <210> 350  
 <211> 47  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>

**10**     <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 350

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

Ser Leu Glu Tyr Glu Asp Met Gly Ile Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp  
**15**     20                        25                        30

Glu Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
                  35                        40                        45

<210> 351  
 <211> 47

**20**     <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>

<223> Синтетическая конструкция  
 <400> 351

**25**     Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser  
 1              5                        10                        15

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

Glu Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
**30**     35                        40                        45

<210> 352  
 <211> 60  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

**35**     <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 352

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

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

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

Gly Asp Ile Tyr Cys Gly Ser Asp Thr Met His Tyr  
**45**     50                        55                        60

<210> 353  
 <211> 60  
 <212> Белок

<213> Искусственная последовательность  
<220>  
<223> Синтетическая конструкция  
<400> 353

5 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 Ser Tyr  
20 25 30  
Trp Ile Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
10 35 40 45  
Gly Asp Ile Tyr Ser Gly Ser Asp Thr Met His Tyr  
50 55 60

<210> 354  
<211> 60

15 <212> Белок  
<213> Искусственная последовательность  
<220>  
<223> Синтетическая конструкция  
<400> 354

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

<210> 355  
<211> 60

30 <212> Белок  
<213> Искусственная последовательность  
<220>  
<223> Синтетическая конструкция  
<400> 355

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

<210> 356  
<211> 60

45 <212> Белок  
<213> Искусственная последовательность  
<220>  
<223> Синтетическая конструкция

<400> 356  
Asn Glu Lys Phe Lys Asn Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser  
1 5 10 15  
Ser Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala  
5 20 25 30  
Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Trp Trp Asp Tyr Gly Ser Ser Tyr Asp Tyr  
35 40 45  
Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val  
50 55 60  
10 <210> 357  
<211> 61  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность  
<220>  
15 <223> Синтетическая конструкция  
<400> 357  
Ala Glu Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Thr  
1 5 10 15  
Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala  
20 20 25 30  
Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Trp Trp Asp Tyr Gly Ser Ser Tyr Asp Tyr  
35 40 45  
Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Val  
50 55 60  
25 <210> 358  
<211> 56  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность  
<220>  
30 <223> Синтетическая конструкция  
<400> 358  
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ala Ser Ser Ser Leu Ser Val Ser Leu Gly  
1 5 10 15  
Gly Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Asp His Ile Asn Asn Trp  
35 20 25 30  
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Asn Ala Pro Arg Leu Leu Ile  
35 40 45  
Ser Gly Ala Thr Ser Leu Glu Thr  
50 55  
40 <210> 359  
<211> 56  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность  
<220>  
45 <223> Синтетическая конструкция  
<400> 359  
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 Lys Ala Ser Asp His Ile Asn Asn Trp  
                   20                     25                     30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
                   35                     40                     45  
 5     Ser Gly Ala Thr Ser Leu Glu Thr  
       50                     55  
 <210> 360  
 <211> 56  
 <212> Белок  
 10    <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 360  
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 15    1              5                 10                 15  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Asp His Ile Asn Asn Trp  
                   20                     25                     30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile  
                   35                     40                     45  
 20    Ser Gly Ala Thr Ser Leu Glu Thr  
       50                     55  
 <210> 361  
 <211> 51  
 <212> Белок  
 25    <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 361  
 Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Lys Asp Tyr Thr  
 30    1              5                 10                 15  
 Leu Ser Ile Thr Ser Leu Gln Thr Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys  
                   20                     25                     30  
 Gln Gln Tyr Trp Ser Ser Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu  
                   35                     40                     45  
 35    Glu Leu Lys  
       50  
 <210> 362  
 <211> 51  
 <212> Белок  
 40    <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 362  
 Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr  
 45    1              5                 10                 15  
 Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys  
                   20                     25                     30  
 Gln Gln Tyr Trp Ser Ser Pro Leu Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val

	35	40	45
5	Glu Ile Lys		
	50		
	<210> 363		
5	<211> 51		
	<212> Белок		
	<213> Искусственная последовательность		
	<220>		
	<223> Синтетическая конструкция		
10	<400> 363		
	Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr		
	1                   5                   10                   15		
	Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys		
	20                   25                   30		
15	Gln Gln Tyr Trp Ser Ser Pro Leu Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val		
	35                   40                   45		
	Glu Ile Lys		
	50		
	<210> 364		
20	<211> 49		
	<212> Белок		
	<213> Искусственная последовательность		
	<220>		
	<223> Синтетическая конструкция		
25	<400> 364		
	Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln		
	1                   5                   10                   15		
	Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Asn Tyr		
	20                   25                   30		
30	Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu		
	35                   40                   45		
	Val		
	<210> 365		
	<211> 49		
35	<212> Белок		
	<213> Искусственная последовательность		
	<220>		
	<223> Синтетическая конструкция		
	<400> 365		
40	Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu		
	1                   5                   10                   15		
	Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Asn Tyr		
	20                   25                   30		
	Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile		
45	35                   40                   45		
	Val		
	<210> 366		
	<211> 49		

<212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 5 <400> 366  
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu  
 1 5 10 15  
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Asn Tyr  
 20 25 30  
 10 Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45  
 Gly  
 <210> 367  
 <211> 48  
 15 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 367  
 20 Leu Ile Trp Ser Asp Gly Ser Thr Thr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser  
 1 5 10 15  
 Arg Leu Ser Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys  
 20 25 30  
 Met Asn Ser Leu Gln Thr Gly Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg  
 25 35 40 45  
 <210> 368  
 <211> 48  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 30 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 <400> 368  
 Leu Ile Trp Ser Asp Gly Ser Thr Thr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser  
 1 5 10 15  
 35 Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu Lys  
 20 25 30  
 Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg  
 35 40 45  
 <210> 369  
 40 <211> 48  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая конструкция  
 45 <400> 369  
 Leu Ile Trp Ser Asp Gly Ser Thr Thr Tyr Ala Ser Ala Leu Lys Ser  
 1 5 10 15  
 Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu Lys

	20	25	30	
10	Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg			
	35	40	45	
5	<210> 370			
	<211> 48			
	<212> Белок			
	<213> Искусственная последовательность			
	<220>			
	<223> Синтетическая конструкция			
10	<400> 370			
	Leu Ile Trp Ser Asp Gly Ser Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser			
	1	5	10	15
	Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu Lys			
	20	25	30	
15	Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg			
	35	40	45	
	<210> 371			
	<211> 48			
	<212> Белок			
20	<213> Искусственная последовательность			
	<220>			
	<223> Синтетическая конструкция			
	<400> 371			
	Leu Ile Trp Ser Glu Gly Ser Thr Thr Tyr Ala Ser Ala Leu Lys Ser			
25	1	5	10	15
	Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu Lys			
	20	25	30	
	Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg			
	35	40	45	
30	<210> 372			
	<211> 25			
	<212> Белок			
	<213> Искусственная последовательность			
	<220>			
35	<223> Синтетическая конструкция			
	<400> 372			
	His Pro Tyr Asp Asp Tyr Ser Gly Tyr Tyr Tyr Thr Met Asp Tyr Trp			
	1	5	10	15
	Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser			
40	20	25		
	<210> 373			
	<211> 25			
	<212> Белок			
	<213> Искусственная последовательность			
45	<220>			
	<223> Синтетическая конструкция			
	<400> 373			
	His Pro Tyr Asp Asp Tyr Ser Gly Tyr Tyr Tyr Thr Met Asp Tyr Trp			

1	5	10	15
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser			
	20	25	
<210> 374			
5	<211> 17		
	<212> Белок		
	<213> Искусственная последовательность		
	<220>		
	<223> Синтетическая конструкция		
10	<400> 374		
	Asp Ile Tyr Ser Gly Ser Asp Thr Thr His Tyr Ala Glu Lys Phe Gln		
	1	5	10
	Gly		
	15		

**(57) Формула изобретения**

1. Моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с SIGLEC-15,

где антитело содержит три CDR тяжелой цепи (HCDR1, HCDR2 и HCDR3) в пределах любой последовательности вариабельной области тяжелой цепи (HCVR), выбранной из группы, состоящей SEQ ID NO:203, 206, 207; и три CDR легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3) в пределах любой последовательности вариабельной области легкой цепи (LCVR), выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:195, 197, 199, 201 и 219.

2. Моноклональное антитело или антигенсвязывающий фрагмент по п.1, содержащее:

(а) домен HCDR1 с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:204 и 208;

(б) домен HCDR2 с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:205 и 374;

(с) домен HCDR3 с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:71;

(д) домен LCDR1 с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:28, 196, 198 и 200;

(е) домен LCDR2 с аминокислотной последовательностью, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:36 и 202; и

(ф) домен LCDR3 с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:43.

3. Фармацевтическая композиция, содержащая эффективное количество

моноклонального антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по п.1 или 2 в комбинации со вспомогательным веществом для уменьшения SIGLEC-15-опосредованной иммуносупрессии у индивида.

4. Способ лечения опухоли у пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества моноклонального антитела по п.1 или 2 для снижения опухолевой нагрузки у пациента.

5. Способ по п.4, в котором опухоль представляет собой колоректальную опухоль, лимфому или опухоль яичника.

6. Способ усиления иммунного ответа у пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества моноклонального антитела по п.1 или 2 в количестве, эффективном для усиления иммунного ответа у пациента.

7. Способ по п.6, в котором усиленный иммунный ответ замедляет или предотвращает рост опухоли, ингибирует опосредованную опухолью иммуносупрессию, уничтожает опухоли, истощает или блокирует активность опухоль-ассоциированных макрофагов

(ТАМ), снижает опосредованную опухолью иммуносупрессию, снижает или вызывает регресс Т-клеточной супрессии, увеличивает пролиферацию Т-клеток или приводит к их комбинации.

8. Моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое

*5* специфически связывается с SIGLEC-15,

где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (HCVR) с последовательностью SEQ ID NO:18; и вариабельную область легкой цепи (LCVR) с последовательностью SEQ ID NO:7.

9. Моноклональное антитело по п.8, в котором HCVR содержит

*10* HCDR1 с SEQ ID NO:51,

HCDR2 с SEQ ID NO:61,

HCDR3 с SEQ ID NO:71,

LCDR1 с SEQ ID NO:28,

LCDR2 с SEQ ID NO:36 и

*15* LCDR3 с SEQ ID NO:43.

10. Фармацевтическая композиция, содержащая эффективное количество моноклонального антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по п.8 или 9 в комбинации со вспомогательным веществом для уменьшения SIGLEC-15-опосредованной иммуносупрессии у индивида.

*20* 11. Способ лечения опухоли у пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества моноклонального антитела по п.8 или 9 для снижения опухолевой нагрузки у пациента.

12. Способ по п.11, в котором опухоль представляет собой колоректальную опухоль, лимфому или опухоль яичника.

*25* 13. Способ усиления иммунного ответа у пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества моноклонального антитела по п.8 или 9 в количестве, эффективном для усиления иммунного ответа у пациента.

14. Способ по п.13, в котором усиленный иммунный ответ замедляет или предотвращает рост опухоли, ингибирует опосредованную опухолью иммуносупрессию, *30* уничтожает опухоли, истощает или блокирует активность опухоль-ассоциированных макрофагов (ТАМ), снижает опосредованную опухолью иммуносупрессию, снижает или вызывает регресс Т-клеточной супрессии, увеличивает пролиферацию Т-клеток или приводит к их комбинации.

15. Моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое *35* специфически связывается с SIGLEC-15,

где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (HCVR) с последовательностью SEQ ID NO:15; и вариабельную область легкой цепи (LCVR) с последовательностью SEQ ID NO:5.

16. Моноклональные антитела по п.15, в котором HCVR содержит

*40* HCDR1 с SEQ ID NO:48

HCDR2 с SEQ ID NO:58,

HCDR3 с SEQ ID NO:69,

LCDR1 с SEQ ID NO:26,

LCDR2 с SEQ ID NO:34 и

*45* LCDR3 с SEQ ID NO:41.

17. Фармацевтическая композиция, содержащая эффективное количество

моноклонального антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по п.15 или 16 в комбинации со вспомогательным веществом для уменьшения SIGLEC-15-

опосредованной иммуносупрессии у индивида.

18. Способ лечения опухоли у пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества моноклонального антитела по п.15 или 16 для снижения опухолевой нагрузки у пациента.

5 19. Способ по п.18, в котором опухоль представляет собой колоректальную опухоль, лимфому или опухоль яичника.

20. Способ усиления иммунного ответа у пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества моноклонального антитела по п.15 или 16 в количестве, эффективном для усиления иммунного ответа у пациента.

10 21. Способ по п.20, в котором усиленный иммунный ответ замедляет или предотвращает рост опухоли, ингибирует опосредованную опухолью иммуносупрессию, уничтожает опухоли, истощает или блокирует активность опухоль-ассоциированных макрофагов (ТАМ), снижает опосредованную опухолью иммуносупрессию, снижает или вызывает регресс Т-клеточной супрессии, увеличивает пролиферацию Т-клеток 15 или приводит к их комбинации.

22. Моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с SIGLEC-15,

где антитело содержит три CDR тяжелой цепи (HCDR1, HCDR2 и HCDR3) в пределах любой последовательности вариабельной области тяжелой цепи (HCVR), выбранной

20 из группы, состоящей SEQ ID NO:212, 213, 215 и 216; и три CDR легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3) в пределах любой последовательности вариабельной области легкой цепи (LCVR), выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:209, 210 и 211.

23. Моноклональное антитело или антиген-связывающий фрагмент по п.22, содержащее:

25 (а) домен HCDR1 с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:48;

(б) домен HCDR2 с аминокислотной последовательностью, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:58, 214, 217 и 218;

(с) домен HCDR3 с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:69;

(д) домен LCDR1 с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:26;

30 (е) домен LCDR2 с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:34; и

(ф) домен LCDR3 с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:41.

24. Фармацевтическая композиция, содержащая эффективное количество моноклонального антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по п.22 или 23 в комбинации со вспомогательным веществом для уменьшения SIGLEC-15-

35 опосредованной иммуносупрессии у индивида.

25. Способ лечения опухоли у пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества моноклонального антитела по п.22 или 23 для снижения опухолевой нагрузки у пациента.

26. Способ по п.25, в котором опухоль представляет собой колоректальную опухоль,

40 лимфому или опухоль яичника.

27. Способ усиления иммунного ответа у пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества моноклонального антитела по п.22 или 23 в количестве, эффективном для усиления иммунного ответа у пациента.

28. Способ по п.27, в котором усиленный иммунный ответ замедляет или

45 предотвращает рост опухоли, ингибирует опосредованную опухолью иммуносупрессию, уничтожает опухоли, истощает или блокирует активность опухоль-ассоциированных макрофагов (ТАМ), снижает опосредованную опухолью иммуносупрессию, снижает или вызывает регресс Т-клеточной супрессии, увеличивает пролиферацию Т-клеток

или приводит к их комбинации.

5

10

15

20

25

30

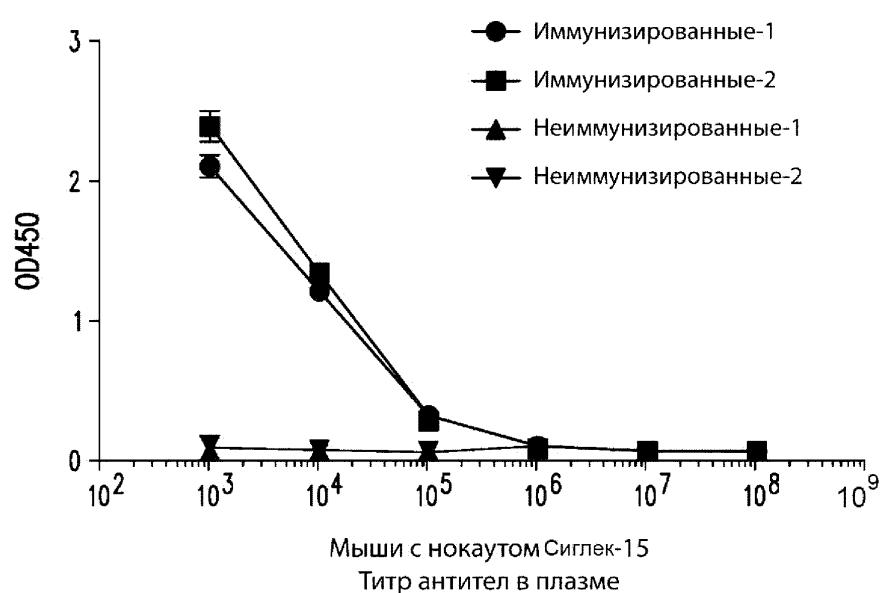
35

40

45

1

1/48



Фиг. 1

2

SEQ ID NO:	CDR1	CDR2	CDR3
1B2	D V L M T Q T P L S L P V S L G D Q A S I S C R S S Q S I V H S	N G N T Y L E W	L#35
1C3	D I V M T Q A A P S V P V T P G E S V S I S C R S S K S L L H S	N G N T Y L Y W	L#34
1H3	D I Q M T Q A S S S L S V S L G G R V T I T C K A S D	H I N N W L A W	L#33
1C12	D V L M T Q T P L S L P V S L G D Q A S I S C R S S Q S I V H S	N G N T Y L E W	L#32
3H10	Q I I L T Q S P A I M S A S P G E K V T W T C S A S S	S T S F M H W	L#31
5G12	D I K M T Q S P S S M Y A S S L G E R V T I T C K A S Q	D I N S Y L S W	L#30
6F8	D I V M T Q A A P S V P V T P G E S V S I S C R S S K S L L H S	N G N T Y L Y W	L#29
8C8	D I V M T Q A A P S V P V T P G E S V S I S C R S S K S L L H S	N G N T Y L Y W	L#28
8H8	Q A V V T Q E S A L T T S P G E T V T L T C R S S S G A V	T T G N F A N W	L#27
9A5	D V V M T Q T P L T L S V T I G Q S A S I S C K S S Q S L L D S	D G K T Y L N W	L#26
10S9	Q A V V T Q E S A L T T S P L S L P V S L G D Q A S I S C R S S S Q S I V H S	T T S N Y A N W	L#25
#6	D V L M T Q T P L T L S I P I G Q P A S I S C K S S Q S L L D S	D G K T Y L E W	L#24
#28	D V V M T Q T P L T L S V T I G Q P A S I S C K S S Q S L L D S	D G K T Y L N W	L#23
#63	D V V M T Q T P L T L S V T I G Q P A S I S C K S S Q S L L D S	D G K T Y L N W	L#22
#77	D V L M T Q S P S S L T V T A G E K V T W S C K S N Q S L L N S G D Q K M Y L T W	D G N T Y L N W	L#21
#80	D I V M T Q S P S S L T V T I G Q S A S I S C K S S Q S L L D S	D G N T Y L E W	L#20
#82	D V V M T Q T P L T L S V T I G Q P A S I S C K S S Q S L L D S	D G N T Y L N W	L#19
#83	E I Q M T Q S P S S M S A S S L G D R I T I T C Q A T Q	D I V K N L N W	L#18
#92	Q I V L T Q S P A I M S A S S L G E E I I I C S A S S	S V S Y M H W	L#17
#93	D I V M T Q S P S S L T V T A G E K V T W S C K S S Q S L L N S G N Q K N Y L T W	D G K T Y L N W	L#16
#99	D V V M T Q T P L T L S V T I G Q P A S I S C K S S Q S L L D S	D G K T Y L N W	L#15
#104	D V V M T Q T P L T L S V T I G Q P A S I S C K S S Q S I V H S	D G K T Y L N W	L#14
#105	D V L M T Q T P L S L P V S L G D Q A S I S C R S S Q S I V H S	N G N T Y L E W	L#13

Фиг. 2А

3/48

SEQ ID NO:	CDR2
1B2	Y L Q K P G Q S P K L L I Y K V S N R F S G V P D R F S G S G T D
1C3	F L Q R P G Q S P Q L L I Y R M S N L A S C V P D R F G C S G T A
1H3	Y Q Q K P G N A P R L L I S G A T S L E T C V P S R F S G S G K D
1G12	Y L Q K P G Q S P K L L I Y K V S N R F S G V P D R F S G S G T D
3H10	Y Q Q K P G T S P K R W I F D T S K L A S G V P G R F I G S G T S
5G12	F Q Q K P G K S P K T L I Y R A N R L V D G V P S R F S G S G Q D
6F8	F L Q R P G Q S P Q L L I Y R M S N L A S C V P D R F G C S G S G T A
8Q8	F L Q R P G Q S P Q L L I Y R M S N L A S G V P D R F G C S G S G T A
8H8	V Q E K P D H L F T G L I G G T N N R A P G V P A R F S G S L I G D K
9H5	L L Q R P G Q S P K R L I Y L V S K L D S G V P D R F T G S G S G T D
10G9	V Q E K P D H L F T G L I G G T N N R A P G V P A R F S G S L I G D K
#6	Y L Q K P G Q S P K L L I Y K V S N R F S G V P D R F S G S G S G T D
#28	L L Q R P G Q S P K R L I Y L V S E L D S G V P D R F T G S G S G T D
#33	L L Q R P G Q S P K R L I Y L V S K L D S G V P D R F T G S G S G T D
#77	Y L K K P G Q S P K L L I Y K V S N R F S G V P D R F S G S G S G T D
#80	Y Q Q K P G Q P P K L L I Y W A S T R E S G V P D R F T G S G S G T D
#82	L L Q R P G Q S P K R L I Y L V S E L D S G V P D R F T G S G S G T D
#83	Y Q Q K P G K P P S F L I Y Y A T E L A E G V P S R F S G S G S D
#92	Y Q Q K S G T S P K L L I Y R T S N L A S C V P S R F S G S G S G T F
#93	Y Q Q K P G Q P P K L L I Y W A S T R E S G V P D R F T G S G S G T D
#99	L L Q R P G Q S P K R L I Y L V S K L D S G V P D R F T G S G S G T D
#104	L L Q R P G Q S P K R L I Y L V S K L D S G V P D R F T G S G S G T D
#105	Y L Q K P G Q S P K L L I Y K V S N R F S G V P D R F S G S G S G T D

Фиг. 2В

Фиг. 2с

5/48

	SEQ ID NO:	COR1
1B2	E V Q L V E S G G C F V K P G G S L K L S C A A S G F T F S D Y G M H W V R Q A H#40	
1C3	Q V Q L K Q S G A E L V K P G A S V K I S C K A S G Y I F T D Y Y V N W V K Q R H#39	
1H3	Q V Q L K E S G P G L V A P S O S L S I T C T V S G F S L S N Y G V H W V R Q P H#38	
1G12	E V Q L V E S G G G L V K P G G S L K L S C A A S G F S F S D Y G M H W V R Q A H#37	
3H0	E V Q L Q Q S G A E L V R P G A S V K L S C T A S G F N I K D Y Y M H W V K E R H#36	
5G12	Q V Q L Q Q P G A E L V K P G A S V K M S C K A S G Y T F T S Y W I T W V I Q R H#35	
6F8	Q V Q L K Q S S G P E L V R P G A S V K I S C E A S G Y T F T D Y Y V N W V K Q R H#34	
8G8	Q V Q L K Q S S G A E L V K P G A S V K I S C K A S G Y T F T D Y Y V N W V K Q R H#33	
8H8	E V Q L L E T G G G L V Q P G G S R G L S C E G S G F T F S G F W M S W V R Q T H#32	
9A5	H V Q L Q Q S S G A E L L A R P G A S V K L S C K A S G Y T F T S Y G L I W V K Q R H#31	
10G9	E V Q L L E T G G C L V Q P G G S R G L S C E G S G F T F S D F W M S W V R Q T H#30	
#6	E V Q L Q Q S G A E L L A R P G A S V K L S C T A S G F N I K D D Y M H W V K Q R H#29	
#28	Q V Q L Q Q S S G A E L L A R P G A S V K L S C K A S G Y T F I S Y G I T W V K Q R H#28	
#63	Q V Q L Q Q S S G A E L L A R P G A S V K L S C K A S G Y T F T S Y G I S W V K Q R H#27	
#77	E V Q L Q Q S S G A E L L V R P G A S V K L S C T A S G F N I K D D Y M H W V K Q R H#26	
#80	Q V Q L K Q S S G A E L V R P G A S V K L S C R A S G Y T F T D F Y I N W V K Q R H#25	
#82	Q V Q L Q Q S S G A E L L A R P G A S V K L S C K A S G Y T F T S D G I T W V K Q R H#24	
#83	E V Q L Q Q S S G P E L L V K P G A S V K M S C K A S G Y T F T D Y N M H W V K Q S H#23	
#92	D V Q L Q E S G P G L V K F S Q L S L T C S V T G Y S I T S G Y Y W N W I R Q F H#22	
#93	Q V Q L K Q S S G A E L L V R P G A S V K L S C K A S G Y T F I D Y Y I N W V K Q R H#21	
#99	Q V Q L Q Q S S G A E L L A R P G A S V K L S C K A S G Y T F T S D G I T W L K Q R H#20	
#104	Q V Q L Q Q S S G P E L A R P G A S V K L S C K A S G Y T F T S Y G I S W V K Q R H#19	
#105	E V Q L Q Q S S G A E L L V R P G A S V K L S C T A S G F N I K D D Y M H W V K Q R H#18	

Фиг. 3А

6/48

Фиг. 3Б

SEQ ID NO:	CDR2
1B2	P E K G L E W V A Y I S S G S S I I Y Y A D T V K G R F T I S R D N A K N T L F L H#80
1C3	P G Q G L E W I G K I G P G S V S I Y Y N E K F K G K A T L T A D K S S S T A Y M H#79
1H3	P G K G L E W L V L I W S D G S T T Y N S A I L K S R L S I S K D N S K S Q V F L H#78
1C12	P E K C L E W V A Y I S S G S S I L Y Y A D I V K G R F T I S R D N A K N T L F L H#77
3H0	P E Q G L E W I G R I D P E D G D I E Y D P K F Q G K A T M T A D T S S N T A Y L H#76
5G12	P G Q G L E W I G D I Y C G S D T W H I Y N E K F K N K A T L T V D T S S S T A Y M H#75
6F8	P G R C L E W I G K I G P G S V S I Y Y N E K F K D K A T L T A D K S S S T A Y M H#74
8C8	P G Q G L E W I G K I G P E S V S I Y Y S E K F K A K A T L T A D K S S S T A Y M H#73
8H8	P G K T L E W I G D I N S D G S A I N Y A P S I K D R F T I F R D N D K N T L Y L H#72
9A5	T G Q G L E W I G E I Y P R S G N T Y Y N E K F K G K A T L T A D I S S S T A Y M H#71
10G9	P G K T L E W I G D I N S D G S A V N Y A P S I K D Q F T I F R D N D K R T L H L H#70
#6	P E Q G L E W I G C I D P E N G D T E Y A S K F Q D K A T I T T D T S S N T A Y L H#69
#28	T G Q G L E W I G E I H P R S G N T Y Y N E N F K D R A S L T A D K S S S T A Y M H#68
#63	T G Q G L E W I G Q I Y P R S D N T Y Y N E R F K G K A T L T A D K S S S T A Y M H#67
#77	P E Q G L E W I G C I D P E N G D T E Y A S K F Q G K A T I T A D T S S N T V Y L H#66
#80	P G Q G L E W I A R I Y P G S D E T Y Y N E K F K D K V T L T A E K S S S T A Y M H#65
#82	T G Q G L E W I G Q I H P R S G N T Y Y N G K F K G K A T L T A D R S S S T T Y M H#64
#83	H G K S L E W I G Y I N P N N G G T S Y N Q K F K D K A T L T V N K S S S T A F M H#63
#92	P G N K L E W W M G Y I R H D G S N N Y N P S I L K N R I S I T R D T S K N Q F F L H#62
#93	P G Q G L E W I A R I Y P G N G N T D Y N E K F K D K A T L T A E K S S T T A Y I H#61
#99	T G Q G L E W I G Q I H P R S G N T Y Y N E K F K G K A T L T A D K S S S T A Y M H#60
#104	T G Q G L E W I G C I D P E N G D I E Y A S R F Q G K A T M T A D T S S N T A Y L H#59
#105	P E Q G L E W I G C I D P E N G D I E Y A S R F Q G K A T M T A D T S S N T A Y L H#58

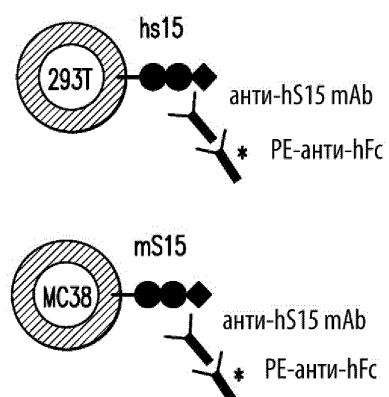
7/48

Фиг. 3С

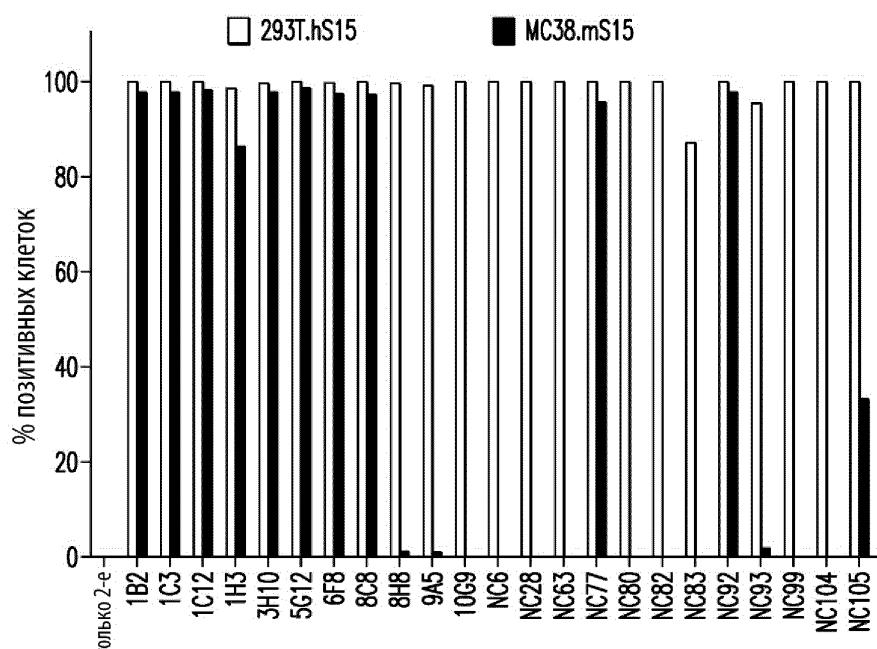
	SEQ ID NO:	CDR3
1B2	Q M T S L R S E D T A M Y H C A R D H Y H G N G S	D Y W G Q G T T L T V S S
1C3	Q L S S L T S E D S A V Y F C A S Y Y G F	A Y W G Q G T L V T V S A
1H3	K M N S L Q T G D T A M Y Y C A R H P Y D D Y S G Y Y T M D Y	D Y W G Q G T S V T V S S
1C2	Q M T S L R S E D T A M Y Y C A R D H Y H G N G S	D Y W G Q G T T L T V S S
JH0	Q F S S L T S E D T A V Y Y C V T D Y D Y D G G W F	A Y W G Q G T L V T V S A
5G2	Q L S S L T S E D S A V Y Y C A R W W D Y G S S Y D Y F	D Y W G Q G T T L T V S S
6F8	Q L S G L T S E D S A V Y F C A S Y Y G F	A Y W G Q G T L V T V S A
8C8	Q L S S L T S E D S A V Y F C A S Y Y G F	A Y W G Q G T L V T V S A
8H8	Q M N N V R S E D T A T Y F C V R Y D D Y G Y F	D Y W G T G T T V T V S S
9A5	E L R S L T S E D S A V Y F C A S S S P H G	D Y W G Q G T T L T V S S
10C9	Q M I N V R S E D T A T Y F C V R Y D D Y G Y F	D Y W G T G T T V T V S S
#6	Q L S S L T S E D T A V Y Y C T T T Y V G F	A Y W G Q G T L V T V S T
#28	E V R S L T S E D S A V Y F C A R G G P G	D Y W G Q G T T L T V S S
#63	A L R S L T S E D S A V Y F C A R E G G P	D Y W G Q G T T L T V S S
#77	Q L S S L T S E D T A V Y Y C T T Y V G F	G Y W G Q G T L V T V S A
#80	Q L S S L T S E D S A V Y F C A L W F F	D Y W G T G T T V T V S S
#82	E L R S L T S E D S A V Y F C A K T G T G	D Y W G Q G T T L T V S S
#83	E L R S L A S E D S A V Y Y C A R S D W E	D C W G Q G T T L T V S S
#92	K L N S V I T E D T A T Y Y C V R E I Y D G S S G Y F D V W G T G T V T V V S S	D Y W G Q G T T L T V S S
#93	Q L S S L T S E D S A V Y F C C L W Y F	D Y W G Q G T T L T V S S
#99	E L R S L T S E D S A V Y F C A K T G T G	D Y W G Q G T T L T V S S
#104	E L R S L T S E D S A V Y F C A R E G G P	D Y W G Q G T L V T V S A
#105	Q L T S L T S A D T A V Y Y C T T Y V G F	G Y W G Q G T L V T V S A

8/48

## Прямое связывание с S15

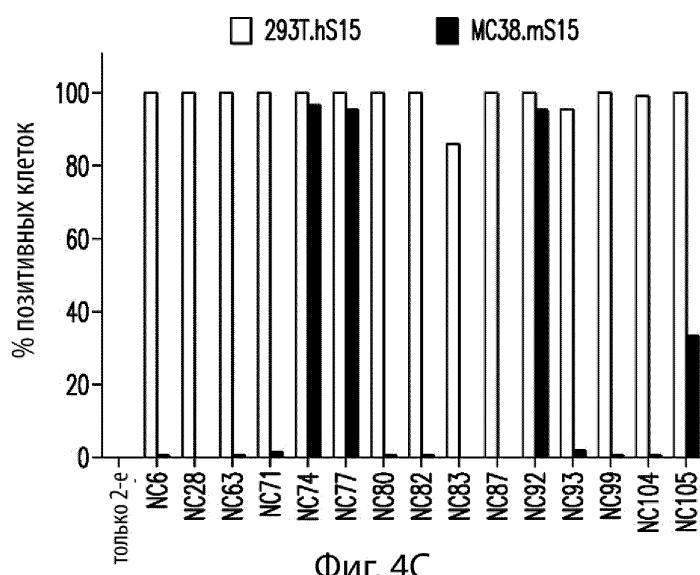


Фиг. 4А

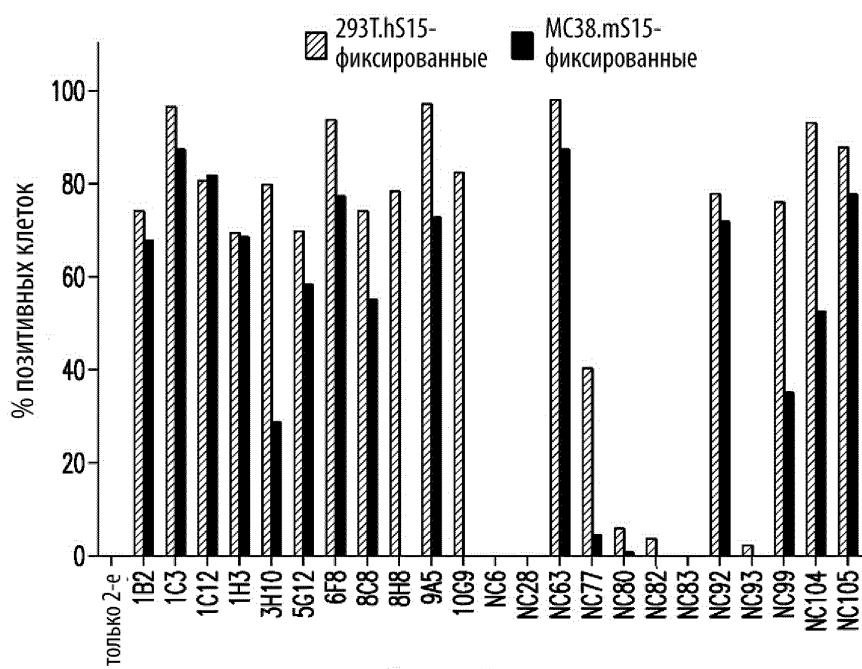


Фиг. 4В

9/48

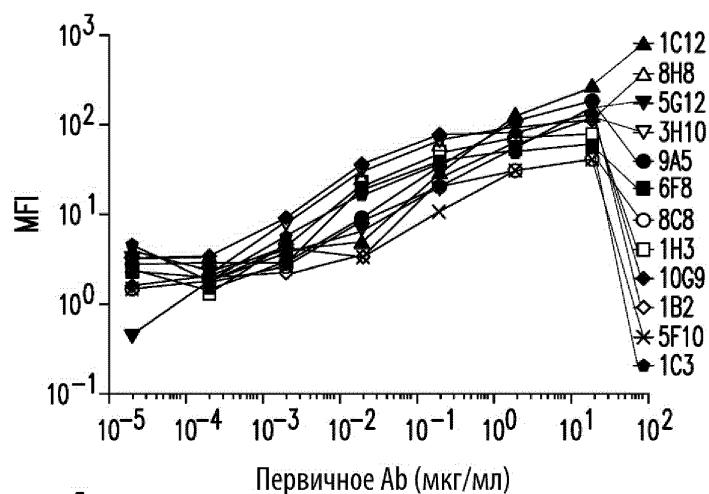


Фиг. 4С

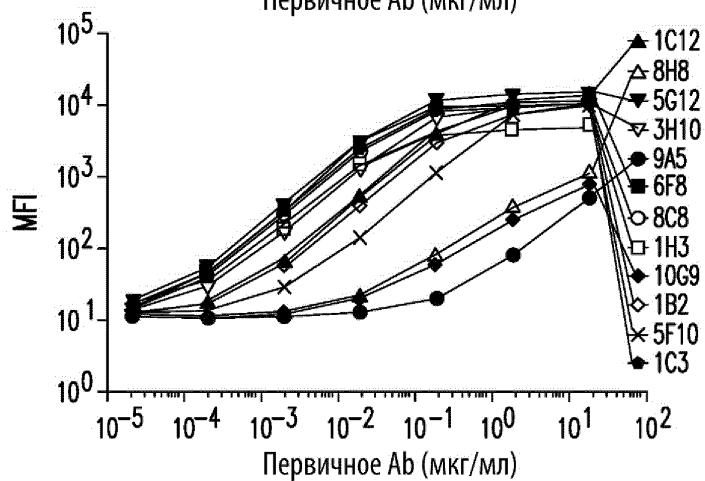


Фиг. 4Д

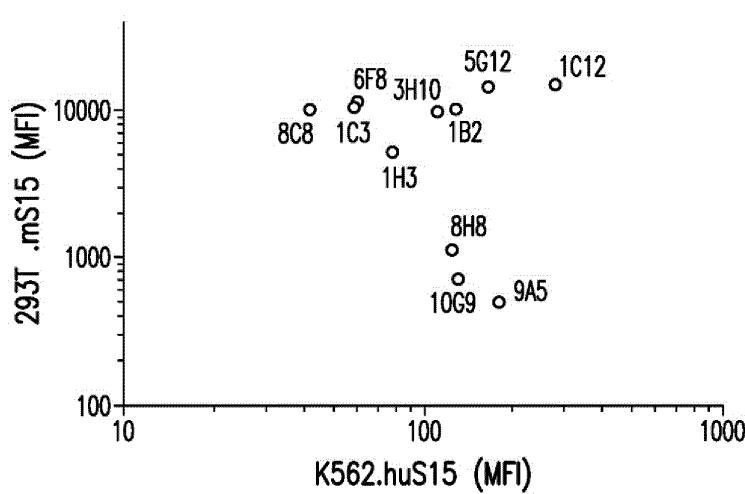
10/48



Фиг. 5А

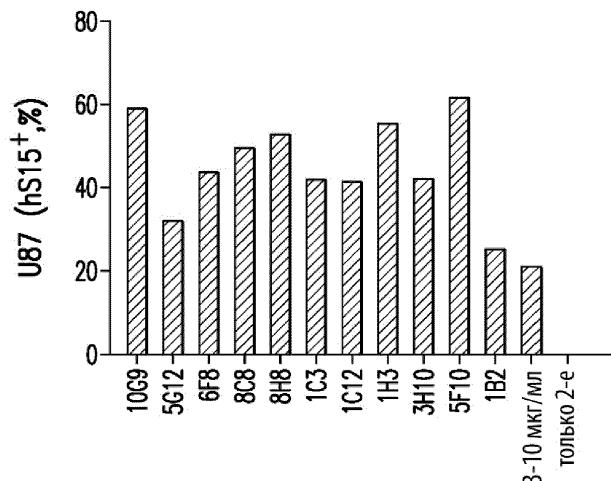


Фиг. 5В

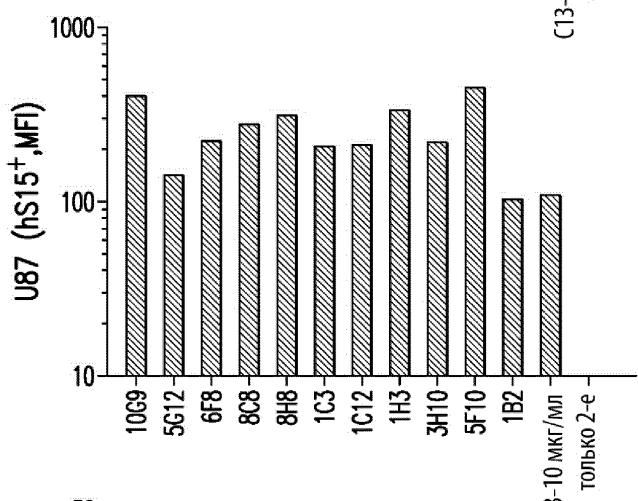


Фиг. 5С

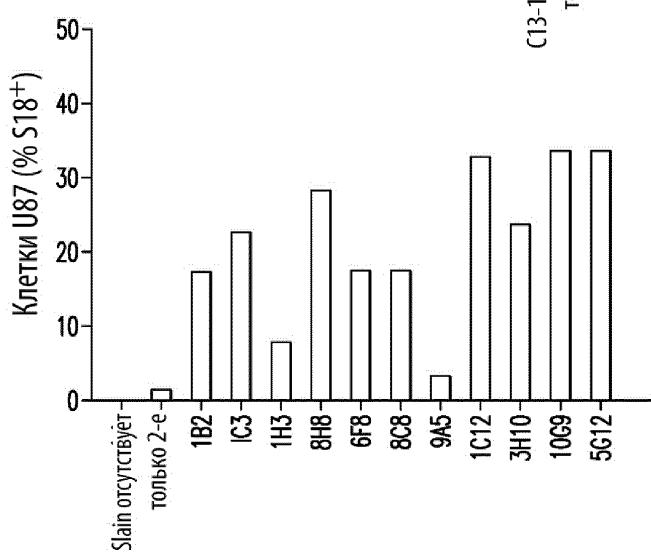
11/48



Фиг. 6А



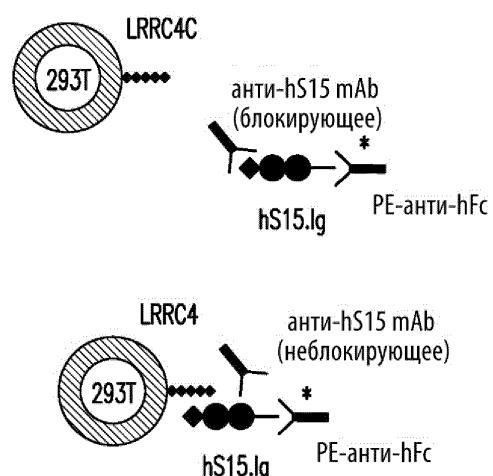
Фиг. 6В



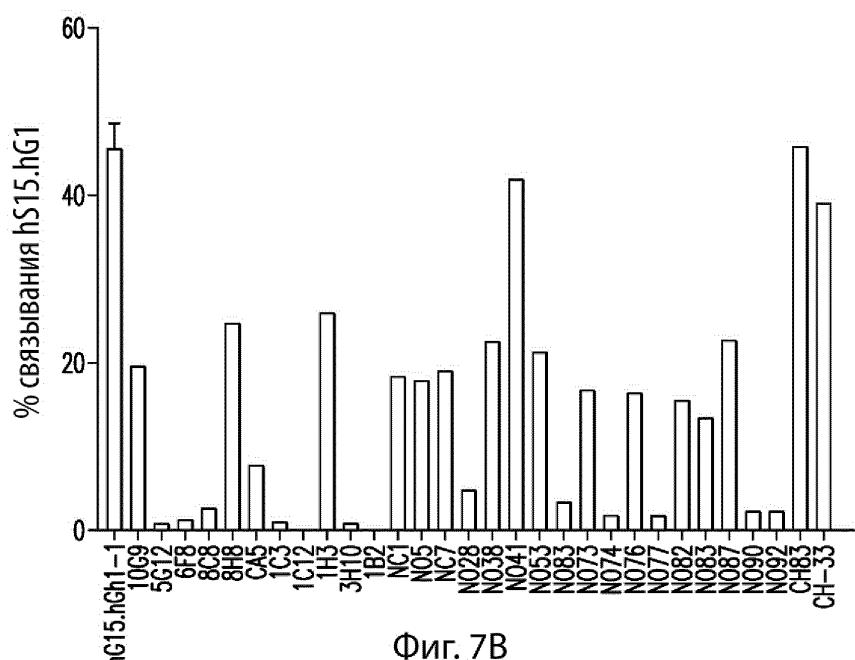
Фиг. 6С

12/48

## Анализ блокирований

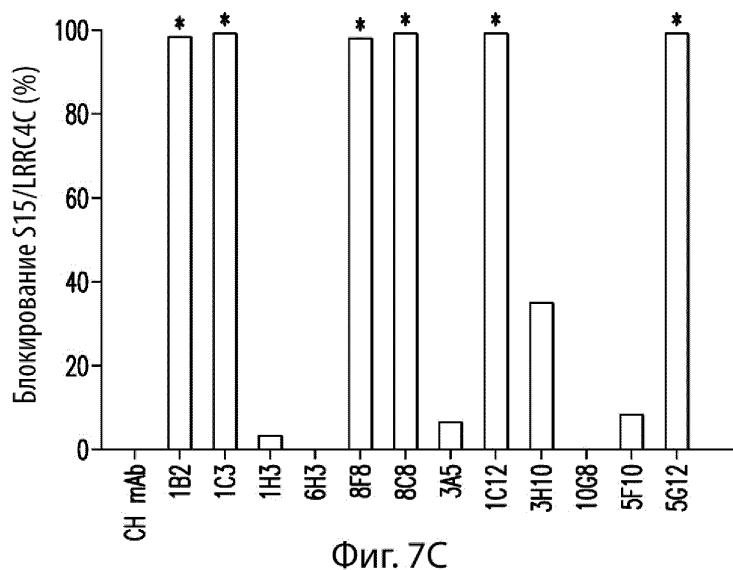


Фиг. 7А

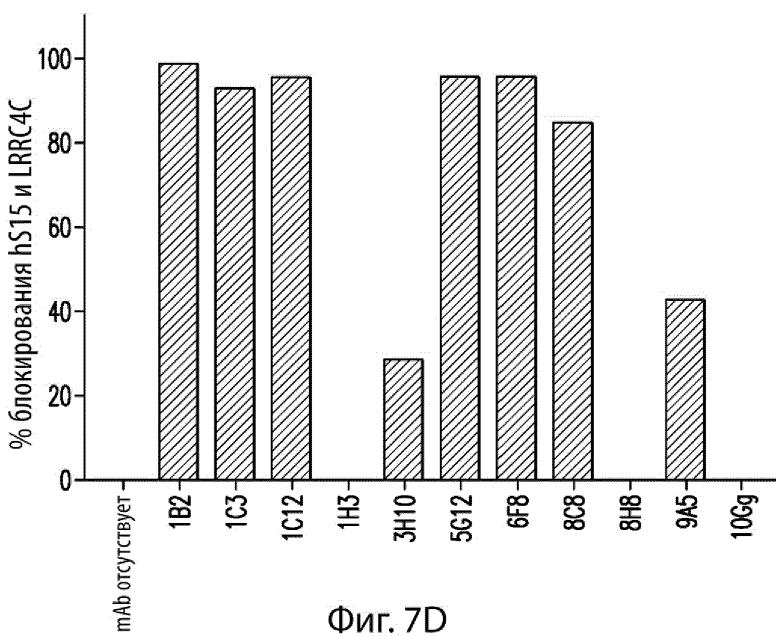


Фиг. 7В

13/48

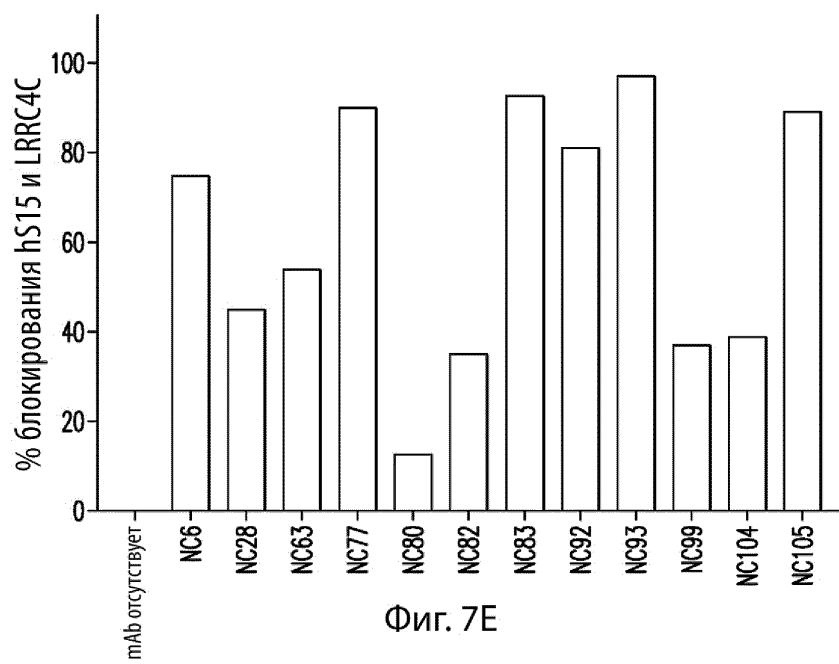


Фиг. 7С

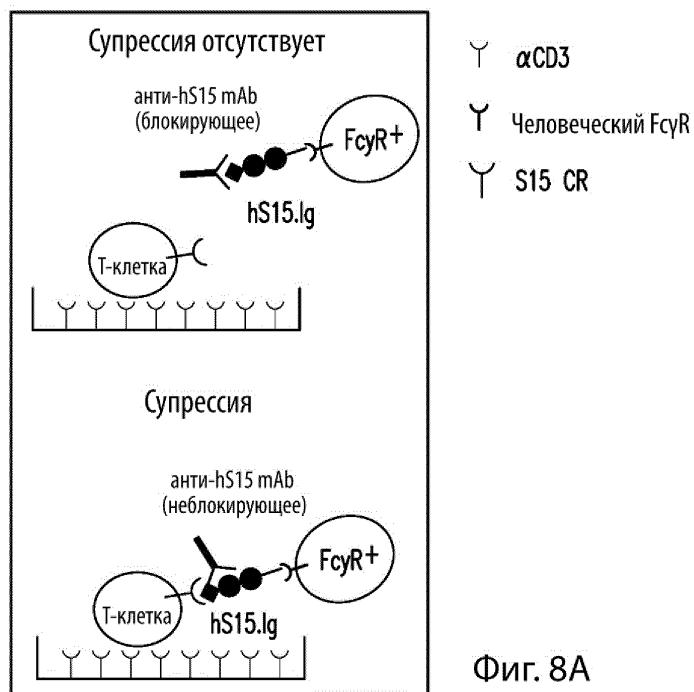


Фиг. 7Д

14/48

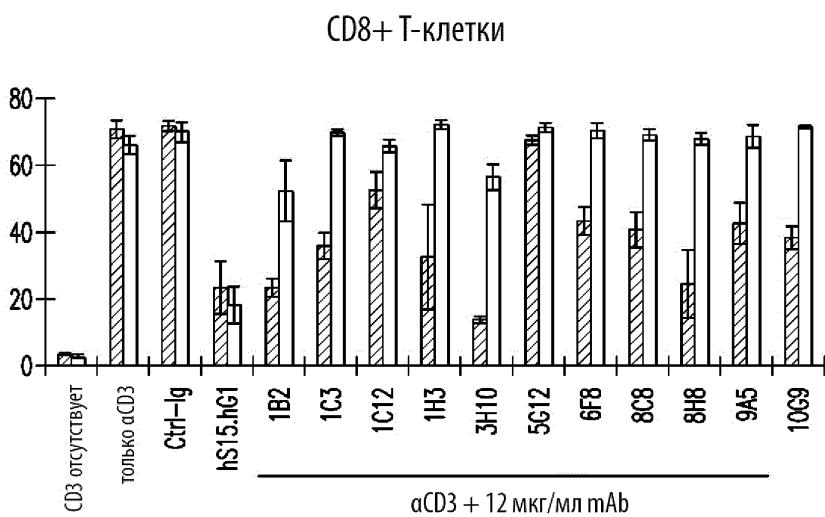


Фиг. 7Е

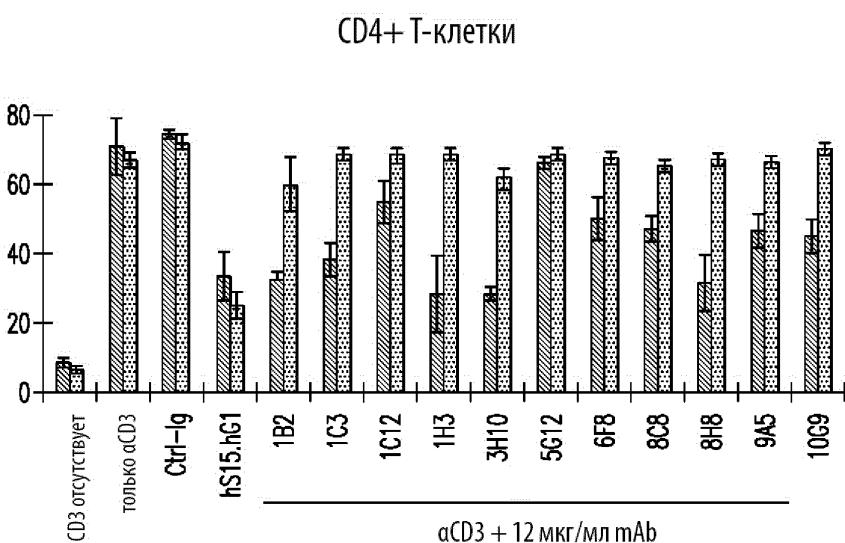


Фиг. 8А

15/48



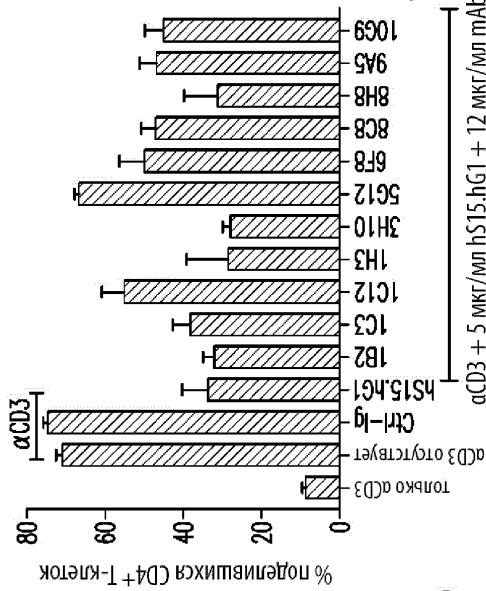
Фиг. 8В



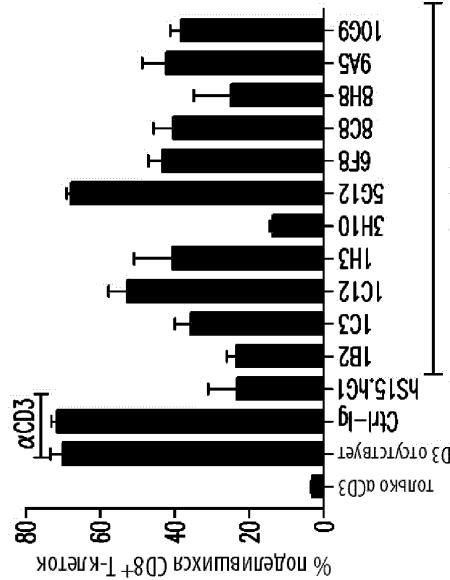
Фиг. 8С

16/48

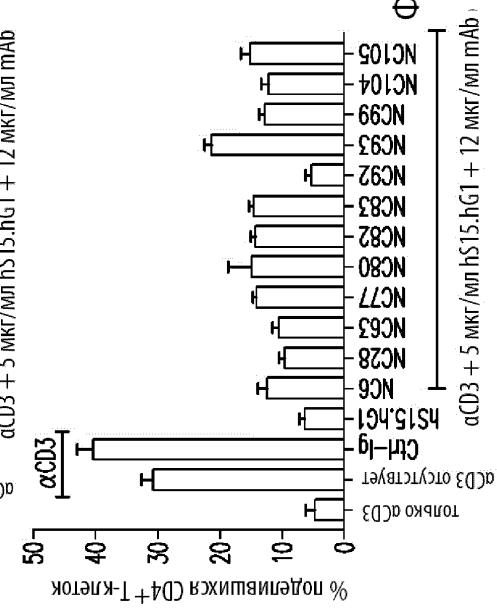
Фиг. 8Е



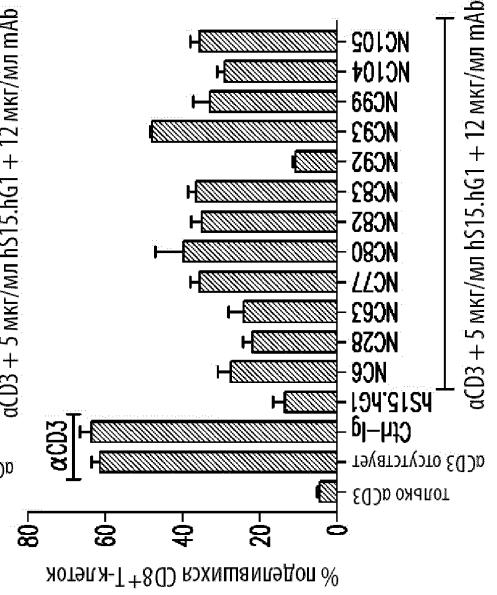
Фиг. 8Д



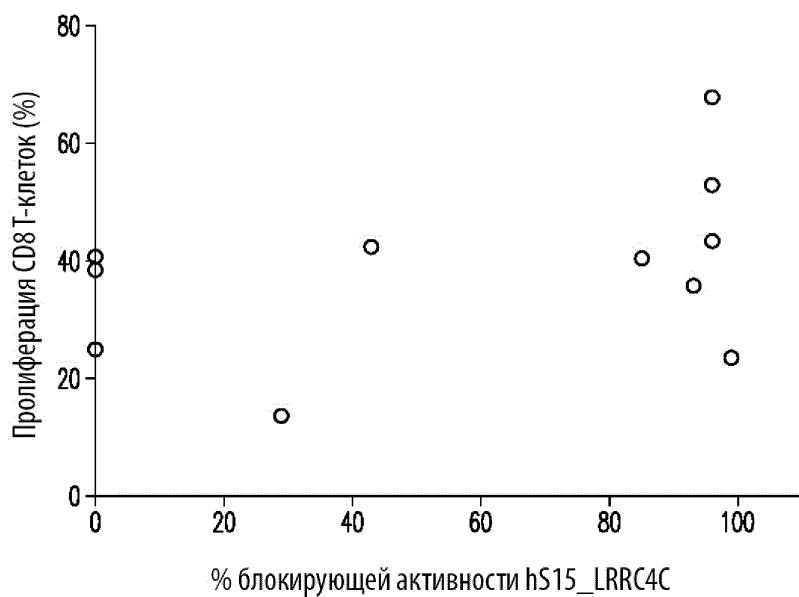
Фиг. 8Г



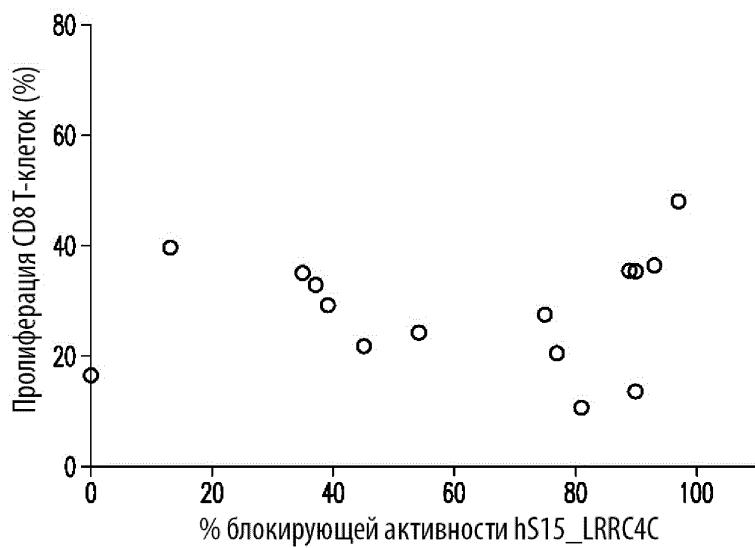
Фиг. 8Е



17/48

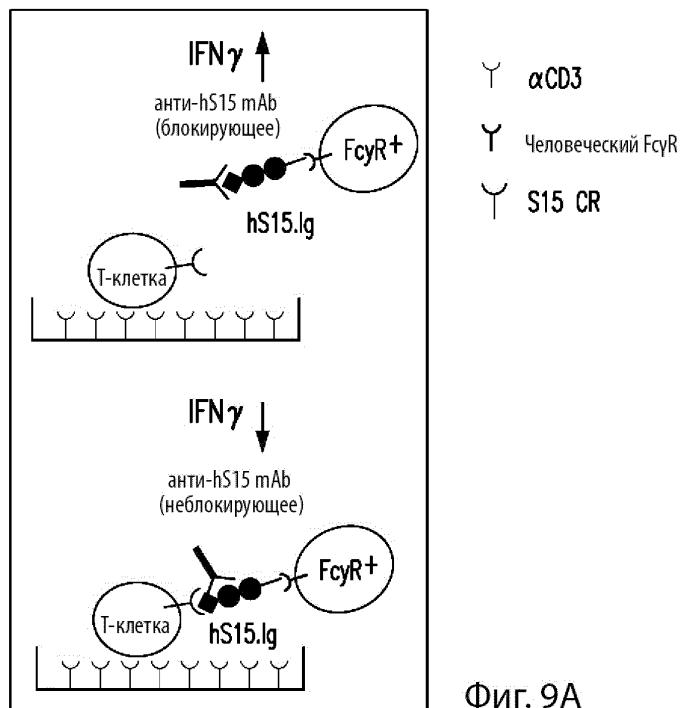


Фиг. 8Н

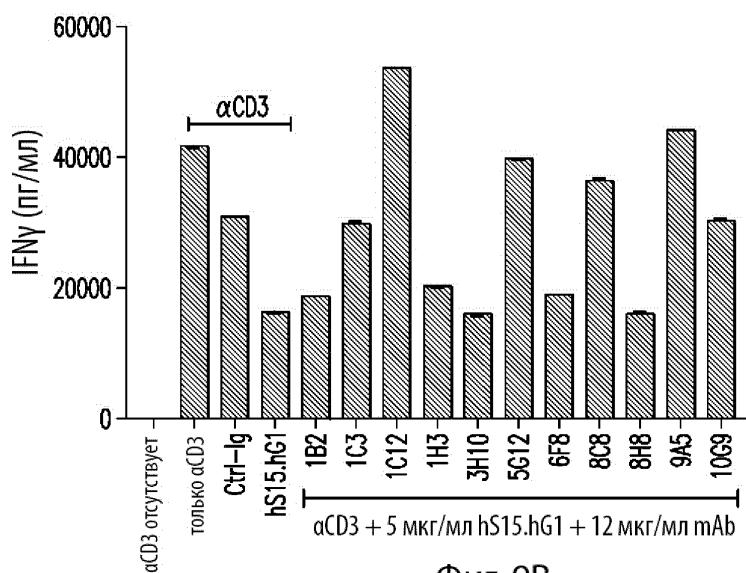


Фиг. 8I

18/48

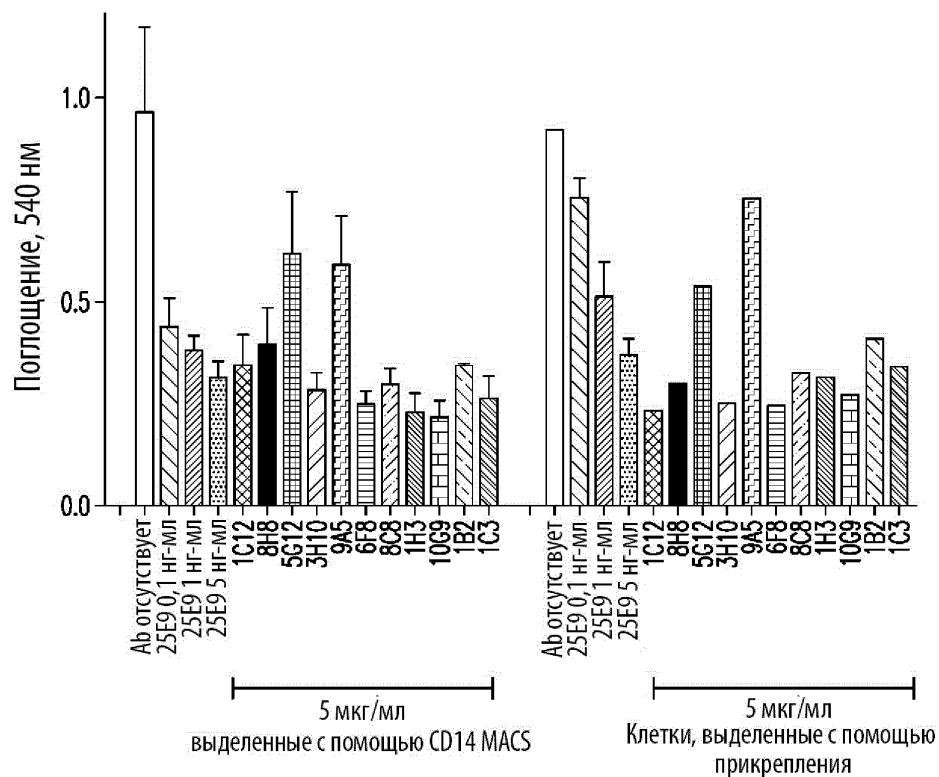


Фиг. 9А

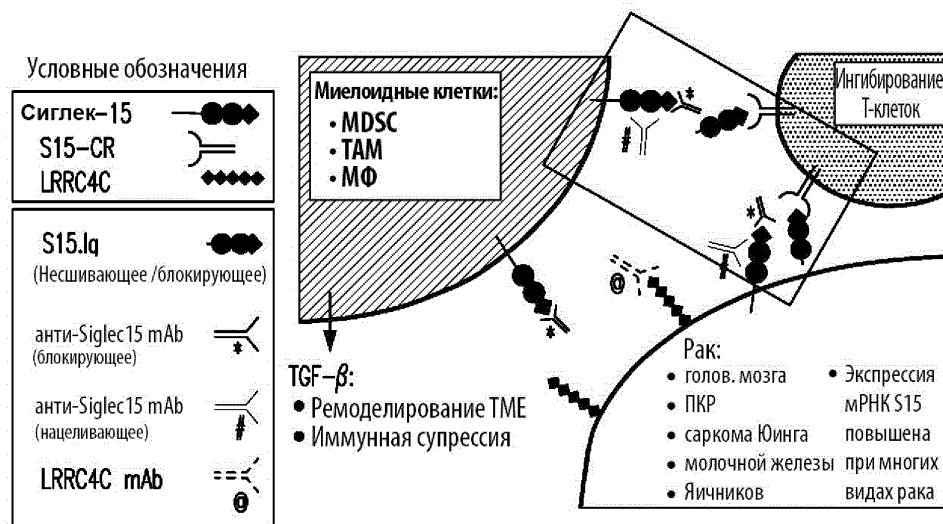


Фиг. 9В

19/48

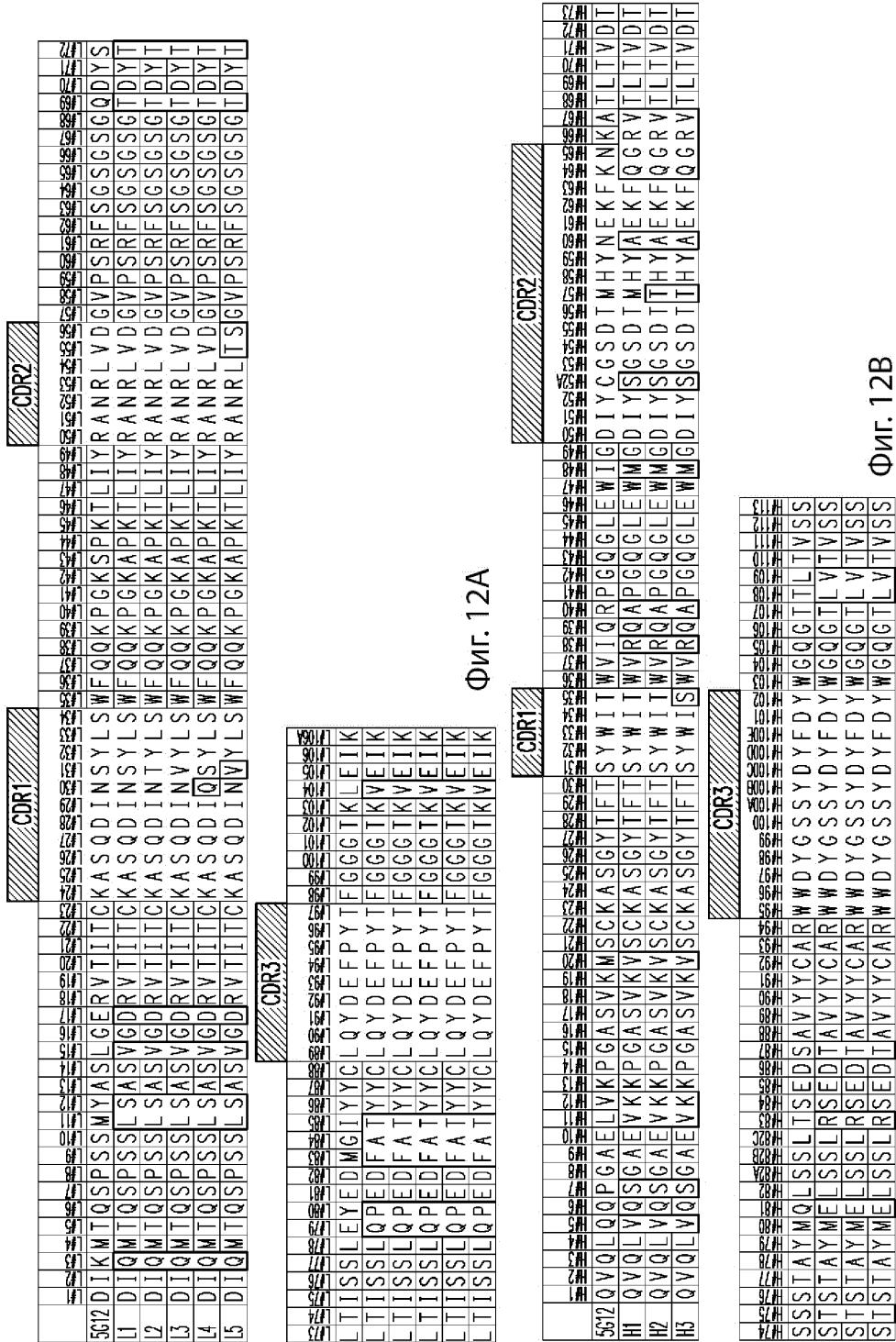


Фиг. 10



Фиг. 11

20/48



Фиг. 12А

Фиг. 12В

21/48

Выравнивание: глобальное выравнивание белка по отношению к эталонной молекуле  
Параметры: оценочная матрица: BLOSUM 62

Эталонная молекула: 5G12\_VL, участок 1-107

Число последовательностей для выравнивания: 6

Общая длина выравниваемой последовательности с промежутками: 107 аминокислот

Параметры: предельное значение уровня значимости сходства: ≥60%

Обобщение процентных сходств:

Эт.: 1	<b>5G12_VL</b>	от 1 до 107	(107 ак)	—
2:	<b>5G12_VL1</b>	от 1 до 107	(107 ак)	<b>86%</b>
3:	<b>5G12_VL2</b>	от 1 до 107	(107 ак)	<b>85%</b>
4:	<b>5G12_VL3</b>	от 1 до 107	(107 ак)	<b>85%</b>
5:	<b>5G12_VL4</b>	от 1 до 107	(107 ак)	<b>85%</b>
6:	<b>5G12_VL5</b>	от 1 до 107	(107 ак)	<b>84%</b>

5G12_VL	1 dikmtqspssmyaslgervtitckasqdinsylswfqqkpgksptliyranrlvdgvps
5G12_VL1	1 diqmtqspsslsasvgdrvtitckasqdinsylswfqqkpgkapktliyranrlvdgvps
5G12_VL2	1 diqmtqspsslsasvgdrvtitckasqdintylswfqqkpgkapktliyranrlvdgvps
5G12_VL3	1 diqmtqspsslsasvgdrvtitckasqdinylswfqqkpgkapktliyranrlvdgvps
5G12_VL4	1 diqmtqspsslsasvgdrvtitckasqdinqsylswfqqkpgkapktliyranrlvdgvps
5G12_VL5	1 diqmtqspsslsasvgdrvtitckasqdinqylswfqqkpgkapktliyranrltsgvps

5G12_VL	61 rfsgsgsgqdysltissleyedmgiiyyclqydefpytfgggtkleik
5G12_VL1	61 rfsgsgsgtdytltisslqpedfatyyclqydefpytfgggtkveik
5G12_VL2	61 rfsgsgsgtdytltisslqpedfatyyclqydefpytfgggtkveik
5G12_VL3	61 rfsgsgsgtdytltisslqpedfatyyclqydefpytfgggtkveik
5G12_VL4	61 rfsgsgsgtdytltisslqpedfatyyclqydefpytfgggtkveik
5G12_VL5	61 rfsgsgsgtdytltisslqpedfatyyclqydefpytfgggtkveik

Фиг. 13А

22/48

Выравнивание: глобальное выравнивание белка по отношению к эталонной молекуле  
Параметры: оценочная матрица: BLOSUM 62

Эталонная молекула: 5G12\_VL, участок 1-122

Число последовательностей для выравнивания: 4

Общая длина выравниваемой последовательности с промежутками: 122 аминокислоты

Параметры: предельное значение уровня значимости сходства: ≥60%

Обобщение процентных сходств:

Эт.: 1: 5G12_VH	от 1 до 122	(122 ак)	—
2: 5G12_VH1	от 1 до 122	(122 ак)	<b>83%</b>
3: 5G12_VH2	от 1 до 122	(122 ак)	<b>82%</b>
4: 5G12_VH3	от 1 до 122	(122 ак)	<b>81%</b>

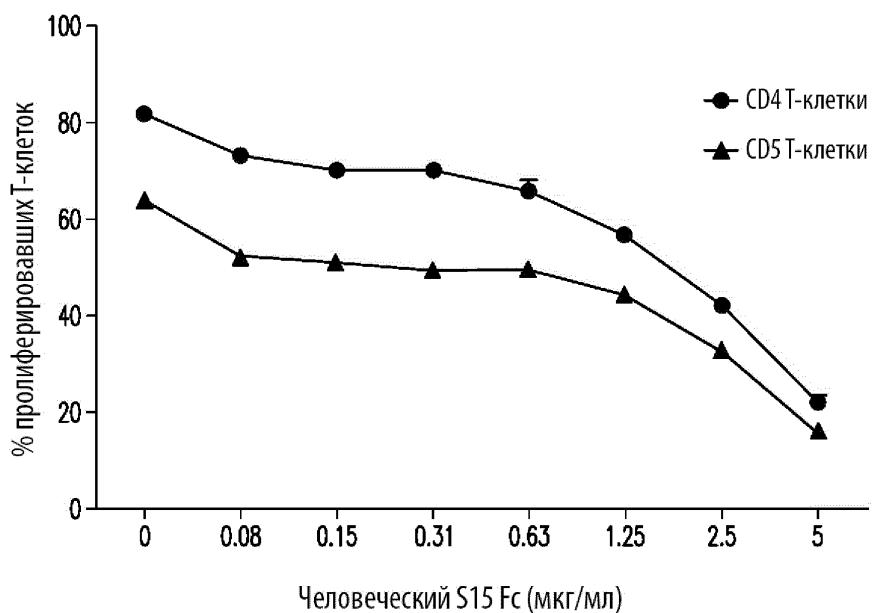
5G12_VH	1 qvqlqqpgaelvkkpgasvkmsckasgytftsywitwvjqapggglewmgdiycgsdtthy
5G12_VH1	1 qvqlvqsgaevekkpgasvkvsckasgytftsywitwvjqapggglewmgdiygsdtthy
5G12_VH2	1 qvqlvqsgaevekkpgasvkvsckasgytftsywitwvjqapggglewmgdiygsdtthy
5G12_VH3	1 qvqlvqsgaevekkpgasvkvsckasgytftsywivswwjqapggglewmgdiygsdtthy

5G12_VH	61 nekfkknkotltvdtsstayoutmqssltsedtavyyccarwwdygssydyfdywgggttltv
5G12_VH1	61 dekfqqrvltvdtsstayoutmelsslrsedtavyyccarwwdygssydyfdywgggttvtv
5G12_VH2	61 dekfqqrvltvdtsstayoutmelsslrsedtavyyccarwwdygssydyfdywgggttvtv
5G12_VH3	61 dekfqqrvltvdtsstayoutmelsslrsedtavyyccarwwdygssydyfdywgggttvtv

5G12_VH	121 ss
5G12_VH1	121 ss
5G12_VH2	121 ss
5G12_VH3	121 ss

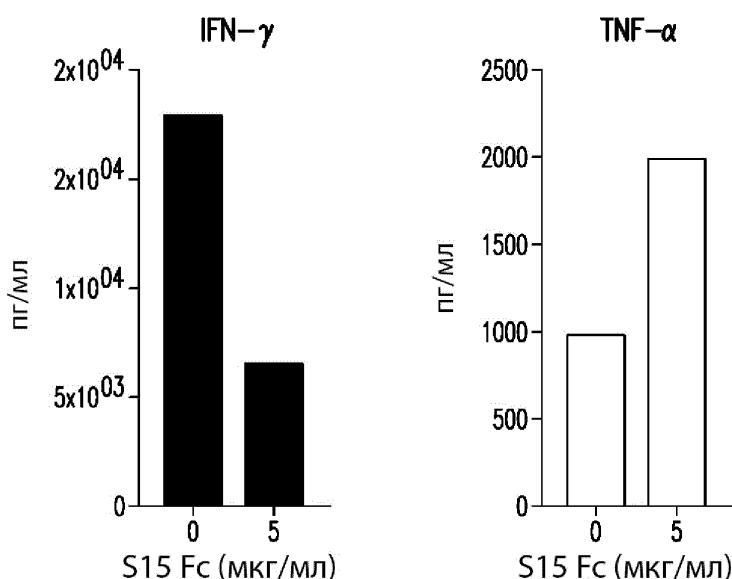
Фиг. 13В

23/48



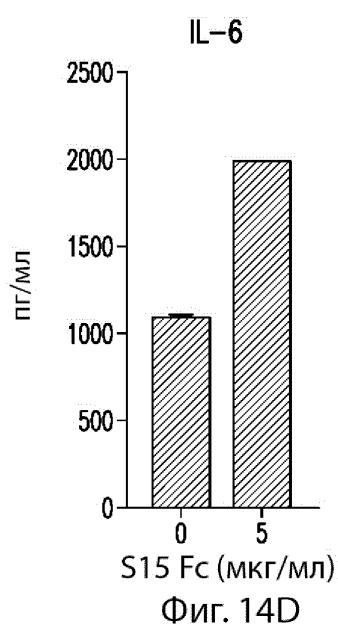
Фиг. 14А

24/48



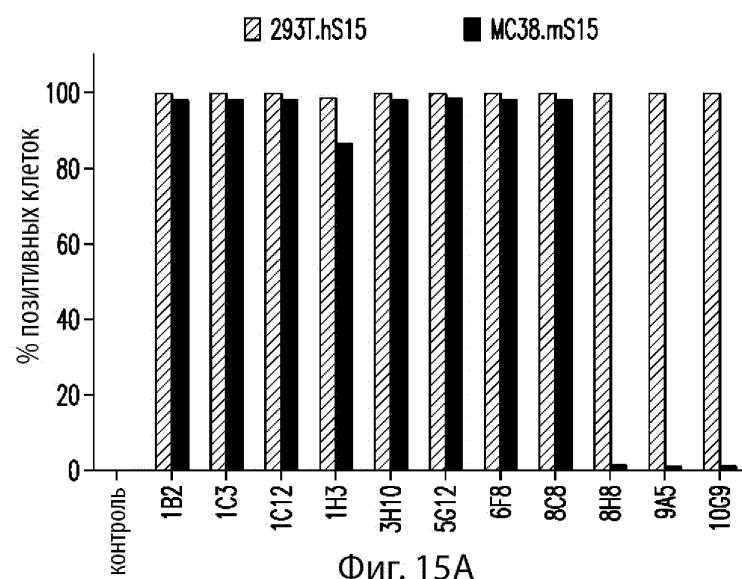
Фиг. 14В

Фиг. 14С

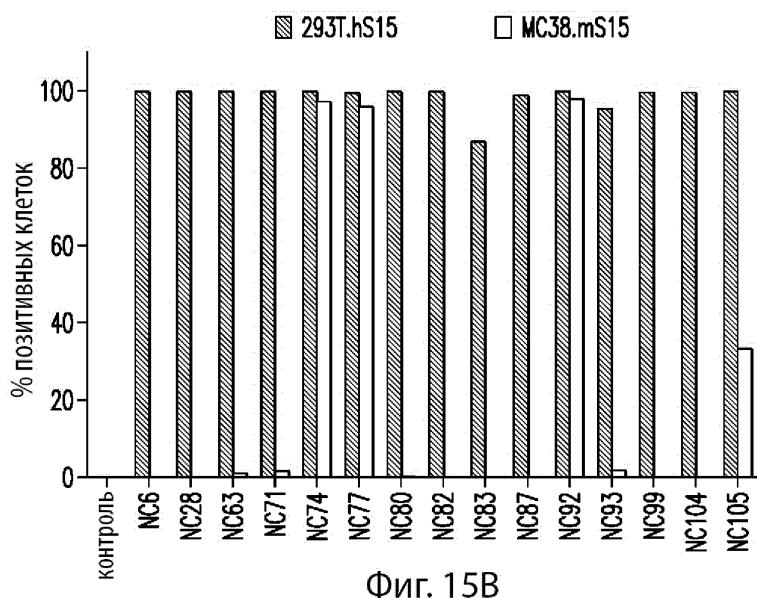


Фиг. 14Д

25/48

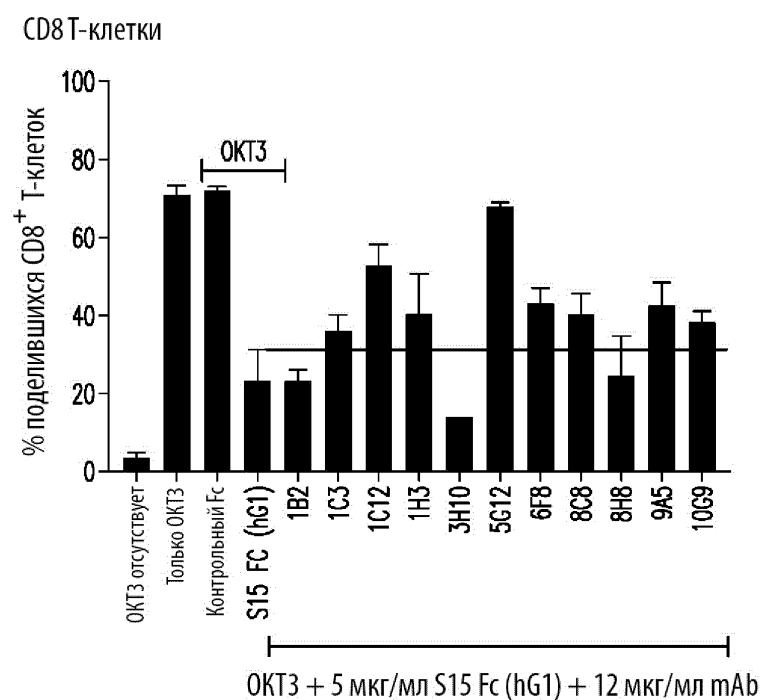


Фиг. 15А



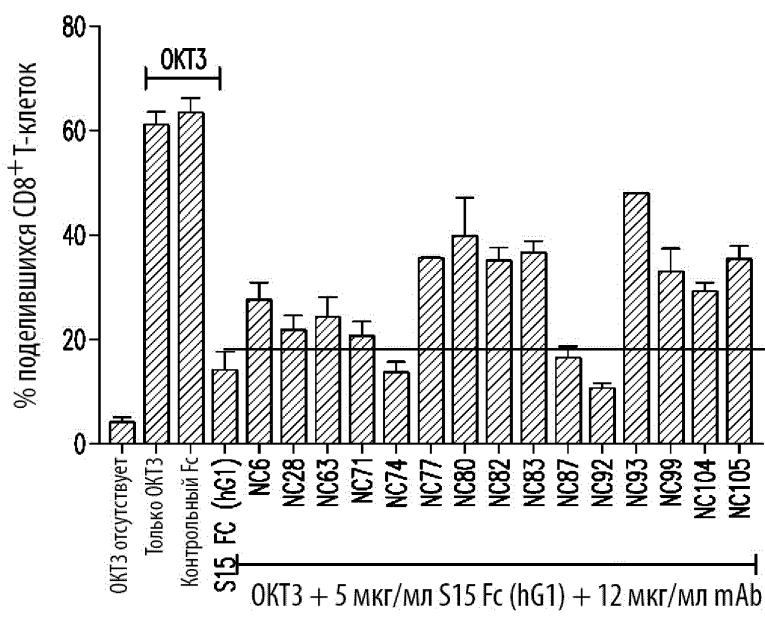
Фиг. 15В

26/48

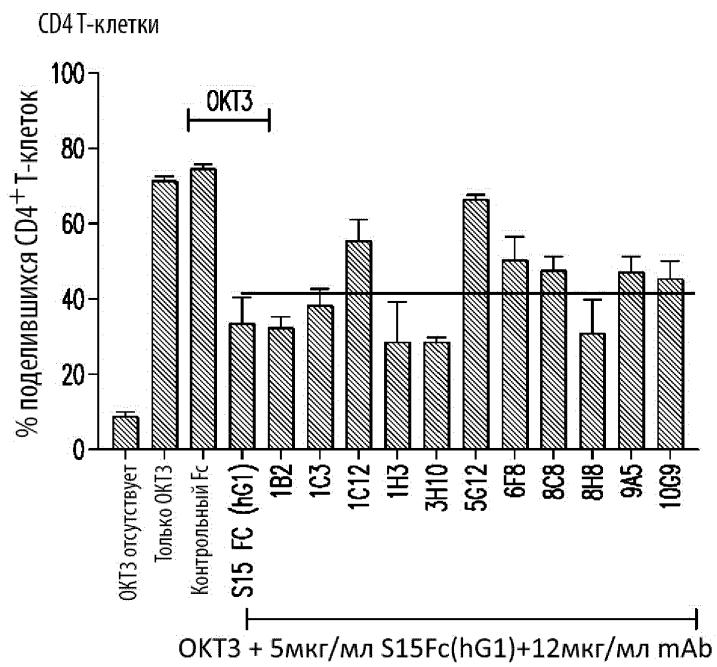


Фиг. 16А

27/48

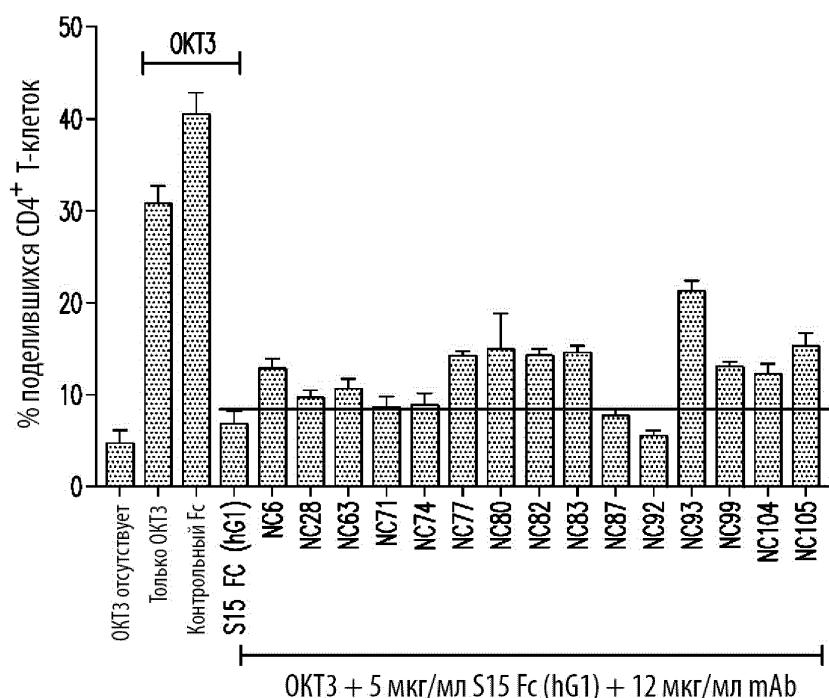


Фиг. 16В



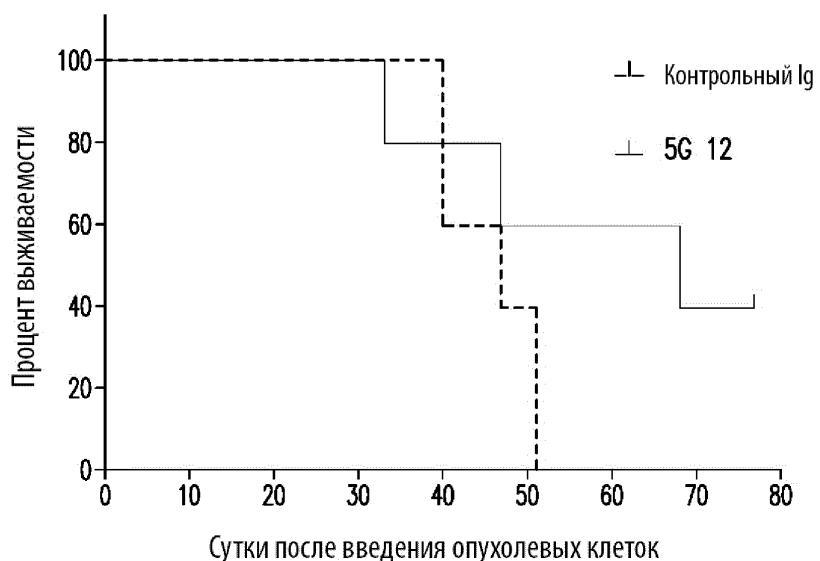
Фиг. 16С

28/48

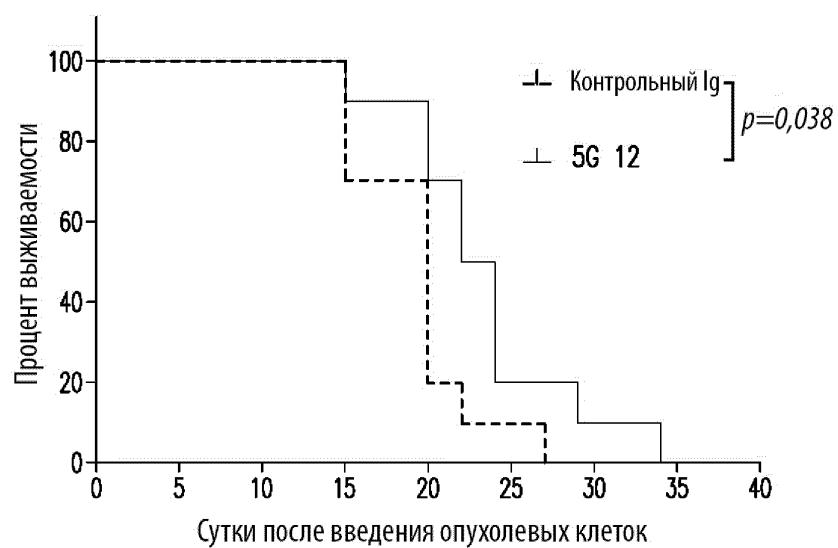


Фиг. 16D

29/48

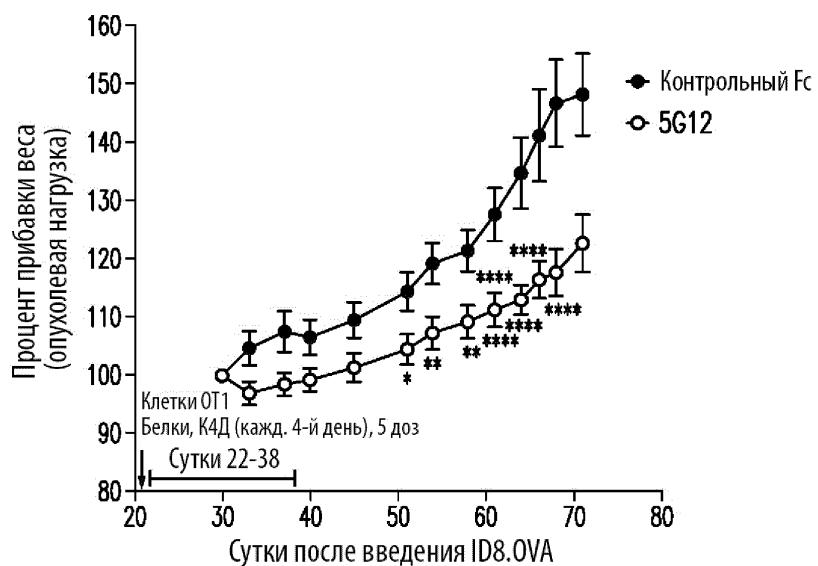


Фиг. 17А

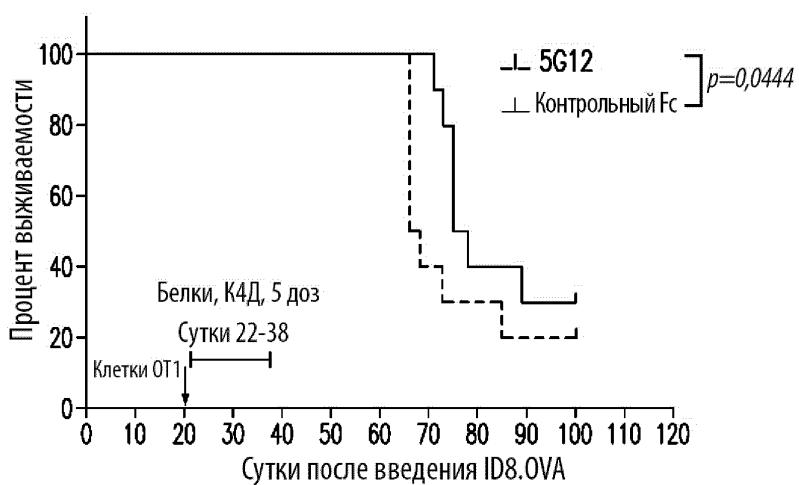


Фиг. 17В

30/48

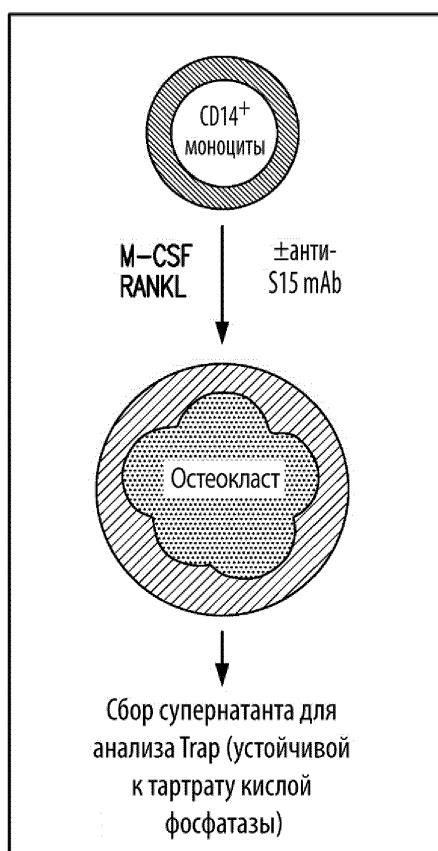


Фиг. 17С

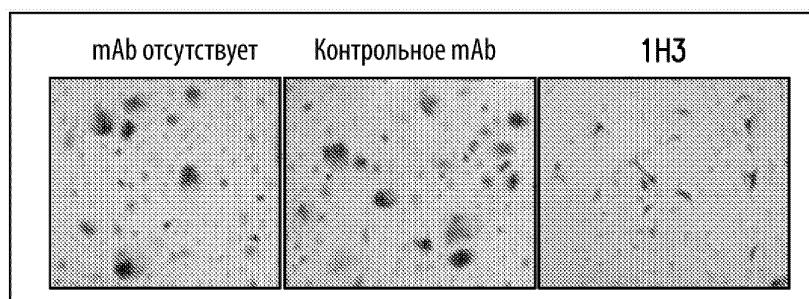


Фиг. 18

31/48

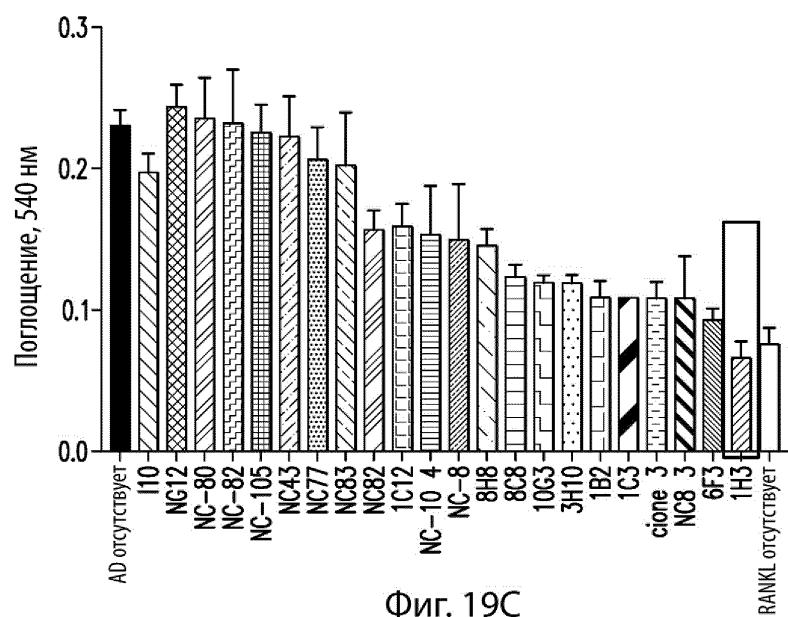


Фиг. 19А

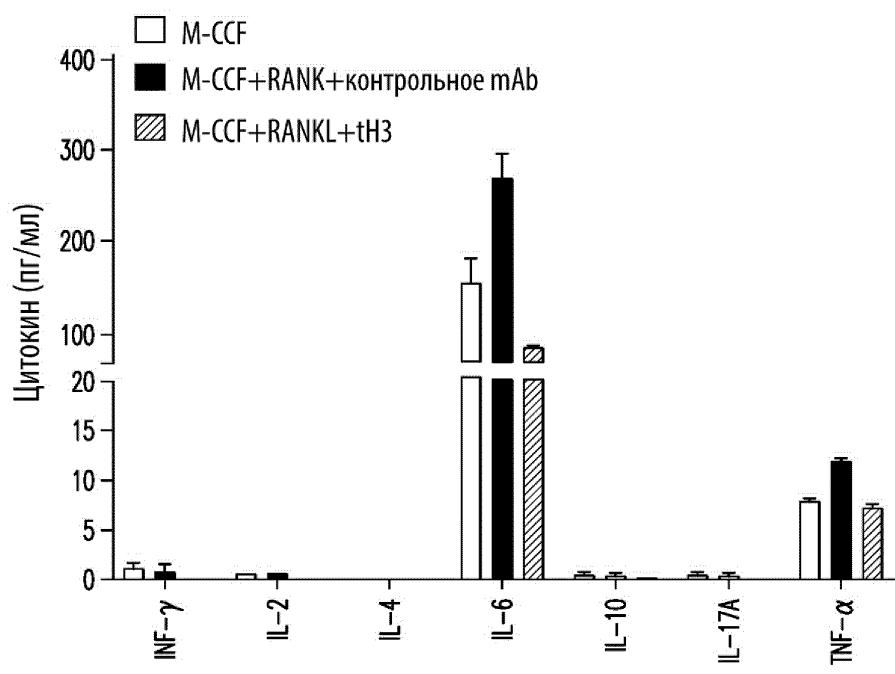


Фиг. 19В

32/48

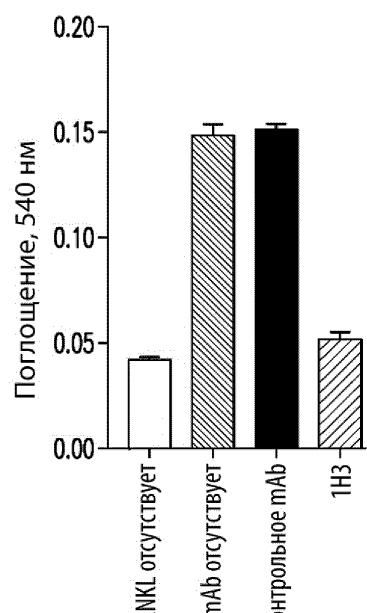


Фиг. 19С



Фиг. 20

33/48



Фиг. 21

34/48

Фиг. 22

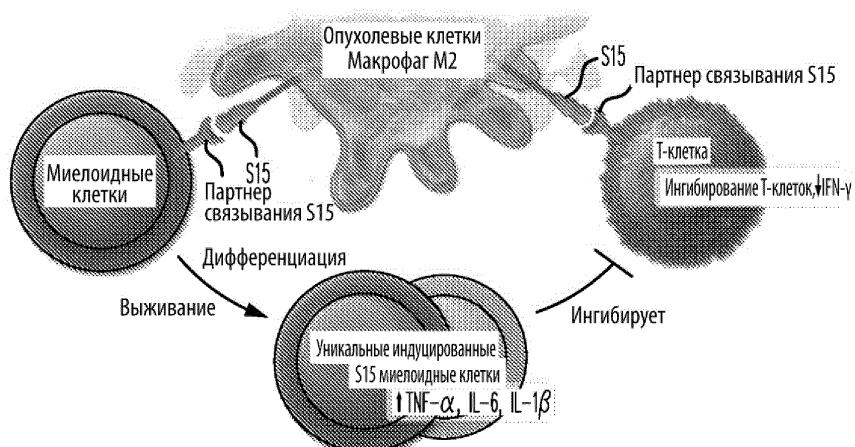
35/48

		CDR1			CDR2		CDR3	
Parent	Q V Q L K E S G P G L V A P S Q O S L S I T C T V S C F S L S N Y C V H W V R Q P P G K G L E W L V	H#49						
Vh1	Q V Q L Q E S G P G L V K P S E T L S L T C T V S C F S L S N Y C V H W V R Q P P G K G L E W L V	H#48						
Vh2	Q V Q L Q E S G P G L V K P S E T L S L T C T V S C F S L S N Y C V H W V R Q P P G K G L E W L V	H#47						
Vh3	Q V Q L Q E S G P G L V K P S E T L S L T C T V S C F S L S N Y C V H W V R Q P P G K G L E W L V	H#46						
Vh4	Q V Q L Q E S G P G L V K P S E T L S L T C T V S C F S L S N Y C V H W V R Q P P G K G L E W L V	H#45						
		H#44						
		H#43						
		H#42						
		H#41						
		H#40						
		H#39						
		H#38						
		H#37						
		H#36						
		H#35						
		H#34						
		H#33						
		H#32						
		H#31						
		H#30						
		H#29						
		H#28						
		H#27						
		H#26						
		H#25						
		H#24						
		H#23						
		H#22						
		H#21						
		H#20						
		H#19						
		H#18						
		H#17						
		H#16						
		H#15						
		H#14						
		H#13						
		H#12						
		H#11						
		H#10						
		H#9						
		H#8						
		H#7						
		H#6						
		H#5						
		H#4						
		H#3						
		H#2						
		H#1						
		H#50						
		H#51						
		H#52						
		H#53						
		H#54						
		H#55						
		H#56						
		H#57						
		H#58						
		H#59						
		H#60						
		H#61						
		H#62						
		H#63						
		H#64						
		H#65						
		H#66						
		H#67						
		H#68						
		H#69						
		H#70						
		H#71						
		H#72						
		H#73						
		H#74						
		H#75						
		H#76						
		H#77						
		H#78						
		H#79						
		H#80						
		H#81						
		H#82						
		H#83						
		H#84						
		H#85						
		H#86						
		H#87						
		H#88						
		H#89						
		H#90						
		H#91						
		H#92						
		H#93						
		H#94						
		H#103						
		H#104						
		H#105						
		H#106						
		H#107						
		H#108						
		H#109						
		H#110						
		H#111						
		H#112						

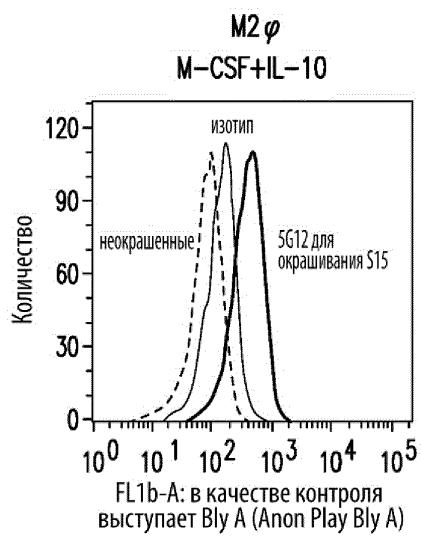
Φιγ. 23

36/48

- Опухолевые клетки или макрофаги M2 ( $\varphi$ ) экспрессируют S15
  - + Опухоли S15 или M2 $\varphi$  могут непосредственно приводить к супрессии T-клеточной функции, снижая IFN- $\gamma$ 
    - + Опухоли S15 или M2 $\varphi$  непосредственно влияют на миелоидные клетки, повышают TNF- $\alpha$ , IL-6 и IL-1 $\beta$

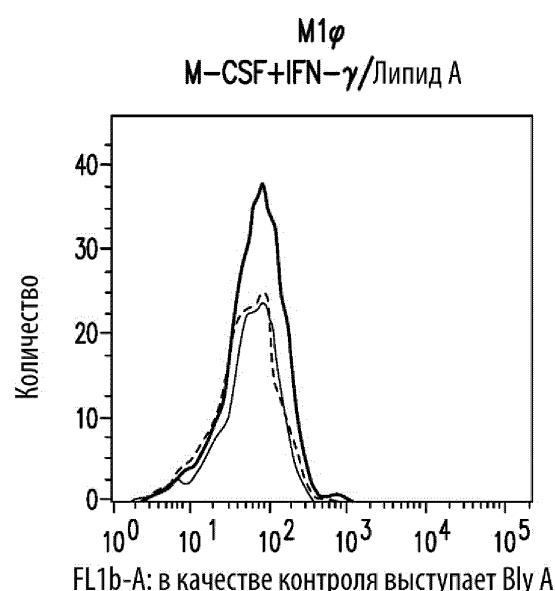


Фиг. 24

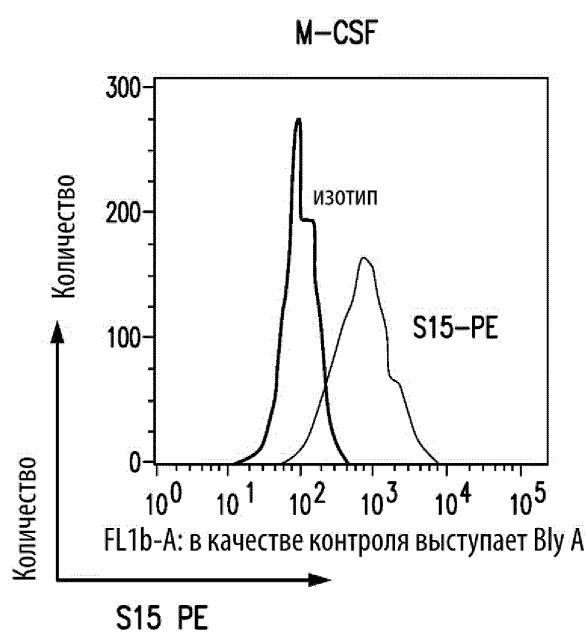


Фиг. 25A

37/48

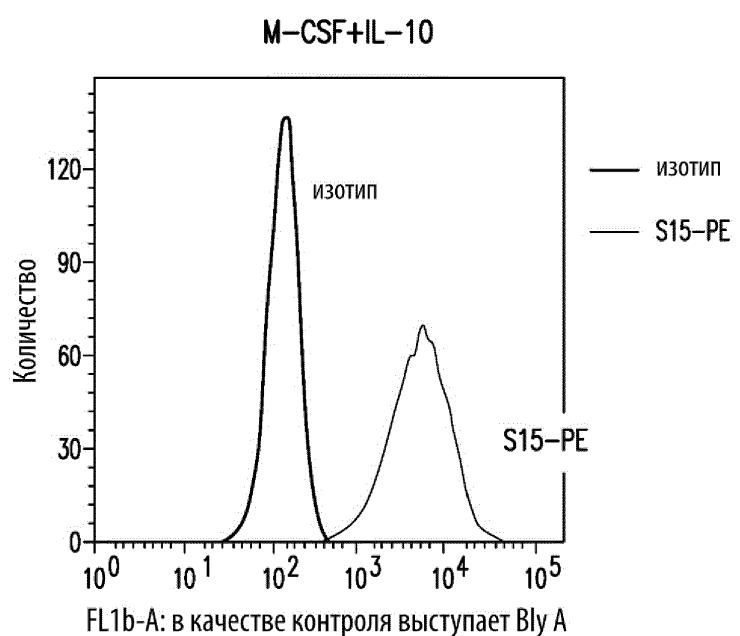


Фиг. 25В

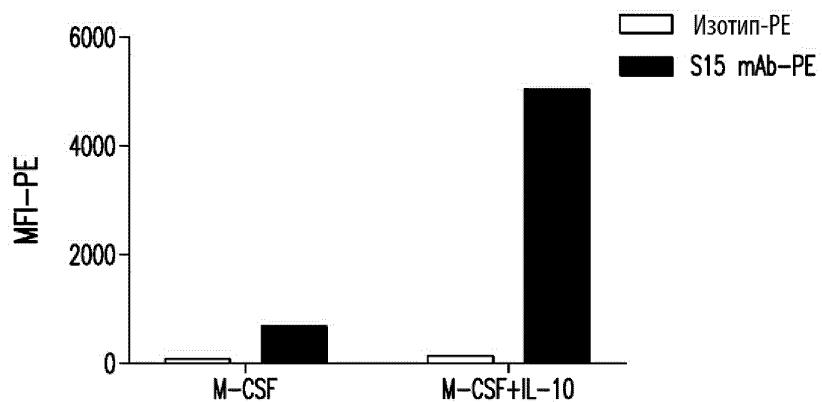


Фиг. 25С

38/48

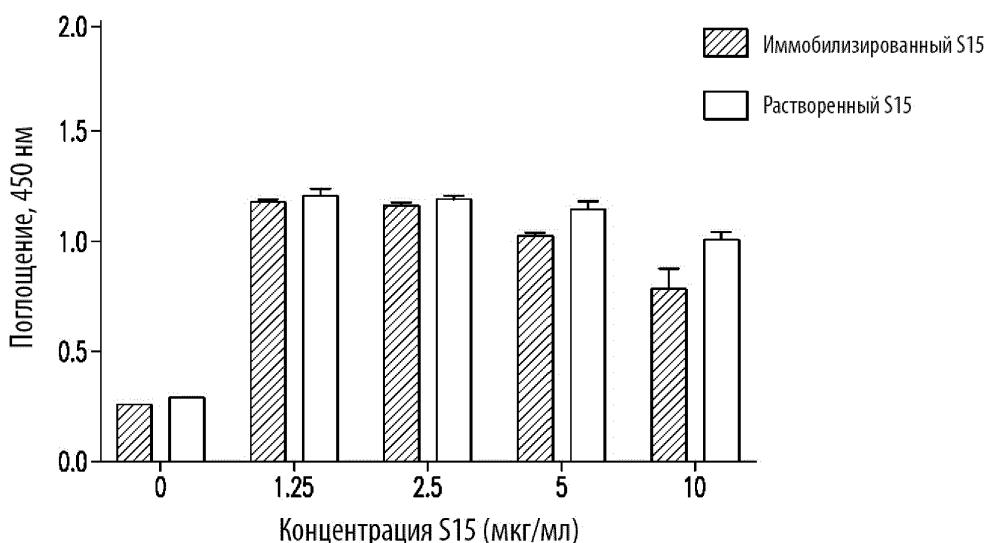


Фиг. 25D

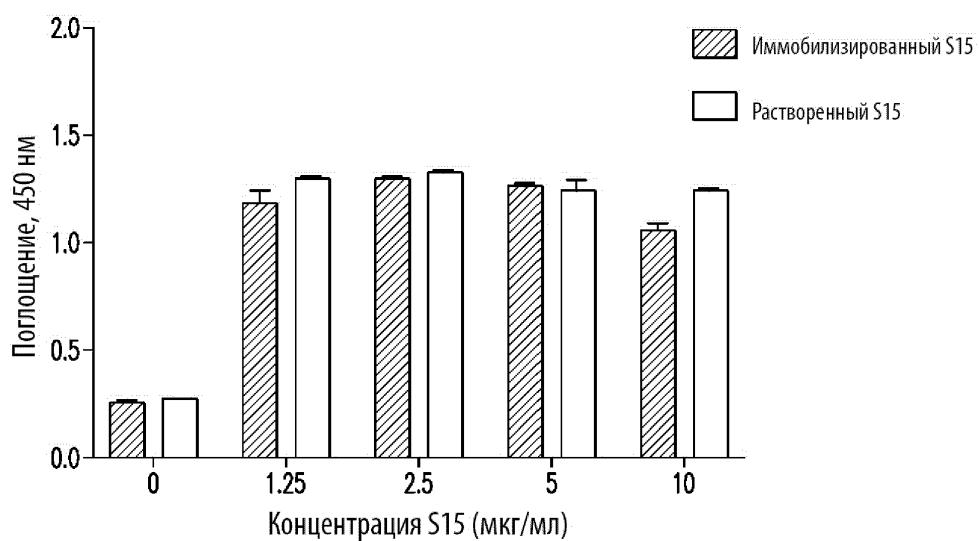


Фиг. 25E

39/48

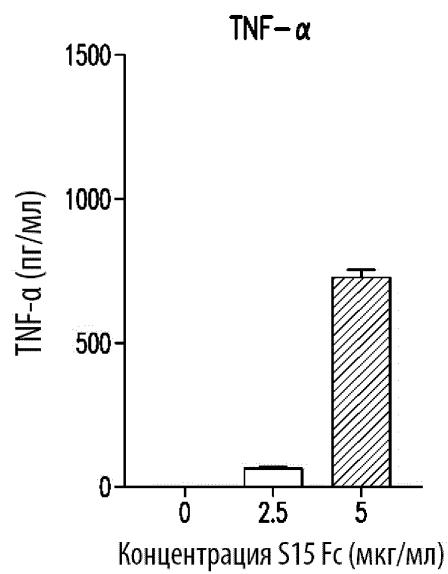


Фиг. 26А

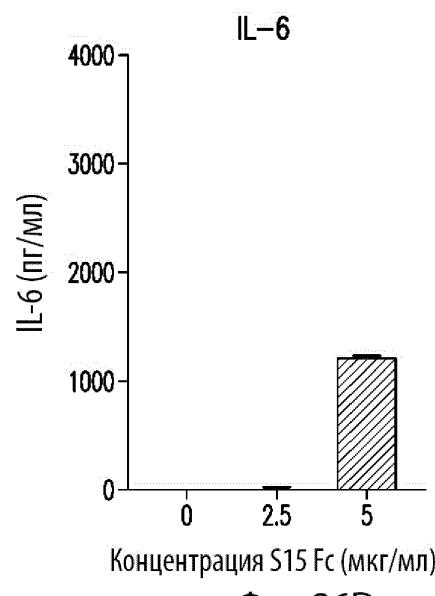


Фиг. 26В

40/48

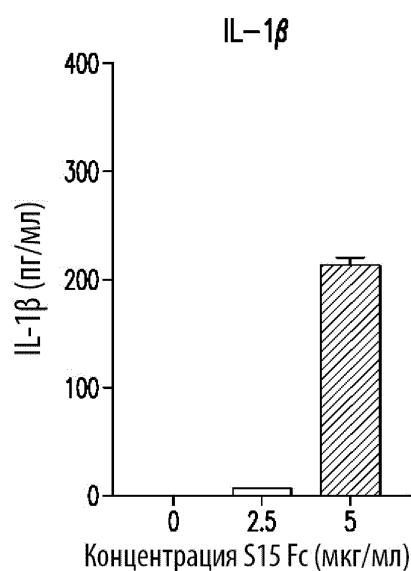


Фиг. 26С

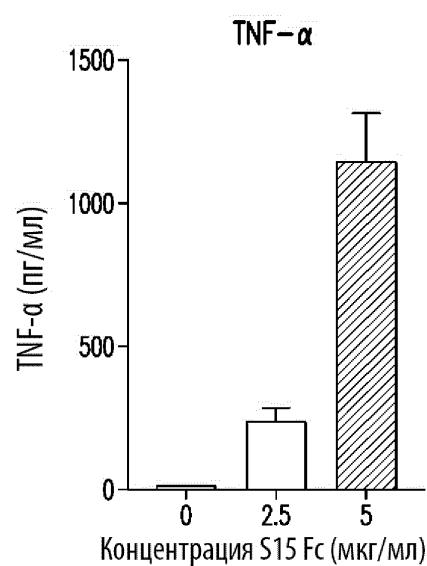


Фиг. 26Д

41/48

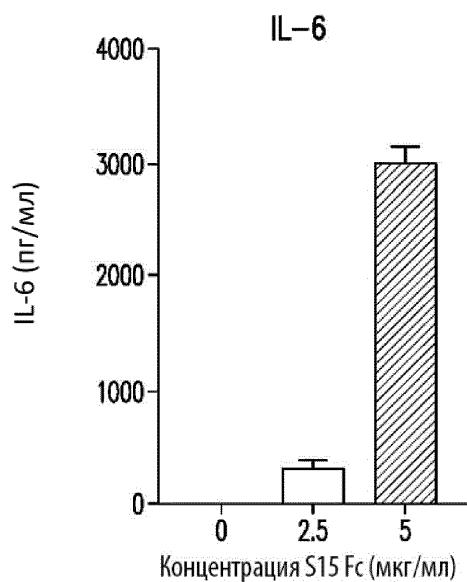


Фиг. 26Е

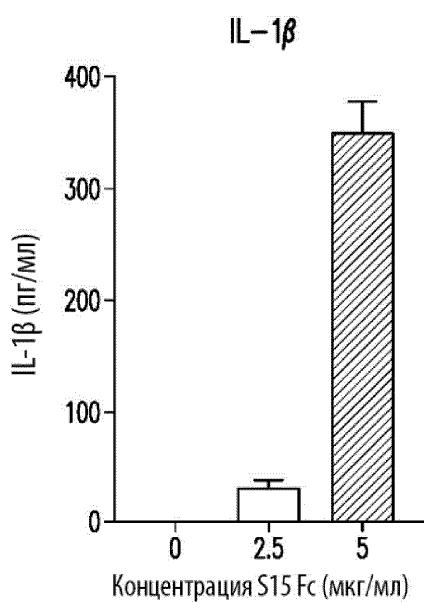


Фиг. 26F

42/48

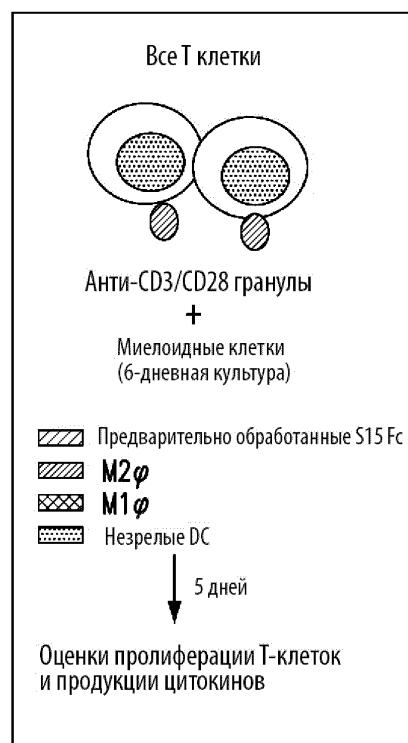


Фиг. 26G

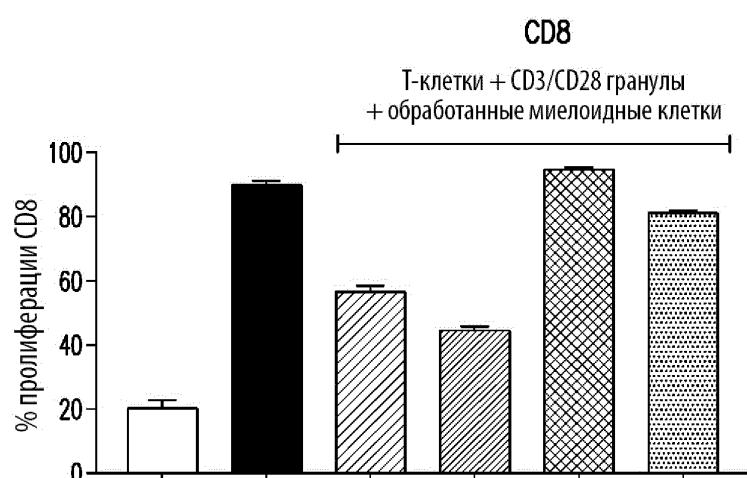


Фиг. 26H

43/48

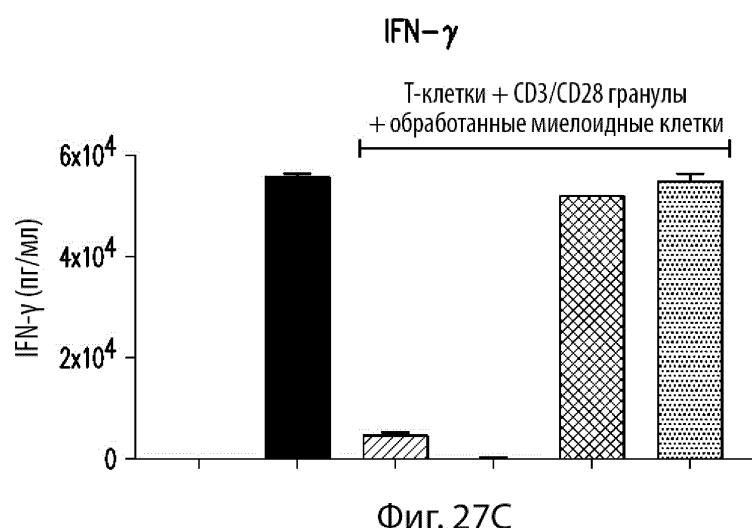


Фиг. 27А

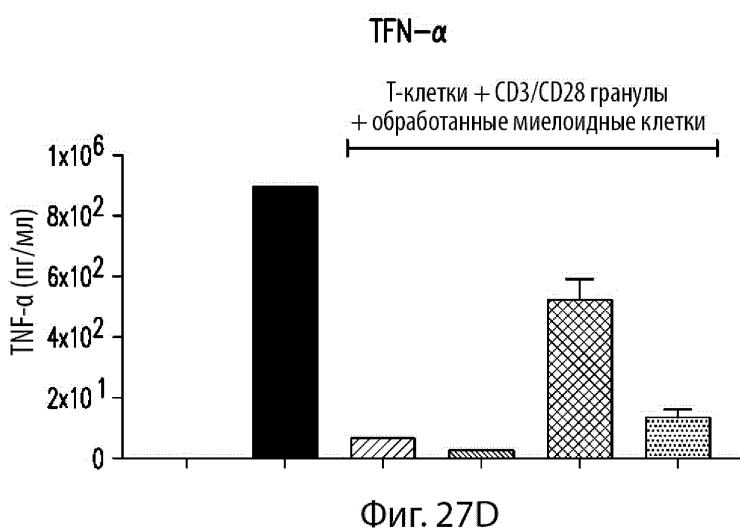


Фиг. 27В

44/48

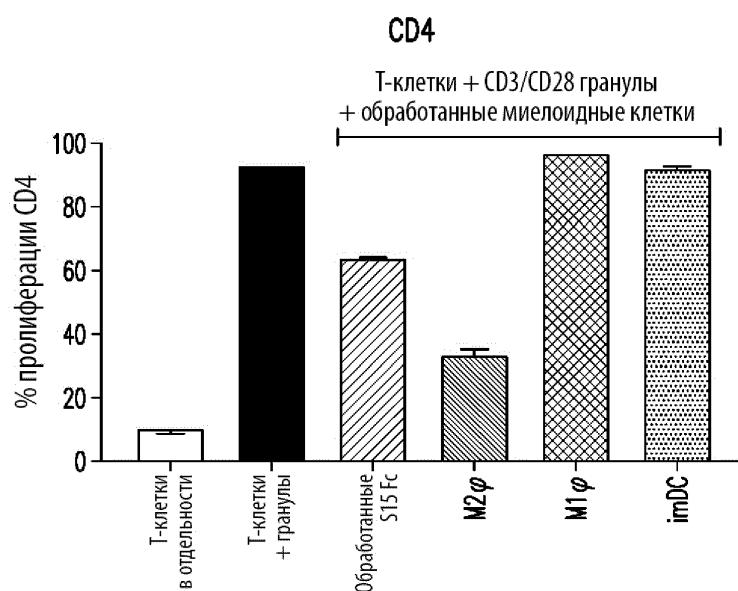


Фиг. 27С

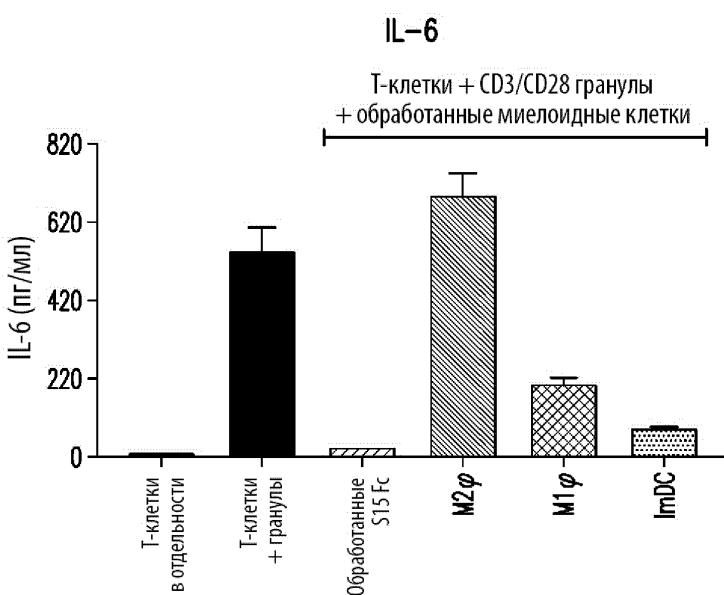


Фиг. 27Д

45/48

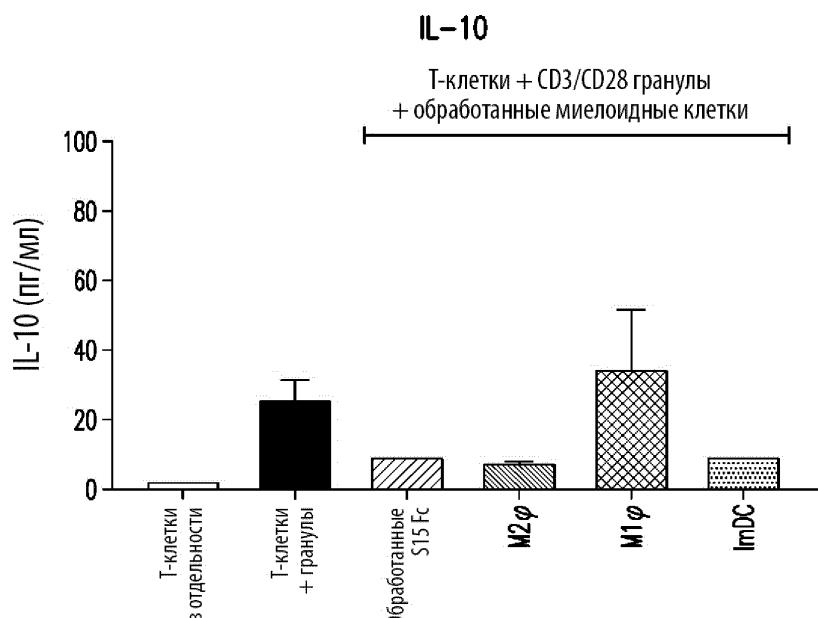


Фиг. 27Е



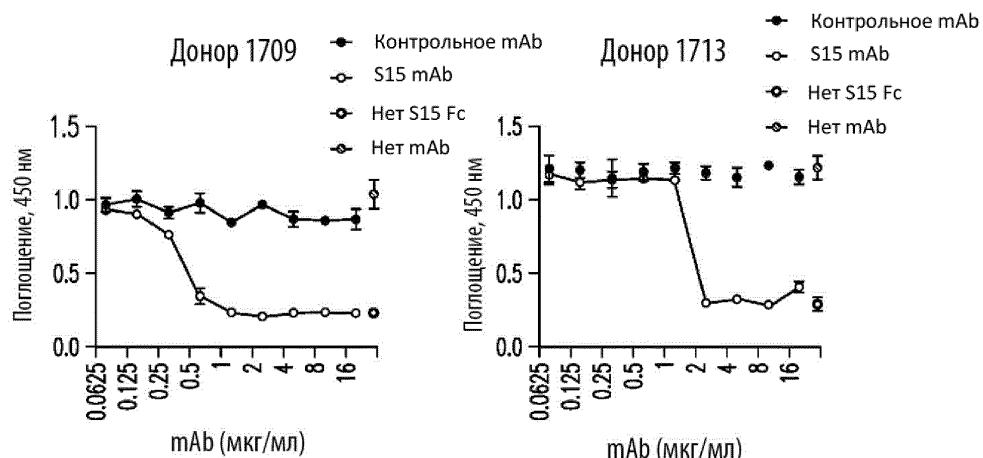
Фиг. 27F

46/48



Фиг. 27G

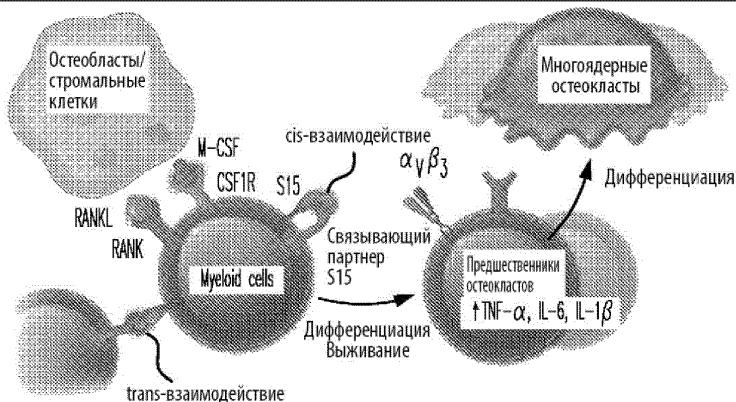
47/48



Фиг. 28А

Фиг. 28В

M-CSF на остеобластах и стромальных клетках индуцируют экспрессию S15 на миелоидных клетках  
+  
Миелоидные клетки S15 запускают экспрессию  $\alpha\beta_3$  и продукцию TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$  в предшественниках остеокластов и совместно с передачей сигнала с помощью RANK, дифференцируются в многоядерные остеоклости



Фиг. 29

48/48

