



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **124573** (13) **C2**
(51) МПК (2021.01)**C07K 16/28** (2006.01)**C12N 15/13** (2006.01)**A61K 39/395** (2006.01)

A61P 35/00

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
"УКРАЇНСЬКИЙ ІНСТИТУТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ"**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД**

(21) Номер заявки: **а 2018 01146**
(22) Дата подання заявки: **23.09.2016**
(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: **14.10.2021**
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: **62/233,230, 62/369,299**
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: **25.09.2015, 01.08.2016**
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: **US, US**
(41) Публікація відомостей про заявку: **12.11.2018, Бюл.№ 21**
(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: **13.10.2021, Бюл.№ 41**
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: **PCT/US2016/053368, 23.09.2016**

(72) Винахідник(и):
**Гроган Джейн Л. (US),
Джонстон Роберт Дж. (US),
Ву Ян (US),
Ліанг Вей-Чінг (US),
Лупардус Патрік (US),
Ядав Махеш (US),
Сешасає Дая (US),
Хазен Мередіт (US)**
(73) Володілець (володільці):
**ДЖЕНЕНТЕК, ІНК.,
1 DNA Way, South San Francisco, CA 94080-4990, United States of America (US)**
(74) Представник:
**Кістерський Кирило Арсенійович,
реєстр. №207**
(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:
**WO 2009126688 A2, 15.10.2009
Agonistic anti-TIGIT treatment inhibits T cell responses in LDLr deficient mice without affecting atherosclerotic lesion development / Foks A.C., Ran I.A., Frodermann V. et al // PLOS ONE. – 2013. - Vol. 8 (12). - P. e83134
Cutting edge: TIGIT has T cell-intrinsic inhibitory functions /. Joller N., Hafler J.P., Brynedal B.et al. // The Journal of Immunology. – 2011. - Vol. 186 (3). -P. 1338-1342**

(54) АНТИТІЛО, ЯКЕ СПЕЦИФІЧНО ЗВ'ЯЗУЄТЬСЯ З TIGIT ЛЮДИНИ, ТА СПОСІБ ЛІКУВАННЯ АБО СПОВІЛЬНЕННЯ ПРОГРЕСУВАННЯ РАКУ У СУБ'ЄКТА**(57) Реферат:**

Винахід стосується антитіла, яке специфічно зв'язується з TIGIT людини. Винахід також стосується полінуклеотиду, вектору, клітини-хазяїна, способу одержання антитіла, імунокон'югату, композиції, застосування антитіла, способу лікування або сповільнення прогресування раку у суб'єкта, набору для лікування або сповільнення прогресування раку у суб'єкта.

UA 124573 C2

ПЕРЕЛІК ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

У додатку до цієї заявки міститься перелік послідовностей, що був поданий в електронному вигляді у форматі ASCII і таким чином включений шляхом посилання в повному обсязі. Зазначена копія ASCII, створена 22 вересня 2016 року, носить назву 50474-120WO3_Sequence_Listing_9_22_16_ST25, а її розмір становить 209 318 байт.

ГАЛУЗЬ ТЕХНІКИ

Винахід стосується анти-TIGIT антитіл (Т-клітинний імунорецептор з доменами Ig і ITIM (імунорецепторний інгібіторний мотив на базі тирозину)) і способів їх застосування.

РІВЕНЬ ТЕХНІКИ

Пов'язані з імунною системою захворювання (наприклад, рак) являють собою прояв або наслідок складних біологічних шляхів, що при нормальній фізіології мають вирішальне значення для відповіді на пошкодження або травму, ініціюючи відновлення після ушкодження або травми і встановлюючи вроджений і набутий захист. Захворювання або патологія виникає, якщо ці нормальні фізіологічні шляхи спричиняють додаткове пошкодження або травму, що безпосередньо пов'язані з інтенсивністю відповіді (наприклад, внаслідок аномального регулювання або надмірної стимуляції) або у формі реакції організму на самого себе.

Хоча генезис цих захворювань часто включає в себе багатосхідчасті шляхи і часто декілька різних біологічних систем/шляхів, втручання в критичних точках в одному або декількох з цих шляхів може здійснювати пом'якшувачий або терапевтичний вплив. Терапевтичне втручання може відбуватися за допомогою антагонізму шкідливому процесу/шляху або стимуляції корисного процесу/шляху.

Багато захворювань, пов'язані з імунною системою, є відомими і широко вивчалися. До таких захворювань належать рак (неоплазія), імуноопосередковані запальні захворювання, неімуноопосередковані запальні захворювання, інфекційні захворювання та імунодефіцитні захворювання.

Т-лімфоцити (Т-клітини) є важливим компонентом імунної відповіді ссавців. Т-клітини розпізнають антигени, пов'язані з власною молекулою, яка кодується генами в основному комплексі гістосумісності (ОКГ (МНС)). Антиген може відображатися разом з молекулами ОКГ (МНС) на поверхні антигенпрезентуючих клітин (АПК (APC)), інфікованих вірусом клітин, ракових клітин, трансплантатів і т. д. Система Т-клітин усуває такі модифіковані клітини, що становлять загрозу здоров'ю ссавця-хазяїна. Т-клітини включають хелперні Т-клітини і цитотоксичні Т-клітини. Хелперні Т-клітини інтенсивно розмножуються після розпізнавання комплексу антиген-ОКГ (МНС) на АПК (APC). Крім того, хелперні Т-клітини секретують різні цитокіни (тобто, лімфокіни), що відіграють центральну роль в активації В-клітин, цитотоксичних Т-клітин та різних інших клітин, що беруть участь в імунній відповіді.

Регуляторні Т-клітини (Трег) являють собою підмножину хелперних Т-клітин, що відіграють критичну роль у пригніченні імунних реакцій по відношенню до власних структур організму, і часто зустрічаються на ділянках хронічного запалення, таких як пухлинна тканина. Фенотипово, Трег визначаються високим рівнем експресії CD25, CLTA4, GITR (індукований глюкокортикоїдом рецептор пухлинного некротичного фактора) і нейропіліну-1 (NRP-1) на поверхні клітини і знаходяться під контролем фактора транскрипції FOXP3. Трег виконують свою супресивну функцію на активованих Т-клітинах через залежні від контакту механізми і продукування цитокінів. Крім того, Трег модулюють імунні відповіді шляхом безпосередньої взаємодії з лігандами на дендритних клітинах (ДК (DC)), такої як лігування CD40L і CTLA4 з молекулами B7 на ДК (DC), що спричиняє індукцію індоламін-2,3-діоксигенази (ІДО). ДК (DC) являють собою професійні АПК (APC), здатні індукувати імунітет або толерантність до власних або чужорідних антигенів. Підсилені ДК (DC) Трег пригнічують алореактивні відповіді *in vitro*, а при адоптивному перенесенні відповідні Трег пригнічують діабет у мишей NODscid або експериментально індуквану астму. Конкретна взаємодія лігандів з ДК (DC) із Трег додатково може нейтралізувати їх інгібіторну функцію, таку як залучення GITR у мишей, наводячи на думку про те, що ДК (DC) може відігравати множинні ролі в модуляції функції Трег.

Молекули CTLA4 і GITR є лігандами, що визначені в суперродинах костимулюючих/пригнічуючих молекул CD28-B7 і TNF (пухлинний некротичний фактор), відповідно. Ці молекули високою мірою експресуються на Трег, але зазвичай активізуються на активованих Т-клітинах. Зовсім нещодавно білок, позначений TIGIT (для Т-клітинного імунорецептора з доменами Ig і ITIM), був ідентифікований як білок, пов'язаний з клітинною поверхнею, що специфічно експресується на Т-клітинах, який містить домен IgV, трансмембранний домен і два передбачуваних імунорецепторних інгібіторних мотиви на базі тирозину (ITIM). Було показано, що TIGIT особливою мірою експресується на підмножинах Трег і Т-клітин пам'яті, а також на природних клітинах-кілерах (ПК (NK)). Оскільки існує незадоволена

потреба в нових терапевтичних засобах і способах лікування пов'язаних з імунною системою розладів і, зокрема, ракових захворювань, в цьому документі описані несподівано ефективні терапевтичні композиції, такі як анти-TIGIT антитіла і їх композиції, а також способи лікування пов'язаних з імунною системою розладів і ракових захворювань, що включають модулювання взаємодії TIGIT з його партнерами із зв'язування.

КОРОТКИЙ ОПИС СУТІ ВИНАХОДУ

В цьому винаході запропоновані анти-TIGIT (Т-клітинний імунорецептор з доменами Ig і ITIM) антитіла і їх варіанти з покращеними властивостями, включаючи, наприклад, афінність зв'язування, перехресну реактивність, фармакокінетику та/або експресію. Зокрема, цей винахід відноситься до анти-TIGIT антитіл і їх варіантів, що володіють, наприклад, високою афінністю зв'язування з TIGIT людини; перехресної реактивністю між TIGIT людини, TIGIT яванського макака (яванця) та/або TIGIT кролика; бажаними параметрами кліренсу у яванця; та біохімічними і біофізичними властивостями, що забезпечують антитілам і їх варіантам високу стабільність.

В одному аспекті винахід відноситься до антитіла, яке специфічно зв'язується з TIGIT людини, причому антитіло зв'язується з епітопом на TIGIT людини, що містить один або більшу кількість з амінокислотних залишків Ser78, Ser80 і Lys82 TIGIT людини. В одному варіанті реалізації винаходу епітоп містить амінокислотні залишки Ser80 і Lys82 TIGIT людини. В іншому варіанті реалізації винаходу епітоп містить амінокислотні залишки Ser78, Ser80 і Lys82 TIGIT людини. В іншому варіанті реалізації винаходу епітоп додатково містить амінокислотний залишок Ala67 TIGIT людини. В іншому варіанті реалізації винаходу епітоп додатково містить один або більшу кількість додаткових амінокислотних залишків, вибраних з групи, що складається із Glu60, Leu65 і Ile68 TIGIT людини. В іншому варіанті реалізації винаходу епітоп додатково містить один або більшу кількість додаткових амінокислотних залишків, вибраних з групи, що складається із Gln56, Asn70, Leu73 і His111 TIGIT людини. В іншому варіанті реалізації винаходу епітоп додатково містить один або більшу кількість додаткових амінокислотних залишків, вибраних з групи, що складається із Thr55, Asn58, Asp63, Gln64, His76, Ile77 і Pro79 TIGIT людини. В іншому варіанті реалізації винаходу епітоп складається з амінокислотних залишків Thr55, Gln56, Asn58, Glu60, Asp63, Gln64, Leu65, Ala67, Ile68, Asn70, Leu73, His76, Ile77, Ser78, Pro79, Ser80, Lys82 і His111 TIGIT людини.

В іншому аспекті винахід відноситься до антитіла, яке специфічно зв'язується з TIGIT людини, причому антитіло зв'язується з епітопом на TIGIT людини, що містить один або більшу кількість амінокислотних залишків Thr55, Ser80 і Lys82 TIGIT людини. В одному варіанті реалізації винаходу епітоп містить амінокислотний залишок Lys82 TIGIT людини. В іншому варіанті реалізації винаходу епітоп містить амінокислотні залишки Thr55, Ser80 і Lys82 TIGIT людини. В іншому варіанті реалізації винаходу епітоп додатково містить амінокислотний залишок Gln56 TIGIT людини. В іншому варіанті реалізації винаходу епітоп додатково містить амінокислотні залишки Pro79 Ile77 і TIGIT людини. В іншому варіанті реалізації винаходу епітоп додатково містить амінокислотний залишок Asn58 або Glu60 TIGIT людини. В іншому варіанті реалізації винаходу епітоп додатково містить амінокислотні залишки Asn58 і Glu60 TIGIT людини. В іншому варіанті реалізації винаходу епітоп додатково містить один або більшу кількість додаткових амінокислотних залишків, вибраних з групи, що складається із Leu65, Ile68, Leu73, His76, Ser78 і His111 TIGIT людини. В іншому варіанті реалізації винаходу епітоп додатково містить амінокислотні залишки Leu65, Ile68, Leu73, His76, Ser78 і His111 TIGIT людини. У ще одному варіанті реалізації винаходу епітоп складається з Thr55, Gln56, Asn58, Glu60, Leu65, Ile68, Leu73, His76, Ile77, Ser78, Pro79, Ser80, Lys82 і His111 TIGIT людини.

В іншому аспекті винахід відноситься до антитіла, яке специфічно зв'язується з TIGIT людини, причому антитіло містить паратоп, що містить один або більшу кількість амінокислотних залишків, вибраних з групи, що складається із амінокислотних залишків варіабельної ділянки важкого ланцюга Asn32, Tyr52, Arg52b, Phe53, Lys54, Tyr56, Asp58, Tyr99, Asp100, Leu100a, Leu100b і Ala100c і амінокислотних залишків варіабельної ділянки легкого ланцюга Tyr27d, Tyr92, Ser93, Thr94 і Phe96. В одному варіанті реалізації винаходу паратоп складається з амінокислотних залишків варіабельної ділянки важкого ланцюга Asn32, Tyr52, Arg52b, Phe53, Lys54, Tyr56, Asp58, Tyr99, Asp100, Leu100a, Leu100b і Ala100c і амінокислотних залишків варіабельної ділянки легкого ланцюга Tyr27d, Tyr92, Ser93, Thr94 і Phe96. У будь-якому з вищевказаних аспектів антитіло може бути здатним зв'язуватися з TIGIT кролика.

В іншому аспекті винахід відноситься до антитіла, яке специфічно зв'язується з TIGIT людини, причому антитіло зв'язується з епітопом на TIGIT людини, що містить один або більшу

кількість амінокислотних залишків, вибраних з групи, що складається із Gln53, His111 і Tyr113 TIGIT людини. У деяких варіантах реалізації епітоп додатково містить Gln56 TIGIT людини. У деяких варіантах реалізації епітоп додатково містить Glu60, Leu65, Ile68, Asn70, Leu73 і His76 TIGIT людини.

5 В іншому аспекті винахід відноситься до антитіла, яке специфічно зв'язується з TIGIT людини, причому антитіло містить наступні шість гіперваріабельних ділянок (ГВД (HVR)): HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SNSAAWN (SEQ ID NO: 1); HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність KTYRFRKWDYAVSVKG (SEQ ID NO: 2); HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність ESTTYDLLAGPFDY (SEQ ID NO: 3); HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність KSSQTVLYSSNNKKYLA (SEQ ID NO: 4); HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність WASTRES (SEQ ID NO: 5); і HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність QQYYSTPFT (SEQ ID NO: 6). У деяких варіантах реалізації антитіло додатково містить наступні каркасні ділянки (КД (FR)) варіабельної ділянки легкого ланцюга: FR-L1, що містить амінокислотну послідовність DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC (SEQ ID NO: 7); FR-L2, що містить амінокислотну послідовність WYQQKPGQPPNLLIY (SEQ ID NO: 8); FR-L3, що містить амінокислотну послідовність GVPDRFSGSGSGTDFLTISSLQAEDVAVYYC (SEQ ID NO: 9); і FR-L4, що містить амінокислотну послідовність FGPGTKVEIK (SEQ ID NO: 10). У деяких варіантах реалізації антитіло додатково містить наступні КД варіабельної ділянки важкого ланцюга: FR-H1, що містить амінокислотну послідовність X₁VQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVS (SEQ ID NO: 11), де X₁ являє собою Q або E; FR-H2, що містить амінокислотну послідовність WIRQSPSRGLEWLG (SEQ ID NO: 12); FR-H3, що містить амінокислотну послідовність RITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVFYCTR (SEQ ID NO: 13); і FR-H4, що містить амінокислотну послідовність WGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 14). У деяких варіантах реалізації антитіло додатково містить наступні ділянки (КД) варіабельної ділянки важкого ланцюга: FR-H1, що містить амінокислотну послідовність EVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVS (SEQ ID NO: 15); FR-H2, що містить амінокислотну послідовність WIRQSPSRGLEWLG (SEQ ID NO: 12); FR-H3, що містить амінокислотну послідовність RITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVFYCTR (SEQ ID NO: 13); і FR-H4, що містить амінокислотну послідовність WGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 14). У деяких варіантах реалізації антитіло додатково містить наступні КД варіабельної ділянки важкого ланцюга: FR-H1, що містить амінокислотну послідовність QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVS (SEQ ID NO: 16); FR-H2, що містить амінокислотну послідовність WIRQSPSRGLEWLG (SEQ ID NO: 12); FR-H3, що містить амінокислотну послідовність RITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVFYCTR (SEQ ID NO: 13); і FR-H4, що містить амінокислотну послідовність WGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 14). У деяких варіантах реалізації антитіло здатне зв'язуватися з TIGIT кролика.

В іншому аспекті винахід відноситься до антитіла, яке специфічно зв'язується з TIGIT людини, причому антитіло містить наступні шість ГВД (HVR): HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SYPMN (SEQ ID NO: 17); HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність WINTNTGNPTYVQGFTG (SEQ ID NO: 18); HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність TGGHTYDSYAFDV (SEQ ID NO: 19); HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність RASQVISSSLA (SEQ ID NO: 20); HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність AASTLQS (SEQ ID NO: 21); і HVR-L3, що включає амінокислотну послідовність QHLHGYPX₁N (SEQ ID NO: 22), де X₁ являє собою C або S. В деяких варіантах реалізації антитіло містить наступні шість ГВД (HVR): HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SYPMN (SEQ ID NO: 17); HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність WINTNTGNPTYVQGFTG (SEQ ID NO: 18); HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність TGGHTYDSYAFDV (SEQ ID NO: 19); HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність RASQVISSSLA (SEQ ID NO: 20); HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність AASTLQS (SEQ ID NO: 21); і HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність QHLHGYPN (SEQ ID NO: 23). У деяких варіантах реалізації антитіло додатково містить наступні КД варіабельної ділянки важкого ланцюга: FR-H1, що містить амінокислотну послідовність EVQLVQSGSDLKPGASVRVSCASGYTFT (SEQ ID NO: 24); FR-H2, що містить амінокислотну послідовність WVRQAPGHGLEWMG (SEQ ID NO: 25); FR-H3, що містить амінокислотну послідовність RFVFSLDTSVNTAYLQISSLKAEDTAVYFCAR (SEQ ID NO: 26); і FR-H4, що містить амінокислотну послідовність WGQGTMTTVSS (SEQ ID NO: 27). У деяких варіантах реалізації антитіло містить наступні шість ГВД (HVR): HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SYPMN (SEQ ID NO: 17); HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність WINTNTGNPTYVQGFTG (SEQ ID NO: 18); HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність TGGHTYDSYAFDV (SEQ ID NO: 19); HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність RASQVISSSLA (SEQ ID NO: 20); HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність AASTLQS (SEQ ID NO: 21); і HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність QHLHGYPN (SEQ ID NO: 23).

(SEQ ID NO: 28). У деяких варіантах реалізації винаходу антитіло додатково містить наступні КД варіабельної ділянки важкого ланцюга: FR-H1, що містить амінокислотну послідовність QVQLVQSGSDLKPGASVRVSCASGYTFT (SEQ ID NO: 29); FR-H2, що містить амінокислотну послідовність WVRQAPGHGLEWMG (SEQ ID NO: 25); FR-H3, що містить амінокислотну послідовність RFVFSLDTSVNTAYLQISSLKAEDTAVYFCAR (SEQ ID NO: 26); і FR-H4, що містить амінокислотну послідовність WGQGTMTVSS (SEQ ID NO: 27). У деяких варіантах реалізації антитіло додатково містить наступні КД варіабельної ділянки легкого ланцюга: FR-L1, що містить амінокислотну послідовність DIQLTQSPTFLSASVGDRVITC (SEQ ID NO: 30); FR-L2, що містить амінокислотну послідовність WYQQNPGKAPKLLIY (SEQ ID NO: 31); FR-L3, що містить амінокислотну послідовність GVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFVITYC (SEQ ID NO: 32); і FR-L4, що містить амінокислотну послідовність FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 33).

В іншому аспекті винахід відноситься до антитіла, яке специфічно зв'язується з TIGIT людини, причому антитіло містить (а) варіабельну ділянку важкого ланцюга (VH), що володіє ідентичністю послідовності щонайменше 95 % відносно амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 34 або 35; (b) варіабельну ділянку легкого ланцюга (VL), що володіє ідентичністю послідовності щонайменше 95 % відносно амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 36; або (c) варіабельну ділянку важкого ланцюга, як в (а), і варіабельну ділянку легкого ланцюга, як у (b). У деяких варіантах реалізації винаходу антитіло містить (а) варіабельну ділянку важкого ланцюга (VH), що володіє ідентичністю послідовності щонайменше 95 % відносно амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 34; (b) варіабельну ділянку легкого ланцюга (VL), що володіє ідентичністю послідовності щонайменше 95 % відносно амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 36; або (c) варіабельну ділянку важкого ланцюга, як в (а), і варіабельну ділянку легкого ланцюга, як у (b). У деяких варіантах реалізації винаходу антитіло містить (а) варіабельну ділянку важкого ланцюга (VH), що володіє ідентичністю послідовності щонайменше 95 % відносно амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 35; (b) варіабельну ділянку легкого ланцюга (VL), що володіє ідентичністю послідовності щонайменше 95 % відносно амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 36; або (c) варіабельну ділянку важкого ланцюга, як в (а), і варіабельну ділянку легкого ланцюга, як у (b). У деяких варіантах реалізації винаходу антитіло здатне зв'язуватися з TIGIT кролика.

В іншому аспекті винахід відноситься до антитіла, яке специфічно зв'язується з TIGIT людини, причому антитіло містить (а) варіабельну ділянку важкого ланцюга (VH), що володіє ідентичністю послідовності щонайменше 95 % відносно амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 37; (b) варіабельну ділянку легкого ланцюга (VL), що володіє ідентичністю послідовності щонайменше 95 % відносно амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 38; або (c) варіабельну ділянку важкого ланцюга, як в (а), і варіабельну ділянку легкого ланцюга, як у (b).

У ще одному аспекті винахід відноситься до антитіла, яке специфічно зв'язується з TIGIT людини, причому антитіло містить (а) варіабельну ділянку важкого ланцюга (VH), що володіє ідентичністю послідовності щонайменше 95 % відносно амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 39; (b) варіабельну ділянку легкого ланцюга (VL), що володіє ідентичністю послідовності щонайменше 95 % відносно амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 40; або (c) варіабельну ділянку важкого ланцюга, як в (а), і варіабельну ділянку легкого ланцюга, як у (b).

В будь-якому з аспектів, описаних вище, антитіло може бути здатним зв'язуватися як з TIGIT людини, так і з TIGIT яванського макака (яванця), але не з TIGIT миші. У деяких варіантах реалізації винаходу антитіло зв'язується з TIGIT людини із Kd близько 10 нМ або менше і з TIGIT яванця з Kd близько 10 нМ або менше. У деяких варіантах реалізації винаходу антитіло зв'язується з TIGIT людини із Kd від близько 0,1 нМ до близько 1 нМ і з TIGIT яванця з Kd від близько 0,5 нМ до близько 1 нМ. У деяких варіантах реалізації винаходу антитіло зв'язується з TIGIT людини із Kd близько 0,1 нМ або менше і з TIGIT яванця з Kd близько 0,5 нМ або менше.

У будь-якому з аспектів, описаних вище, антитіло може бути антагоністичним антитілом або агоністичним антитілом.

У деяких варіантах реалізації винаходу антагоністичне антитіло специфічно зв'язується з TIGIT і пригнічує або блокує взаємодію TIGIT з рецептором поліовірусу (ПБР (PVR)). У деяких варіантах реалізації винаходу антагоністичне антитіло інгібує внутрішньоклітинне проведення сигналу, опосередковане зв'язуванням TIGIT з ПБР (PVR). У деяких варіантах реалізації винаходу антагоністичне антитіло інгібує або блокує зв'язування TIGIT людини з ПБР (PVR) людини зі значенням IC₅₀ 10 нМ або менше. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоністичне антитіло інгібує або блокує зв'язування TIGIT людини з ПБР (PVR) людини зі значенням IC₅₀ від 1 нМ до 10 нМ. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоністичне антитіло інгібує або блокує зв'язування TIGIT яванця з ПБР (PVR) яванця зі значенням IC₅₀ 50 нМ або менше. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоністичне антитіло інгібує або

блокує зв'язування TIGIT яванця з ПБР (PVR) яванця зі значенням IC50 від 1 нМ до близько 50 нМ. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоністичне антитіло інгібує або блокує зв'язування TIGIT яванця з ПБР (PVR) яванця зі значенням IC50 від 1 нМ до близько 5 нМ.

В деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло специфічно зв'язується з TIGIT і стимулює взаємодію ПБР (PVR) з CD226 або CD96. У деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло специфічно зв'язується з TIGIT і стимулює взаємодію ПБР (PVR) з CD226 і CD96. У деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло специфічно зв'язується з TIGIT і стимулює взаємодію ПБР (PVR) людини з CD226 людини і CD96 людини. У деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло специфічно зв'язується з TIGIT і стимулює взаємодію ПБР (PVR) яванця з CD226 яванця і CD96 яванця.

В іншому аспекті винахід відноситься до виділеного антитіла, яке конкурує за зв'язування з TIGIT з антитілом, за допомогою одного з вищевказаних аспектів.

В іншому аспекті винахід відноситься до виділеного антитіла, яке зв'язується з тим же епітопом, що і антитіло, за допомогою одного з вищевказаних аспектів.

У деяких варіантах реалізації будь-якого з аспектів винаходу, описаних вище, антитіло є моноклональним. У деяких варіантах реалізації винаходу антитіло є людським, гуманізованим або гібридним. У деяких варіантах реалізації винаходу антитіло являє собою повнорозмірне антитіло. У деяких варіантах реалізації винаходу кліренс антитіла після введення (наприклад, ін'єкції, наприклад, внутрішньовенної ін'єкції) становить менше ніж близько 10 мл/кг/добу (наприклад, від близько 3 мл/кг/добу до близько 10 мл/кг/добу). У деяких варіантах реалізації винаходу кліренс антитіла становить близько 3 мл/кг/добу до близько 8 мл/кг/добу. У деяких варіантах реалізації винаходу введення антитіла проводять ссавцю (наприклад, мавпі, такий як яванський макак, або людині). У деяких варіантах реалізації винаходу антитіло являє собою фрагмент антитіла, що зв'язується з TIGIT. У деяких варіантах реалізації винаходу фрагмент антитіла вибраний з групи, що складається із Fab, Fab', Fab'-SH, Fv, одноланцюгового варіабельного фрагмента (scFv) і фрагментів (Fab')₂. У деяких варіантах реалізації винаходу антитіло являє собою антитіло класу IgG. У деяких варіантах реалізації винаходу антитіло класу IgG є антитілом підкласу IgG1. У деяких варіантах реалізації винаходу антитіло, описане в цьому документі, може бути застосоване як лікарський засіб. У деяких варіантах реалізації винаходу антитіло, описане в цьому документі, може бути застосоване для лікування або уповільнення прогресування раку у суб'єкта, що потребує цього. У деяких варіантах реалізації винаходу рак вибраний з групи, що включає недрібноклітинний рак легені, дрібноклітинний рак легені, рак нирки, колоректальний рак, рак яєчника, рак молочної залози, рак підшлункової залози, карциному шлунка, рак сечового міхура, рак стравоходу, мезотеліому, меланому, рак голови і шиї, рак щитоподібної залози, саркому, рак передміхурової залози, гліобластому, рак шийки матки, рак тимусу, лейкоз, лімфому, мієлому, грибоподібні мікози, рак клітин Меркель і злоякісні новоутворення кровотворної системи. У деяких варіантах реалізації винаходу антитіло, описане в цьому документі, може бути застосоване для лікування або уповільнення прогресування множинної мієломи (MM (MM)). У деяких варіантах реалізації винаходу антитіло, описане в цьому документі, може бути застосоване для лікування або уповільнення прогресування пов'язаного з імунною системою захворювання у суб'єкта, що потребує цього. У деяких варіантах реалізації винаходу пов'язане з імунною системою захворювання пов'язане з дисфункціональним розладом Т-клітин. У деяких варіантах реалізації винаходу дисфункціональний розлад Т-клітин характеризується виснаженням Т-клітин. У деяких варіантах пов'язане з імунною системою захворювання вибране з групи, що складається із неусуненої гострої інфекції, хронічної інфекції та пухлинного імунітету. У деяких варіантах реалізації винаходу антитіло, описане в цьому документі, може бути застосоване для збільшення, підсилення або стимуляції імунної відповіді або функції у суб'єкта, що потребує цього.

В іншому аспекті винахід відноситься до полінуклеотиду (наприклад, виділеного полінуклеотиду), що кодує будь-яке з описаних в цьому документі антитіл. В іншому аспекті винахід відноситься до вектору (наприклад, вектор експресії), який містить полінуклеотид для експресії антитіла. В іншому аспекті винахід відноситься до клітин-хазяїв, що містить вищевказані полінуклеотиди та/або вектори. У деяких варіантах реалізації винаходу клітина-хазяїн є еукаріотичною (наприклад, клітина ссавця). У деяких варіантах реалізації винаходу еукаріотична клітина являє собою клітину 293, клітину яєчника китайського хом'ячка (ЯКХ (CHO)), дріжджову клітину або рослинну клітину. У деяких варіантах реалізації винаходу клітина-хазяїн являє собою клітини прокаріотів. У деяких варіантах реалізації винаходу прокаріотична клітина являє собою E. coli.

В іншому аспекті винахід відноситься до способу одержання будь-якого з описаних в цьому документі антитіл, причому спосіб включає культивування клітини-хазяїна, що містить будь-який з вищевказаних векторів (наприклад, вектор експресії), в поживному середовищі. У деяких варіантах реалізації винаходу спосіб додатково включає виділення антитіла з клітини-хазяїна або поживного середовища. У деяких варіантах реалізації винаходу клітина-хазяїн є еукаріотичною клітиною, наприклад, клітиною ссавця, наприклад, клітиною 293, клітиною яєчника китайського хом'ячка (ЯКХ (CHO)), дріжджовою клітиною або рослинною клітиною. У деяких варіантах реалізації винаходу клітина-хазяїн являє собою прокаріотичну клітину. У деяких варіантах реалізації винаходу прокаріотична клітина являє собою *E. coli*.

В іншому аспекті винахід відноситься до імунокон'югату, що містить будь-яке з описаних в цьому документі антитіл і агент (наприклад, терапевтичний агент, наприклад цитотоксичний агент).

В іншому аспекті винахід відноситься до композиції, що містить антитіло, описане в цьому документі. У деяких варіантах реалізації винаходу композиція додатково містить фармацевтично прийнятний носій, допоміжну речовину або розчинник. У деяких варіантах реалізації винаходу композиція призначена для діагностичного застосування (наприклад, для визначення рівнів експресії TIGIT, наприклад рівнів експресії білка TIGIT). У деяких варіантах реалізації винаходу композиція являє собою фармацевтичну композицію. У деяких варіантах реалізації винаходу композиція додатково містить антагоніст зв'язування осі PD-1 або додатковий терапевтичний агент.

В іншому аспекті винахід відноситься до застосування антитіла, описаного в цьому документі, при виробництві лікарського засобу для лікування або уповільнення прогресування раку у суб'єкта, що потребує цього. У деяких варіантах реалізації винаходу рак вибирають з групи, що складається із недрібноклітинного раку легені, дрібноклітинного раку легені, раку нирки, колоректального раку, раку яєчника, раку молочної залози, раку підшлункової залози, карциноми шлунка, раку сечового міхура, раку стравоходу, мезотеліоми, меланоми, раку голови і шиї, раку щитоподібної залози, саркоми, раку передміхурової залози, гліобластоми, раку шийки матки, раку тимусу, лейкозу, лімфоми, міеломи, грибоподібних мікозів, раку клітин Меркель і злоякісних новоутворень кровотворної системи. У деяких варіантах реалізації винаходу міелома являє собою MM. У деяких варіантах реалізації винаходу лікарський засіб складено для підшкірного, внутрішньовенного, внутрішньом'язового, місцевого застосування, перорального, трансдермального, внутрішньочеревинного, внутрішньоорбітального, шляхом імплантації, інгаляційного, інтратекального, інтравентрикулярного або інтраназального введення. У деяких варіантах реалізації винаходу суб'єкт є людиною.

В іншому аспекті винахід відноситься до застосування антитіла, описаного в цьому документі, при виробництві лікарського засобу для лікування або уповільнення прогресування пов'язаного з імунною системою захворювання у суб'єкта, що потребує цього. У деяких варіантах реалізації винаходу пов'язане з імунною системою захворювання пов'язане з дисфункціональним розладом Т-клітин. У деяких варіантах реалізації винаходу дисфункціональний розлад Т-клітин характеризується виснаженням Т-клітин. У деяких варіантах пов'язане з імунною системою захворювання вибране з групи, що складається із неусуненої гострої інфекції, хронічної інфекції та пухлинного імунітету. У деяких варіантах реалізації винаходу лікарський засіб складено для підшкірного, внутрішньовенного, внутрішньом'язового, місцевого застосування, перорального, трансдермального, внутрішньочеревинного, внутрішньоорбітального, шляхом імплантації, інгаляційного, інтратекального, інтравентрикулярного або інтраназального введення. У деяких варіантах реалізації винаходу суб'єкт є людиною.

В іншому аспекті винахід відноситься до застосування антитіла, описаного в цьому документі, у виробництві лікарського засобу для збільшення, посилення або стимуляції імунної відповіді або функції у суб'єкта, що потребує цього. У деяких варіантах реалізації винаходу лікарський засіб складено для підшкірного, внутрішньовенного, внутрішньом'язового, місцевого застосування, перорального, трансдермального, внутрішньочеревинного, внутрішньоорбітального, шляхом імплантації, інгаляційного, інтратекального, інтравентрикулярного або інтраназального введення. У деяких варіантах реалізації винаходу суб'єкт є людиною.

В іншому аспекті винахід відноситься до способу лікування або уповільнення прогресування раку у суб'єкта, причому спосіб включає введення суб'єкту ефективної кількості будь-якого одного або більшої кількості (наприклад, 1, 2, 3, 4, 5 або 6 або більша кількість) антитіл, описаних в цьому документі, з лікуванням або уповільненням в такий спосіб прогресування раку у суб'єкта. У деяких варіантах реалізації винаходу рак вибирають з групи, що складається із

недрібноклітинного раку легені, дрібноклітинного раку легені, раку нирки, колоректального раку, раку яєчника, раку молочної залози, раку підшлункової залози, карциноми шлунка, раку сечового міхура, раку стравоходу, мезотеліоми, меланоми, раку голови і шиї, раку щитоподібної залози, саркоми, раку передміхурової залози, гліобластоми, раку шийки матки, раку тимусу, лейкозу, лімфоми, міеломи, грибоподібних мікозів, раку клітин Меркель і злоякісних новоутворень кровотворної системи. У деяких варіантах реалізації винаходу мієлома являє собою MM.

В іншому аспекті винахід відноситься до способу лікування або уповільнення прогресування пов'язаного з імунною системою захворювання у суб'єкта, причому спосіб включає введення суб'єкту ефективної кількості одного або більшої кількості (наприклад, 1, 2, 3, 4, 5, або 6 або більша кількість) антитіл, описаних в цьому документі, з лікуванням або уповільненням в такий спосіб прогресування пов'язаного з імунною системою захворювання у суб'єкта. У деяких варіантах реалізації винаходу пов'язане з імунною системою захворювання пов'язане з дисфункціональним розладом Т-клітин. У деяких варіантах реалізації винаходу дисфункціональний розлад Т-клітин характеризується виснаженням Т-клітин. У деяких варіантах пов'язане з імунною системою захворювання вибране з групи, що складається із неусуненої гострої інфекції, хронічної інфекції та пухлинного імунітету.

В іншому аспекті винахід включає спосіб підвищення, підсилення або стимуляції імунної відповіді або функції у суб'єкта, що включає введення суб'єкту ефективної кількості одного або більшої кількості (наприклад, 1, 2, 3, 4, 5, або 6 або більша кількість) антитіл, описаних в цьому документі, таким чином підвищуючи, підсилюючи або стимулюючи імунну відповідь або функцію у суб'єкта. У деяких варіантах реалізації винаходу спосіб додатково включає введення суб'єкту антагоніста зв'язування осі PD-1. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст зв'язування осі PD-1 вводять до або після введення антитіла. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст зв'язування осі PD-1 вводять одночасно з антитілом. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст зв'язування PD-1 вибраний з групи, що складається із антагоніста зв'язування PD-1, антагоніста зв'язування PD-L1, і антагоніста зв'язування PD-L2. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст зв'язування осі PD-1 є антагоністом, що зв'язується з PD-1. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст зв'язування PD-1 інгібує зв'язування PD-1 з його партнерами-лігандами по зв'язуванню. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст зв'язування PD-1 інгібує зв'язування PD-1 з PD-L1. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст зв'язування PD-1 інгібує зв'язування PD-1 з PD-L2. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст зв'язування PD-1 являє собою антитіло проти PD-1. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст зв'язування PD-1 вибраний з групи, що складається із MDX 1106 (ніволумаб), MK-3475 (пембролізумаб), CT-011 (піділізумаб), MEDI-0680 (AMP-514), PDR001, REGN2810 і BGB-108. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст зв'язування PD-1 є антагоністом PD-L1. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст зв'язування PD-L1 інгібує зв'язування PD-L1 з PD-1. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст зв'язування PD-L1 інгібує зв'язування PD-L1 з B7-1. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст зв'язування PD-L1 інгібує зв'язування PD-L1 як з PD-1, так і з B7-1. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст зв'язування PD-L1, являє собою анти-PD-L1 антитіло. У деяких варіантах реалізації винаходу анти-PD-L1 антитіло вибрано з групи, що складається із: MPDL3280A (атезолізумаб), YW243.55.S70, MDX-1105, MEDI4736 (дурвалумаб) і MSB0010718C (авелумаб). У деяких варіантах реалізації винаходу антитіло являє собою MPDL3280A. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст зв'язування осі PD-1 є антагоністом, що зв'язується з PD-L2. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст зв'язування PD-L2 являє собою анти-PD-L2 антитіло. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст зв'язування PD-L2 є імуноадгезином.

В деяких варіантах реалізації винаходу будь-який з описаних вище способів лікування може додатково включати введення суб'єкту агоніста зв'язування OX40. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст зв'язування OX40 вводять до або після введення антитіла та/або антагоніста зв'язування осі PD-1. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст зв'язування OX40, вводять одночасно з антитілом та/або антагоністом, що зв'язується з віссю PD-1. У деяких варіантах реалізації винаходу агоніст зв'язування OX40, вибирають з групи, що складається із агоніста OX40, фрагмента агоніста OX40L, олігомерного рецептора OX40 та імуноадгезину OX40. У деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло OX40 виснажує клітини, що експресують OX40 людини. У деяких варіантах реалізації винаходу клітини, що експресують OX40 людини, являють собою CD4+ ефекторні Т-клітини. У деяких варіантах реалізації винаходу клітини, що експресують OX40 людини, є регуляторними Т-клітинами (Treg). У деяких варіантах реалізації винаходу виснаження відбувається шляхом

антитілозалежної клітинної цитотоксичності, АЗКЦ (ADCC) та/або фагоцитозу. У деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло ОХ40 зв'язується з ОХ40 людини з афінністю, що менше ніж або дорівнює близько 1 нМ. У деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло ОХ40 зв'язується з ОХ40 людини з афінністю, що менше ніж або дорівнює близько 0,45 нМ. У деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло ОХ40 зв'язується з ОХ40 людини з афінністю, що менше ніж або дорівнює близько 0,4 нМ. У деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло ОХ40 зв'язується з ОХ40 людини з ЕС50, що менше ніж або дорівнює 0,3 мкг/мл. У деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло ОХ40 зв'язується з ОХ40 людини з ЕС50, що менше ніж або дорівнює 0,2 мкг/мл. У деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло ОХ40 збільшує проліферацію CD4⁺ Т-клітин та/або збільшує продукування цитокінів за допомогою ефекторних CD4⁺ Т-клітин в порівнянні з проліферацією та/або продукуванням цитокінів до обробки агоністом ОХ40. У деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло ОХ40 збільшує проліферацію Т-клітини пам'яті та/або продукування цитокінів за допомогою Т-клітини пам'яті. У деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло ОХ40 пригнічує функцію Treg. У деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло ОХ40 інгібує пригнічення Treg ефекторних функції Т-клітин (наприклад, проліферації ефекторних Т-клітин та/або продукування цитокінів). У деяких варіантах реалізації винаходу ефекторна Т-клітина являє собою ефекторну CD4⁺ Т-клітину. У деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло ОХ40 підсилює передачу сигналу ОХ40 в клітині-мішені, що експресує ОХ40. У деяких варіантах реалізації винаходу передачу сигналу ОХ40 виявляють шляхом моніторингу передачі сигналів NFκB нижче в сигнальному шляху. У деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло ОХ40 містить варіант поліпептиду IgG1 Fc, що містить мутацію, яка усуває зв'язування з ефекторними клітинами людини, і володіє зниженою активністю по відношенню до агоніста ОХ40, що містить частину нативної послідовності IgG1 Fc. У деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло ОХ40 містить варіант поліпептиду IgG1 Fc, що містить мутацію DANA. У деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло ОХ40 містить (а) домен VH, що містить (i) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 278, 279 або 280, (ii) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 281, 282, 283, 284, 285 або 286 та (iii) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 287, 288 або 289; і (b) домен VL, що містить (i) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 290, (ii) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 291 і (iii) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298 або 299. У деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло ОХ40 містить (а) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 278; (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 281; (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 287; (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 290; (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 291; і (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 292. У деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло ОХ40 містить (а) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 278; (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 281; (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 287; (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 290; (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 291; і (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 297. У деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло ОХ40 містить (а) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 278; (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 281; (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 287; (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 290; (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 291; і (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 298. У деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло ОХ40 містить послідовність VH, що володіє ідентичністю послідовності щонайменше 90 % відносно амінокислотної послідовності будь-якої із SEQ ID NO: 300-325. У деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло ОХ40 містить послідовність VH, що володіє ідентичністю послідовності щонайменше 90 % відносно амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 300. У деяких варіантах в реалізації винаходу в SEQ ID NO: 300 здійснена заміна, вставка та/або делеція амінокислот загальною кількістю від 1 до 10. У деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло ОХ40 містить VH, що містить одну, дві або три ГВД (HVR), вибрані з: (а) HVR-H1, який містить амінокислотну п Отже SEQ ID NO: 278, (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 281 і (c) HVR-H3, що містить амінокислотну

послідовність SEQ ID NO: 287. У деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло OX40 містить послідовність VL, яка володіє ідентичністю послідовності щонайменше 90 % відносно амінокислотної послідовності будь-якого з SEQ ID NO: 326-351. У деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло OX40 містить VL, що володіє ідентичністю послідовності щонайменше 90 % відносно амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 326. У деяких варіантах реалізації винаходу в SEQ ID NO: 326 здійснена заміна, вставка та/або делеція амінокислот загальною кількістю від 1 до 10. у деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло OX40 містить VL, що містить одну, дві або три ГВД (HVR), вибрані з (a) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність S EQ ID NO: 290; (b) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 291; і (c) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 292. У деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло OX40 містить (a) послідовність VH SEQ ID NO: 300; (b) послідовність VL SEQ ID NO: 326; або (c) послідовність VH, як в (a), і послідовність VL, як у (b). У деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло OX40 містить (a) послідовність VH SEQ ID NO: 319; (b) послідовність VL SEQ ID NO: 345; або (c) послідовність VH, як в (a), і послідовність VL, як у (b). У деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло OX40 містить (a) послідовність VH SEQ ID NO: 320; (b) послідовність VL SEQ ID NO: 346; або (c) послідовність VH, як в (a), і послідовність VL, як у (b). У деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло OX40 являє собою антитіло L106, антитіло ACT35, MEDI6469 або MEDI0562. У деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло OX40 являє собою повнорозмірне антитіло IgG1. У деяких варіантах реалізації винаходу імуноадгезин OX40 являє собою тримерний білок OX40-Fc.

У деяких варіантах реалізації винаходу будь-який з описаних вище способів лікування може додатково включати введення суб'єкту агента, що зменшує кількість або пригнічує один або більшу кількість додаткових імунних коінгібуючих рецепторів. У деяких варіантах реалізації винаходу один або більша кількість додаткових імунних коінгібуючих рецепторів вибрані з групи, що складається із PD-1, CTLA-4, LAG3, TIM3, BTLA, VISTA, B7H4 і CD96. У деяких варіантах реалізації винаходу будь-який з описаних вище способів лікування може додатково включати введення суб'єкту додаткового терапевтичного агента. У деяких варіантах реалізації винаходу додатковий терапевтичний агент являє собою хіміотерапевтичний засіб. У деяких варіантах реалізації винаходу антитіло вводять підшкірно, внутрішньовенно, внутрішньом'язово, застосовують місцево, перорально, трансдермально, внутрішньочеревинно, внутрішньоорбітально, шляхом імплантації, шляхом інгаляції, інтратекально, інтравентрикулярно або інтраназально. У деяких варіантах реалізації винаходу суб'єкт є людиною.

В іншому аспекті винахід відноситься до набору, що містить одне або більшу кількість (наприклад, 1, 2, 3, 4, 5 або 6 або більша кількість) антитіл, описаних в цьому документі, і листок-вкладиш в упаковку, що містить інструкцію із застосування антитіла для лікування або уповільнення прогресування раку у суб'єкта. У деяких варіантах реалізації винаходу рак вибирають з групи, що складається із недрібноклітинного раку легені, дрібноклітинного раку легені, раку нирки, колоректального раку, раку яєчника, раку молочної залози, раку підшлункової залози, карциноми шлунка, раку сечового міхура, раку стравоходу, мезотеліоми, меланоми, раку голови і шиї, раку щитоподібної залози, саркоми, раку передміхурової залози, гліобластоми, раку шийки матки, раку тимусу, лейкозу, лімфоми, міеломи, грибоподібних мікозів, раку клітин Меркель і злоякісних новоутворень кровотворної системи. У деяких варіантах реалізації винаходу суб'єкт є людиною. У деяких варіантах реалізації винаходу міелома являє собою MM.

В іншому аспекті винахід відноситься до набору, що містить одне або більшу кількість (наприклад, 1, 2, 3, 4, 5 або 6 або більша кількість) антитіл, описаних в цьому документі, і листок-вкладиш в упаковку, що містить інструкцію із застосування антитіла для лікування або уповільнення прогресування пов'язаного з імунною системою захворювання у суб'єкта. У деяких варіантах реалізації винаходу пов'язане з імунною системою захворювання пов'язане з дисфункціональним розладом Т-клітин. У деяких варіантах реалізації винаходу дисфункціональний розлад Т-клітин характеризується виснаженням Т-клітин. У деяких варіантах пов'язане з імунною системою захворювання вибране з групи, що складається із неусуненої гострої інфекції, хронічної інфекції та пухлинного імунітету. У деяких варіантах реалізації винаходу суб'єкт є людиною.

В іншому аспекті винахід відноситься до набору, що містить одне або більшу кількість (наприклад, 1, 2, 3, 4, 5 або 6 або більша кількість) антитіл, описаних в цьому документі, і листок-вкладиш в упаковку, що містить інструкцію з підвищення, підсилення або стимуляції

імунної відповіді або функції у суб'єкта. У деяких варіантах реалізації винаходу суб'єкт є людиною.

КОРОТКИЙ ОПИС ГРАФІЧНИХ МАТЕРІАЛІВ

Фіг. 1А являє собою схематичну діаграму аналізу зв'язування ЯКХ (CHO)-TIGIT.

5 Фіг. 1В являє собою графік, що зображує результати аналізу зв'язування ЯКХ (CHO)-TIGIT, наведеного на Фіг. 1А, із застосуванням клітин ЯКХ (CHO), що експресують TIGIT людини, і зазначених анти-TIGIT антитіл, одержаних з ОМТ, в різних концентраціях, за даними сортування клітин з активованою флуоресценцією, СКАФ (FACS).

10 Фіг. 1С являє собою графік, що зображує результати аналізу зв'язування ЯКХ (CHO)-TIGIT, наведеного на Фіг. 1А, із застосуванням клітин ЯКХ (CHO), що експресують TIGIT яванського макака (яванця), і зазначених ОМТ-анти-TIGIT антитіл в різних концентраціях, за даними СКАФ (FACS).

15 Фіг. 1D являє собою графік, що зображує результати аналізу зв'язування ЯКХ (CHO)-TIGIT, наведеного на Фіг. 1А, із застосуванням клітин ЯКХ (CHO), що експресують TIGIT людини, і зазначених SD-анти-TIGIT антитіл в різних концентраціях, за даними СКАФ (FACS).

Фіг. 1Е являє собою графік, що зображує результати аналізу зв'язування ЯКХ (CHO)-TIGIT, наведеного на Фіг. 1А, із застосуванням клітин ЯКХ (CHO), що експресують TIGIT яванця, і зазначених SD-анти-TIGIT антитіл в різних концентраціях, за даними СКАФ (FACS).

20 Фіг. 2А являє собою графік, що зображує залежність зв'язування зазначених анти-TIGIT антитіл, одержаних з ОМТ, із CD4 Т-клітинами людини від концентрації антитіл.

Фіг. 2В являє собою графік, що зображує залежність зв'язування зазначених анти-TIGIT антитіл, одержаних з ОМТ, з CD8 Т-клітинами людини від концентрації антитіл.

Фіг. 2С являє собою графік, що зображує залежність зв'язування зазначених SD-анти-TIGIT антитіл з CD4 Т-клітинами людини від концентрації антитіл.

25 Фіг. 2D являє собою графік, що зображує залежність зв'язування зазначених SD-анти-TIGIT антитіл з CD8 Т-клітинами людини від концентрації антитіл.

30 Фіг. 3А являє собою графік, що зображує залежність результатів блокуючого імуноферментного аналізу, ІФА (ELISA) із застосуванням планшетів, вкритих гібридним білком PVR-Fc людини, TIGIT людини і зазначеними анти-TIGIT антитілами (10A7 і 4.1D3.Q1E в форматі Fab або IgG) або контрольним анти-CSF1 Fab, від концентрації антитіла/Fab.

Фіг. 3В являє собою графік, що зображує залежність результатів блокуючого аналізу ІФА (ELISA) із застосуванням планшетів, вкритих гібридним білком ПВР (PVR) яванця-Fc, TIGIT яванця і зазначеними анти-TIGIT антитілами (10A7 і 4.1D3.Q1E в форматі Fab або IgG) або контрольним анти-CSF1 Fab, від концентрації антитіла/Fab.

35 Фіг. 3С являє собою графік, що зображує залежність результатів блокуючого аналізу ІФА (ELISA) із застосуванням планшетів, вкритих гібридним білком ПВР (PVR) миші-Fc, TIGIT миші і зазначеними анти-TIGIT антитілами (10A7 і 4.1D3.Q1E в форматі Fab або IgG) або контрольним анти-CSF1 Fab, від концентрації антитіла/Fab.

40 Фіг. 3D являє собою таблицю, що зображує результати блокуючих аналізів ІФА (ELISA), описаних на Фіг. 3А-3С.

Фіг. 4А являє собою схематичну діаграму блокуючого аналізу ЯКХ (CHO)-TIGIT ПВР (PVR).

45 Фіг. 4В являє собою графік, що зображує результати блокуючого аналізу ЯКХ (CHO)-TIGIT ПВР (PVR), наведеного на Фіг. 4А, із застосуванням клітин ЯКХ (CHO), експресують TIGIT людини, і зазначених анти-TIGIT антитіл, одержаних з ОМТ, в різних концентраціях, за даними СКАФ (FACS).

Фіг. 4С являє собою графік, що зображує результати блокуючого аналізу ЯКХ (CHO)-TIGIT ПВР (PVR), наведеного на Фіг. 4А, із застосуванням клітин ЯКХ (CHO), експресують TIGIT яванця, і зазначених анти-TIGIT антитіл, одержаних з ОМТ, в різних концентраціях, за даними СКАФ (FACS).

50 Фіг. 4D являє собою графік, що зображує результати блокуючого аналізу ЯКХ (CHO)-TIGIT ПВР (PVR), наведеного на Фіг. 4А, із застосуванням клітин ЯКХ (CHO), що експресують TIGIT людини, і зазначених SD-анти-TIGIT антитіл в різних концентраціях, за даними СКАФ (FACS).

55 Фіг. 4Е являє собою графік, що зображує результати блокуючого аналізу ЯКХ (CHO)-TIGIT ПВР (PVR), наведеного на Фіг. 4А, із застосуванням клітин ЯКХ (CHO), що експресують TIGIT яванця, і зазначених SD-анти-TIGIT антитіл в різних концентраціях, за даними СКАФ (FACS).

Фіг. 5А являє собою графік, що зображує фармакокінетичний кліренс зазначених анти-TIGIT антитіл в організмі яванця після внутрішньовенного введення 10 мг/кг як залежність концентрації в сироватці (мкг/мл) від часу (дні).

60 Фіг. 5В являє собою таблицю, що зображує розрахункові значення кліренсу для кожного антитіла, протестованого в експериментах з фармакокінетичним кліренсом на Фіг. 5А.

Фіг. 5C являє собою графік, що зображує фармакокінетичний кліренс анти-TIGIT антитіл h10A7.K4G3 і 4.1D3 в організмі яванця після внутрішньовенного введення 10 мг/кг як залежність концентрації в сироватці (мкг/мл) від часу (дні, д0-д7).

5 Фіг. 5D являє собою таблицю, що зображує розрахункові значення кліренсу для анти-TIGIT антитіл h10A7.K4G3 і 4.1D3, які були протестовані в експериментах з фармакокінетичним кліренсом на Фіг. 5C.

Фіг. 6A являє собою інтерпретацію кристалічної структури 4.1D3 Fab, зв'язаного з TIGIT людини, з позначеними ділянками важкого ланцюга (HC) і легкого ланцюга (LC) 4.1D3 (LC), які відрізняються кольором.

10 Фіг. 6B являє собою інтерпретацію кристалічної структури 4.1D3 Fab, зв'язаного з TIGIT людини, накладену на відому структуру PVR-TIGIT (PDB 3UDW), яка демонструє, що антитіло 4.1D3 і ПБП (PVR) мають сайти зв'язування з TIGIT, що перекриваються.

Фіг. 6C являє собою інтерпретацію кристалічної структури 4.1D3 Fab, зв'язаного з TIGIT людини, із зазначенням відносного розташування сайту зв'язування з ПБП (PVR). Також 15 зазначено відносне розташування петлі 72-79 TIGIT.

Фіг. 6D і 6E являють собою інтерпретацію кристалічної структури 4.1D3 Fab, пов'язаного з TIGIT людини, з різних точок зору, з ідентифікацією деяких ключових для контакту залишків 4.1D3 (залишки паратопу) і TIGIT (залишки епітопу). Залишки в прямокутнику, наведеному на 20 Фіг. 6E, були ідентифіковані як важливі з функціональної точки зору залишки епітопу за допомогою аланінскануючого мутагенезу.

Фіг. 7A являє собою графік, що зображує значення K_D (нМ) для кожного з ідентифікованих анти-TIGIT антитіл для зазначеного мутанта TIGIT людини, одержаного аланіновим скануванням.

Фіг. 7B являє собою графік, що зображує значення K_D (нМ) для кожного з ідентифікованих 25 анти-TIGIT антитіл для зазначеного мутанта TIGIT людини, одержаного аланіновим скануванням, нормалізоване проти мішені TIGIT людини дикого типу. Одержані аланіновим скануванням мутанти TIGIT, які призводили до 1-10-разового або більше ніж 10-разового зниження афінності зв'язування, позначені світло-сірим і темно-сірим штрихуванням, відповідно.

Фіг. 7C являє собою інтерпретацію у формі стрічки структури TIGIT людини, із залишками, 30 що були ідентифіковані за допомогою аланінскануючого мутагенезу як важливі для розпізнавання 10A7, позначеними і представленими як сфери.

Фіг. 7D являє собою інтерпретацію у формі стрічки структури TIGIT людини, із залишками, які були ідентифіковані за допомогою аланінскануючого мутагенезу як важливі для 35 розпізнавання h1A5, позначеними і представленими як сфери.

Фіг. 7E являє собою інтерпретацію у формі стрічки структури TIGIT людини, із залишками, які були ідентифіковані за допомогою аланінскануючого мутагенезу як важливі для 40 розпізнавання 4.1D3, позначеними і представленими як сфери.

Фіг. 7F являє собою інтерпретацію у формі стрічки структури TIGIT людини, із залишками, які 40 були ідентифіковані за допомогою аланінскануючого мутагенезу як важливі для розпізнавання 7.4A3, позначеними і представленими як сфери.

Фіг. 7G являє собою інтерпретацію у формі стрічки структури TIGIT людини із залишками, які були ідентифіковані за допомогою аланінскануючого мутагенезу як важливі для розпізнавання 4.1A4, позначеними і представленими як сфери.

Фіг. 7H являє собою інтерпретацію у формі стрічки структури TIGIT людини, із залишками, 45 які були ідентифіковані за допомогою аланінскануючого мутагенезу як важливі для розпізнавання h6B2, позначеними і представленими як сфери.

Фіг. 7I являє собою інтерпретацію у формі стрічки структури TIGIT людини, із залишками, які були ідентифіковані за допомогою аланінскануючого мутагенезу як важливі для розпізнавання h7E7, позначеними і представленими як сфери.

50 Фіг. 8 являє собою інтерпретацію кристалічної структури 1A5 Fab, зв'язаного з TIGIT людини, із зазначеними ділянками важкого ланцюга 1A5 (HC) і легкого ланцюга (LC), які відрізняються кольором.

Фіг. 9 являє собою інтерпретацію кристалічних структур комплексів 4.1D3-TIGIT, 1A5-TIGIT і 10A7-TIGIT, накладених одна на одну по відношенню до TIGIT, яка демонструє, що три анти- 55 TIGIT антитіла зв'язуються з TIGIT людини на неідентичних епітопах.

Фіг. 10A являє собою інтерпретацію кристалічної структури 10A7 Fab, зв'язаного з TIGIT людини, із зазначеними ділянками важкого ланцюга (HC) і легкого ланцюга (LC) 10A7, які відрізняються кольором.

Фіг. 10В являє собою інтерпретацію кристалічної структури 10A7 Fab, пов'язаного з TIGIT людини, із зазначенням відносного розташування сайту зв'язування ПБР (PVR). Також зазначено відносне розташування петлі 72-79 TIGIT.

Фіг. 11 являє собою серію інтерпретацій антитіл 4.1D3 (верхнє зліва), 10A7 (середнє по центру) і 1A5 (нижнє праворуч) і відносне розташування залишків Ser78, Ser80 і Lys82 TIGIT людини. Структури демонструють, що залишки Ser78, Ser80 і Lys82 TIGIT людини є ключовими залишками епітопу для 4.1D3, але не для 10A7 або 1A5, у яких зазначені три залишки розташовані на деякій відстані від кишені зв'язування з антитілом.

Фіг. 12 являє собою серію графіків, що ілюструють експресію на Т-клітинах CD45, PD-1, TIGIT і CD226 на CD4+ і CD8+, виділених з кісткового мозку пацієнтів з множинною мієломою (MM) (верхній ряд), та експресію PD-1, TIGIT і CD226 на CD4+ і CD8+ Т-клітинах, виділених з периферичної крові здорових пацієнтів (нижній ряд), за даними кольорової протокової цитометрії.

Фіг. 13 являє собою серію графіків протокової цитометрії (ліворуч) і супутніх графіків (праворуч), які демонструють, що TIGIT і PD-1 спільно експресуються на CD4+ і CD8+ Т-клітинах в кістковому мозку пацієнтів з MM.

ДЕТАЛЬНИЙ ОПИС ВИНАХОДУ

I. Загальні методи

Методики і процедури, що описані або згадуються в цьому документі, як правило, є добре відомими і зазвичай застосовуються при використанні фахівцями в цій галузі техніки загальноприйнятої методології, такої як, наприклад, широко використовувані методології, описані у Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* 3d edition (2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.; *Current Protocols in Molecular Biology* (F.M. Ausubel, et al. eds., (2003)); серія *Methods in Enzymology* (Academic Press, Inc.): *PCR 2: A Practical Approach* (M.J. MacPherson, B.D. Hames and G.R. Taylor eds. (1995)), Harlow and Lane, eds. (1988) *Antibodies, A Laboratory Manual*, і *Animal Cell Culture* (R.I. Freshney, ed. (1987)); *Oligonucleotide Synthesis* (M.J. Gait, ed., 1984); *Methods in Molecular Biology*, Humana Press; *Cell Biology: A Laboratory Notebook* (J.E. Cellis, ed., 1998) Academic Press; *Animal Cell Culture* (R.I. Freshney, ed., 1987); *Introduction to Cell and Tissue Culture* (J.P. Mather and P.E. Roberts, 1998) Plenum Press; *Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures* (A. Doyle, J.B. Griffiths, and D.G. Newell, eds., 1993-8) J. Wiley and Sons; *Handbook of Experimental Immunology* (D.M. Weir and C.C. Blackwell, eds.); *Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells* (J.M. Miller and M.P. Calos, eds., 1987); *PCR: The Polymerase Chain Reaction*, (Mullis et al., eds., 1994); *Current Protocols in Immunology* (J.E. Coligan et al., eds., 1991); *Short Protocols in Molecular Biology* (Wiley and Sons, 1999); *Immunobiology* (C.A. Janeway and P. Travers, 1997); *Antibodies* (P. Finch, 1997); *Antibodies: A Practical Approach* (D. Catty., ed., IRL Press, 1988-1989); *Monoclonal Antibodies: A Practical Approach* (P. Shepherd and C. Dean, eds., Oxford University Press, 2000); *Using Antibodies: A Laboratory Manual* (E. Harlow and D. Lane (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999); *The Antibodies* (M. Zanetti and J. D. Capra, eds., Harwood Academic Publishers, 1995); і *Cancer: Principles and Practice of Oncology* (V.T. DeVita et al., eds., J.B. Lippincott Company, 1993).

II. Визначення

Термін "TIGIT" або "Т-клітинний імунорецептор з доменами Ig і ITIM", який використовується в цьому документі, відноситься до будь-якого нативного TIGIT з будь-якого джерела хребетних, включаючи ссавців, таких як примати (наприклад, людина) і гризуни (наприклад, миші та щури), якщо в тексті прямо не вказано інше. Додатково, TIGIT відомий в цій галузі техніки як DKFZp667A205, FLJ39873, V-kit і білок 9, що містить домен імуноглобуліну, V-kit і білок 3, що містить трансмембранний домен, VSIG9, VSTM3 і WUCAM. Термін охоплює "повнорозмірний" непроцесований TIGIT (наприклад, повнорозмірний TIGIT людини, що має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 352), а також будь-яку форму TIGIT, що є результатом процесингу в клітині (наприклад, процесований TIGIT людини без сигнальної послідовності, що має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 353). Крім того, термін включає природні варіанти TIGIT, наприклад, сплайсингові варіанти або алельні варіанти. Амінокислотна послідовність типового TIGIT людини може бути знайдена під обліковим номером UniProt Q495A1.

Терміни "анти-TIGIT антитіло" і "антитіло, що специфічно зв'язується з TIGIT" відносяться до антитіла, що здатне зв'язуватися з TIGIT з достатньою афінністю, таким чином, що антитіло є придатним як діагностичний та/або терапевтичний агент при націлюванні на TIGIT. В одному варіанті реалізації винаходу ступінь зв'язування анти-TIGIT антитіла з неспорідненим TIGIT білком становить менше ніж близько 10 % від зв'язування антитіла з TIGIT, за даними, наприклад, радіоімуноаналізу (PIA (RIA)). У деяких варіантах реалізації винаходу константа дисоціації (Kd) антитіла, що зв'язується з TIGIT, становить ≤ 1 мкМ, ≤ 100 нМ, ≤ 10 нМ ≤ 1 нМ, $\leq$

0,1 нМ, $\leq 0,01$ нМ або $\leq 0,001$ нМ (наприклад, 10^{-8} М або менше, наприклад, від 10^{-8} до 10^{-13} М, наприклад, від 10^{-9} до 10^{-13} М). У деяких варіантах реалізації винаходу анти-TIGIT антитіло зв'язується з епітопом TIGIT, що є консервативним серед TIGIT різних видів, або епітопом на TIGIT, що дозволяє виявляти перехресно-видову реактивність, таким як епітоп, що містить амінокислотні залишки Ser78, Ser80 і Lys82.

Термін "антитіло" включає моноклональні антитіла (в тому числі повнорозмірні антитіла, що містять ділянку Fc імуноглобуліну), композиції антитіл з поліепітопною специфічністю, поліспецифічні антитіла (наприклад, біспецифічні антитіла, диатіла і однокланцеві молекули, а також фрагменти антитіл (наприклад, Fab, F(ab')₂ і Fv). В цьому документі термін "імуноглобулін" (Ig) використовується взаємозамінним чином з "антитілом".

Термін "виділене антитіло" при використанні для опису різних антитіл, описаних в цьому документі, означає антитіло, яке було ідентифіковане та виділене та/або добуто з клітини або клітинної культури, в якій його було експресовано. Забруднюючими компонентами його природного середовища є матеріали, які зазвичай перешкоджають діагностичному або терапевтичному застосуванню поліпептиду і можуть включати ферменти, гормони та інші білкові або небілкові розчинені речовини. У деяких варіантах реалізації винаходу антитіло очищають до чистоти більш ніж 95 % або 99 %, за даними, наприклад, електрофорезу (наприклад, електрофорез в поліакриламідному гелі в присутності натрій додецилсульфату, НДС-ПААГ (SDS-PAGE), ізоелектричне фокусування (ІЕФ (IEF)), капілярний електрофорез) або хроматографії (наприклад, іонообмінна або обернено-фазова ВЕРХ). Огляд методів оцінки чистоти антитіл див., наприклад, у Flatman et al., J. Chromatogr. B 848:79-87 (2007). У кращих варіантах реалізації винаходу антитіло буде очищено (1) до ступеня, достатнього для одержання щонайменше 15 залишків N-кінцевої або внутрішньої послідовності амінокислот, із застосуванням секвенатора з обертальною склянкою або (2) до гомогенності за допомогою НДС-ПААГ (SDS-PAGE) в невідновлюючих або відновлюючих умовах, із застосуванням барвника Кумасі синього або, переважно, сріблянки. Виділене антитіло включає антитіла in situ в рекомбінантних клітинах, оскільки щонайменше один компонент поліпептидного природного середовища буде відсутній. Однак зазвичай виділений поліпептид одержують шляхом щонайменше однієї стадії очищення.

Основним 4-ланцюговим модулем антитіла є гетеротетрамерний глікопротеїн, що складається з двох ідентичних легких (L) ланцюгів і двох ідентичних важких (H) ланцюгів. Антитіло IgM складається з 5 основних гетеротетрамерних одиниць разом з додатковим поліпептидом, під назвою ланцюг J, і містить 10 сайтів зв'язування з антигеном, тоді як антитіла IgA складаються з 2-5 основних 4-ланцюгових модулів, що можуть полімеризуватися з утворенням полівалентних комплексів у поєднанні з ланцюгом J. В разі IgG розмір 4-ланцюгового модуля зазвичай становить близько 150000 Да. Кожен ланцюг L зв'язаний з ланцюгом H одним ковалентним дисульфідним зв'язком, тоді як два ланцюги H зв'язані один з одним за допомогою одного або більшої кількості дисульфідних зв'язків, в залежності від ізотипу ланцюга H. Кожен ланцюг H і L додатково містить внутрішньоланцюгові дисульфідні містки з регулярними проміжками. Кожен ланцюг H містить на N-кінці варіабельну ділянку (V_H), за якою слідує три константних ділянки (C_H) для кожного з α- і γ-ланцюгів і чотири домени C_H для ізотипів μ і ε. Кожен ланцюг L містить на N-кінці варіабельний домен (V_L), за яким слідує константний домен на іншому кінці. V_L вирівняний з V_H, а C_L вирівняний з першим константним доменом важкого ланцюга (C_{H1}). Вважається, що окремі амінокислотні залишки утворюють межу між варіабельними доменами легкого ланцюга і важкого ланцюга. Парування V_H і V_L утворює один антигензв'язуючий сайт. Опис структури та властивостей різних класів антитіл див., наприклад, у Basic and Clinical Immunology, 8th Edition, Daniel P. Sties, Abba I. Terg and Tristram G. Parslow (eds), Appleton & Lange, Norwalk, CT, 1994, стор. 71 і Розділ 6. Ланцюг L будь-яких видів хребетних може бути віднесений до одного із двох чітко різних типів під назвою капа і лямбда, на базі амінокислотних послідовностей їх константних доменів. В залежності від амінокислотної послідовності константного домену їх важких ланцюгів (C_H) імуноглобуліни можуть бути віднесені до різних класів або ізотипів. Існує п'ять класів імуноглобулінів: IgA, IgD, IgE, IgG і IgM, що містять важкі ланцюги, позначені як α, δ, ε, γ і μ, відповідно. Класи γ і α далі поділяються на підкласи на базі відносно невеликих відмінностей в послідовності і функції C_H, наприклад, у людини експресуються такі підкласи: IgG1, IgG2A, IgG2B, IgG3, IgG4, IgA1 і IgA2.

"Варіабельна ділянка" або "варіабельний домен" антитіла відноситься до амінокінцевих доменів важкого або легкого ланцюга антитіла. Варіабельні домени важкого ланцюга і легкого ланцюга можуть мати назву "V_H" і "V_L", відповідно. Ці домени зазвичай є найбільш варіабельними частинами антитіла (відносно інших антитіл того ж класу) і містять антигензв'язуючі сайти.

Термін "варіабельний" стосується того факту, що послідовність деяких сегментів варіабельних доменів істотно відрізняється серед антитіл. V-домен опосередковує зв'язування з антигеном і визначає специфічність конкретного антитіла відносно його конкретного антигену. Однак мінливість розподіляється нерівномірно по всьому діапазону варіабельних доменів. Замість цього вона зосереджена в трьох сегментах, що мають назву гіперваріабельних ділянок (ГВД (HVR)), як у варіабельних доменах легкого ланцюга, так і у варіабельних доменах важкого ланцюга. Більш висококонсервативні частини варіабельних доменів мають назву каркасних ділянок (КД). Варіабельні домени нативних важких і легких ланцюгів містять чотири ділянки КД, що в основному набувають конфігурації бета-аркуша, з'єднаного трьома ГВД (HVR), які утворюють петлі, що з'єднують і в деяких випадках складають частину структури бета-аркуша. ГВД (HVR) в кожному ланцюзі утримуються разом в безпосередній близькості ділянками КД, причому ГВД (HVR) з іншого ланцюга сприяють утворенню антигензв'язуючого сайту антитіла (див. Kabat et al., Sequences of Immunological Interest, Fifth Edition, National Institute of Health, Bethesda, MD (1991)). Константні домени не приймають безпосередньої участі у зв'язуванні антитіла з антигеном, але виявляють різні ефекторні функції, такі як участь антитіла в антитілозалежній клітинній токсичності.

"Блокуючим антитілом" або "антагоністичним антитілом" є таке, яке пригнічує або знижує біологічну активність антигену, з яким воно зв'язується. У деяких варіантах реалізації винаходу блокуючі антитіла або антагоністичні антитіла істотною мірою або повністю пригнічують біологічну активність антигену. Анти-TIGIT антитіла за винаходом можуть блокувати передачу сигналів через ПВР (PVR), PVRL2 та/або PVRL3, щоб відновити функціональну відповідь Т-клітин (наприклад, проліферацію, продукування цитокінів, знищення клітин-мішеней) з дисфункціонального стану до стимуляції антигеном.

"Агоністичне антитіло" або "активуюче антитіло" являє собою антитіло, що підсилює або ініціює передачу сигналу антигеном, з яким воно зв'язується. У деяких варіантах реалізації винаходу агоністичні антитіла спричиняють або активують проведення сигналу за відсутності природного ліганду. Агоністичні антитіла до OX40 за винаходом можуть підсилювати проліферацію Т-клітини пам'яті, підвищувати продукування цитокінів за допомогою Т-клітини пам'яті, пригнічувати функцію клітин Treg та/або інгібувати пригнічення клітинами Treg ефекторних функцій Т-клітин, наприклад, проліферації ефекторних Т-клітин та/або продукування цитокінів.

"Епітоп" являє собою частину антигену, з якою специфічно зв'язується антитіло. У разі поліпептидного антигену епітоп зазвичай являє собою пептидну частину розміром близько 4-15 амінокислотних залишків, які можуть бути суміжними або несуміжними.

"Антитіло, що зв'язується з тим же епітопом", що й референтне антитіло, відноситься до антитіла, що блокує зв'язування референтного антитіла з його антигеном в конкурентному аналізі на 50 % або більше, і навпаки, контрольне антитіло блокує зв'язування антитіла з його антигеном в конкурентному аналізі на 50 % і більше. Типовий конкурентний аналіз представлений в цьому документі.

Під "паратопом" мається на увазі частина антитіла, яка вибірково зв'язується з епітопом антигену. Паратоп зазвичай містить амінокислоти ланцюгів VH і VL антитіла і, зокрема, ділянки(ок) ГВД (HVR) антитіла.

Використовуваний в цьому документі термін "моноклональне антитіло" відноситься до антитіла, одержаного з популяції істотною мірою гомогенних антитіл, тобто, окремі антитіла, що складають популяцію, є ідентичними, за винятком можливих природних мутацій та/або посттрансляційних модифікацій (наприклад, ізомеризація, амідування), що можуть бути присутніми в незначних кількостях. Моноклональні антитіла є високоспецифічними і спрямовані проти одного антигенного сайту. На противагу препаратам поліклональних антитіл, що зазвичай містять різні антитіла, спрямовані проти різних детермінант (епітопів), кожне моноклональних антитіло спрямоване проти однієї детермінанти на антигені. На додаток до їх специфічності, моноклональні антитіла вигідні тим, що вони синтезуються гібридною культурою, незабрудненою іншими імуноглобулінами. Модифікатор "моноклональний" вказує на характер антитіла, яке одержують з істотною мірою гомогенної популяції антитіл, і його не слід тлумачити як такий, що вимагає одержання антитіла в будь-який конкретний спосіб. Наприклад, моноклональні антитіла, що будуть застосовуватися відповідно до цього винаходу, можуть бути одержані різними способами, включаючи, наприклад, метод гібридоми (наприклад, Kohler and Milstein., Nature, 256:495-97 (1975); Hongo et al., Hybridoma, 14 (3): 253-260 (1995), Harlow et al., Antibodies: A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988); Hammerling et al., в: Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas 563-681 (Elsevier, N.Y., 1981)), способи рекомбінантної ДНК (див., наприклад, патент США № 4816567), технології фагового дисплея

(див., наприклад, Clackson et al., *Nature*, 352: 624-628 (1991); Marks et al., *J. Mol. Biol.* 222: 581-597 (1992); Sidhu et al., *J. Mol. Biol.* 338(2): 299-310 (2004); Lee et al., *J. Mol. Biol.* 340(5): 1073-1093 (2004); Fellouse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101(34): 12467-12472 (2004); і Lee et al., *J. Immunol. Methods* 284(1-2): 119-132 (2004)), і технології одержання в організмі тварин людських або подібних до людських антитіл, що містять частини або повнорозмірні локуси або гени імуноглобуліну людини, які кодують послідовності імуноглобуліну людини (див., наприклад, WO 1998/24893; WO 1996/34096; WO 1996/33735; WO 1991/10741; Jakobovits et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 2551 (1993); Jakobovits et al., *Nature* 362: 255-258 (1993); Bruggemann et al., *Year in Immunol.* 7:33 (1993); патенти США №№ 5545807; 5545806; 5569825; 5625126; 5633425; і 5661016; Marks et al., *Bio/Technology* 10: 779-783 (1992); Lonberg et al., *Nature* 368: 856-859 (1994); Morrison, *Nature* 368: 812-813 (1994); Fishwild et al., *Nature Biotechnol.* 14: 845-851 (1996); Neuberger, *Nature Biotechnol.* 14: 826 (1996); і Lonberg and Huszar, *Intern. Rev. Immunol.* 13: 65-93 (1995).

Термін "голе антитіло" відноситься до антитіла, що не є кон'югованим з цитотоксичним фрагментом або радіоактивною міткою.

Терміни "повнорозмірне антитіло", "інтактне антитіло" або "суцільне антитіло" використовуються взаємозамінним чином для позначення антитіла в його практично немодифікованій формі, на відміну від фрагмента антитіла. Конкретно, суцільні антитіла включають такі, в яких важкі і легкі ланцюги містять ділянку Fc. Константні домени можуть бути константними доменами з нативною послідовністю (наприклад, константними доменами з нативною послідовністю людини) або варіантами їх амінокислотної послідовності. У деяких випадках інтактне антитіло може володіти однією або більшою кількістю ефекторних функцій.

"Фрагмент антитіла" містить частину інтактного антитіла, переважно антигензв'язуючу та/або варіабельну ділянку інтактного антитіла. Приклади фрагментів антитіл включають фрагменти Fab, Fab', F(ab')₂ і Fv; димери; лінійні антитіла (див. патент США 5641870, Приклад 2, Zapata et al., *Protein Eng.* 8(10): 1057-1062 [1995]); молекули одноланцюгових антитіл і поліспецифічні антитіла, утворені з фрагментів антитіл. Розщеплення антитіл папаїном давало два ідентичних антигензв'язуючих фрагменти під назвою фрагменти Fab, і залишковий фрагмент "Fc", позначення якого вказує на його здатність з легкістю кристалізуватися. Фрагмент Fab складається з повнорозмірного ланцюга L, разом з доменом варіабельної ділянки ланцюга H (V_H) і першим константним доменом одного з важких ланцюгів (C_H1). Кожен фрагмент Fab є одновалентним з точки зору зв'язування з антигеном, тобто, містить один антигензв'язуючий сайт. Обробка антитіла пепсином дає один великий фрагмент F(ab')₂, який приблизно відповідає двом з'єднаним дисульфідними зв'язками фрагментами Fab, що виявляють різну антигензв'язуючу активність і, як і раніше, здатні до утворення перехресних зв'язків з антигеном. Фрагменти Fab' відрізняються від фрагментів Fab наявністю декількох додаткових залишків на карбоксильному кінці домену C_H1, включаючи один або більшу кількість залишків цистеїну шарнірної ділянки антитіла. В цьому документі Fab'-SH є позначенням для Fab', в якому залишок(ки) цистеїну константних доменів несуть вільну тіольну групу. Фрагменти F(ab')₂ спочатку були одержані у вигляді пар Fab'-фрагментів, між якими розташовані шарнірні залишки цистеїну. Крім того, відомі інші види хімічних зв'язків для з'єднання фрагментів антитіл.

Фрагмент Fc містить карбокси-кінцеві частини обох ланцюгів H, що утримуються разом дисульфідними зв'язками. Ефекторні функції антитіл визначаються послідовністю ділянки Fc, ділянки, яка також розпізнається Fc-рецепторами (FcR), знайденими на деяких видах клітин.

"Fv" являє собою мінімальний фрагмент антитіла, який містить повнорозмірний сайт розпізнавання і зв'язування з антигеном. Цей фрагмент складається з димеру домену варіабельної ділянки одного важкого і одного легкого ланцюгів у щільній, нековалентній асоціації. Згортання цих двох доменів призводить до утворення шести гіперваріабельних петель (по 3 петлі з ланцюгів H і L), які дають амінокислотні залишки для зв'язування з антигеном і забезпечують антитілу антигензв'язуючу специфічність. Однак навіть один варіабельний домен (або половина Fv, що містить тільки три GBP (HVR), специфічних по відношенню до антигену), має здатність розпізнавати і зв'язуватися з антигеном, хоча і з більш низькою афінністю, ніж весь сайт зв'язування.

"Одноланцюгові Fv", також скорочено "sFv" або "scFv", являють собою фрагменти антитіл, що містять домени антитіла V_H і V_L, з'єднані в один поліпептидний ланцюг. Переважно поліпептид sFv додатково містить поліпептидний лінкер між доменами V_H і V_L, який дозволяє sFv формувати бажану структуру для зв'язування з антигеном. Огляд sFv див. у *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994).

"Функціональні фрагменти" антитіл за винаходом містять частину інтактного антитіла, що зазвичай містить антигензв'язуючу або варіабельну ділянку інтактного антитіла або ділянку Fc антитіла, що зберігає або володіє модифікованою здатністю до зв'язування з FcR. Приклади фрагментів антитіл включають лінійні антитіла, молекули одноланцюгових антитіл і поліспецифічні антитіла, утворені з фрагментів антитіл.

Термін "диатіла" відноситься до невеликих фрагментів антитіл, одержаних шляхом конструювання фрагментів sFv (див. попередній абзац) за допомогою коротких лінкерів (близько 5-10 залишків) між доменами V_H і V_L , таким чином, що досягається міжланцюгове, але не внутрішньоланцюгове спаровування V-доменів, приводячи до утворення двохвалентного фрагмента, тобто, фрагмента, що містить два антигензв'язуючих сайти. Біспецифічні диатіла є гетеродимерами двох "кросоверних" фрагментів sFv, у яких домени V_H і V_L двох антитіл присутні в різних поліпептидних ланцюгах. Диатіла описані більш детально, наприклад, у EP 404097; WO 93/11161; Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448 (1993).

Моноклональні антитіла в цьому документі конкретно включають "гібридні" антитіла (імуноглобуліни), в яких частина важкого та/або легкого ланцюга є ідентичною або гомологічною відповідним послідовностям в антитілах, що одержані з певного виду або належать до певного класу або підкласу антитіл, в той час як інший(і) ланцюг(и) є ідентичним(ими) або гомологічним(ими) відповідним послідовностям в антитілах, що одержані з іншого виду або належать до іншого класу або підкласу антитіл, а також фрагментам таких антитіл, за умови, що вони виявляють бажану біологічну активність (патент США № 4816567, Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984)). Запропоновані в цьому документі гібридні антитіла включають антитіла PRIMATIZED®, в яких антигензв'язуюча ділянка антитіла одержана з антитіла, що продукується, наприклад, мавпами макаками, імунізованими антигеном, що представляє інтерес. Використовуваний в цьому документі термін "гуманізоване антитіло" використовується як підмножина "гібридних антитіл".

"Гуманізовані" форми нелюдських (наприклад, мишачих) антитіл являють собою гібридні антитіла, що містять мінімальну послідовність, одержану з імуноглобуліну, відмінного від людського. В одному варіанті реалізації винаходу гуманізоване антитіло являє собою імуноглобулін людини (антитіло-реципієнт), в якому залишки з ГВД (HVR) (визначені нижче) реципієнта замінені залишками з ГВД (HVR) видів, що не відносяться до людини (донорні антитіла), таких як миша, щур, кролик або не примат, що не належить до людини, які володіють бажаною специфічністю, афінністю та/або функціональною спроможністю. У деяких випадках каркасні ("КД") залишки людського імуноглобуліну замінені відповідними залишками, що не мають відношення до людини. Крім того, гуманізовані антитіла можуть містити залишки, що не виявлені в антитілі-реципієнті або в донорському антитілі. Такі модифікації можуть бути здійснені для подальшого вдосконалення характеристик антитіл, таких як афінність зв'язування. Загалом, гуманізоване антитіло буде містити істотною мірою всі з щонайменше одного і, як правило, двох варіабельних доменів, у яких всі або істотною мірою всі гіперваріабельні петлі відповідають таким з послідовності імуноглобуліну, що не відноситься до людини, а всі або практично всі ділянки КД є ділянками послідовності людського імуноглобуліну, хоча ділянки КД можуть містити одну або більшу кількість індивідуальних замінів фрагментів КД, що покращують характеристики антитіл, такі як афінність зв'язування, ізомеризація, імуногенність, тощо. Кількість таких амінокислотних замінів у КД зазвичай не перевищує 6 в ланцюзі H, і не більше 3 в ланцюзі L. Крім того, гуманізоване антитіло необов'язково буде містити щонайменше частину константної ділянки імуноглобуліну (Fc), як правило, з людського імуноглобуліну. Більш детальну інформацію див., наприклад, у Jones et al., Nature 321:522-525 (1986); Riechmann et al., Nature 332:323-329 (1988); i Presta, Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-596 (1992). Додатково див., наприклад, Vaswani and Hamilton, Ann. Allergy, Asthma & Immunol. 1:105-115 (1998); Harris, Biochem. Soc. Transactions 23:1035-1038 (1995); Hurle and Gross, Curr. Op. Biotech. 5:428-433 (1994); i патенти США №№ 6982321 і 7087409.

"Людське антитіло" являє собою антитіло, що має амінокислотну послідовність, яка відповідає послідовності антитіла, продукowanego людиною, та/або яке було одержано із застосуванням будь-якого із способів одержання людських антитіл, як описано в цьому документі. Це визначення людського антитіла конкретно виключає гуманізоване антитіло, що містить антигензв'язуючі залишки, які не відносяться до людини. Людські антитіла можуть бути одержані із застосуванням різних методів, відомих в цій галузі техніки, включаючи бібліотеки фагового дисплея. Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol., 227:381 (1991); Marks et al., J. Mol. Biol., 222:581 (1991). Крім того, для одержання людських моноклональних антитіл доступні способи, описані в Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, p. 77 (1985); Boerner et al., J. Immunol., 147(1):86-95 (1991). Див. також van Dijk and van de Winkel, Curr. Opin.

Pharmacol., 5: 368-74 (2001). Антитіла людини можуть бути одержані шляхом введення антигену трансгенній тварині, організм якої був модифікований для одержання таких антитіл у відповідь на антигенну стимуляцію, але чиї ендogenous локуси були відключені, наприклад, імунізованим ксеномишам (див., наприклад, патенти США №№ 6075181 і 6150584 щодо технології XENOMOUSE_L). Також, див., наприклад, Li et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103:3557-3562 (2006) щодо людських антитіл, одержаних за допомогою технології гібридоми В-клітин людини.

Термін "гіперваріабельна ділянка", "ГВД (HVR)" або "ГВ (HV)" при використанні в цьому документі відноситься до ділянок варіабельного домену антитіла, які є гіперваріабельними за послідовністю та/або утворюють структурно визначені петлі. Як правило, антитіла містять шість ГВД (HVR); три у VH (H1, H2, H3) і три у VL (L1, L2, L3). В нативних антитілах H3 і L3 виявляють найбільшу різноманітність шести ГВД (HVR), і вважається, що H3 відіграє унікальну роль в наданні антитілам тонкої специфічності. Див., наприклад, Xu et al., Immunity 13:37-45 (2000); Johnson and Wu, у Methods in Molecular Biology 248:1-25 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003). Дійсно, в природі зустрічаються антитіла верблужих, що складаються тільки з важкого ланцюга, та є функціональними і стабільними за відсутності легкого ланцюга. Див., наприклад, Hamers-Casterman et al., Nature 363:446-448 (1993); Sheriff et al., Nature Struct. Biol. 3:733-736 (1996).

Ряд розмежувань ГВД (HVR) застосовується і охоплюється цим документом. Ділянки визначення комплементарності за Кабатом (ДБК (CDR)) базуються на варіабельності послідовності і є найбільш часто застосовуваними (Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)). Замість цього Чотіа посилається на розташування структурних петель (Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)). AbM ГВД (HVR) являють собою компроміс між ГВД (HVR) за Кабатом і структурними петлями за Чотіа та використовуються для моделювання антитіл AbM в програмному забезпеченні Oxford Molecular. "Контактні" ГВД (HVR) базуються на аналізі наявних складних кристалічних структур. Залишки кожного із цих ГВД (HVR) відзначені нижче.

Петля за Кабатом AbM за Чотіа Контактні

L1	L24-L34	L24-L34	L26-L32	L30-L36
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L52	L46-L55
L3	L89-L97	L89-L97	L91-L96	L89-L96
H1	H31-H35B	H26-H35B	H26-H32	H30-H35B (нумерація за Кабатом)
H1	H31-H35	H26-H35	H26-H32	H30-H35 (нумерація за Чотіа)
H2	H50-H65	H50-H58	H53-H55	H47-H58
H3	H95-H102	H95-H102	H96-H101	H93-H101

ГВД (HVR) можуть містити "розширені ГВД (HVR)" наступним чином: 24-36 або 24-34 (L1), 46-56 або 50-56 (L2) і 89-97 або 89-96 (L3) в VL і 26-35 (H1), 50-65 або 49-65 (H2) і 93-102, 94-102 або 95-102 (H3) в VH. Для кожного з цих визначень залишки варіабельної ділянки нумеруються відповідно до Kabat et al., вище.

Вирази "нумерація залишків варіабельних доменів за Кабатом" або "нумерація положень амінокислот за Кабатом" і їх варіації відносяться до системи нумерації, яка застосовується для варіабельних доменів важкого ланцюга або варіабельних доменів легкого ланцюга компіляції антитіл у Kabat et al., вище. Із застосуванням цієї системи нумерації, фактична лінійна амінокислотна послідовність може містити менше або додаткові амінокислоти, що відповідають скороченню або введенню в КД або ГВД (HVR) варіабельного домену. Наприклад, варіабельний домен важкого ланцюга може містити вставку однієї амінокислоти (залишок 52a за Кабатом) після залишку 52 H2 та вставку залишків (наприклад, залишки 82a, 82b і 82c і т. д. за Кабатом) після залишку 82 КД важкого ланцюга. Нумерація залишків за Кабатом може бути визначена для заданого антитіла шляхом вирівнювання на ділянках гомології послідовності антитіла зі "стандартною" послідовністю, пронумерованою за Кабатом.

"Каркасні" або "КД" залишки являють собою залишки варіабельної ділянки, відмінні від залишків ГВД (HVR), як визначено в цьому документі.

"Консенсусний каркас людини" або "акцепторний каркас людини" є структурою, яка представляє амінокислотні залишки, що найбільш часто зустрічаються у вибірці послідовностей каркаса VL або VH людського імуноглобуліну. Як правило, вибір послідовності VL або VH людського імуноглобуліну здійснюється з підгрупи послідовностей варіабельних доменів. Як правило, підгрупа послідовностей є підгрупою, як у Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991). Приклади включають, у разі VL, підгрупу, яка може бути підгрупою капа I, капа II, капа III або капа IV, як у Kabat et al., вище. Крім того, у разі VH, підгрупа може бути підгрупою I, підгрупою II або підгрупою III, як у Kabat et al., вище. Як альтернатива, консенсусна структура

людини може бути виведена з вищевикладеного, у якій конкретні залишки, такі як у разі, коли каркасний залишок людини вибирають на базі його гомології з донорною каркасною структурою, вирівнюючи послідовність донорного каркаса з набором різних послідовностей каркаса людини. Акцепторний каркас людини, "виведений з" каркасу імуноглобуліну людини або консенсусного

5 каркасу людини, може містити таку ж амінокислотну послідовність, або він може містити раніше існуючі модифікації амінокислотної послідовності. У деяких варіантах кількість раніше існуючих модифікацій амінокислот становить 10 або менше, 9 або менше, 8 або менше, 7 або менше, 6 або менше, 5 або менше, 4 або менше, 3 або менше або 2 або менше.

"Консенсусний каркас VH підгрупа III" містить консенсусну послідовність, одержану з амінокислотних послідовностей у варіабельній важкій підгрупі III Kabat et al., вище. В одному варіанті реалізації винаходу амінокислотна послідовність підгрупи VH III консенсусного каркаса містить щонайменше частину або всі з кожної із наступних послідовностей: EVQLVESGGGLVQP G G S L R L S C A A S (HC-FR1) (SEQ ID NO: 229); WVRQAPGKGLEWV (HC-FR2) (SEQ ID NO: 230); RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (HC-FR3) (SEQ ID NO: 232); i

10 15 W G Q G T L V T V S A (HC-FR4) (SEQ ID NO: 232).

"Консенсусний каркас VL капа I" містить консенсусну послідовність, одержану з амінокислотних послідовностей в підгрупі I легкої капа Kabat et al., вище. В одному варіанті реалізації винаходу амінокислотна послідовність консенсусного каркасу VH підгрупи I містить щонайменше частину або всі з кожної із наступних послідовностей: DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (LC-FR1) (SEQ ID NO: 233); WYQQKPGKAPKLLIY (LC-FR2) (SEQ ID NO: 234); GVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYC (LC-FR3) (SEQ ID NO: 235); i

20 FGQGTKVEIKR (LC-FR4) (SEQ ID NO: 236).

"Модифікація амінокислоти" в зазначеному положенні, наприклад, ділянки Fc, відноситься до заміни або делеції зазначеного залишку або вставки щонайменше одного амінокислотного залишку, суміжного із зазначеним залишком. Якщо вставка "прилягає" до зазначеного залишку, це означає вставку в межах одного-двох залишків від нього. Вставка може бути N-кінцевою або C-кінцевою відносно зазначеного залишку. В цьому документі переважною модифікацією амінокислоти є заміна.

25

"Афінність" відноситься до активності сумарної кількості нековалентних взаємодій між одним сайтом зв'язування молекули (наприклад, антитіла) і його партнером по зв'язуванню (наприклад, антигеном, наприклад, TIGIT). Якщо в тексті прямо не вказано інше, то, як використовується в цьому документі, "афінність зв'язування" відноситься до афінності власного зв'язування, що відображає взаємодію 1:1 між членами пари зв'язування (наприклад, антитілом і антигеном). Афінність молекули X відносно її партнера Y зазвичай може бути представлена константою дисоціації (Kd). Афінність може бути виміряна звичайними способами, відомими в цій галузі техніки, включаючи описані в цьому документі. Конкретні ілюстративні і типові варіанти реалізації винаходу для вимірювання афінності зв'язування, описані нижче.

30 35

Антитіло "з дозрілою афінністю" являє собою таке, яке містить одну або більшу кількість модифікацій в одній або більшій кількості ГВД (HVR), що приводить до покращення афінності антитіла до антигену в порівнянні з вихідним антитілом, яке не містить цих модифікацій. В одному варіанті реалізації винаходу антитіло з дозрілої афінністю володіє афінністю до цільового антигену в наномолярному або навіть пікомолярному діапазоні. Антитіла з дозрілої афінністю одержують за способами, відомими в цій галузі техніки. Наприклад, у Marks et al., Bio/Technology 10:779-783 (1992) описано дозрівання афінності шляхом перетасування VH- і VL-домену. Випадковий мутагенез ГВД (HVR) та/або каркасних залишків описаний, наприклад, у

40 45 Barbas et al. Proc Nat. Acad. Sci. USA 91:3809-3813 (1994); Schier et al. Gene 169:147-155 (1995); Yelton et al. J. Immunol. 155:1994-2004 (1995); Jackson et al., J. Immunol. 154(7):3310-9 (1995); i Hawkins et al, J. Mol. Biol. 226:889-896 (1992).

Використовуваний в цьому документі термін "зв'язується", "специфічно зв'язується з" або "специфічний по відношенню до" відноситься до вимірної та відтворної взаємодії, такої як зв'язування між мішенню і антитілом, яка є визначальною для присутності мішені в присутності гетерогенної популяції молекул, включаючи біологічні молекули. Наприклад, антитіло, яке специфічно зв'язується з мішенню (що може бути епітопом), являє собою антитіло, яке зв'язується з цією мішенню з більшою афінністю, авідністю, з більшою легкістю та/або на більш тривалий час, ніж воно зв'язується з іншими мішенями. В одному варіанті реалізації винаходу ступінь зв'язування антитіла з неспорідненою мішенню становить менше ніж близько 10 % від зв'язування антитіла з мішенню, за даними, наприклад, радіоімунаналізу (PIA (RIA)). У деяких варіантах реалізації винаходу константа дисоціації (Kd) антитіла, яке специфічно зв'язується з мішенню, становить ≤ 1 мкМ, ≤ 100 нМ, ≤ 10 нМ, ≤ 1 нМ або $\leq 0,1$ нМ. У деяких варіантах реалізації винаходу антитіло специфічно зв'язується з епітопом на білку, який є консервативним

50 55 60

для білка різних видів. В іншому варіанті реалізації винаходу специфічне зв'язування може включати ексклюзивне зв'язування, але не вимагає його. Використовуваний в цьому документі термін може бути представлений, наприклад, молекулою з K_d відносно мішені 10^{-4} М або менше, як альтернатива, 10^{-5} М або менше, як альтернатива, 10^{-6} М або менше, як альтернатива, 10^{-7} М або менше, як альтернатива, 10^{-8} М або менше, як альтернатива, 10^{-9} М або менше, як альтернатива, 10^{-10} М або менше, як альтернатива, 10^{-11} М або менше, як альтернатива, 10^{-12} М або менше, або K_d в діапазоні від 10^{-4} М до 10^{-6} М або від 10^{-6} М до 10^{-10} М або від 10^{-7} М до 10^{-9} М. Як буде зрозуміло фахівцю в цій галузі техніки, афінність і значення K_d є зворотно пропорційними. Висока афінність до антигену відображається низьким значенням K_d . В одному варіанті реалізації винаходу термін "специфічне зв'язування" відноситься до зв'язування, при якому молекула зв'язується з конкретним поліпептидом або епітопом на конкретному поліпептиді без істотного зв'язування з будь-яким іншим поліпептидом або поліпептидним епітопом.

Використовуваний в цьому документі термін "імуноадгезин" позначає антитілоподібні молекули, в яких специфічність зв'язування гетерологічного білка ("адгезин") поєднується з ефекторними функціями константних доменів імуноглобуліну. З точки зору структури імуноадгезини містять гібрид амінокислотної послідовності з бажаною специфічністю зв'язування, яка відрізняється від сайту розпізнавання і зв'язування антитіла з антигеном (тобто, є "гетерологічною") і послідовності константного домену імуноглобуліну. Адгезинова частина молекули імуноадгезину зазвичай являє собою безперервну амінокислотну послідовність, яка містить щонайменше сайт зв'язування з рецептором або лігандом. Послідовність константного домену імуноглобуліну в імуноадгезині може бути одержана з будь-якого імуноглобуліну, такого як IgG-1, IgG-2 (включаючи IgG2A і IgG2B), IgG-3 або IgG-4 підтипи IgA (включаючи IgA-1 і IgA-2), IgE, IgD або IgM. Гібридні Ig переважно містять заміну домену поліпептиду або антитіла, описаного в цьому документі, в місці щонайменше однієї варіабельної ділянки в молекулі Ig. В особливо переважному варіанті реалізації винаходу гібридний імуноглобулін містить ділянки шарніра, CH2 і CH3, або шарніра, CH1, CH2 і CH3 молекули IgG1. Стосовно одержання гібридного імуноглобуліну додатково див. патент США № 5428130, виданий 27 червня 1995 року. Наприклад, імуноадгезини, придатні для комбінованої терапії, в цьому випадку включають поліпептиди, що містять позаклітинні або такі, що зв'язуються з OX40, частини OX40L або позаклітинні або такі, що зв'язуються з OX40L, частини OX40, злиті з константним доменом послідовності імуноглобуліну, такі як ECD-Fc OX40 або ECD-Fc OX40L. Імуноадгезинові комбінації Ig Fc і позаклітинні домени, ВКД (ECD) рецепторів клітинної поверхні іноді називають розчинними рецепторами.

"Гібридний білок" і "гібридний поліпептид" відносяться до поліпептиду, що містить дві частини, ковалентно зв'язані одна з одною, причому кожна з частин представляє собою поліпептид з іншою властивістю. Властивість може бути біологічною властивістю, такою як активність *in vitro* або *in vivo*. Крім того, властивість може бути простою хімічною або фізичною властивістю, такою як зв'язування з молекулою-мішенню, каталіз реакції і т.д. Дві частини можуть бути з'єднані безпосередньо одинарним пептидним зв'язком або за допомогою пептидного лінкера, але знаходяться в рамці зчитування одна з одною.

Термін "ділянка Fc" в цьому документі використовується для визначення С-кінцевої ділянки важкого ланцюга імуноглобуліну, включаючи ділянки Fc нативної послідовності і варіанти ділянок Fc. Хоча межі ділянки Fc важкого ланцюга імуноглобуліну можуть варіювати, ділянка Fc важкого ланцюга IgG людини зазвичай визначається як така, що продовжується від амінокислотного залишку в положенні Cys226 або від Pro230 до його карбоксильного кінця. С-кінцевий лізін (залишок 447 відповідно до системи нумерації ЕС) ділянки Fc може бути видалений, наприклад, під час продукування або очищення антитіла або шляхом рекомбінантної інженерії нуклеїнової кислоти, що кодує важкий ланцюг антитіла. Відповідно, композиція інтактних антитіл може містити популяції антитіл з видаленими залишками K447, популяції антитіл без видалених залишків K447 і популяції антитіл, що містять суміш антитіл із залишком K447 і без нього. Відповідні природні послідовності ділянок Fc для застосування в антитілах за винаходом включають IgG1 людини, IgG2 (IgG2A, IgG2B), IgG3 і IgG4.

"Рецептор Fc" або "FcR" описує рецептор, що зв'язується з ділянкою Fc антитіла. Переважним FcR є FcR нативної послідовності людини. Крім того, переважним FcR є такий, який зв'язується з антитілом IgG (гама-рецептор), що включає рецептори підкласів FcγRI, FcγRII і FcγRIII, включаючи алельні варіанти і, як альтернатива, сплайсингові форми цих рецепторів, рецептори FcγRII включають FcγRIIA ("активуючий рецептор") і FcγRIIB ("інгібіторний рецептор"), що мають подібні амінокислотні послідовності та в основному містять відмінності в їх цитоплазматичних доменах. Активуючий рецептор FcγRIIA містить в цитоплазматичному

доміні імунорецепторний мотив активації на базі тирозину (IMAT (ITAM)). Інгібіторний рецептор FcγRIIB містить в цитоплазматичному домені імунорецепторний мотив інгібування на базі тирозину (IMIT (ITIM)). (Див. M. Daëron, Annu. Rev. Immunol. 15:203-234 (1997)). Огляд FcR наведений у Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9: 457-92 (1991); Capel et al., Immunomethods 4: 25-34 (1994); i de Haas et al., J. Lab. Clin. Med. 126: 330-41 (1995). Інші FcR, включаючи ті, що будуть ідентифіковані в майбутньому, охоплюються терміном "FcR".

"Ефекторні клітини людини" відносяться до лейкоцитів, що експресують один або більшу кількість FcR і виконують ефекторні функції. У деяких варіантах реалізації винаходу клітини експресують щонайменше FcγRIII і виконують ефекторну(і) функцію(і) АЗКЦ (ADCC). Приклади лейкоцитів людини, що опосередковують АЗКЦ (ADCC), включають мононуклеарні клітини периферичної крові (МКПК (PBMC)), природні клітини-кілери (ПК (NK)), моноцити, цитотоксичні Т-клітини і нейтрофіли. Ефекторні клітини можуть бути виділені з природного джерела, наприклад, з крові.

"Ефекторні функції" відносяться до біологічної активності, яку відносять на рахунок ділянки Fc антитіла і яка варіює в залежності від ізотипу антитіла. Приклади ефекторних функцій антитіла включають в себе: зв'язування з C1q і комплементзалежну цитотоксичність (КЗЦ (CDC)); зв'язування з рецептором Fc; антитілозалежну клітинно-опосередковану цитотоксичність (АЗКЦ (ADCC)); фагоцитоз; пригнічення рецепторів клітинної поверхні (наприклад, рецептора В-клітин); і активацію В-клітин.

Вираз "істотною мірою знижений" або "такий, що істотною мірою відрізняється", як використовується в цьому документі, означає досить високий ступінь різниці між двома числовими значеннями (як правило, одне пов'язане з молекулою, а інше пов'язане з референтною молекулою/компаратором), таким чином, що фахівець в цій галузі техніки буде розглядати різницю між цими двома значеннями як статистично значущу в контексті біологічної характеристики, виміряної зазначеними значеннями (наприклад, значеннями Kd). Різниця між зазначеними двома значеннями становить, наприклад, більше ніж близько 10 %, більше ніж близько 20 %, більше ніж близько 30 %, більше ніж близько 40 % та/або більше ніж близько 50 % від значення референтної молекули/компаратора.

Термін "істотною мірою подібний" або "істотною мірою такий же", як використовується в цьому документі, означає досить високий ступінь подібності між двома числовими значеннями (наприклад, одне, пов'язане з антитілом за винаходом, а інше, пов'язане з референтним антитілом/компаратором), таким чином, що спеціаліст в цій галузі техніки буде розглядати різницю між цими двома значеннями, як таку, що має невелику або взагалі не має біологічної та/або статистичної значущості в контексті біологічної характеристики, виміряної зазначеними значеннями (наприклад, значеннями Kd). Різниця між зазначеними двома значеннями становить, наприклад, менше ніж близько 50 %, менше ніж близько 40 %, менше ніж близько 30 %, менше ніж близько 20 % та/або менше ніж близько 10 % від значення референтної молекули/компаратора.

Термін "антагоніст" використовується в найширшому розумінні і включає будь-яку молекулу, що частково або повністю блокує, пригнічує або нейтралізує біологічну активність нативного поліпептиду, описану в цьому документі. Аналогічним чином термін "агоніст" використовується в найширшому розумінні і включає будь-яку молекулу, що імітує біологічну активність нативного поліпептиду, описану в цьому документі. Придатні молекули агоністів або антагоністів конкретно включають агоністичні або антагоністичні антитіла або фрагменти антитіл, фрагменти або варіанти амінокислотних послідовностей нативних поліпептидів, пептидів, антисмислові олігонуклеотиди, органічні молекули невеликого розміру і т. д. Способи ідентифікації агоністів або антагоністів поліпептиду можуть включати приведення поліпептиду в контакт з потенційною молекулою-агоністом або -антагоністом та вимірювання змін, що можуть бути виявлені, в одному або більшій кількості видів біологічної активності, які зазвичай асоціюються з поліпептидом.

Використовуваний в цьому документі термін "антагоністичне антитіло" проти молекули-мішені відноситься до антитіла, яке перешкоджає нормальному функціонуванню молекули-мішені шляхом зменшення транскрипції або трансляції нуклеїнової кислоти, що кодує молекулу-мішень, або шляхом пригнічення або блокування активності молекули-мішені, або і того, і іншого. Наприклад, антагоністичне антитіло проти TIGIT можна розглядати як антитіло або його зв'язуючий анти-TIGIT фрагмент, що перешкоджає нормальному функціонуванню TIGIT шляхом зменшення транскрипції або трансляції нуклеїнової кислоти, що кодує TIGIT, або шляхом пригнічення або блокування активності поліпептиду TIGIT, або і того, і іншого. Фахівцю в цій галузі техніки буде зрозуміло, що в деяких випадках антагоністичне антитіло проти TIGIT може протидіяти одному виду активності TIGIT, не впливаючи на інший вид активності TIGIT.

Наприклад, бажане антагоністичне антитіло проти TIGIT для застосування в певних способах згідно з цим документом є антагоністичним антитілом TIGIT, яке протидіє активності TIGIT у відповідь на один з видів взаємодії з ПБП (PVR), взаємодії з PVRL3 або взаємодії з PVRL2, наприклад, не зачіпаючи або мінімально зачіпаючи будь-який з інших видів взаємодії TIGIT.

Терміни "антагоніст TIGIT" і "антагоніст активності TIGIT або експресії TIGIT" використовуються взаємозамінним чином і відносяться до сполуки, що перешкоджає нормальному функціонуванню TIGIT шляхом зменшення транскрипції або трансляції нуклеїнової кислоти, що кодує TIGIT, або шляхом пригнічення або блокування активності поліпептиду TIGIT або і того, і іншого. Приклади антагоністів TIGIT включають, але не обмежуючись цим, антисмислові полінуклеотиди, інтерферуючі РНК, каталітичні РНК, гібриди РНК-ДНК, специфічні по відношенню до TIGIT аптамери, анти-TIGIT антитіла, TIGIT-зв'язуючі фрагменти анти-TIGIT антитіл, молекули невеликого розміру, що зв'язуються з TIGIT, пептиди, що зв'язуються з TIGIT, та інші поліпептиди, що специфічно зв'язуються з TIGIT (включаючи, але не обмежуючись цим, фрагменти, що зв'язують з TIGIT, одного або більшої кількості лігандів TIGIT, необов'язково злиті з одним або більшою кількістю додаткових доменів), таким чином, що взаємодія між антагоністом TIGIT і TIGIT приводить до зменшення або припинення прояву активності або експресії TIGIT. Фахівцю в цій галузі техніки буде зрозуміло, що в деяких випадках антагоніст TIGIT може протидіяти одному виду активності TIGIT, не впливаючи на інший вид активності TIGIT. Наприклад, бажаним антагоністом TIGIT для застосування в деяких із запропонованих в цьому документі способів є антагоніст TIGIT, який протидіє активності TIGIT у відповідь на один з видів взаємодії з ПБП (PVR), взаємодії з PVRL3 або взаємодії з PVRL2, наприклад, не зачіпаючи або мінімально зачіпаючи будь-який інший вид взаємодії TIGIT.

Терміни "антагоніст ПБП (PVR)" і "антагоніст активності ПБП (PVR) або експресії ПБП (PVR)" використовуються взаємозамінним чином і відносяться до сполуки, що перешкоджає нормальному функціонуванню ПБП (PVR), шляхом зменшення транскрипції або трансляції нуклеїнової кислоти, що кодує ПБП (PVR), або шляхом пригнічення або блокування активності поліпептиду ПБП (PVR) або і того, і іншого. Приклади антагоністів ПБП (PVR) включають, але не обмежуючись цим, антисмислові полінуклеотиди, інтерферуючі РНК, каталітичні РНК, гібриди РНК-ДНК, специфічні по відношенню до ПБП (PVR) аптамери, анти-ПБП (PVR) антитіла, фрагменти антитіл проти ПБП (PVR), що зв'язуються з ПБП (PVR), молекули невеликого розміру, що зв'язуються з ПБП (PVR), пептиди, що зв'язуються з ПБП (PVR), та інші поліпептиди, що специфічно зв'язуються з ПБП (PVR) (включаючи, але не обмежуючись цим, фрагменти одного або більшої кількості лігандів ПБП (PVR), що зв'язуються з ПБП (PVR), необов'язково злиті з одним або більшою кількістю додаткових доменів), таким чином, що взаємодія між антагоністом ПБП (PVR) і ПБП (PVR) приводить до зменшення або припинення прояву активності або експресії ПБП (PVR). Фахівцю в цій галузі техніки буде зрозуміло, що в деяких випадках антагоніст ПБП (PVR) може протидіяти одному виду активності ПБП (PVR), не впливаючи на інший вид активності ПБП (PVR). Наприклад, бажаним антагоністом ПБП (PVR) для застосування в деяких способах згідно з цим документом є антагоніст ПБП (PVR), що протидіє активності ПБП (PVR) у відповідь на взаємодію з TIGIT, не зачіпаючи взаємодії з PVR-CD96 та/або PVR-CD226.

Термін "антагоніст зв'язування осі PD-1" відноситься до молекули, що пригнічує взаємодію партнера по зв'язуванню з віссю PD-1 з одним або більшою кількістю його партнерів по зв'язуванню, щоб усунути дисфункцію Т-клітин, яка виникає в результаті проведення сигналу в PD-1 - з метою відновлення або підсилення функції Т-клітин (наприклад, проліферації, продукування цитокінів, знищення клітин-мішеней). Як використовується в цьому документі, антагоніст зв'язування осі PD-1 включає антагоніст зв'язування PD-1, антагоніст зв'язування PD-L1 і антагоніст зв'язування PD-L2.

Термін "антагоніст зв'язування PD-1" відноситься до молекули, яка зменшує, блокує, пригнічує, усуває або перешкоджає трансдукції сигналу в результаті взаємодії PD-1 з одним або більшою кількістю його партнерів по зв'язуванню, таких як PD-L1, PD-L2. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст зв'язування PD-1 являє собою молекулу, що інгібує зв'язування PD-1 з одним або більшою кількістю його партнерів по зв'язуванню. У конкретному аспекті антагоніст зв'язування PD-1 інгібує зв'язування PD-1 з PD-L1 та/або PD-L2. Наприклад, антагоністи, які зв'язуються з PD-1, включають антитіла проти PD-1, їх антигензв'язуючі фрагменти, імуноадгезини, гібридні білки, олігопептиди та інші молекули, які зменшують, блокують, інгібують, усувають або перешкоджають передачі сигналу, що виникає в результаті взаємодії PD-1 з PD-L1 та/або PD-L2. В одному варіанті реалізації винаходу антагоніст зв'язування PD-1 зменшує негативний коstimулюючий сигнал, що опосередкований або передається білками клітинної поверхні, які експресуються на Т-лімфоцитах, що

опосередковують передачу сигналу через PD-1, таким чином, що дисфункціональна Т-клітина стає менш дисфункціональною (наприклад, підсилює ефекторні відповіді на розпізнавання антигену). У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст зв'язування PD-1 являє собою антитіло проти PD-1. У конкретному аспекті антагоніст зв'язування PD-1 являє собою MDX-1106 (ніволумаб), описаний в цьому документі. В іншому конкретному аспекті антагоніст зв'язування PD-1 являє собою МК-3475 (ламбrolізумаб), описаний в цьому документі. В іншому конкретному аспекті антагоніст зв'язування PD-1 являє собою СТ-011 (підилізумаб), описаний в цьому документі. В іншому конкретному аспекті антагоніст зв'язування PD-1 являє собою MEDI-0680 (AMP-514), описаний в цьому документі. В іншому конкретному аспекті антагоніст зв'язування PD-1 являє собою PDR001, описаний в цьому документі. В іншому конкретному аспекті антагоніст зв'язування PD-1 являє собою REGN2810, описаний в цьому документі. В іншому конкретному аспекті антагоніст зв'язування PD-1 являє собою BGB-108, описаний в цьому документі.

Термін "антагоніст зв'язування PD-L1" відноситься до молекули, яка зменшує, блокує, пригнічує, усуває або перешкоджає трансдукції сигналу, що виникає в наслідок взаємодії PD-L1 з одним або більшою кількістю його партнерів по зв'язуванню, таких як PD-1, B7-1. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст зв'язування PD-L1, являє собою молекулу, яка інгібує зв'язування PD-L1 з його партнерами по зв'язуванню. У конкретному аспекті антагоніст зв'язування PD-L1, інгібує зв'язування PD-L1 з PD-1 та/або B7-1. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоністи, які зв'язуються з PD-L1, включають антитіла проти PD-L1, їх антигензв'язуючі фрагменти, імуноадгезини, гібридні білки, олігопептиди та інші молекули, які зменшують, блокують, інгібують, усувають або перешкоджають передачі сигналу, що виникає в результаті взаємодії PD-L1 з одним або більшою кількістю його партнерів по зв'язуванню, таких як PD-1, B7-1. В одному варіанті реалізації винаходу антагоніст зв'язування PD-L1, зменшує негативний костимулюючий сигнал, що опосередковуються або передається білками клітинної поверхні на Т-лімфоцитах, які опосередковують передачу сигналу через PD-L1, таким чином, що дисфункціональна Т-клітина стає менш дисфункціональною (наприклад, підсилює ефекторні відповіді на розпізнавання антигену). У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст зв'язування PD-L1, являє собою антитіло проти PD-L1. У конкретному аспекті анти-PD-L1 антитіло являє собою YW243.55.S70, описаний в цьому документі. В іншому конкретному аспекті анти-PD-L1 антитіло являє собою MDX-1105, описаний в цьому документі. У ще одному конкретному аспекті анти-PD-L1 антитіло являє собою MPDL3280A (атезолізумаб), описаний в цьому документі. У ще одному конкретному аспекті анти-PD-L1 антитіло являє собою MEDI4736 (дурвалумаб), описаний в цьому документі. У ще одному конкретному аспекті анти-PD-L1 антитіло являє собою YW243.55.S70, описаний в цьому документі. У ще одному конкретному аспекті анти-PD-L1 антитіло являє собою MSB0010718C (авелумаб), описаний в цьому документі.

Термін "антагоніст зв'язування PD-L2" відноситься до молекули, яка зменшує, блокує, пригнічує, усуває або перешкоджає трансдукції сигналу в результаті взаємодії PD-L2 з одним або більшою кількістю з його партнерів по зв'язуванню, таких як PD-1. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст зв'язування PD-L2, являє собою молекулу, яка інгібує зв'язування PD-L2 з одним або більшою кількістю його партнерів по зв'язуванню. У конкретному аспекті антагоніст зв'язування PD-L2, інгібує зв'язування PD-L2 з PD-1. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоністи PD-L2 включають антитіла проти PD-L2, їх антигензв'язуючі фрагменти, імуноадгезини, гібридні білки, олігопептиди та інші молекули, які зменшують, блокують, інгібують, усувають або перешкоджають передачі сигналу, що виникає в результаті взаємодії PD-L2 з одним або більшою кількістю його партнерів по зв'язуванню, таких як PD-1. В одному варіанті реалізації винаходу антагоніст зв'язування PD-L2 зменшує негативний костимулюючий сигнал, що опосередкований або передається білками клітинної поверхні, які експресуються на Т-лімфоцитах, що опосередковують передачу сигналу через PD-L2, таким чином, що дисфункціональна Т-клітина стає менш дисфункціональною (наприклад, підсилює ефекторні відповіді на розпізнавання антигену). У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст зв'язування PD-L2, є імуноадгезином.

Використовуваний в цьому документі термін "OX40" відноситься до будь-якого природного OX40 з будь-якого джерела хребетних, включаючи ссавців, таких як примати (наприклад, людина) і гризунів (наприклад, миші і щури), якщо в тексті прямо не вказано інше. Термін включає "повнорозмірний", непроцесований OX40, а також будь-яку форму OX40, що виникає в результаті процесування в клітині. Додатково, термін включає природні варіанти OX40, наприклад, сплайсингові варіанти або алельні варіанти. Амінокислотна послідовність типового OX40 людини представлена в SEQ ID NO: 354.

"Активация ОХ40" відноситься до активації рецептора ОХ40. Як правило, активація ОХ40 призводить до передачі сигналу.

Термін "аптамер" відноситься до молекули нуклеїнової кислоти, що здатна зв'язуватися з молекулою-мішенню, такою як поліпептид. Наприклад, аптамер за винаходом може специфічно зв'язуватися з поліпептидом TIGIT або з молекулою в сигнальному шляху, який модулює експресію TIGIT. В цій галузі техніки добре відомі генерація і терапевтичне застосування аптамерів. Див., наприклад, патент США № 5475096, і терапевтичну ефективність MACUGEN® (Eyetechn, Нью-Йорк) для лікування вікової дегенерації жовтої плями.

Термін "дисфункція" в контексті імунної дисфункції відноситься до стану зниженої імунної відповіді на антигенну стимуляцію.

Використовуваний в цьому документі термін "дисфункціональний" додатково включає резистентність або нечутливість до розпізнавання антигену, зокрема, порушену здатність трансформувати розпізнавання антигену в ефекторні функції Т-клітин нижче в сигнальному шляху, такі як проліферація, продукування цитокінів (наприклад, гама-інтерферону) та/або знищення клітини-мішені.

"Антитілозалежна клітинно-опосередкована цитотоксичність" або "АЗКЦ (ADCC)" відноситься до форми цитотоксичності, при якій секретований імуноглобулін, зв'язаний з рецепторами Fc (FcR), що присутні на певних цитотоксичних клітинах (наприклад, ПК (NK)-клітинах, нейтрофілах і макрофагах), дозволяє цим цитотоксичним ефectorам специфічно зв'язуватися з антигенвмісною клітиною-мішенню і згодом викликати загибель клітини-мішені за допомогою цитотоксинів. Первинні клітини для опосередкування АЗКЦ (ADCC), ПК (NK)-клітини, експресують тільки FcγRIII, тоді як моноцити експресують FcγRI, FcγRII і FcγRIII. Експресія FcR на гемопоетичних клітинах наведена в Табл. 3 на стор. 464 Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol 9: 457-92 (1991). Для оцінки активності АЗКЦ (ADCC) молекули, що представляє інтерес, може бути проведений аналіз АЗКЦ (ADCC) in vitro, такий як описаний в патенті США № 5500362 або 5821337 або в патенті США № 6737056 (Presta). Придатні для таких аналізів ефекторні клітини включають клітини МКПК (PMBC) і ПК (NK). Як альтернатива або додатково, активність АЗКЦ (ADCC) молекули, що представляє інтерес, може бути оцінена in vivo, наприклад, на тваринній моделі, такий як описана у Clynes et al. PNAS (USA) 95:652-656 (1998). Типовий аналіз для оцінки активності АЗКЦ (ADCC) представлений у наведених в цьому документі прикладах.

Термін "анергія" відноситься до стану нечутливості до антигенної стимуляції, спричиненого неповними або недостатніми сигналами, що передаються через рецептор Т-клітин (наприклад, підвищення внутрішньоклітинного рівня Ca²⁺ за відсутності активації ras). Крім того, анергія Т-клітин може бути наслідком стимуляції антигеном за відсутності костимуляції, в результаті чого клітини стають нечутливими до подальшої активації антигеном навіть у контексті костимуляції. Стан нечутливості часто може бути усунений присутністю інтерлейкіну-2 (IL-2). Анергічні Т-клітини не клонуються та/або не набувають ефекторних функцій.

"Підсилення функції Т-клітин" означає індукувати, спричиняти або стимулювати ефекторну Т-клітину або Т-клітину пам'яті для одержання оновленої, стійкої або підсиленої біологічною функції. Приклади підсилення функції Т-клітин включають: підвищену секрецію γ-інтерферону ефекторними CD8⁺ Т-клітинами, підсилення секреції γ-інтерферону CD4⁺ Т-клітинами пам'яті та/або ефекторними Т-клітинами, збільшення проліферації CD4⁺ ефекторних Т-клітин та/або Т-клітин пам'яті, збільшення проліферації CD8⁺ ефекторних Т-клітин, підвищення чутливості до антигенів (наприклад, кліренс) в порівнянні з рівнями таких показників до втручання. В одному варіанті реалізації винаходу ступінь покращення становить щонайменше 50 %, як альтернатива, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 100 %, 120 %, 150 %, 200 %. Спосіб вимірювання такого покращення відомий фахівцю в цій галузі техніки.

Термін "виснаження" відноситься до виснаження Т-клітин як до стану дисфункції Т-клітин, що виникає внаслідок тривалої передачі сигналів Т-клітинним рецептором (ТКР (TCR)), яка виникає під час багатьох хронічних інфекцій і раку. Цей стан відрізняється від анергії тим, що він виникає не через неповну або недостатню передачу сигналу, а через тривалу передачу сигналу. Він визначається слабкою ефекторних функцією, стійкою експресією інгібіторних рецепторів і транскрипціональним станом, відмінним від стану функціональних ефекторних Т-клітин або Т-клітин пам'яті. Виснаження перешкоджає оптимальному контролю інфекції та пухлин. Виснаження може бути результатом як зовнішніх негативних регуляторних шляхів (наприклад, імунорегуляторних цитокінів), так і внутрішніх негативних регуляторних шляхів (костимулюючих) в клітині (PD-1, B7-H3, B7-H4 і т. д.).

"Підсилення функції Т-клітин" означає індукувати, спричиняти або стимулювати Т-клітину для одержання стійкої або підсиленої біологічною функції або відновлювати або реактивувати

виснажені або неактивні Т-клітини. Приклади підсилення функції Т-клітин включають: підвищену секрецію γ -інтерферону CD8⁺ Т-клітинами, підвищену проліферацію, підвищену чутливість до антигенів (наприклад, кліренс вірусу, патогена або пухлини) в порівнянні з рівнями таких показників до втручання. В одному варіанті реалізації винаходу ступінь покращення становить щонайменше 50 %, як альтернатива, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 100 %, 120 %, 150 %, 200 %.

Спосіб вимірювання такого покращення відомий фахівцю в цій галузі техніки.

"Дисфункціональний розлад Т-клітин" представляє собою розлад або стан Т-клітин, що характеризується зниженням чутливості до антигенної стимуляції. У конкретному варіанті реалізації винаходу дисфункціональне порушення Т-клітин являє собою розлад, що специфічно пов'язаний з неналежним чином зниженою передачею сигналу через OX40 та/або OX40L. В іншому варіанті реалізації винаходу дисфункціональний розлад Т-клітин є таким, при якому Т-клітини є анергічними або знижена їх здатність секретувати цитокіни, проліферувати або виявляти цитолітичну активність. У конкретному аспекті зниження чутливості призводить до неефективного контролю патогена або пухлини, що експресують імуноген. Приклади дисфункціональних порушень Т-клітин, що характеризуються дисфункцією Т-клітин, включають неусунену гостру інфекцію, хронічну інфекцію і пухлинний імунітет.

"Пухлинний імунітет" відноситься до процесу, в якому пухлини ухиляються від імунного розпізнавання і кліренсу. Таким чином, як терапевтична концепція пухлинний імунітет "вилікуваний", коли таке ухилення послаблюється, а пухлини розпізнаються та атакуються імунною системою. Приклади розпізнавання пухлини включають зв'язування з пухлиною, зменшення розміру пухлини і кліренс пухлини.

"Імуногенність" відноситься до здатності конкретної речовини провокувати імунну відповідь. Пухлини є імуногенними, і підсилення імуногенності пухлин сприяє кліренсу пухлинних клітин імунною відповіддю. Приклади підсилення імуногенності пухлини включають, але не обмежуючись цим, обробку агоністом зв'язування OX40 (наприклад, агоністичними анти-OX40 антитілами) та інгібітором TIGIT (наприклад, блокуючі анти-TIGIT антитіла).

"Стійка відповідь" відноситься до стійкого впливу у вигляді зменшення росту пухлини після припинення лікування. Наприклад, розмір пухлини може залишатися таким же або меншим у порівнянні з розміром на початку фази введення. У деяких варіантах реалізації винаходу тривалість стійкої відповіді є щонайменше такою же, як тривалість лікування, щонайменше 1,5X, 2,0X, 2,5X або 3,0X тривалості лікування.

"Носії", як використовується в цьому винаході, включають фармацевтично прийнятні носії, наповнювачі або стабілізатори, що є нетоксичними для клітини або ссавця, впливаючи на нього в застосовуваних дозах і концентраціях. Часто фізіологічно прийнятний носій являє собою водний розчин з буферизованим рН. Приклади фізіологічно прийнятних носіїв включають буферні речовини, такі як фосфат, цитрат і інші органічні кислоти; антиоксиданти, включаючи аскорбінову кислоту; низькомолекулярний поліпептид (менше 10 залишків); білки, такі як сироватковий альбумін, желатин або імуноглобуліни; гідрофільні полімери, такі як полівінілпіролідон; амінокислоти, такі як гліцин, глютамін, аспарагін, аргінін або лізин; моносахариди, дисахариди та інші карбогідрати, включаючи глюкозу, манозу або декстрини; хелатуючі агенти, такі як ЕДТК; цукрові спирти, такі як маніт або сорбіт; солеутворюючі протиіони, такі як натрій; та/або неіонні поверхнево-активні речовини, такі як TWEEN™, поліетиленгліколь (ПЕГ (PEG)) і PLURONICS™.

"Листок-вкладиш" відноситься до інструкції, що зазвичай міститься в комерційних упаковках лікарських засобів, яка містить інформацію про показання, зазвичай міститься в комерційній упаковці лікарських засобів, яка містить інформацію про показання, застосування, дозування, способи введення, протипоказання, інші лікарські засоби для комбінування з продуктом, що міститься в упаковці, та/або попередження щодо застосування таких лікарських засобів.

Використовуваний в цьому документі термін "лікування" відноситься до клінічного втручання, призначеного для модифікації природного перебігу у індивідуума або клітини, яку лікують в ході клінічної патології. Бажані ефекти лікування включають зниження швидкості прогресування захворювання, покращення або полегшення патологічного стану, ремісію або покращення прогнозу. Наприклад, лікування індивідуума проходить успішно, якщо один або більша кількість симптомів, пов'язаних з раком, пом'якшуються або усуваються, включаючи, але не обмежуючись цим, зменшення проліферації (або руйнування) ракових клітин, зменшення симптомів, що виникають в результаті захворювання, підвищення якості життя тих, хто страждає на захворювання, зниження дози інших лікарських засобів, необхідних для лікування захворювання, уповільнення прогресування захворювання та/або збільшення тривалості життя індивідуумів.

Використовуваний в цьому документі термін "затримка прогресування захворювання" означає відтермінування, утруднення, зменшення швидкості, уповільнення, стабілізацію та/або відсунення в часі розвитку захворювання (наприклад, раку). Така затримка може бути різної тривалості, в залежності від історії захворювання та/або індивідуума, який проходить лікування.

Використовуваний в цьому документі термін "зменшення або пригнічення рецидиву раку" означає зменшення або пригнічення рецидиву пухлини або раку, прогресування пухлини або раку.

Як використовується в цьому документі, "рак" і "раковий" відносяться до або описують фізіологічний стан у ссавців, який зазвичай характеризується нерегульованим ростом клітин. До цього визначення включені доброякісні та злоякісні ракові утворення, а також латентні пухлини або мікрометастази. Приклади раку включають, але не обмежуючись цим, карциному, мієлому, лімфому, бластоми, саркому і лейкоз. Більш конкретні приклади таких видів раку включають множинну мієлому (MM), пласкоклітинний рак, рак легені (включаючи дрібноклітинний рак легені, недрібноклітинний рак легені, аденокарциному легені і пласкоклітинний рак легені), перитонеальний рак, печінково-клітинний рак, рак шлунка (включаючи рак шлунково-кишкового тракту), рак підшлункової залози, гліобластоми, рак шийки матки, рак яєчника, рак печінки, рак сечового міхура, гепатому, рак молочної залози, рак товстої кишки, колоректальний рак, карциному ендометрію або матки, карциному слинної залози, рак нирки або нирковий рак, рак печінки, рак передміхурової залози, рак вульви, рак щитоподібної залози, карциному печінки, різні види раку голови і шиї, а також лімфому В-клітин (включаючи високодиференційовану/фолікулярну неходжкінську лімфому (НХЛ (NHL)), дрібноклітинну лімфоцитарну (МЛ (SL)) НХЛ (NHL), НХЛ (NHL) проміжного ступеня диференціації/фолікулярну НХЛ (NHL), дифузну НХЛ (NHL) проміжної ступеня диференціації, низькодиференційовану імунобластну НХЛ (NHL), низькодиференційовану лімфобластну НХЛ (NHL), низькодиференційовану дрібноклітинну НХЛ (NHL) з нерозщепленими клітинами, НХЛ (NHL) з масивним ураженням; мантийно-клітинну лімфому; пов'язану зі СНІДом лімфому; і макроглобулінемію Вальденстрема), хронічний лімфоцитарний лейкоз (ХЛЛ (CLL)), гострий лімфобластний лейкоз (ГЛЛ (ALL)), волосатоклітинний лейкоз, хронічний мієлобластний лейкоз і посттрансплантаційний лімфопроліферативний розлад (ПТЛР (PTLD)), а також аномальну судинну проліферацію, пов'язану з факоматозами, набряк (такий як пов'язаний з пухлинами головного мозку) і синдром Мейгса.

Термін "пухлина" відноситься до будь-якого росту і проліферації пухлинних клітин, злоякісних або доброякісних, і всіх передракових і ракових клітин і тканин. Терміни "рак", "ракове", "клітинний проліферативний розлад", "проліферативний розлад" і "пухлина" не є взаємовиключними, як зазначено в цьому документі.

Використовуваний в цьому документі термін "метастаз" означає поширення раку з його основного місця розташування в інші ділянки організму. Ракові клітини можуть відриватися від первинної пухлини, проникати в лімфатичні і кровоносні судини, циркулювати в кровотоку і рости у віддаленій локації (утворювати метастази) в нормальних тканинах в будь-якому іншому місці організму. Метастази можуть бути локальними або віддаленими. Метастазування являє собою послідовний процес, який залежить від відриву пухлинних клітин від первинної пухлини, переміщення з кровотоком і зупинки на віддаленій ділянці. На новому місці клітини організовують кровопостачання і можуть вирости з утворенням небезпечної для життя маси. Як стимулюючі, так і інгібіторні молекулярні шляхи всередині пухлинної клітини регулюють цю поведінку, причому значущою є також взаємодія між пухлинною клітиною і клітинами-хазяями на віддаленій ділянці.

"Ефективна кількість" являє собою щонайменше мінімальну концентрацію, необхідну для досягнення вимірюваного покращення або профілактики певного розладу. Ефективна кількість в цьому документі може варіювати в залежності від таких факторів, як ступінь розвитку захворювання, вік, стать і маса тіла пацієнта, а також здатність антитіла спричиняти бажану відповідь у індивідуума. Крім того, ефективною кількістю є кількість, при якій сприятливі з терапевтичної точки зору ефекти переважають будь-які токсичні або шкідливі ефекти лікування. Для профілактичного застосування корисні або бажані результати включають такі результати, як усунення або зниження ризику, зменшення тяжкості або відсунення в часі початку захворювання, включаючи біохімічні, гістологічні та/або поведінкові симптоми захворювання, його ускладнення і проміжні патологічні фенотипи, презентовані під час розвитку захворювання. Для терапевтичного застосування корисні або бажані результати включають клінічні результати,

такі як зменшення однієї або більшої кількості симптомів, що виникають в результаті захворювання, підвищення якості життя людей, які страждають на це захворювання, зменшення дози інших лікарських засобів, необхідних для лікування захворювання, підвищення ефекту іншого лікарського засобу, наприклад, за допомогою націлювання, уповільнення прогресування захворювання та/або збільшення тривалості життя. У разі раку або пухлини ефективна кількість лікарського засобу може здійснювати ефект у вигляді зменшення кількості ракових клітин; зменшення розміру пухлини; пригнічення (тобто, уповільнення до деякої міри або, бажано, припинення) інфільтрації ракових клітин в периферичні органи; пригнічення (тобто, уповільнення розвитку до деякої міри і, бажано, припинення) метастазів пухлин; пригнічення до деякої міри росту пухлини; та/або полегшення до деякої міри одного або більшої кількості симптомів, пов'язаних з розладом. Ефективну кількість можна вводити в один або більшу кількість прийомів. Для цілей цього винаходу ефективна кількість лікарського засобу, сполуки або фармацевтичної композиції являє собою кількість, достатню для проведення профілактичного або терапевтичного лікування, прямо або непрямо. Як буде зрозуміло в клінічному контексті, ефективна кількість лікарського засобу, сполуки або фармацевтичної композиції може бути досягнута або може не бути досягнута в поєднанні з іншим лікарським засобом, сполукою або фармацевтичною композицією. Таким чином, "ефективна кількість" може розглядатися в контексті введення одного або більшої кількості терапевтичних агентів, причому один агент може вважатися зазначеним в ефективній кількості, якщо в поєднанні з одним або більшою кількістю інших агентів бажаний результат може бути досягнутий або досягається.

Використовуваний в цьому документі термін "в сполученні з" відноситься до застосування одного методу лікування на додаток до іншого методу лікування. Таким чином, "в поєднанні з" відноситься до застосування одного методу лікування до, під час або після застосування іншого методу лікування у індивідуума.

Використовуваний в цьому документі термін "суб'єкт" або "індивідуум" означає ссавця, в тому числі, але не обмежуючись цим, людину або ссавця, що не відноситься до людини, такого як жуйні тварини, кінські, собачі, овечі або котяті. Переважно, суб'єкт є людиною. Відповідно до цього опису, пацієнти також є суб'єктами.

"Хіміотерапевтичний агент" включає хімічні сполуки, придатні для лікування раку. Приклади хіміотерапевтичних агентів включають ерлотиніб (TARCEVA®, Genentech/OSI Pharm.), бортезоміб (VELCADE®, Millennium Pharm.), дисульфірам, епігалокатехін гідрат, саліноспорамід А, карфілзоміб, 17-AAG (гелданаміцин), радицикол, лактатдегідрогеназу А (LDH-A), фулвестрант (FASLODEX®, AstraZeneca), сунітиб (SUTENT®, Pfizer/Sugen), летрозол (FEMARA®, Novartis), іматиніб мезилат (GLEEVEC®, Novartis), фінасунат (VATALANIB®, Novartis), оксалиплатин (ELOXATIN®, Sanofi), 5-ФУ (5-FU) (5-флуорурацил), лейковорин, рапаміцин (Sirolimus, RAPAMUNE®, Wyeth), лапатиніб (TYKERB®, GSK572016, Glaxo Smith Kline), лонафаміб (SCH 66336), сорафеніб (NEXAVAR®, Bayer Labs), гефітиніб (IRESSA®, AstraZeneca), AG14 78, алкілюючі агенти, такі як тіотепа і циклофосфамід CYTOXAN®; алкілсульфонати, такі як бусульфан, імсульфан і піросульфан; азиридили, такі як бензодоба, карбоквон, метидоба й уредоба; етиленіміни і метиламеламіни, в тому числі альтретамін, триетиленмеламін, триетиленфосфорахід, триетиленіофосфорахід і триметиломеламін; ацетогеніни (особливо булатацин і булатацинон); камптотецин (в тому числі топотекан та іринотекан); бріостатин; калістатин; CC-1065 (в тому числі синтетичні аналоги адозелезину, карцелезину і бізелезину); криптофіцини (зокрема, криптофіцин 1 і криптофіцин 8); адренкортикостероїди (в тому числі преднізон і преднізолон); ципротерон ацетат; 5α-редуктази, в тому числі фінастерид і дутастерид); вориностат, ромадипсин, панобіностат, вальпроєву кислоту, моцитинонат доластатин; алдеслейкін, тальк дуокарміцин (в тому числі синтетичні аналоги, KW-2189 і CB1-TM1); елейтеробін; панкреатистатин; саркодиктин; спонгістатин; сполуки іпритного нітрогену, такі як хлорамбуцил, хломафазин, хлорфосфамід, естрамустин, іфосфамід, мехлоретамін, мехлоретамін оксид гідрохлорид, мелфалан, новембіхін, фенстерин, преднімустин, трофосфамід, іпритний урацил; похідні нітрососечовини, такі як кармустин, хлорозотоцин, фотемустин, ломустин, німустин і ранімустин; антибіотики, такі як енедіїнові антибіотики (наприклад, каліхеаміцин, особливо каліхеаміцин γ1I і каліхеаміцин ω1I (Angew Chem. Int., Ed., 1994, 33: 183-186), динеміцин, в тому числі динеміцин А, бісфосфонати, такі як клодронат, еспераміцин; а також неокарцинонстатинний хромофор і споріднені хромофори хромопротейнових енедіїнових антибіотиків), аклаціномізини, актиноміцин, аутраміцин, азасерин, блеоміцин, кактиноміцин, карабіцин, каміноміцин, карцинофілін, хромоміцини, дактиноміцин, даунорубіцин, деторубіцин, 6-діазо-5-оксо-L-норлейцин, ADRIAMYCIN® (доксорубіцин), морфоліно-доксорубіцин, ціаноморфоліно-

доксорубіцин, 2-піроліно-доксорубіцин і дезоксидоксорубіцин), епірубіцин, езорубіцин, ідарубіцин, марцеломіцин, мітоміцини, такі як мітоміцин С, мікофенольна кислота, ногаламіцин, оливоміцини, пепломіцин, порфіроміцин, пуромицин, квеламіцин, родорубіцин, стрептонігрин, стрептозоцин, туберцидин, убенімекс, циностатин, зорубіцин; антиметаболіти, такі як метотрексат і 5-флуорурацил (5-ФУ); аналоги фолієвої кислоти, такі як деноттерин, метотрексат, птероптерин, триметотрексат; пуринові аналоги, такі як флударабін, 6-меркаптопурин, тіаміприн, тіогуанін; піримідинові аналоги, такі як анцитабін, азацитидин, 6-азауридин, кармофур, цитарабін, дидезоксиуридин, доксифлуридин, еноцитабін, флоксуридин; андрогени, такі як калустерон, дромоностанол пропіонат, епітіостанол, мепітіостан, тестолактон; засоби, що пригнічують функцію надниркових залоз, такі як аміноглутетимід, мітотан, трилостан; добавку для заповнення дефіциту фолієвої кислоти, таку як фролінова кислота; ацеглатон; альдофосфамідглікозид; амінолевулінову кислоту; енілурацил; амсакрин; бестрабуцил; бісантрен; едатраксат; дефофамін; демеколцин; діазиквон; елфомітин; еліптиній ацетат; епотилон; етоглуцид; галій нітрат; гідроксисечовини; лентинан; лонідаїнін; майтансиноїди, такі як майтансин і ансамітоцини; мітогуазон; мітоксантрон; мопідамол; нітраерин; пентостатин; фенамет; пірарубіцин; лозоксантрон; подофілінову кислоту; 2-етилгідразид; прокарбазин; полісахаридний комплекс PSK® (JHS Natural Products, Юджин, Орегон); разоксан; ризоксин; сизофуран; спірогерманій; тенуазонову кислоту; триазиквон; 2,2',2''-трихлортриетиламін; трихотецени (особливо токсин Т-2, веракурин А, роридин А і ангідин); уретан; віндезин; дакарбазин; маномустин; мітобронітол; мітолактол; піпоброман; гацитозин; арабінозид ("Ara-C"); циклофосфамід; тіотепа; таксани, наприклад, TAXOL (паклітаксел, Bristol-Myers Squibb Oncology, Принстон, штат Нью-Джерсі), ABRAXANE® (без кремофору), композиції наночастинок паклітакселу з альбуміном (American Pharmaceutical Partners, Шомберг, штат Іллінойс) і TAXOTERE® (доцетаксел, доксетаксел, Sanofi-Aventis); хлорамбуцил; GEMZAR® (гемцитабін); 6-тіогуанін; меркаптопурин; метотрексат; платинові аналоги, такі як цисплатин і карбоплатин; вінбластин; етопозид (VP-16); іфосфамід; мітоксантрон; вінкрисдин; NAVELBINE® (вінорелбін); новантрон; теніпозид; едатрексат; дауноміцин; аміноптерин; капецитабін (XELODA®); ібандронат; CPT-11; інгібітор топоізомерази RFS 2000; дифлуорметилорнітин (DMFO); ретиноїди, такі як ретиноева кислота; і фармацевтично прийнятні солі, кислоти і похідні будь-якого з вищевказаного.

Крім того, хіміотерапевтичний засіб включає (i) антигормональні агенти, дія яких спрямована на регулювання або пригнічення дії гормонів на пухлини, такі як антиестрогени і селективні модулятори рецепторів естрогенів (CMPE (SERM)), в тому числі, наприклад, тамоксифен (в тому числі NOLVADEX®, тамоксифен цитрат) ралоксифен, дролоксифен, йодоксифен, 4-гідрокситамоксифен, триоксифен, кеоксифен, LY117018, онпристон і FARESTON® (тореміфен цитрат); (ii) інгібітори ароматази, які інгібують фермент ароматазу, що регулює утворення естрогенів у надниркових залозах, такі як, наприклад, 4 (5)-імідазоли, аміноглутетимід, MEGASE® (мегестрол ацетат), AROMASIN® (екземестан, Pfizer) форместан, фадрозол, RIVISOR® (ворозол), FEMARA® (летрозол, Novartis) і ARIMIDEX® (анастрозол, AstraZeneca); (iii) антиандрогени, такі як флутамід, нілутамід, бікалутамід, лейпролід і гозерелін; бусерелін, триптерелін, медроксипрогестерон ацетат, діетилстільбестрол, премарин, флуоксиместерон, повністю транс-ретиноева кислота, фенретинід, а також трокацитабін (1,3-діоксоланнуклеозидний аналог цитозину); (iv) інгібітори протеїнкінази; (v) інгібітори ліпідкінази; (vi) антисмислові олігонуклеотиди, особливо ті, які пригнічують експресію генів у сигнальних шляхах, що беруть участь в абераційній проліферації клітин, таких як, наприклад, РКС-альфа, Ralf і H-Ras; (vii) рибозими, такі як інгібітори експресії фактора росту ендотелію судин, ФРЕС (VEGF) (наприклад, ANGIOZYME®) та інгібітори експресії HER2; (viii) вакцини, такі як вакцини проти генної терапії, наприклад, ALLOVECTIN®, LEUVECTIN® і VAXID®; PROLEUKIN®, rIL-2; інгібітор топоізомерази 1, такий як LURTOTECAN®; ABARELIX® rmRH; і (ix) фармацевтично прийнятні солі, кислоти і похідні будь-якого з вищевказаного.

Крім того, хіміотерапевтичний агент включає антитіла, такі як алектумумаб (Campath), бевацизумаб (AVASTIN®, Genentech); цетуксимаб (ERBITUX®, Imclone); панітумумаб (VECTIBIX®, Amgen), ритуксимаб (RITUXAN®, Genentech/Biogen Idec), пертумумаб (OMNITARG®, 2C4, Genentech), трастумумаб (HERCEPTIN®, Genentech), тозитумумаб (Bexxar, Corixa) і кон'югат антитіла з лікарським засобом гемтумумаб озогаміцин (MYLOTARG®, Wyeth). Додаткові гуманізовані моноклональні антитіла з терапевтичним потенціалом агентів в поєднанні із сполуками за цим винаходом включають: аполізумаб, азелізумаб, атлізумаб, бапінейзумаб, бітазузумаб мертансин, кантузумаб мертансин, седелізумаб, сертолізумаб пегол, цидфузитузумаб, цидтузумаб, даклізумаб, екулізумаб, ефалізумаб, епратузумаб, еклізумаб, фелвізумаб, фонтолізумаб, гемтузумаб озогаміцин, інотузумаб озогаміцин, імілімумаб,

лабетузумаб, лінтузумаб, матузумаб, меполізумаб, мотавізумаб, мотовізумаб, наталізумаб, німотузумаб, ноловізумаб, нумавізумаб, окрелізумаб, омалізумаб, палівізумаб, пасколізумаб, пекфузитузумаб, пектузумаб, пекселізумаб, ралівізумаб, ранібізумаб, резлівізуабу, резлізумаб, резівізуабу, ровелізумаб, руплізумаб, сибротузумаб, сиплізумаб, сонтузумаб, такатузумаб, тетраксетан, тадоцизумаб, талізумаб, тефібазумаб, тоцилізумаб, торалізумаб, тукотузумаб, целмолейкін, туцуситузумаб, умавізуабу, уртоксазумаб, устекінумаб, візілізумаб та анти-інтерлейкін 12 (AB T-874/J695, Wyeth Research і Abbott Laboratories), що являє собою рекомбінантне повнорозмірне IgG1 λ антитіло з виключно людської послідовністю, генетично модифіковане для розпізнавання білка інтерлейкін-12 p140.

Додатково, хіміотерапевтичний агент включає "інгібітори рецепторів епідермального фактора росту, РЕФР (EGFR)", що відносяться до сполук, які зв'язуються з або іншим чином взаємодіють безпосередньо з РЕФР (EGFR) і запобігають або зменшують його сигнальну активність і, як альтернатива, згадуються як "антагоніст РЕФР (EGFR)". Приклади таких агентів включають антитіла і молекули невеликого розміру, що зв'язуються з РЕФР (EGFR). Приклади антитіла, що зв'язуються з РЕФР (EGFR), включають MAb 579 (ATCC CRL HB 8506), MAb 455 (ATCC CRL HB8507), MAb 225 (ATCC CRL 8508), MAb 528 (ATCC CRL 8509) (див. Патент США № 4943533, Mendelsohn et al.) та його варіанти, такі як гібридизоване 225 (C225 або Cetuximab, ERBUTIX[®]) і реконструйоване людське 225 (H225) (див. WO 96/40210, Imclone Systems Inc.); IMC-11F8, повністю людське, яке орієнтоване на РЕФР (EGFR) антитіло (Imclone); антитіла, що зв'язуються з мутантним РЕФР (EGFR) типу II (патент США № 5212290); гуманізовані і гібридні антитіла, що зв'язуються з РЕФР (EGFR), як описано в патенті США № 5891996; і людські антитіла, що зв'язуються з РЕФР (EGFR), такі як ABX-EGF або панітумумаб (див. WO98/50433, Abgenix/Amgen); EMD 55900 (Stragliotto et al., Eur. J. Cancer 32A: 636-640 (1996)); EMD7200 (матузумаб) гуманізоване антитіло проти РЕФР (EGFR), спрямоване проти РЕФР (EGFR), що конкурує як з епідермальним фактором росту, ЕФР (EGF), так і з трансформуючим фактором росту, ТФР (TGF)-альфа за зв'язування з РЕФР (EGFR) (EMD/Merck); людське антитіло проти РЕФР (EGFR), HuMax-EGFR (GenMab); повністю людські антитіла, відомі як E1.1, E2.4, E2.5, E6.2, E6.4, E2.11, E6.3 і E7.6.3 і описані в патенті США 6235883; MDX-447 (Medarex Inc); і mAb 806 або гуманізоване mAb 806 (Johns et al., J. Biol., Chem., 279 (29): 30375-30384 (2004)). Антитіло проти РЕФР (EGFR) можна кон'югувати з цитотоксичним агентом, утворюючи таким чином імунокон'югат (див., наприклад, EP659439A2, Merck Patent GmbH). Антагоністи РЕФР (EGFR) включають невеликі молекули, такі як сполуки, описані в патентах США №№ 5616582, 5457105, 5475001, 5654307, 5679683, 6084095, 6265410, 6455534, 6521620, 6596726, 6713484, 5770599, 6133332, 5866572, 6399602, 6344459, 6602863, 6391874, 6344455, 5760041, 6002008 та 5747498, а також наступні публікації PCT: WO 98/14451, WO 98/50038, WO 99/09016 і WO 99/24037. Конкретні низькомолекулярні антагоністи РЕФР (EGFR) включають OSI-774 (CP-358774, ерлотиніб, TARCEVA[®] Genentech/OSI Pharmaceuticals); PD 183805 (CI 1033, 2-пропенамід, N-[4-[(3-хлор-4-флуорфеніл)аміно]-7-[3-(4-морфолін)пропокси]-6-хіназолін]-, дигідрохлорид, Pfizer Inc.); ZD1839, гефітініб (IRESSA[®]) 4-(3'-хлор-4'-флуораніліно)-7-метокси-6-(3-морфолінопропокси)хіназолін, AstraZeneca); ZM 105180 ((6-аміно-4-(3-метилфеніламіно)-хіназолін, Zeneca), BIBX-1382 (N8-(3-хлор-4-флуорфеніл)-N2-(1-метилпіперидин-4-іл)піримідо[5,4-d]піримідин-2,8-діамін, Boehringer Ingelheim), PKI-166 ((R)-4-[4-[(1-фенілетил)аміно]-1H-піроло[2,3-d]піримідин-6-іл]фенол), (R)-6-(4-гідроксифеніл)-4-[(1-фенілетил)аміно]-7H-піроло[2,3-d]піримідин); CL-387785 (N-[4-[(3-бромфеніл)аміно]-6-хіназолін]-2-бутинамід); ЕКВ-569 (N-[4-[(3-хлор-4-флуорфеніл)аміно]-3-ціано-7-етокси-6-хінолін]-4-(диметиламіно)-2-бутенамід) (Wyeth); AG1478 (Pfizer); AG1571 (SU 5271, Pfizer); подвійні інгібітори тирозинкінази РЕФР (EGFR)/HER2, такі як лапатиніб (TYKERB[®], GSK572016 або N-[3-хлор-4-[(3-флуорфеніл)метокси]феніл]-6[[[2-метилсульфоніл]етил]аміно]метил]-2-фураніл]-4-хіназолінамін).

Хіміотерапевтичні агенти додатково включають "інгібітори тирозинкінази", в тому числі препарати, націлені на РЕФР (EGFR), зазначені у попередньому абзаці; низькомолекулярний інгібітор тирозинкінази HER2, такий як TAK165, доступний від Takeda; CP-724,714, селективний інгібітор рецепторної тирозинкінази ErbB2 для перорального застосування (Pfizer і OSI); інгібітори подвійного HER, такі як ЕКВ-569 (доступний від Wyeth), які переважно зв'язуються з РЕФР (EGFR), але пригнічують клітини, що надмірно експресують як HER2, так і РЕФР (EGFR); лапатиніб (GSK572016, доступний від Glaxo-SmithKline), інгібітор тирозинкінази РЕФР (EGFR) і HER2 для перорального застосування; PKI-166 (доступний від Novartis); інгібітори ran-HER, такі як канертиніб (CI-1033; Pharmacia); інгібітори Raf-1, такі як антисмисловий агент ISIS-5132, доступний від ISIS Pharmaceuticals, що пригнічують передачу сигналів Raf-1; не націлені на HER інгібітори TK, такі як іматиніб мезилат (GLEEVEC[®], доступний від Glaxo SmithKline);

поліспецифічні інгібітори тирозинкінази, такі як сунітиніб (SUTENT®, доступний від Pfizer); інгібітори рецепторної тирозинкінази ФРЕС (VEGF), такі як ваталаніб (PTK787/ZK222584, доступний від Novartis/Schering AG); MAPK інгібітор позаклітинної регульованої кінази І СІ-1040 (доступний від Pharmacia); хіназоліни, такі як PD 153035, 4-(3-хлораніліно)хіназолін;
 5 піридопіримідини; піримідопіримідини; піролпіримідини, такі як CGP 59326, CGP 60261 і CGP 62706; піразолпіримідини, 4-(феніламіно)-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин; куркумін (диферулоїлметан, 4,5-біс(4-флуораніліно)фталімід); тирфостини, що містять нітротіофенові фрагменти; PD-0183805 (Warner-Lambert); антисмислові молекули (наприклад, такі, які зв'язуються з кодуючою HER нуклеїновою кислотою); хіноксалін (патент США № 5804396);
 10 трифостини (патент США № 5804396); ZD6474 (Astra Zeneca); PTK-787 (Novartis/Schering AG); інгібітори рап-HER, такі як CI-1033 (Pfizer); афінітак (ISIS 3521; Isis/Lilly); іматиніб мезилат (GLEEVEC®); PKI 166 (Novartis); GW2016 (Glaxo SmithKline); CI-1033 (Pfizer); EKB-569 (Wyeth); семаксиніб (Pfizer); ZD6474 (AstraZeneca); PTK-787 (Novartis/Schering AG); INC-1C11 (Imclone), рапаміцин (сиролімус, RAPAMUNE®); або описані в будь-який з наступних патентних публікацій:
 15 патент США № 5804396; WO 199 9/09016 (American Cyanamid); WO 1998/43960 (American Cyanamid); WO 1997/38983 (Warner Lambert); WO 1999/06378 (Warner Lambert); WO 1999/06396 (Warner Lambert); WO 1996/30347 (Pfizer, Inc); WO 1996/33978 (Zeneca); WO 1996/3397 (Zeneca) і WO 1996/33980 (Zeneca).

Крім того, хіміотерапевтичні агенти включають дексаметазон, інтерферони, колхіцин,
 20 метоприн, циклоспорин, амфотерицин, метронідазол, алемтузумаб, алітретиніон, алопуринол, аміфостин, миш'як триоксид, аспарагіназу, живу БЦЖ (BCG), бевацумаб, бексаротен, кладрибін, клофарабін, дарбепоетин альфа, денілейкін, дексазоксан, епоетин альфа, елотиніб, філграстим, гістерелін ацетат, ібритумомаб, інтерферон альфа-2а, інтерферон альфа-2b, леналідомід, левамизол, месну, метоксазалан, нандролон, непарабін, нофетумомаб, опрелвекін,
 25 паліфермін, памідронат, пегадемазу, пегаспаргазу, пегфілграстим, пеметрексед динатрій, плікаміцин, порфімер натрій, хінакрин, расбуриказу, сарграмостим, темозоломід, VM-26, 6-TG, тореміфен, третиноїн, повністю транс-ретиноеву кислоту, ПТРК (ATRA), валрубіцин, золедронат і золедронову кислоту та їх фармацевтично прийнятні солі.

Додатково, хіміотерапевтичні агенти включають гідрокортизон, гідрокортизон ацетат,
 30 кортизон ацетат, тиксотол півалат, триамцинолон ацетонід, мометазон, амцинолід, будесонід, десонід, флуоцинолід, флуоцинолон ацетонід, бетаметазон, бетаметазон натрій фосфат, дексаметазон, дексаметазон натрій фосфат, флуокортолон, гідрокортизон-17-бутират, гідрокортизон-17-валерат, аклометазон дипропіонат, бетаметазон валерат, бетаметазон дипропіонат, преднікарбат, клобетазон-17-бутират, клобетазол-17-пропіонат, флуокортолон капроат, флуокортолон півалат і флупредніден ацетат; імунні селективні протизапальні пептиди (ІмСПЗП (ІмSAID)), такі як фенілаланін-глутамін-гліцин (ФГГ (FEG)) і його D-ізомерна форма (feG) (IMULAN BioTherapeutics, LLC); протиревматичні препарати, такі як азатіоприн, циклоспорин (циклоспорин А), D-пеніциламін, солі золота, гідроксихлорохін, лефлуномід, міноциклін, сульфасалазин, блокатори пухлинного некротичного фактору альфа (TNFα), такі як
 40 етанерсепт (Enbrel), інфліксимаб (Remicade), адалімумаб (Humira), сертолізумаб пегол (Cimzia), голімунаб (Simponi), блокатори інтерлейкіну 1 (IL-1), такі як анакінра (Kineret), блокатори стимуляції Т-клітин, такі як абатасепт (Orencia), блокатори інтерлейкіну 6 (IL-6), такі як тоцилізумаб (ACTEMERA®); блокатори інтерлейкіну 13 (IL-13), такі як лебрикізумаб; блокатори інтерферону альфа (IFN), такі як ронталізумаб; блокатори бета-7-інтегрину, такі як rhMAB Beta7; блокатори шляхів IgE, такі як анти-M1 прайм; секретований гомотримерний LTα3 і мембранозв'язані гетеротримерні LTα1/β2-блокатори, такі як анти-лімфотоксин альфа (LTα); радіоактивні ізотопи (наприклад, At211, I131, I125, Y90, Re186, Re188, Sm153, Bi212, P32, Pb212 і радіоактивні ізотопи Lu); різні досліджувані агенти, такі як тіоплатин, PS-341, фенілбутират, ET-18-ОСН3 або інгібітори фарнезилтрансферази (L-739 749, L-744 832); поліфеноли, такі як
 50 кверцетин, ресвератрол, піцатанол, епігалокатехін галат, теафлавіни, флаванолі, проціанідини, бетулінова кислота та їх похідні; інгібітори аутофагії, такі як хлорохін; дельта-9-тетрагідроканабінол (дронабінол, MARINOL®); бета-лапахон; лапахол; колхіцин; бетулінова кислота; ацетилкамптотецин, скополектин і 9-амінокамптотецин; подофілотоксин; тегафур (UFTORAL®); бексаротин (TARGRETIN®); бісфосфонати, такі як клодронат (наприклад, BONEFOS® або OSTAC®), етидронат (DIDROCAL®), NE-58095, золедроновна кислота/золедронат (ZOMETA®), алендронат (FOSAMAX®), памідронат (AREDIA®), тилудронат (SKELID®) або ризедронат (ACTONEL®); і рецептор епідермального фактора росту (EGF-R); вакцини, такі як вакцина THERATOPE®; перифозин, інгібітор ЦОГ-2 (наприклад, целококсиб або еторикоксиб), інгібітор протеосоми (наприклад, PS341); CCI-779; типіфарніб (R11577); орафеніб,
 60 ABT510; інгібітор Bcl-2, такий як облімерсен натрій (GENA-SENSE®); піксантрон; інгібітори

фарнезилтрансферази, такі як лонафарніб (SCH 6636, SARASARTM); і фармацевтично прийнятні солі, кислоти або похідні будь-якого з вищевказаного; а також комбінації двох або більшої кількості з вищевказаного, такі як CHOP, скорочена назва комбінованої терапії циклофосфамідом, доксорубіцином, вінкристином і преднізолоном; і FOLFOX, скорочена назва

5 схеми лікування оксаліплатином (ELOXATINTM) в поєднанні з 5-ФУ (5-FU) і лейковорином.

Хіміотерапевтичні агенти додатково включають нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП) з болезаспокійливою, жарознижуючою і протизапальною дією. НПЗП включають неселективні інгібітори ферменту циклооксигенази. Конкретні приклади НПЗП включають аспірин, похідні пропіонової кислоти, такі як ібупрофен, фенпрофен, кетопрофен, флурбіпрофен, оксапрозин і напроксен, похідні оцтової кислоти, такі як індометацин, суліндак, етодолак, диклофенак, похідні єнольної кислоти, такі як піроксикам, мелоксикам, теноксикам, дроксикам, лорноксикам та ізоксикам, похідні фенамінової кислоти, такі як мефенамінова кислота, меклофенамова кислота, флуфенамова кислота, тофенамова кислота, та інгібітори ЦОГ-2, такі як целекоксиб, еторикоксиб, люміракоксиб, парекоксиб, рофекоксиб, рофекоксиб і валдекоксиб. НПЗП можуть бути показані для симптоматичного полегшення таких станів, як ревматоїдний артрит, остеоартрит, запальні артропатії, анкілозівний спондилоартрит, псоріатичний артрит, синдром Рейтера, гостра подагра, дисменорея, метастатичний біль в кістках, головний біль і мігрень, післяопераційний біль, легкий і помірний біль внаслідок запалення і пошкодження тканин, підвищена температура, кишкова непрохідність і ниркова

20

Використовуваний в цьому документі термін "цитокін" в загальному випадку відноситься до білків, які вивільняються однією клітинною популяцією, що діють на іншу клітину як міжклітинні медіатори або здійснюють аутокринну дію на клітини, які продукують білки. Приклади таких цитокінів включають лімфокіни, монокіни; інтерлейкіни (ІЛ (IL)), такі як IL-1, IL-1 α , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-15, IL-17A-F, з IL-18 по IL-29 (наприклад, IL-23), IL-31, в тому числі PROLEUKIN® rIL-2; пухлинний некротичний фактор, такий як TNF- α або TNF- β , TGF- β 1-3; та інші поліпептидні фактори, в тому числі фактор, що інгібує лейкоз (ФІЛ ("LIF")), ціліарний нейротрофічний фактор (ЦНТФ ("CNTF")), ЦНТФ (CNTF)-подібний цитокін (ЦПЦ ("CLC")), кардіотрофін (КТ ("CT")) і кіт ліганд (КЛ ("KL")).

25

Використовуваний в цьому документі термін "хемокін" відноситься до розчинних факторів (наприклад, цитокінів), що мають здатність вибірково індукувати хемотаксис і активацію лейкоцитів. Крім того, вони запускають процеси ангіогенезу, запалення, загоєння ран і утворення пухлин. Приклади хемокінів включають IL-8, людський гомолог хемоатрактанту кератиноцитів (ХК (KC)) миші.

30

"Відсоток ідентичності амінокислотних послідовностей (%)" щодо референтної поліпептидної послідовності визначається як відсоток амінокислотних залишків в потенційній послідовності, які ідентичні амінокислотним залишкам в референтній поліпептидної послідовності після вирівнювання послідовностей і введення гепів, якщо це необхідно, для досягнення максимального відсотка ідентичності послідовностей і без урахування будь-яких консервативних замінів як частини ідентичності послідовностей. Вирівнювання для цілей визначення відсотка ідентичності амінокислотних послідовностей може бути досягнуте різними способами, які знаходяться в межах компетенції фахівця в цій галузі техніки, наприклад, із застосуванням загальнодоступного комп'ютерного програмного забезпечення, такого як програмне забезпечення BLAST, BLAST-2, ALIGN або Megalign (DNASTAR). Фахівці в цій галузі техніки можуть визначити відповідні параметри для вирівнювання послідовностей, в тому числі будь-які алгоритми, необхідні для досягнення максимального вирівнювання по всій довжині порівнюваних послідовностей. Однак для цілей цього винаходу значення ідентичності послідовностей амінокислот генеруються із застосуванням комп'ютерної програми порівняння послідовностей ALIGN-2. Комп'ютерна програма порівняння послідовностей ALIGN-2 була створена Genentech, Inc., а вихідний код був поданий з призначеною для користувача документацією в Бюро реєстрації авторських прав США, Вашингтон, округ Колумбія, 20559, де він зареєстрований під реєстраційним № авторських прав США TXU510087. Програма ALIGN-2 є загальнодоступною в Genentech, Inc., Південний Сан-Франциско, штат Каліфорнія, або може бути скопійована з вихідного коду. Програма ALIGN-2 повинна бути скопійована для застосування в операційній системі UNIX, в тому числі цифровий UNIX V4.0D. Всі параметри порівняння послідовностей задаються програмою ALIGN-2 і не змінюються.

40

45

50

55

В ситуаціях, коли ALIGN-2 використовують для порівняння амінокислотних послідовностей, ідентичність амінокислотних послідовностей для заданої амінокислотної послідовності А відносно або проти заданої амінокислотної послідовності В (що може, як альтернатива, бути виражена як задана амінокислота послідовність А, що має або містить певну амінокислотну

60

послідовність, ідентичну відносно або проти заданої амінокислотної послідовності В), обчислюють таким чином:

100 помножити на дріб X/Y

де X - кількість амінокислотних залишків, зазначених як ідентичні збіги програмою вирівнювання послідовностей ALIGN-2 у вирівнюванні цієї програмою A і B, а Y - загальна кількість амінокислотних залишків у B. Необхідно розуміти, що якщо довжина амінокислотної послідовності A не дорівнює довжині амінокислотної послідовності B, то % ідентичності амінокислотної послідовності A відносно B не буде дорівнює % ідентичності амінокислотної послідовності B відносно A. Якщо в тексті прямо не вказано інше, то всі значення % ідентичності амінокислотних послідовностей, що використовуються в цьому документі, одержують, як описано в попередньому абзаці, із застосуванням комп'ютерної програми ALIGN-2.

Вираз "фармацевтично прийнятний" вказує на те, що речовина або композиція повинні бути сумісними, з хімічної та/або токсикологічної точки зору, з іншими складовими інгредієнтами препарату та/або з організмом ссавця, що підлягає лікуванню ним.

Використовуваний в цьому документі термін "введення" означає спосіб введення дози сполуки (наприклад, анти-TIGIT антитіла за винаходом або нуклеїнової кислоти, що кодує анти-TIGIT антитіло за винаходом) або композиції (наприклад, фармацевтичної композиції, наприклад фармацевтичної композиції, що містить анти-TIGIT антитіло за винаходом) суб'єкту. Композиції, які застосовуються в описаних в цьому документі способах, можна вводити, наприклад, внутрішньовенно, внутрішньом'язово, інтравітреально (наприклад, шляхом інтравітреальної ін'єкції), у вигляді очних крапель, під шкіру, трансдермально, внутрішньоартеріально, внутрішньочеревинно, внутрішньовогнищево, інтракраніально, внутрішньосуглобово, в передміхурову залозу, інтратрахеально, інтратекально, інтраназально, вагінально, інтраректально, застосовувати місцево, в пухлину, в черевну порожнину, підшкірно, субкон'юнктивно, інтравезикулярно, на слизову оболонку, інтраперикардіально, в пупкову вену, в око, інтраорбітально, перорально, місцево, трансдермально, шляхом інгаляції, шляхом ін'єкції, шляхом імплантації, шляхом інфузії, шляхом безперервної інфузії, шляхом локалізованої перфузії, для безпосереднього омивання цільових клітин, за допомогою катетера, за допомогою лаважу, у вигляді кремів або ліпідних композицій. Крім того, композиції, що застосовуються в описаних в цьому документі способах, можна вводити системно або застосовувати місцево. Спосіб введення може варіювати в залежності від різних факторів (наприклад, з'єднання або композиції для введення і ступеню тяжкості стану, захворювання або розладу, що підлягає лікуванню).

Використовуваний в цьому документі термін "вектор" призначений для позначення молекули нуклеїнової кислоти, здатної переносити іншу нуклеїнову кислоту, з якою вона пов'язана. Один тип вектора являє собою "плазмід", що відноситься до циклічної двохланцюгової петлі ДНК, в яку можуть бути ліговані додаткові сегменти ДНК. Іншим типом вектора є фаговий вектор. Іншим типом вектора є вірусний вектор, в якому додаткові сегменти ДНК можуть бути ліговані у вірусний геном. Деякі вектори здатні до автономної реплікації в клітині-хазяїні, в яку їх вводять (наприклад, бактеріальні вектори, що містять бактеріальне джерело реплікації та епісомальні вектори ссавців). Інші вектори (наприклад, неепісомальні вектори ссавців) можуть бути інтегровані в геном клітини-хазяїна при введенні в клітину-хазяїна і, таким чином, реплікуються разом з геномом хазяїна. Більш того, деякі вектори здатні спрямовувати експресію генів, з якими вони функціонально пов'язані. Такі вектори згадуються в цьому документі як "рекомбінантні вектори експресії" (або просто "рекомбінантні вектори" або "вектори експресії"). Загалом, вектори експресії, придатні для способів рекомбінантної ДНК, часто знаходяться у формі плазмід. В цьому описі "плазмід" і "вектор" можуть використовуватися взаємозамінним чином.

Використовуваний в цьому документі термін "близько" відноситься до звичайного діапазону помилок для відповідного значення, добре відомого фахівцю в цій галузі техніки. Посилання на "близько" значення або параметра в цьому документі включає (і описує) варіанти реалізації винаходу, які спрямовані на це значення або параметр як такий.

III. Типові анти-TIGIT антитіла

Винахід відноситься до анти-TIGIT антитіл, придатних для лікування або уповільнення прогресування раку або захворювання, пов'язаного з імунною системою (наприклад, дисфункціональні розлади Т-клітин) у суб'єкта (наприклад, людини).

В одному прикладі анти-TIGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TIGIT людини, який містить один або більшу кількість амінокислотних залишків (наприклад, 1, 2 або 3 амінокислотних залишки), вибраних з групи, що складається із Ser78, Ser80 і Lys82 TIGIT людини. Наприклад, у деяких випадках анти-TIGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TIGIT людини, який містить

амінокислотні залишки Ser80 і Lys82. У деяких випадках анти-TiGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TiGIT людини, який містить амінокислотні залишки Ser78 і Ser80. У деяких випадках анти-TiGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TiGIT людини, який містить амінокислотні залишки Ser78 і Lys82. У деяких випадках анти-TiGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TiGIT людини, який містить амінокислотні залишки Ser78, Ser80 і Lys82.

В деяких випадках анти-TiGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TiGIT людини, який містить, крім Ser78, Ser80 та/або Lys82, залишок Ala67 TiGIT людини. У деяких випадках анти-TiGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TiGIT людини, який містить Ser78 і Ala67; Ser80 і Ala67; Lys82 і Ala67; Ser78, Ser80 і Ala67; Ser78, Lys82 і Ala67; Ser80, Lys82 і Ala67; або Ser78, Ser80, Lys82 і Ala67.

В деяких випадках анти-TiGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TiGIT людини, який містить, крім Ser78, Ser80 та/або Lys82, один або більшу кількість додаткових амінокислотних залишків (наприклад, 1, 2 або 3 амінокислотних залишки), вибраних з групи, що складається із Glu60, Leu65 і Ile68 TiGIT людини. У деяких випадках анти-TiGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TiGIT людини, який містить Ser78 і Glu60; Ser80 і Glu60; Lys82 і Glu60; Ser78 і Leu65; Ser80 і Leu65; Lys82 і Leu65; Ser78 і Ile68; Ser80 і Ile68; Lys82 і Ile68. У деяких випадках анти-TiGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TiGIT людини, який містить Ser78, Ser80 і Glu60; Ser78, Ser80 і Leu65; Ser78, Ser80 і Ile68; Ser80, Lys82 і Glu60; Ser80, Lys82 і Leu65; Ser80, Lys82 і Ile68; Ser78, Lys82 і Glu60; Ser78, Lys82 і Leu65; Ser78, Lys82 і Ile68. У деяких випадках анти-TiGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TiGIT людини, який містить Ser78, Ser80, Lys82 і Glu60; Ser78, Ser80, Lys82 і Leu65; Ser78, Ser80, Lys82 і Ile68. У деяких випадках анти-TiGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TiGIT людини, який містить Glu60, Leu65 і Ser78; Glu60, Leu65 і Ser80; Glu60, Leu65 і Lys82; Leu65, Ile68 і Ser78; Leu65, Ile68 і Ser80; Leu65, Ile68 і Lys82; Glu60, Ile68 і Ser78; Glu60, Ile68 і Ser80; Glu60, Ile68 і Lys82. У деяких випадках анти-TiGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TiGIT людини, який містить Glu60, Leu65, Ile68 і Ser78; Glu60, Leu65, Ile68 і Ser80; Glu60, Leu65, Ile68 і Lys82. У деяких випадках анти-TiGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TiGIT людини, який містить Glu60, Leu65, Ser78 і Ser80; Glu60, Leu65, Ser78 і Lys82; Glu60, Leu65, Ser80 і Lys82; Leu65, Ile68, Ser78 і Ser80; Leu65, Ile68, Ser78 і Lys82; Leu65, Ile68, Ser80 і Lys82; Leu65, Glu60, Ser78 і Ser80; Leu65, Glu60, Ser78 і Lys82; Leu65, Glu60, Ser80 і Lys82. У деяких випадках анти-TiGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TiGIT людини, який містить Glu60, Leu65, Ser78, Ser80 і Lys82; Leu65, Ile68, Ser78, Ser80 і Lys82; Glu60, Leu65, Ser78, Ser80 і Lys82. У деяких випадках анти-TiGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TiGIT людини, який містить Ser78, Ser80, Glu60, Leu65 і Ile68; Ser78, Lys82, Glu60, Leu65 і Ile68; Ser80 і Lys82, Glu60, Leu65 і Ile68. У деяких випадках анти-TiGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TiGIT людини, який містить Ser78, Ser80, Lys82, Glu60, Leu65 і Ile68.

В деяких випадках анти-TiGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TiGIT людини, який містить, крім Ser78, Ser80 і Lys82, один або більшу кількість додаткових амінокислотних залишків (наприклад, 1, 2, 3 або 4 амінокислотних залишки), вибраних з групи, що складається із Gln56, Asn70, Leu73 і His111 TiGIT людини. У деяких випадках анти-TiGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TiGIT людини, який містить Ser78, Ser80, Lys82 і Gln56; Ser78, Ser80, Lys82 і Asn70; Ser78, Ser80, Lys82 і Leu73; Ser78, Ser80, Lys82 і His111. У деяких випадках анти-TiGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TiGIT людини, який містить Ser78, Ser80, Lys82, Gln56 і Asn70; Ser78, Ser80, Lys82, Gln56 і Leu73; Ser78, Ser80, Lys82, Gln56 і His111; Ser78, Ser80, Lys82, Asn70 і Leu73; Ser78, Ser80, Lys82, Asn70 і His111; Ser78, Ser80, Lys82, Leu73 і His111. У деяких випадках анти-TiGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TiGIT людини, який містить Ser78, Ser80, Lys82, Gln56, Asn70 і Leu73; Ser78, Ser80, Lys82, Gln56, Asn70 і His111; Ser78, Ser80, Lys82, Gln56, Leu73 і His111; Ser78, Ser80, Lys82, Asn70, Leu73 і His111. У деяких випадках анти-TiGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TiGIT людини, який містить Ser78, Ser80, Lys82, Gln56, Asn70, Leu73 і His111. У деяких випадках анти-TiGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TiGIT людини, який містить, крім Ser78, Ser80 та/або Lys82, один або більшу кількість додаткових амінокислотних залишків (наприклад, 1, 2 або 3 амінокислотних залишки), вибраних з групи, що складається із Thr55, Asn58, Asp63, Gln64, His76, Ile77 і Pro79 TiGIT людини.

У деяких випадках анти-TiGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TiGIT людини, який містить амінокислотні залишки Thr55, Gln56, Asn58, Glu60, Asp63, Gln64, Leu65, Ala67, Ile68, Asn70, Leu73, His76, Ile77, Ser78, Pro79, Ser80, Lys82 і His111 TiGIT людини. У деяких випадках анти-TiGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TiGIT людини, який складається з амінокислотних залишків Thr55, Gln56, Asn58, Glu60, Asp63, Gln64, Leu65, Ala67, Ile68, Asn70, Leu73, His76, Ile77, Ser78, Pro79, Ser80, Lys82 і His111 TiGIT людини.

В іншому прикладі анти-TIGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TIGIT людини, який містить один або більшу кількість амінокислотних залишків (наприклад, 1, 2 або 3 амінокислотних залишки), вибраних з групи, що складається із Thr55, Ser80 і Lys82 TIGIT людини. Наприклад, у деяких випадках анти-TIGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TIGIT людини, який містить амінокислотний залишок Lys82. У деяких випадках анти-TIGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TIGIT людини, який містить амінокислотні залишки Ser80 і Lys82. У деяких випадках анти-TIGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TIGIT людини, який містить амінокислотні залишки Thr55 і Ser80. У деяких випадках анти-TIGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TIGIT людини, який містить амінокислотні залишки Thr55 і Lys82. У деяких випадках анти-TIGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TIGIT людини, який містить амінокислотні залишки Thr55, Ser80 і Lys82.

В деяких випадках анти-TIGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TIGIT людини, який містить, крім Thr55, Ser80 та/або Lys82, залишок Gln56 TIGIT людини. У деяких випадках анти-TIGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TIGIT людини, який містить Thr55 і Gln56; Ser80 і Gln56; Lys82 і Gln56; Thr55, Ser80 і Gln56; Thr55, Lys82 і Gln56; Ser80, Lys82 і Gln56; або Thr55, Ser80, Lys82 і Gln56.

В деяких випадках анти-TIGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TIGIT людини, який містить, крім Thr55, Ser80 та/або Lys82, один або більшу кількість додаткових амінокислотних залишків (наприклад, 1, 2 або 3 амінокислотних залишки), вибраних з групи, що складається із Asn58, Glu60, Ile77 і Pro79 TIGIT людини. У деяких випадках анти-TIGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TIGIT людини, який містить Thr55 і Asn58; Thr55 і Glu60; Ser80 і Asn58; Ser80 і Glu60; Lys82 і Asn58; Lys82 і Glu60; Thr55 і Ile77; Ser80 і Ile77; Lys82 і Ile77; Thr55 і Pro79; Ser80 і Pro79; Lys82 і Pro79. У деяких випадках анти-TIGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TIGIT людини, який містить Thr55, Ser80 і Asn58; Thr55, Ser80 і Glu60; Thr55, Ser80 і Ile77; Thr55, Ser80 і Pro79; Ser80, Lys82 і Asn58; Ser80, Lys82 і Glu60; Ser80, Lys82 і Ile77; Ser80, Lys82 і Pro79; Thr55, Lys82 і Asn58; Thr55, Lys82 і Glu60; Thr55, Lys82 і Ile77; Thr55, Lys82 і Pro79. У деяких випадках анти-TIGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TIGIT людини, який містить Thr55, Ser80, Lys82 і Asn58; Thr55, Ser80, Lys82 і Glu60; Thr55, Ser80, Lys82 і Ile77; Thr55, Ser80, Lys82 і Pro79. У деяких випадках анти-TIGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TIGIT людини, який містить Asn58, Ile77 і Thr55; Glu60, Ile77 і Thr55; Asn58, Ile77 і Ser80; Glu60, Ile77 і Ser80; Asn58, Ile77 і Lys82; Glu60, Ile77 і Lys82; Ile77, Pro79 і Thr55; Ile77, Pro79 і Ser80; Ile77, Pro79 і Lys82; Glu60, Pro79 і Thr55; Asn58, Pro79 і Ser80; Glu60, Pro79 і Ser80; Asn58, Pro79 і Lys82; Glu60, Pro79 і Lys82. У деяких випадках анти-TIGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TIGIT людини, який містить Asn58, Ile77, Pro79 і Thr55; Glu60, Ile77, Pro79 і Thr55; Asn58, Ile77, Pro79 і Ser80; Glu60, Ile77, Pro79 і Ser80; Asn58, Ile77, Pro79 і Lys82; Glu60, Ile77, Pro79 і Lys82. У деяких випадках анти-TIGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TIGIT людини, який містить Asn58, Ile77, Thr55 і Ser80; Glu60, Ile77, Thr55 і Ser80; Asn58, Ile77, Ser80 і Lys82; Glu60, Ile77, Ser80 і Lys82; Ile77, Pro79, Thr55 і Ser80; Ile77, Pro79, Thr55 і Lys82; Ile77, Pro79, Ser80 і Lys82; Ile77, Asn58, Thr55 і Ser80; Ile77, Glu60, Thr55 і Ser80; Ile77, Asn58, Thr55 і Lys82; Ile77, Asn58, Thr55 і Lys82; Ile77, Glu60, Thr55 і Lys82; Ile77, Asn58, Ser80 і Lys82; Ile77, Glu60, Ser80 і Lys82. У деяких випадках анти-TIGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TIGIT людини, який містить Asn58, Ile77, Thr55, Ser80 і Lys82; Glu60, Ile77, Thr55, Ser80 і Lys82; Ile77, Pro79, Thr55, Ser80 і Lys82; Asn58, Ile77, Thr55, Ser80 і Lys82; Glu60, Ile77, Thr55, Ser80 і Lys82. У деяких випадках анти-TIGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TIGIT людини, який містить Thr55, Ser80, Asn58, Ile77 і Pro79; Thr55, Ser80, Glu60, Ile77 і Pro79; Thr55, Lys82, Asn58, Ile77 і Pro79; Thr55, Lys82, Glu60, Ile77 і Pro79; Ser80, Lys82, Asn58, Ile77 і Pro79; і Ser80, Lys82, Glu60, Ile77 і Pro79. У деяких випадках анти-TIGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TIGIT людини, який містить Thr55, Ser80, Lys82, Glu60, Ile77 і Pro79. У деяких випадках анти-TIGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TIGIT людини, який містить Thr55, Asn58, Glu60, Ile77, Pro79, Ser80 і Lys82.

У деяких випадках анти-TIGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TIGIT людини, який містить, крім Thr55, Ser80 і Lys82, один або більшу кількість додаткових амінокислотних залишків (наприклад, 1, 2, 3, 4, 5 або 6 амінокислотних залишків), вибраних з групи, що включає Leu65, Ile68, Leu73, His76, Ser78 і His111, додатково містить амінокислотні залишки Leu65, Ile68, Leu73, His76, Ser78 і His111 TIGIT людини.

В деяких випадках анти-TIGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TIGIT людини, який містить амінокислотні залишки Thr55, Gln56, Asn58, Glu60, Leu65, Ile68, Leu73, His76, Ile77, Ser78, Pro79, Ser80, Lys82 і His111 TIGIT людини. У деяких випадках анти-TIGIT антитіла зв'язуються з

епітопом на TIGIT людини, який складається з амінокислотних залишків Thr55, Gln56, Asn58, Glu60, Leu65, Ile68, Leu73, His76, Ile77, Ser78, Pro79, Ser80, Lys82 і His111 TIGIT людини.

В деяких випадках будь-яке з анти-TIGIT антитіл, описаних вище, може містити паратоп, який містить один або більшу кількість амінокислотних залишків (наприклад, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, або 12 амінокислотних залишків), вибраних з групи, що складається із амінокислотних залишків варіабельної ділянки важкого ланцюга Asn32, Tyr52, Arg52b, Phe53, Lys54, Tyr56, Asp58, Tyr99, Asp100, Leu100a, Leu100b і Ala100c та/або однієї або декількох аміногруп (наприклад, 1, 2, 3, 4 або 5 амінокислотних залишків), вибраних з групи, що складається із амінокислотних залишків варіабельної ділянки легкого ланцюга Tyr 27d, Tyr92, Ser93, Thr94 і Phe96.

В деяких випадках анти-TIGIT антитіла можуть містити паратоп, який складається з амінокислотних залишків варіабельної ділянки важкого ланцюга Asn32, Tyr52, Arg52b, Phe53, Lys54, Tyr56, Asp58, Tyr99, Asp100, Leu100a, Leu100b і Ala100c і амінокислотних залишків варіабельної ділянки легкого ланцюга Tyr27d, Tyr92, Ser93, Thr94 і Phe96.

В деяких варіантах реалізації винаходу анти-TIGIT антитіло цього винаходу забезпечує унікальні контакти з амінокислотами TIGIT людини на відстані 4,5 ангстрема, 3,7 ангстрема, 3,5 ангстрема, 3,25 ангстрема, 3,00 ангстрема, 2,75 ангстрема або менше. У деяких варіантах реалізації винаходу пропонується антитіло, яке зв'язується з епітопом, що складається з однієї, двох, трьох, чотирьох або п'яти амінокислот TIGIT людини, на відстані 4,5 ангстрема, 3,7 ангстрема, 3,5 ангстрема, 3,25 ангстрема, 3,00 ангстрема, 2,75 ангстрема або менше. В одному варіанті реалізації винаходу анти-TIGIT антитіло за винаходом забезпечує унікальні контакти з амінокислотами TIGIT людини на відстані 3,7 ангстрема або менше. У деяких варіантах реалізації винаходу пропонується антитіло, яке зв'язується з епітопом, що складається з однієї, двох, трьох, чотирьох або п'яти амінокислот TIGIT людини, на відстані 3,7 ангстрема або менше.

У деяких випадках будь-яке з вищевказаних анти-TIGIT антитіл містить щонайменше одну, дві, три, чотири, п'ять або шість ГВД (HVR), вибраних з (a) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SNSAAWN (SEQ ID NO: 1); (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність KTYRFRKWYSDYAVSVKG (SEQ ID NO: 2); (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність ESTTYDLLAGPFYD (SEQ ID NO: 3); (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність KSSQTVLYSSNNKKYLA (SEQ ID NO: 4); (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність WASTRES (SEQ ID NO: 5); та/або (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність QQYYSTPFT (SEQ ID NO: 6), або комбінацію однієї або більшої кількості вищевказаних ГВД (HVR) і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, ідентичністю 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) будь-який з SEQ ID NO: 1-6. У деяких випадках будь-яке із вищевказаних анти-TIGIT антитіл містить (a) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SNSAAWN (SEQ ID NO: 1); (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність KTYRFRKWYSDYAVSVKG (SEQ ID NO: 2); (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність ESTTYDLLAGPFYD (SEQ ID NO: 3); (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність KSSQTVLYSSNNKKYLA (SEQ ID NO: 4); (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність WASTRES (SEQ ID NO: 5); і (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність QQYYSTPFT (SEQ ID NO: 6), такі як містяться в анти-TIGIT антитілі 4.1D3 і його похідних (наприклад, 4.1D3.Q1E). У деяких випадках анти-TIGIT антитіло може містити домен VH, що містить амінокислотну послідовність, яка володіє ідентичністю послідовності щонайменше 90 % (наприклад, ідентичністю послідовності щонайменше 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) відносно послідовності SEQ ID NO: 34 або 35 та/або домен VL, що містить амінокислотну послідовність, яка володіє ідентичністю послідовності щонайменше 90 % (наприклад, ідентичністю послідовності щонайменше 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) відносно послідовності SEQ ID NO: 36. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло може містити домен VH, що містить амінокислотну послідовність, яка володіє ідентичністю послідовності щонайменше 90 % (наприклад, ідентичністю послідовності щонайменше 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) щодо послідовності SEQ ID NO: 34 та/або домен VL, що містить амінокислотну послідовність, яка володіє ідентичністю послідовності щонайменше 90 % (наприклад, ідентичністю послідовності щонайменше 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) відносно послідовності SEQ ID NO: 36. У конкретному випадку анти-TIGIT антитіло може містити домен VH, що містить амінокислотну послідовність, яка володіє ідентичністю послідовності щонайменше 90 % (наприклад, ідентичністю послідовності щонайменше 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) відносно послідовності

SEQ ID NO: 35 та/або домен VL, що містить амінокислотну послідовність, яка володіє щонайменше 90 % ідентичністю послідовності (наприклад, ідентичністю послідовності щонайменше 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) відносно послідовності SEQ ID NO: 36. У конкретному випадку анти-TIGIT антитіло може являти собою 4.1D3 або його похідне або споріднений клон.

В деяких випадках антитіло додатково містить щонайменше одну, дві, три або чотири з наступних каркасних ділянок варіабельної ділянки легкого ланцюга (КД): FR-L1, що містить амінокислотну послідовність DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC (SEQ ID NO: 7); FR-L2, що містить амінокислотну послідовність WYQQKPGQPPLLIIY (SEQ ID NO: 8); FR-L3, що містить амінокислотну послідовність GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC (SEQ ID NO: 9); та/або FR-L4, що містить амінокислотну послідовність FGPGTKVEIK (SEQ ID NO: 10), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, ідентичністю 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 7-10. У деяких випадках, наприклад, антитіло додатково містить FR-L1, що містить амінокислотну послідовність DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC (SEQ ID NO: 7); FR-L2, що містить амінокислотну послідовність WYQQKPGQPPLLIIY (SEQ ID NO: 8); FR-L3, що містить амінокислотну послідовність GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC (SEQ ID NO: 9); і FR-L4, що містить амінокислотну послідовність FGPGTKVEIK (SEQ ID NO: 10), таку як анти-TIGIT антитіла 4.1D3.Q1E і 4.1D3.

В деяких випадках антитіло додатково містить щонайменше одну, дві, три або чотири з наступних ділянок КД варіабельної ділянки важкого ланцюга: FR-H1, що містить амінокислотну послідовність X₁VQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVS (SEQ ID NO: 11), де X₁ являє собою Q або E; FR-H2, що містить амінокислотну послідовність WIRQSPSRGLEWLG (SEQ ID NO: 12); FR-H3, що містить амінокислотну послідовність RITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVFYCTR (SEQ ID NO: 13); та/або FR-H4, що містить амінокислотну послідовність WGQGTLLTVSS (SEQ ID NO: 14), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, ідентичністю 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 11-14. Анти-TIGIT антитіло може додатково містити, наприклад, щонайменше одну, дві, три або чотири з наступних ділянок КД варіабельної ділянки важкого ланцюга: FR-H1, що містить амінокислотну послідовність EVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVS (SEQ ID NO: 15); FR-H2, що містить амінокислотну послідовність WIRQSPSRGLEWLG (SEQ ID NO: 12); FR-H3, що містить амінокислотну послідовність RITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVFYCTR (SEQ ID NO: 13); та/або FR-H4, що містить амінокислотну послідовність WGQGTLLTVSS (SEQ ID NO: 14), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, ідентичністю 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 12-15. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить FR-H1, що містить амінокислотну послідовність EVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVS (SEQ ID NO: 15); FR-H2, що містить амінокислотну послідовність WIRQSPSRGLEWLG (SEQ ID NO: 12); FR-H3, що містить амінокислотну послідовність RITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVFYCTR (SEQ ID NO: 13); і FR-H4, що містить амінокислотну послідовність WGQGTLLTVSS (SEQ ID NO: 14), таку як антитіло 4.1D3.Q1E. В іншому випадку, наприклад, анти-TIGIT антитіло може додатково містити щонайменше одну, дві, три або чотири з наступних КД варіабельної ділянки важкого ланцюга: FR-H1, що містить амінокислотну послідовність QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVS (SEQ ID NO: 16); FR-H2, що містить амінокислотну послідовність WIRQSPSRGLEWLG (SEQ ID NO: 12); FR-H3, що містить амінокислотну послідовність RITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVFYCTR (SEQ ID NO: 13); та/або FR-H4, що містить амінокислотну послідовність WGQGTLLTVSS (SEQ ID NO: 14), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, ідентичністю 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 12-14 і 16. У деяких випадках, анти-TIGIT антитіло містить FR-H1, що містить амінокислотну послідовність QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVS (SEQ ID NO: 16); FR-H2, що містить амінокислотну послідовність WIRQSPSRGLEWLG (SEQ ID NO: 12); FR-H3, що містить амінокислотну послідовність RITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVFYCTR (SEQ ID NO: 13); і FR-H4, що містить амінокислотну послідовність WGQGTLLTVSS (SEQ ID NO: 14), такі як містяться в антитілі 4.1D3.

зв'язуються з епітопом на TIGIT людини, який містить Gln53, His111, Tyr113, Gln56, Leu65, Ile68, Asn70, Leu73 і His76.

В деяких випадках анти-TIGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TIGIT людини, який містить Gln53, His111, Tyr113, Gln56, Ile68 і Asn70; Gln53, His111, Tyr113, Gln56, Ile68 і Leu73; Gln53, His111, Tyr113, Gln56, Ile68 і His76. У деяких випадках анти-TIGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TIGIT людини, який містить Gln53, His111, Tyr113, Gln56, Ile68, Asn70 і Leu73; Gln53, His111, Tyr113, Gln56, Ile68, Asn70 і His76; Gln53, His111, Tyr113, Gln56, Ile68, Leu73 і His76. У деяких випадках анти-TIGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TIGIT людини, який містить Gln53, His111, Tyr113, Gln56, Ile68, Asn70, Leu73 і His76.

В деяких випадках анти-TIGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TIGIT людини, який містить Gln53, His111, Tyr113, Gln56, Asn70 і Leu73; Gln53, His111, Tyr113, Gln56, Asn70 і His76. У деяких випадках анти-TIGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TIGIT людини, який містить Gln53, His111, Tyr113, Gln56, Asn70, Leu73 і His76. У деяких випадках анти-TIGIT антитіла зв'язуються з епітопом на TIGIT людини, який містить Gln53, His111, Tyr113, Gln56, Leu73 і His76.

В деяких випадках будь-яке з анти-TIGIT антитіл із попереднього прикладу містить щонайменше одну, дві, три, чотири, п'ять або шість ГВД (HVR), вибраних з (a) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SYPMN (SEQ ID NO: 17); (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність WINTNTGNPTYVQGFTG (SEQ ID NO: 18); (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність TGGHTYDSYAFDV (SEQ ID NO: 19); (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність RASQVISSSLA (SEQ ID NO: 20); (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність AASTLQS (SEQ ID NO: 21); та/або (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність QHLHGYPX₁N (SEQ ID NO: 22), де X₁ являє собою C або S, або комбінацію однієї або більшої кількості вищевказаних ГВД (HVR) і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, ідентичністю 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 17-22. У деяких випадках будь-яке з вищевказаних анти-TIGIT антитіл із попереднього прикладу може містити, наприклад, (a) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SYPMN (SEQ ID NO: 17); (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність WINTNTGNPTYVQGFTG (SEQ ID NO: 18); (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність TGGHTYDSYAFDV (SEQ ID NO: 19); (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність RASQVISSSLA (SEQ ID NO: 20); (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність AASTLQS (SEQ ID NO: 21); і (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність QHLHGYPX₁N (SEQ ID NO: 22), такі як містяться в анти-TIGIT антитілі 7.4A3 і його похідних (наприклад, 7.4A3.C96S.Q1E). У деяких випадках анти-TIGIT антитіло може містити (a) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SYPMN (SEQ ID NO: 17); (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність WINTNTGNPTYVQGFTG (SEQ ID NO: 18); (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність TGGHTYDSYAFDV (SEQ ID NO: 19); (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність RASQVISSSLA (SEQ ID NO: 20); (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність AASTLQS (SEQ ID NO: 21); і (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність QHLHGYPX₁N (SEQ ID NO: 22), такі як містяться в анти-TIGIT антитілі 7.4A3.C96S.Q1E. В інших випадках анти-TIGIT антитіло може містити (a) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SYPMN (SEQ ID NO: 17); (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність WINTNTGNPTYVQGFTG (SEQ ID NO: 18); (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність TGGHTYDSYAFDV (SEQ ID NO: 19); (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність RASQVISSSLA (SEQ ID NO: 20); (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність AASTLQS (SEQ ID NO: 21); і (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність QHLHGYPX₁N (SEQ ID NO: 22), такі як містяться в анти-TIGIT антитілі 7.4A3.

В деяких випадках анти-TIGIT антитіло може містити домен VH, що містить амінокислотну послідовність, яка володіє ідентичністю послідовності щонайменше 90 % (наприклад, ідентичністю послідовності щонайменше 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) відносно послідовності SEQ ID NO: 37, та/або домен VL, що містить амінокислотну послідовність, яка володіє ідентичністю послідовності щонайменше 90 % (наприклад, ідентичністю послідовності щонайменше 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) відносно послідовності SEQ ID NO: 38. У конкретному випадку анти-TIGIT антитіло може містити домен VH, що містить амінокислотну послідовність, яка володіє ідентичністю послідовності щонайменше 90 % (наприклад, ідентичністю послідовності щонайменше 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) відносно послідовності SEQ ID NO: 39 та/або домен VL, що містить амінокислотну послідовність, яка володіє

щонайменше 90 % ідентичністю послідовності (наприклад, ідентичністю послідовності щонайменше 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) відносно послідовності SEQ ID NO: 40. У конкретному випадку анти-TIGIT антитіло може являти собою 7.4A3 або його похідне або споріднений клон.

5 В деяких випадках антитіло додатково містить щонайменше одну, дві, три або чотири із наступних каркасних ділянок варіабельної ділянки легкого ланцюга (КД): DIQLTQSPFTLSASVGDRVITC (SEQ ID NO: 30); FR-L2, що містить амінокислотну послідовність WYQQNPGKAPKLLIY (SEQ ID NO: 31); FR-L3, що містить амінокислотну послідовність GVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFVYYC (SEQ ID NO: 32); та/або FR-L4, що містить
10 амінокислотну послідовність FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 33), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 30-33, такі як містяться в анти-TIGIT антитілі 7.4A3 і його похідних (наприклад, 7.4A3.C96S.Q1E).

15 В деяких випадках антитіло додатково містить щонайменше одну, дві, три або чотири з наступних ділянок КД варіабельної ділянки важкого ланцюга: FR-H1, що містить амінокислотну послідовність EVQLVQSGSDLKPGASVRVSCASGYTFT (SEQ ID NO: 24) або амінокислотну послідовність QVQLVQSGSDLKPGASVRVSCASGYTFT (SEQ ID NO: 29); FR-H2, що містить амінокислотну послідовність WVRQAPGHGLEWMG (SEQ ID NO: 25); FR-H3, що містить
20 амінокислотну послідовність RFVFSLDTSVNTAYLQISSSLKAEDTAVYFCAR (SEQ ID NO: 26); та/або FR-H4, що містить амінокислотну послідовність WGQGTMTVSS (SEQ ID NO: 27), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, ідентичністю 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 24-27 і 29. Анти-TIGIT антитіло може додатково містити, наприклад, щонайменше одну, дві, три або чотири з наступних ділянок КД варіабельної ділянки важкого ланцюга: FR-H1, що містить амінокислотну послідовність EVQLVQSGSDLKPGASVRVSCASGYTFT (SEQ ID NO: 24); FR-H2, що містить амінокислотну послідовність WVRQAPGHGLEWMG (SEQ ID NO: 25); FR-H3, що містить амінокислотну
30 послідовність RFVFSLDTSVNTAYLQISSSLKAEDTAVYFCAR (SEQ ID NO: 26); та/або FR-H4, що містить амінокислотну послідовність WGQGTMTVSS (SEQ ID NO: 27), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, ідентичністю 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 24-27. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить FR-H1, що містить амінокислотну послідовність EVQLVQSGSDLKPGASVRVSCASGYTFT (SEQ ID NO: 24); FR-H2, що містить амінокислотну послідовність WVRQAPGHGLEWMG (SEQ ID NO: 25); FR-H3, що містить амінокислотну послідовність RFVFSLDTSVNTAYLQISSSLKAEDTAVYFCAR (SEQ ID NO: 26); і FR-H4, що містить амінокислотну послідовність WGQGTMTVSS (SEQ ID NO: 27), такі як
40 містяться в антитілі 7.4A3.C96S.Q1E. В іншому випадку, наприклад, анти-TIGIT антитіло може додатково містити щонайменше одну, дві, три або чотири з наступних ділянок КД варіабельної ділянки важкого ланцюга: FR-H1, що містить амінокислотну послідовність QVQLVQSGSDLKPGASVRVSCASGYTFT (SEQ ID NO: 29); FR-H2, що містить амінокислотну послідовність WVRQAPGHGLEWMG (SEQ ID NO: 25); FR-H3, що містить амінокислотну послідовність RFVFSLDTSVNTAYLQISSSLKAEDTAVYFCAR (SEQ ID NO: 26); та/або FR-H4, що містить амінокислотну послідовність WGQGTMTVSS (SEQ ID NO: 27), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 25-27 і
50 29. У деяких випадках, анти-TIGIT антитіло містить FR-H1, що містить амінокислотну послідовність QVQLVQSGSDLKPGASVRVSCASGYTFT (SEQ ID NO: 29); FR-H2, що містить амінокислотну послідовність WVRQAPGHGLEWMG (SEQ ID NO: 25); FR-H3, що містить амінокислотну послідовність RFVFSLDTSVNTAYLQISSSLKAEDTAVYFCAR (SEQ ID NO: 26); і FR-H4, що містить амінокислотну послідовність WGQGTMTVSS (SEQ ID NO: 27), такі як містяться в анти-TIGIT антитілі проти 7.4A3.

55 В іншому прикладі, у винаході пропонуються анти-TIGIT антитіла, які містять щонайменше одну, дві, три, чотири, п'ять або шість ГВД (HVR), вибраних з (a) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність NYPMN (SEQ ID NO: 41); (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність WINTNTGSPAYAQDFTE (SEQ ID NO: 42); (c) HVR-H3, що містить амінокислотну
60 послідовність TAITSVYHFDY (SEQ ID NO: 43); (d) HVR-L1, що містить амінокислотну

послідовність RASQGISSYLA (SEQ ID NO: 44); (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність GATTLQS (SEQ ID NO: 45); та/або (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність QKLNSHPX₁S (SEQ ID NO: 46), де X₁ являє собою C, S або Y або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних ГВД (HVR) і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють щонайменше близько 90 % ідентичністю послідовностей (наприклад, ідентичністю 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до однієї із SEQ ID NO: 41-46. У деяких випадках будь-яке із вищевказаних анти-TIGIT антитіл із попереднього прикладу може містити, наприклад, (a) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність NYPMN (SEQ ID NO: 41); (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність WINTNTGSPAYAQDFTE (SEQ ID NO: 42); (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність TAITSVYHFDY (SEQ ID NO: 43); (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність RASQGISSYLA (SEQ ID NO: 44); (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність GATTLQS (SEQ ID NO: 45); і (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність QKLNSHPX₁S (SEQ ID NO: 46), де X₁ являє собою C, S або Y, такі як містяться в анти-TIGIT антитілі 4.1A4 і його похідних (наприклад, 4.1A4.C96S.Q1E і 4.1A4.C96Y.Q1E). У деяких випадках анти-TIGIT антитіло може містити (a) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність NYPMN (SEQ ID NO: 41); (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність WINTNTGSPAYAQDFTE (SEQ ID NO: 42); (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність TAITSVYHFDY (SEQ ID NO: 43); (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність RASQGISSYLA (SEQ ID NO: 44); (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність GATTLQS (SEQ ID NO: 45); і (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність QKLNSHPCS (SEQ ID NO: 47), такі як містяться в анти-TIGIT антитілі 4.1A4. В інших випадках анти-TIGIT антитіло може містити (a) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність NYPMN (SEQ ID NO: 41); (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність WINTNTGSPAYAQDFTE (SEQ ID NO: 42); (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність TAITSVYHFDY (SEQ ID NO: 43); (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність RASQGISSYLA (SEQ ID NO: 44); (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність GATTLQS (SEQ ID NO: 45); і (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність QKLNSHPSS (SEQ ID NO: 48), такі як містяться в анти-TIGIT антитілі 4.1A4.C96S.Q1E. В інших випадках анти-TIGIT антитіло може містити (a) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність NYPMN (SEQ ID NO: 41); (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність WINTNTGSPAYAQDFTE (SEQ ID NO: 42); (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність TAITSVYHFDY (SEQ ID NO: 43); (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність RASQGISSYLA (SEQ ID NO: 44); (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність GATTLQS (SEQ ID NO: 45); і (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність QKLNSHPYS (SEQ ID NO: 49), такі як містяться в анти-TIGIT антитілі 4.1A4.C96Y.Q1E.

В деяких випадках антитіло додатково містить щонайменше одну, дві, три або чотири з наступних каркасних ділянок варіабельної ділянки легкого ланцюга (КД): FR-L1, що містить амінокислотну послідовність DIQLTQSPSFLSASVGDRVITC (SEQ ID NO: 56); FR-L2, що містить амінокислотну послідовність WYQQKPGKAPRVLIY (SEQ ID NO: 57); FR-L3, що містить амінокислотну послідовність GVPSRFSGSESGTEFTLTISLQPEDLATYYC (SEQ ID NO: 58); та/або FR-L4, що містить амінокислотну послідовність FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 59), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 56-59, такі як містяться в анти-TIGIT антитілі 4.1A4 і його похідних (наприклад, 1A4.C96S.Q1E і 1A4.C96Y.Q1E).

В деяких випадках антитіло додатково містить щонайменше одну, дві, три або чотири з наступних ділянок КД варіабельної ділянки важкого ланцюга: FR-H1, що містить амінокислотну послідовність X₁VQLVQSGSELKKPGASVKVSCASGYTLT (SEQ ID NO: 50), де X₁ являє собою E або Q; FR-H2, що містить амінокислотну послідовність WVRQAPGRGLEWMG (SEQ ID NO: 51); FR-H3, що містить амінокислотну послідовність RFVFSLDTSVTAYLQISSLKAEDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 52); та/або FR-H4, що містить амінокислотну послідовність WGQGTSLVTVSS (SEQ ID NO: 53), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 50-53. Анти-TIGIT антитіло може додатково містити, наприклад, щонайменше одну, дві, три або чотири з наступних ділянок КД варіабельної ділянки важкого ланцюга: FR-H1, що містить амінокислотну послідовність QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCASGYTLT (SEQ ID NO: 54); FR-H2, що містить амінокислотну послідовність WVRQAPGRGLEWMG (SEQ ID NO: 51); FR-H3, що містить амінокислотну

послідовність RFVFSLDTSVTTAYLQISSLKAEDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 52); та/або FR-H4, що містить амінокислотну послідовність WGQGT LVT VSS (SEQ ID NO: 53), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 51-54, - TIGIT антитіло 4.1A4. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить FR-H1, що містить амінокислотну послідовність EVQLVQSGSELKPGASVKVSC KASGYTLT (SEQ ID NO: 55); FR-H2, що містить амінокислотну послідовність WVRQAPGRGLEWMMG (SEQ ID NO: 51); FR-H3, що містить амінокислотну послідовність RFVFSLDTSVTTAYLQISSLKAEDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 52); та/або FR-H4, що містить амінокислотну послідовність WGQGT LVT VSS (SEQ ID NO: 53), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 51-53 і 55, таку, як містить анти-TIGIT антитіло 1A4.C96S.Q1E або 1A4.C96Y.Q1E.

В іншому прикладі у винаході пропонуються анти-TIGIT антитіла, які містять щонайменше одну, дві, три, чотири, п'ять або шість ГВД (HVR), вибраних з (a) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність TYGMGVS (SEQ ID NO: 68); (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SIWWNGNTYYNPSLKS (SEQ ID NO: 69); (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність TGGAVITWFAY (SEQ ID NO: 70); (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність KASQSVGKNIA (SEQ ID NO: 71); (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність YASNRYT (SEQ ID NO: 72); та/або (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність QHIYNPYP (SEQ ID NO: 73), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних ГВД (HVR) і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, ідентичністю 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 68-73. У деяких випадках будь-яке із вищевказаних анти-TIGIT антитіл із попереднього прикладу може містити, наприклад, (a) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність TYGMGVS (SEQ ID NO: 68); (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SIWWNGNTYYNPSLKS (SEQ ID NO: 69); (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність TGGAVITWFAY (SEQ ID NO: 70); (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність KASQSVGKNIA (SEQ ID NO: 71); (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність YASNRYT (SEQ ID NO: 72); і (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність QHIYNPYP (SEQ ID NO: 73), такі як містяться в анти-TIGIT антитілі rat6B2 і його похідних (наприклад, h6B2.L1H1, h6B2.L2H1, h6B2.L1H2, h6B2.L1H3, h6B2.L1H4, h6B2.L1H5 і h6B2.L2H5).

В деяких випадках антитіло додатково містить щонайменше одну, дві, три або чотири із наступних каркасних ділянок варіабельної ділянки легкого ланцюга (КД): FR-L1, що містить амінокислотну послідовність $X_1IX_2MTQSPX_3SX_4SX_5SVGDRVTX_6 \times 7C$ (SEQ ID NO: 88), де X_1 являє собою D або N; X_2 являє собою Q або V; X_3 являє собою K або S; X_4 являє собою L або M; X_5 являє собою A або I; X_6 являє собою I або M; і X_7 являє собою N або T; FR-L2, що містить амінокислотну послідовність $WYQQKPGX_1 \times 2PKLLIY$ (SEQ ID NO: 89), де X_1 являє собою K або Q, а X_2 являє собою A або S; FR-L3, що містить амінокислотну послідовність $GVPX_1RFX_2GX_3SGTDFTX_4TIX_5 \times 6X_7QX_8EDX_9AX_{10} \times 11YC$ (SEQ ID NO: 90), де X_1 являє собою D або S; X_2 являє собою S або T; X_3 являє собою G або S; X_4 являє собою F або L; X_5 являє собою N або S; X_6 являє собою S або T; X_7 являє собою L або V; X_8 являє собою A або P; X_9 являє собою A або I; X_{10} являє собою F або T; і X_{11} являє собою F або Y; та/або FR-L4, що містить амінокислотну послідовність FGX_1GTKX_2EIK (SEQ ID NO: 91), де X_1 являє собою Q або T, і X_2 являє собою L або V, або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, ідентичністю 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 88-91, такі як містяться в анти-TIGIT антитілі rat6B2 і його похідних (наприклад, h6B2.L1H1, h6B2.L2H1, h6B2.L1H2, h6B2.L1H3, h6B2.L1H4, h6B2.L1H5 і h6B2.L2H5). Анти-TIGIT антитіло може додатково містити, наприклад, щонайменше одну, дві, три або чотири з наступних ділянок КД варіабельної ділянки легкого ланцюга: FR-L1, що містить амінокислотну послідовність NIVMTQSPKSMSISVGDRVTMNC (SEQ ID NO: 92); FR-L2, що містить амінокислотну послідовність WYQQKPGQSPKLLIY (SEQ ID NO: 93); FR-L3, що містить амінокислотну послідовність GVPDRFTGGSGTDFTLTINTVQAEDAAFFYC (SEQ ID NO: 94); та/або FR-L4, що містить амінокислотну послідовність FGTGTKLEIK (SEQ ID NO: 95), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, ідентичністю 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %).

92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 92-65, такі як містяться в анти-TIGIT антитілі rat6B2 і його похідних. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить FR-L1, що містить амінокислотну послідовність DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO: 96); FR-L2, що містить амінокислотну послідовність WYQQKPGKSPKLLIY (SEQ ID NO: 97); FR-L3, що містить амінокислотну послідовність GVPSRFGSGSGTDFFTISLQPEDATYYC (SEQ ID NO: 99); та/або FR-L4, що містить амінокислотну послідовність FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 100), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 96-97 і 99-100, такі як містяться в анти-TIGIT антитілах h6B2.L1H1, h6B2.L1H2, h6B2.L1H3, h6B2.L1H4 і h6B2.L1H5. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить FR-L1, що містить амінокислотну послідовність DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO: 96); FR-L2, що містить амінокислотну послідовність WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO: 98); FR-L3, що містить амінокислотну послідовність GVPSRFGSGSGTDFFTISLQPEDATYYC (SEQ ID NO: 99); та/або FR-L4, що містить амінокислотну послідовність FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 100), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 96 і 98-100, такі як містяться в анти-TIGIT антитілах h6B2.L2H1 і h6B2.L2H5.

В деяких випадках антитіло додатково містить щонайменше одну, дві, три або чотири з наступних ділянок КД варіабельної ділянки важкого ланцюга: FR-H1, що містить амінокислотну послідовність $X_1VX_2LKESGPX_3 \times 4X_5 \times 6PX_7 \times 8TLX_9LTCX_{10}FSGFSLS$ (SEQ ID NO: 74), де X_1 являє собою E або Q; X_2 являє собою S або T; X_3 являє собою A або G; X_4 являє собою I або L; X_5 являє собою L або V; X_6 являє собою K або Q; X_7 являє собою S або T; X_8 являє собою H або Q; X_9 являє собою S або T; і X_{10} являє собою S або T; FR-H2, що містить амінокислотну послідовність $WIRQPX_1 \times 2KX_3LEWLA$ (SEQ ID NO: 75), де X_1 являє собою P або S; X_2 являє собою E або G; і X_3 являє собою A або G; FR-H3, що містить амінокислотну послідовність $RLTX_1 \times 2KDX_3SX_4 \times 5QX_6 \times 7LX_8 \times 9TX_{10} \times 11DX_{12} \times 13DTATYYCAH$ (SEQ ID NO: 76), де X_1 являє собою I або V; X_2 являє собою S або T; X_3 являє собою A або T; X_4 являє собою K або N; X_5 являє собою D або N; X_6 являє собою A або V; X_7 являє собою F або V; X_8 являє собою N або T; X_9 являє собою M або V; X_{10} являє собою N або S; X_{11} являє собою M або V; X_{12} являє собою P або T; і X_{13} являє собою T або V; та/або FR-H4, що містить амінокислотну послідовність $WGQGTTLVTVSS$ (SEQ ID NO: 77), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 74-77, таку як містяться в анти-TIGIT антитілі rat6B2 і його похідних (наприклад, h6B2.L1H1, h6B2.L2H1, h6B2.L1H2, h6B2.L1H3, h6B2.L1H4, h6B2.L1H5 і h6B2.L2H5). Анти-TIGIT антитіло може додатково містити, наприклад, щонайменше одну, дві, три або чотири з наступних ділянок КД варіабельної ділянки важкого ланцюга: FR-H1, що містить амінокислотну послідовність $QVSLKESGPGILQPSHTLSLTCSFSGFSLS$ (SEQ ID NO: 78); FR-H2, що містить амінокислотну послідовність $WIRQPSEKLEWLA$ (SEQ ID NO: 79); FR-H3, що містить амінокислотну послідовність $RLTVSKDASNDQAFLNVTSDTTDTATYYCAH$ (SEQ ID NO: 80); та/або FR-H4, що містить амінокислотну послідовність $WGQGTTLVTVSS$ (SEQ ID NO: 77), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 77-80, такі як містяться в анти-TIGIT антитілі rat6B2. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить FR-H1, що містить амінокислотну послідовність $EVTLKESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLS$ (SEQ ID NO: 81); FR-H2, що містить амінокислотну послідовність $WIRQPPGKALEWLA$ (SEQ ID NO: 82); FR-H3, що містить амінокислотну послідовність $RLTVTKDASKNQAVLTMNTMDPVDATYYCAH$ (SEQ ID NO: 83); та/або FR-H4, що містить амінокислотну послідовність $WGQGTTLVTVSS$ (SEQ ID NO: 77), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 77 і 81-83, анти-TIGIT антитіла h6B2.L1H1 і h6B2.L2H1. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить FR-H1, що містить амінокислотну послідовність $EVTLKESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLS$ (SEQ ID NO: 81); FR-H2, що містить амінокислотну послідовність $WIRQPPGKALEWLA$ (SEQ ID NO: 82); FR-H3, що містить амінокислотну

послідовність RLTITKDASKNQAVLTMNMDPVDATYYCAH (SEQ ID NO: 84); та/або FR-H4, що містить амінокислотну послідовність WGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 77), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, ідентичністю 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 77, 81-82 і 84, такі як містяться в анти-TIGIT антитілі h6B2.L1H2. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить FR-H1, що містить амінокислотну послідовність EVTLKESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSL (SEQ ID NO: 81); FR-H2, що містить амінокислотну послідовність WIRQPPGKALEWLA (SEQ ID NO: 82); FR-H3, що містить амінокислотну послідовність RLTVTKDTSKNQAVLTMNMDPVDATYYCAH (SEQ ID NO: 85); та/або FR-H4, що містить амінокислотну послідовність WGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 77), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, ідентичністю 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 77, 81-82 і 85, таку як міститься в анти-TIGIT антитілі h6B2.L1H3. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить FR-H1, що містить амінокислотну послідовність EVTLKESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSL (SEQ ID NO: 81); FR-H2, що містить амінокислотну послідовність WIRQPPGKALEWLA (SEQ ID NO: 82); FR-H3, що містить амінокислотну послідовність RLTVTKDASKNQVVLTMNMDPVDATYYCAH (SEQ ID NO: 86); та/або FR-H4, що містить амінокислотну послідовність WGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 77), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, ідентичністю 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 77, 81-82 і 85, такі як містяться в анти-TIGIT антитілі h6B2.L1H4. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить FR-H1, що містить амінокислотну послідовність EVTLKESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSL (SEQ ID NO: 81); FR-H2, що містить амінокислотну послідовність WIRQPPGKALEWLA (SEQ ID NO: 82); FR-H3, що містить амінокислотну послідовність RLTITKDTSKNQVVLTMNMDPVDATYYCAH (SEQ ID NO: 87); та/або FR-H4, що містить амінокислотну послідовність WGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 77), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 77, 81-82 і 87, такі як містяться в анти-TIGIT антитілах h6B2.L1H5 і h6B2.L2H5.

В іншому прикладі, у винаході пропонуються анти-TIGIT антитіла, які містять щонайменше одну, дві, три, чотири, п'ять або шість ГВД (HVR), вибраних і з (a) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність TYGMGVS (SEQ ID NO: 110); (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SIWWNGNTYYNPSLRS (SEQ ID NO: 111); (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність TGGAVITWFAY (SEQ ID NO: 112); (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність KASQSVGKNIA (SEQ ID NO: 113); (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність YASNRYT (SEQ ID NO: 114); та/або (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність QHIYNSPYP (SEQ ID NO: 115), або комбінацію однієї або більшої кількості вищевказаних ГВД (HVR) і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, ідентичністю 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 110-115. У деяких випадках будь-яке із вищевказаних анти-TIGIT антитіл із попереднього прикладу може містити, наприклад, (a) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність TYGMGVS (SEQ ID NO: 110); (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SIWWNGNTYYNPSLRS (SEQ ID NO: 111); (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність TGGAVITWFAY (SEQ ID NO: 112); (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність KASQSVGKNIA (SEQ ID NO: 113); (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність YASNRYT (SEQ ID NO: 114); і (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність QHIYNSPYP (SEQ ID NO: 115), такі як містяться в анти-TIGIT антитілі rat10A5 і його похідних (наприклад, h10A5.L1H1; h10A5.L2H1; h10A5.L3H1 h10A5.L4H1; h10A5.L1H2; h10A5.L1H3; h10A5.L1H4 і h10A5.L4H4).

В деяких випадках антитіло додатково містить щонайменше одну, дві, три або чотири із наступних каркасних ділянок варіабельної ділянки легкого ланцюга (КД): FR-L1, що містить амінокислотну послідовність $X_1IVMTQSPX_2 \times 3X_4SX_5SX_6GX_7RX_8TX_9 \times 10C$ (SEQ ID NO: 129), де X_1 являє собою E або N; X_2 являє собою A або K; X_3 являє собою S або T; X_4 являє собою L або M; X_5 являє собою I або V; X_6 являє собою I або P; X_7 являє собою D або E; X_8 являє собою A або V; X_9 являє собою L або M; і X_{10} являє собою N або S; FR-L2, що містить амінокислотну

послідовність WYQQKX₁GQX₂PX₃LLIY (SEQ ID NO: 130), де X₁ являє собою Р або Т; X₂ являє собою А або S; і X₃ являє собою Q або R; FR-L3, що містить амінокислотну послідовність GX₁PX₂RFX₃GX₄GSCTX₅FTLTIX₆SX₇QX₈EDX₉AX₁₀ × 11YC (SEQ ID NO: 131), де X₁ являє собою І або V; X₂ являє собою А або D; X₃ являє собою S або Т; X₄ являє собою G або S; X₅ являє собою D або E; X₆ являє собою N або S; X₇ являє собою L або V; X₈ являє собою А або S; X₉ являє собою А або F; X₁₀ являє собою F або V; і X₁₁ являє собою F або Y; та/або FR-L4, що містить амінокислотну послідовність FGX₁GTX₂EIK (SEQ ID NO: 132), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, ідентичністю 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 129-132, такі як містяться в анти-TIGIT антитілі rat10A5 і його похідних (наприклад, h10A5.L1H1; h10A5.L2H1; h10A5.L3H1; h10A5.L4H1; h10A5.L1H2; h10A5.L1H3; h10A5.L1H4 і h10A5.L4H4). Анти-TIGIT антитіло може додатково містити, наприклад, щонайменше одну, дві, три або чотири з наступних ділянок КД варіабельної ділянки легкого ланцюга: FR-L1, що містить амінокислотну послідовність NIVMTQSPKSMSISIGDRVMTMNC (SEQ ID NO: 133); FR-L2, що містить амінокислотну послідовність WYQQKTGQSPQLLIY (SEQ ID NO: 134); FR-L3, що містить амінокислотну послідовність GVPDRFTGGSGTGDTFTLTINSVQAEDAAFFYC (SEQ ID NO: 135); та/або FR-L4, що містить амінокислотну послідовність FGTGKLEIK (SEQ ID NO: 136), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 133-136, такі як містяться в анти-TIGIT антитілі rat10A5. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить FR-L1, що містить амінокислотну послідовність EIVMTQSPATLSVSPGERATLSC (SEQ ID NO: 137); FR-L2, що містить амінокислотну послідовність WYQQKPGQSPRLLIY (SEQ ID NO: 138); FR-L3, що містить амінокислотну послідовність GVPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYC (SEQ ID NO: 140); та/або FR-L4, що містить амінокислотну послідовність FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 142), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 137-138, 140 і 142, такі як містяться в анти-TIGIT антитілах h10A5.L1H1, h10A5.L1H2, h10A5.L1H3 і h10A5.L1H4. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить FR-L1, що містить амінокислотну послідовність EIVMTQSPATLSVSPGERATLSC (SEQ ID NO: 137); FR-L2, що містить амінокислотну послідовність WYQQKPGQAPRLLIY (SEQ ID NO: 139); FR-L3, що містить амінокислотну послідовність GVPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYC (SEQ ID NO: 140); та/або FR-L4, що містить амінокислотну послідовність FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 142), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 137, 139-140 і 142, такі як містяться в анти-TIGIT антитілі h10A5.L2H1. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить FR-L1, що містить амінокислотну послідовність EIVMTQSPATLSVSPGERATLSC (SEQ ID NO: 137); FR-L2, що містить амінокислотну послідовність WYQQKPGQSPRLLIY (SEQ ID NO: 138); FR-L3, що містить амінокислотну послідовність GIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYC (SEQ ID NO: 141); та/або FR-L4, що містить амінокислотну послідовність FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 142), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 137-138 і 141-142, такі як містяться в анти-TIGIT антитілах h10A5.L3H1. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить FR-L1, що містить амінокислотну послідовність EIVMTQSPATLSVSPGERATLSC (SEQ ID NO: 137); FR-L2, що містить амінокислотну послідовність WYQQKPGQAPRLLIY (SEQ ID NO: 139); FR-L3, що містить амінокислотну послідовність GIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYC (SEQ ID NO: 141); та/або FR-L4, що містить амінокислотну послідовність FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 142), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 137, 139 і 141-142, такі як містяться в анти-TIGIT антитілах h10A5.L4H1 і h10A5.L4H4.

В деяких випадках антитіло додатково містить щонайменше одну, дві, три або чотири з наступних ділянок КД варіабельної ділянки важкого ланцюга: FR-H1, що містить амінокислотну

послідовність $X_1VX_2LKESGPX_3 \times 4X_5 \times 6PX_7 \times 8TLX_9LTCX_{10}FSGFSLT$ (SEQ ID NO: 116), де X_1 являє собою E або Q; X_2 являє собою S або T; X_3 являє собою A або G; X_4 являє собою I або L; X_5 являє собою L або V; X_6 являє собою K або Q; X_7 являє собою S або T; X_8 являє собою H або Q; X_9 являє собою S або T; і X_{10} являє собою S або T; FR-H2, що містить амінокислотну послідовність $WIRQPX_1 \times 2KX_3LEWLA$ (SEQ ID NO: 117), де X_1 являє собою P або S; X_2 являє собою E або G; і X_3 являє собою A або G; FR-H3, що містить амінокислотну послідовність $RLTX_1 \times 2KDTSX_3 \times 4QX_5 \times 6LX_7 \times 8TX_9 \times 10DX_{11} \times 12DTATYYCAH$ (SEQ ID NO: 118), де X_1 являє собою I або V; X_2 являє собою S або T; X_3 являє собою K або N; X_4 являє собою D або N; X_5 являє собою A або V; X_6 являє собою F або V; X_7 являє собою N або T; X_8 являє собою M або V; X_9 являє собою N або S; X_{10} являє собою M або V; X_{11} являє собою P або T; і X_{12} являє собою T або V; та/або FR-H4, що містить амінокислотну послідовність $WGQGTlVTVSS$ (SEQ ID NO: 119), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 116-119, такі як містяться в анти-TIGIT антитілі rat10A5 і його похідних (наприклад, h10A5.L1H1; h10A5.L2H1; h10A5.L3H1; h10A5.L4H1; h10A5.L1H2; h10A5.L1H3; h10A5.L1H4 і h10A5.L4H4). Анти-TIGIT антитіло може додатково містити, наприклад, щонайменше одну, дві, три або чотири з наступних ділянок КД варіабельної ділянки важкого ланцюга: FR-H1, що містить амінокислотну послідовність $QVSLKESGPGILQPSHTLSLTCSFSGFSLT$ (SEQ ID NO: 120); FR-H2, що містить амінокислотну послідовність $WIRQPSEKGLEWLA$ (SEQ ID NO: 121); FR-H3, що містить амінокислотну послідовність $RLTVSKDTSNDQAFLNVTSDTTDTATYYCAH$ (SEQ ID NO: 122); та/або FR-H4, що містить амінокислотну послідовність $WGQGTlVTVSS$ (SEQ ID NO: 119), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 119-122, наприклад, такі як містяться в анти-TIGIT антитілі rat10A5. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить FR-H1, що містить амінокислотну послідовність $EVTLKESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLT$ (SEQ ID NO: 123); FR-H2, що містить амінокислотну послідовність $WIRQPPGKALEWLA$ (SEQ ID NO: 124); FR-H3, що містить амінокислотну послідовність $RLTVTKDTSKNQAVLTMNTMDPVDATYYCAH$ (SEQ ID NO: 125); та/або FR-H4, що містить амінокислотну послідовність $WGQGTlVTVSS$ (SEQ ID NO: 119), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 119 і 123-125, такі як містяться в анти-TIGIT антитілах h10A5.L1H1, h10A5.L2H1, h10A5.L3H1 і h10A5.L4H1. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить FR-H1, що містить амінокислотну послідовність $EVTLKESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLT$ (SEQ ID NO: 123); FR-H2, що містить амінокислотну послідовність $WIRQPPGKALEWLA$ (SEQ ID NO: 124); FR-H3, що містить амінокислотну послідовність $RLTITKDTSKNQAVLTMNTMDPVDATYYCAH$ (SEQ ID NO: 126); та/або FR-H4, що містить амінокислотну послідовність $WGQGTlVTVSS$ (SEQ ID NO: 119), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, ідентичністю 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 119, 123-124 і 126, такі як містяться в анти-TIGIT антитілі h10A5.L1H2. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить FR-H1, що містить амінокислотну послідовність $EVTLKESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLT$ (SEQ ID NO: 123); FR-H2, що містить амінокислотну послідовність $WIRQPPGKALEWLA$ (SEQ ID NO: 124); FR-H3, що містить амінокислотну послідовність $RLTVTKDTSKNQVVLTMNTMDPVDATYYCAH$ (SEQ ID NO: 127); та/або FR-H4, що містить амінокислотну послідовність $WGQGTlVTVSS$ (SEQ ID NO: 119), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, 90 %, 91 %, 92 %,

93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 119, 123-124 і 128, такі як містяться в анти-TIGIT антитілах h10A5.L1H4 і h10A5.L4H4.

В іншому прикладі, у винаході пропонуються анти-TIGIT антитіла, які містять щонайменше одну, дві, три, чотири, п'ять або шість ГВД (HVR), вибраних з (a) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність EYSIY (SEQ ID NO: 153); (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність RIDPKNGRTYYVDKFKN (SEQ ID NO: 154); (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність IYGFYFDF (SEQ ID NO: 155); (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність KGSQNVPIK (NK) YLV (SEQ ID NO: 156); (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність NTDNLQS (SEQ ID NO: 157); та/або (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність YQYNNGFT (SEQ ID NO: 158), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних ГВД (HVR) і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, ідентичністю 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 153-158. У деяких випадках будь-яке із вищевказаних анти-TIGIT антитіл із попереднього прикладу може містити, наприклад, (a) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність EYSIY (SEQ ID NO: 153); (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність RIDPKNGRTYYVDKFKN (SEQ ID NO: 154); (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність IYGFYFDF (SEQ ID NO: 155); (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність KGSQNVPIK (NK) YLV (SEQ ID NO: 156); (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність NTDNLQS (SEQ ID NO: 157); і (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність YQYNNGFT (SEQ ID NO: 158), такі як містяться в анти-TIGIT антитілі rat7E7 і його похідних (наприклад, h7E7.L1H1, h7E7.L2H1, h7E7.L3H1, h7E7.L4H1, h7E7.L5H1, h7E7.L1H2, h7E7.L1H3, h7E7.L1H4, h7E7.L1H5, h7E7.L1H6, h7E7.L1H7, h7E7.L1H8, h7E7.L1H9, h7E7.L5H9 і 7E7.L5aH9a).

В деяких випадках антитіло додатково містить щонайменше одну, дві, три або чотири із наступних каркасних ділянок варіабельної ділянки легкого ланцюга (КД): FR-L1, що містить амінокислотну послідовність $X_1IX_2LTQSPSX_3LSASVGDRVTX_4 \times_5C$ (SEQ ID NO: 180), де X_1 являє собою D або N; X_2 являє собою H або Q; X_3 являє собою F або L; X_4 являє собою I або L; і X_5 являє собою S або T; FR-L2, що містить амінокислотну послідовність WYQQKX₁GX₂APKLLIY (SEQ ID NO: 181), де X_1 являє собою L або P; і X_2 являє собою E або K; FR-L3, що містить амінокислотну послідовність GX₁PSRFSGSGSGTX₂ × ₃TLTISSLQPEDX₄ATYX₅C (SEQ ID NO: 182), де X_1 являє собою I або V; X_2 являє собою D або E; X_3 являє собою F або Y; X_4 позначає A або F; і X_5 являє собою F або Y; та/або FR-L4, що містить амінокислотну послідовність FGX₁GTX₂EIK (SEQ ID NO: 183), де X_1 являє собою Q або S; і X_2 являє собою L або V або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентичності) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 180-183, наприклад, такі як містяться в анти-TIGIT антитілі rat7E7 і його похідних (наприклад, h7E7.L1H1, h7E7.L2H1, h7E7.L3H1, h7E7.L4H1, h7E7.L5H1, h7E7.L1H2, h7E7.L1H3, h7E7.L1H4, h7E7.L1H5, h7E7.L1H6, h7E7.L1H7, h7E7.L1H8, h7E7.L1H9, h7E7.L5H9, і 7E7.L5aH9a). Анти-TIGIT антитіло може додатково містити, наприклад, щонайменше одну, дві, три або чотири з наступних ділянок КД варіабельної ділянки легкого ланцюга: FR-L1, що містить амінокислотну послідовність NIHLTQSPSLLSASVGDRVTLSC (SEQ ID NO: 184); FR-L2, що містить амінокислотну послідовність WYQQKLGEAPKLLIY (SEQ ID NO: 185); FR-L3, що містить амінокислотну послідовність GIPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDAATYFC (SEQ ID NO: 186); та/або FR-L4, що містить амінокислотну послідовність FGSGTKLEIK (SEQ ID NO: 187), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 184-187, такі як містяться в анти-TIGIT антитілі rat7E7. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить FR-L1, що містить амінокислотну послідовність DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO: 188); FR-L2, що містить амінокислотну послідовність WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO: 189); FR-L3, що містить амінокислотну послідовність GIPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPEDFATYFC (SEQ ID NO: 190); та/або FR-L4, що містить амінокислотну послідовність FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 196), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, ідентичністю 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 188-190 і 196, такі як містяться в анти-TIGIT антитілах h7E7.L1H1, h7E7.L1H2, h7E7.L1H3, h7E7.L1H4, h7E7.L1H5, h7E7.L1H6, h7E7.L1H7, h7E7.L1H8 і h7E7.L1H9. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить FR-L1, що містить амінокислотну послідовність

DIQLTQSPSFLSASVGDRVITC (SEQ ID NO: 188); FR-L2, що містить амінокислотну послідовність WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO: 189); FR-L3, що містить амінокислотну послідовність GVPSRFSGSGSGTEYTLTISLQPEDFATYFC (SEQ ID NO: 191); та/або FR-L4, що містить амінокислотну послідовність FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 196), або комбінацію однієї або

5 більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, ідентичністю 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 188-189, 191 і 196, наприклад, такі як містяться в анти-TIGIT антитілі h7E7.L2H1. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить FR-L1, що містить амінокислотну послідовність

10 DIQLTQSPSFLSASVGDRVITC (SEQ ID NO: 188); FR-L2, що містить амінокислотну послідовність WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO: 189); FR-L3, що містить амінокислотну послідовність GIPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYFC (SEQ ID NO: 192); та/або FR-L4, що містить амінокислотну послідовність FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 196), або комбінацію однієї або

15 більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 188-189, 192 і 196, такі як містяться в анти-TIGIT антитілах h7E7.L3H1. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить FR-L1, що містить амінокислотну послідовність DIQLTQSPSFLSASVGDRVITC (SEQ ID NO: 188); FR-L2, що містить амінокислотну послідовність WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:

20 189); FR-L3, що містить амінокислотну послідовність GIPSRFSGSGSGTEYTLTISLQPEDFATYYC (SEQ ID NO: 193); та/або FR-L4, що містить амінокислотну послідовність FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 196), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 188-189, 193 і 196, наприклад, такі як містяться в анти-TIGIT антитілі h7E7.L4H1. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить FR-L1, що містить амінокислотну послідовність DIQLTQSPSFLSASVGDRVITC (SEQ ID NO: 188); FR-L2, що містить амінокислотну послідовність WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO: 189); FR-L3, що містить амінокислотну послідовність

30 GVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYC (SEQ ID NO: 194); та/або FR-L4, що містить амінокислотну послідовність FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 196), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 188-189, 194 і 196, такі як містяться в анти-TIGIT антитілах h7E7.L5H1 і h7E7.L5H9. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить FR-L1, що містить амінокислотну послідовність DIQLTQSPSFLSASVGDRVITC (SEQ ID NO: 188); FR-L2, що містить амінокислотну послідовність WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO: 189); FR-L3, що містить амінокислотну послідовність GVPSRFSGSGSGTEYTLTISLQPEDFATYYC (SEQ ID NO: 195); та/або FR-L4, що містить амінокислотну послідовність FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 196), або комбінацію однієї або

40 більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 188-189 і 195-196, такі як містяться в анти-TIGIT антитілі 7E7.L5aH9a.

45 В деяких випадках антитіло додатково містить щонайменше одну, дві, три або чотири з наступних ділянок КД варіабельної ділянки важкого ланцюга: FR-H1, що містить амінокислотну послідовність EVQLX₁QSGX₂EX₃ × X₄PGASVKX₆SCKAX₇GYTFT (SEQ ID NO: 159), де X₁ являє собою Q або V; X₂ являє собою A або P; X₃ являє собою L або V; X₄ являє собою K або Q; X₅ являє собою K або R; X₆ являє собою L або V; і X₇ являє собою S або T; FR-H2, що містить амінокислотну послідовність WVX₁QX₂PX₃QX₄LEX₅ × X₆G (SEQ ID NO: 160), де X₁ являє собою K або R; X₂ являє собою A або R; X₃ являє собою G або K; X₄ являє собою R або S; X₅ являє собою I або W; і X₆ являє собою I або M; FR-H3, що містить амінокислотну послідовність RX₁TX₂TX₃DTSX₄ × X₅TAYMX₆LSSLX₇SEDAX₈YX₉CX₁₀R (SEQ ID NO: 161), де X₁ являє собою A або V; X₂ являє собою I або L; X₃ являє собою A або R; X₄ являє собою A або S; X₅ являє собою N або S; X₆ являє собою E або Q; X₇ являє собою R або T; X₈ являє собою T або V; X₉ являє собою F або Y; і X₁₀ являє собою A або T; та/або FR-H4, що містить амінокислотну послідовність WGQGX₁ × X₂VTX₃SS (SEQ ID NO: 162), де X₁ являє собою T або V; X₂ являє собою L або M; і X₃ являє собою A або V або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше

60 близько 90 % (наприклад, ідентичністю 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %

або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 159-162, наприклад, такі як містяться в анти-TIGIT антитілі rat7E7 і його похідних (наприклад, h7E7.L1H1, h7E7.L2H1, h7E7.L3H1, h7E7.L4H1, h7E7.L5H1, h7E7.L1H2, h7E7.L1H3, h7E7.L1H4, h7E7.L1H5, h7E7.L1H6, h7E7.L1H7, h7E7.L1H8, h7E7.L1H9, h7E7.L5H9 і 7E7.L5aH9a). Анти-TIGIT антитіло може додатково містити, наприклад, щонайменше одну, дві, три або чотири з наступних ділянок КД варіабельної ділянки важкого ланцюга: FR-H1, що містить амінокислотну послідовність EVQLQQSGPELQRPQASVKLSCKATGYTFT (SEQ ID NO: 163); FR-H2, що містить амінокислотну послідовність WVKQRPQSLEIIG (SEQ ID NO: 164); FR-H3, що містить амінокислотну послідовність RATLTADTSSNTAYMQLSSLTSEDATYFCTR (SEQ ID NO: 165); та/або FR-H4, що містить амінокислотну послідовність WGQGVMTASS (SEQ ID NO: 166), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 163-166, такі як містяться в анти-TIGIT антитілі rat7E7. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить FR-H1, що містить амінокислотну послідовність EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFT (SEQ ID NO: 167); FR-H2, що містить амінокислотну послідовність WVRQAPGQRLEIIG (SEQ ID NO: 168); FR-H3, що містить амінокислотну послідовність RATLTADTSASTAMELSSLRSEDATYFCTR (SEQ ID NO: 172); та/або FR-H4, що містить амінокислотну послідовність WGQGTSLTVSS (SEQ ID NO: 179), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 167-138, 172 і 179, такі як містяться в анти-TIGIT антитілах h7E7.L1H1, h7E7.L2H1, h7E7.L3H1, h7E7.L4H1 і h7E7.L5H1. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить FR-H1, що містить амінокислотну послідовність EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFT (SEQ ID NO: 167); FR-H2, що містить амінокислотну послідовність WVRQAPGQRLEWIG (SEQ ID NO: 169); FR-H3, що містить амінокислотну послідовність RATLTADTSASTAMELSSLRSEDATYFCTR (SEQ ID NO: 172); та/або FR-H4, що містить амінокислотну послідовність WGQGTSLTVSS (SEQ ID NO: 179), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, ідентичністю 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 167, 169, 172 і 179, такі як містяться в анти-TIGIT антитілі h7E7.L1H2. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить FR-H1, що містить амінокислотну послідовність EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFT (SEQ ID NO: 167); FR-H2, що містить амінокислотну послідовність WVRQAPGQRLEIMG (SEQ ID NO: 170); FR-H3, що містить амінокислотну послідовність RATLTADTSASTAMELSSLRSEDATYFCTR (SEQ ID NO: 172); та/або FR-H4, що містить амінокислотну послідовність WGQGTSLTVSS (SEQ ID NO: 179), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 167, 170, 172 і 179, такі як містяться в анти-TIGIT антитілі h7E7.L1H3. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить FR-H1, що містить амінокислотну послідовність EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFT (SEQ ID NO: 167); FR-H2, що містить амінокислотну послідовність WVRQAPGQRLEIIG (SEQ ID NO: 168); FR-H3, що містить амінокислотну послідовність RVTLTADTSASTAYMELSSLRSEDATYFCTR (SEQ ID NO: 173); та/або FR-H4, що містить амінокислотну послідовність WGQGTSLTVSS (SEQ ID NO: 179), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, ідентичністю 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 167-168, 173 і 179, такі як містяться в анти-TIGIT антитілі h7E7.L1H4. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить FR-H1, що містить амінокислотну послідовність EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFT (SEQ ID NO: 167); FR-H2, що містить амінокислотну послідовність WVRQAPGQRLEIIG (SEQ ID NO: 168); FR-H3, що містить амінокислотну послідовність RATITADTSASTAMELSSLRSEDATYFCTR (SEQ ID NO: 174); та/або FR-H4, що містить амінокислотну послідовність WGQGTSLTVSS (SEQ ID NO: 179), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 167-168, 174 і 179, такі як містяться в анти-TIGIT антитілі h7E7.L1H5. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить FR-H1, що містить амінокислотну послідовність

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT (SEQ ID NO: 167); FR-H2, що містить амінокислотну послідовність WVRQAPGQRLEIG (SEQ ID NO: 168); FR-H3, що містить амінокислотну послідовність RATLTRDTSASTAYMELSSLRSEDVAVYFCTR (SEQ ID NO: 175); та/або FR-H4, що містить амінокислотну послідовність WGQGTSLTVSS (SEQ ID NO: 179), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, ідентичністю 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 167-168, 175 і 179, такі як містяться в анти-TIGIT антитілі h7E7.L1H6. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить FR-H1, що містить амінокислотну послідовність EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT (SEQ ID NO: 167); FR-H2, що містить амінокислотну послідовність WVRQAPGQRLEIG (SEQ ID NO: 168); FR-H3, що містить амінокислотну послідовність RATLTADTSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCTR (SEQ ID NO: 176); та/або FR-H4, що містить амінокислотну послідовність WGQGTSLTVSS (SEQ ID NO: 179), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 167-168, 176 і 179, такі як містяться в анти-TIGIT антитілі h7E7.L1H7. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить FR-H1, що містить амінокислотну послідовність EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT (SEQ ID NO: 167); FR-H2, що містить амінокислотну послідовність WVRQAPGQRLEIG (SEQ ID NO: 168); FR-H3, що містить амінокислотну послідовність RATLTADTSASTAMELSSLRSEDVAVFYCAR (SEQ ID NO: 177); та/або FR-H4, що містить амінокислотну послідовність WGQGTSLTVSS (SEQ ID NO: 179), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 167-168, 177 і 179, такі як містяться в анти-TIGIT антитілі h7E7.L1H8. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить FR-H1, що містить амінокислотну послідовність EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT (SEQ ID NO: 167); FR-H2, що містить амінокислотну послідовність WVRQAPGQRLEWMG (SEQ ID NO: 171); FR-H3, що містить амінокислотну послідовність RVTITRDTASTAYMELSSLRSEDVAVYYCAR (SEQ ID NO: 178); та/або FR-H4, що містить амінокислотну послідовність WGQGTSLTVSS (SEQ ID NO: 179), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, ідентичністю 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 167, 171 і 178-179, такі як містяться в анти-TIGIT антитілах h7E7.L1H9 і h7E7.L5H9. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить FR-H1, що містить амінокислотну послідовність EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT (SEQ ID NO: 167); FR-H2, що містить амінокислотну послідовність WVRQAPGQRLEIMG (SEQ ID NO: 170); FR-H3, що містить амінокислотну послідовність RVTITRDTASTAYMELSSLRSEDVAVYYCAR (SEQ ID NO: 178); та/або FR-H4, що містить амінокислотну послідовність WGQGTSLTVSS (SEQ ID NO: 179), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, ідентичністю 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 167, 170 і 178-179, такі як містяться в анти-TIGIT антитілі 7E7.L5aH9a.

В іншому прикладі винахід передбачає анти-TIGIT антитіла, які містять щонайменше одну, дві, три, чотири, п'ять або шість ГВД (HVR), вибраних з (а) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність EHSIY (SEQ ID NO: 215); (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність RIDPKNGRTYFVDKFKN (SEQ ID NO: 216); (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність IDGFYFDF (SEQ ID NO: 217); (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність KGSQNVPK (NK) YLV (SEQ ID NO: 218); (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність STDNLQS (SEQ ID NO: 219); та/або (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність YQYNNNGFT (SEQ ID NO: 220), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних ГВД (HVR) і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, ідентичністю 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 215-220. У деяких випадках будь-яке із вищевказаних анти-TIGIT антитіл попереднього прикладу може містити, наприклад, (а) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність EHSIY (SEQ ID NO: 215); (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність RIDPKNGRTYFVDKFKN (SEQ ID NO: 216); (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність IDGFYFDF (SEQ ID NO: 217); (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність KGSQNVPK (NK) YLV (SEQ ID NO: 218); (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність

STDNLQS (SEQ ID NO: 219); і (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність YQYNNNGFT (SEQ ID NO: 220), такі як містяться в анти-TIGIT антитілі rat15C8 і його похідних (наприклад, h15C8.L1H1, h15C8.L2H1, h15C8.L3H1, h15C8.L4H1, h15C8.L5H1, h15C8.L1H2, h15C8.L1H3, h15C8.L1H4, h15C8.L1H5, h15C8.L1H6, h15C8.L1H7, h15C8.L1H8, h15C8.L1H9, h15C8.L5H9 і 5C8.L5aH9a).

В деяких випадках антитіло додатково містить щонайменше одну, дві, три або чотири із наступних каркасних ділянок варіабельної ділянки легкого ланцюга (КД): FR-L1, що містить амінокислотну послідовність $X_1IX_2LTQSPSX_3LSASVGDRVTX_4 \times_5C$ (SEQ ID NO: 243), де X_1 являє собою D або N; X_2 являє собою H або Q; X_3 являє собою F або L; X_4 являє собою I або L; і X_5 являє собою S або T; FR-L2, що містить амінокислотну послідовність WYQQKX₁GX₂APKLLIY (SEQ ID NO: 244), де X_1 являє собою L або P і X_2 являє собою E або K; FR-L3, що містить амінокислотну послідовність GX₁PSRFSGSGSGTX₂ × ₃TLTISSLQPEDX₄ATYX₅C (SEQ ID NO: 245), де X_1 являє собою I або V; X_2 являє собою D або E; X_3 являє собою F або Y; X_4 позначає A або F; і X_5 являє собою F або Y; та/або FR-L4, що містить амінокислотну послідовність FGX₁GTX₂EIK (SEQ ID NO: 246), де X_1 являє собою Q або S, і X_2 являє собою L або V, або комбінацію одного або більшої кількості з вище КД і один або більшу кількість його варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, ідентичністю 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 243-246, такі як містяться в анти-TIGIT антитілі rat15C8 і його похідних (наприклад, h15C8.L1H1, h15C8.L2H1, h15C8.L3H1, h15C8.L4H1, h15C8.L5H1, h15C8.L1H2, h15C8.L1H3, h15C8.L1H4, h15C8.L1H5, h15C8.L1H6, h15C8.L1H7, h15C8.L1H8, h15C8.L1H9, h15C8.L5H9 і 5C8.L5aH9a). Анти-TIGIT антитіло може додатково містити, наприклад, щонайменше одну, дві, три або чотири з наступних ділянок КД варіабельної ділянки легкого ланцюга: FR-L1, що містить амінокислотну послідовність NIHLTQSPSLLSASVGDRVTLC (SEQ ID NO: 247); FR-L2, що містить амінокислотну послідовність WYQQKLGEPKLLIY (SEQ ID NO: 248); FR-L3, що містить амінокислотну послідовність GIPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDAATYFC (SEQ ID NO: 249); та/або FR-L4, що містить амінокислотну послідовність FGSGTKLEIK (SEQ ID NO: 250), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 247-250, такі як містяться в анти-TIGIT антитілі rat15C8. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить FR-L1, що містить амінокислотну послідовність DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO: 251); FR-L2, що містить амінокислотну послідовність WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO: 252); FR-L3, що містить амінокислотну послідовність GIPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPEDFATYFC (SEQ ID NO: 253); та/або FR-L4, що містить амінокислотну послідовність FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 259), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 251-253 і 259, такі як містяться в анти-TIGIT антитілах h15C8.L1H1, h15C8.L1H2, h15C8.L1H3, h15C8.L1H4, h15C8.L1H5, h15C8.L1H6, h15C8.L1H7, h15C8.L1H8 і h15C8.L1H9. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить FR-L1, що містить амінокислотну послідовність DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO: 251); FR-L2, що містить амінокислотну послідовність WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO: 252); FR-L3, що містить амінокислотну послідовність GVPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPEDFATYFC (SEQ ID NO: 254); та/або FR-L4, що містить амінокислотну послідовність FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 259), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, ідентичністю 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 251-252, 254 і 259, такі як містяться в анти-TIGIT антитілі h15C8.L2H1. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить FR-L1, що містить амінокислотну послідовність DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO: 251); FR-L2, що містить амінокислотну послідовність WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO: 252); FR-L3, що містить амінокислотну послідовність GIPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPEDFATYFC (SEQ ID NO: 255); та/або FR-L4, що містить амінокислотну послідовність FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 259), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, ідентичністю 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 251-252, 255 і 259, такі як містяться в анти-TIGIT антитілі h15C8.L3H1. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить FR-L1, що містить амінокислотну послідовність

DIQLTQSPSFLSASVGDRVITC (SEQ ID NO: 251); FR-L2, що містить амінокислотну послідовність WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO: 252); FR-L3, що містить амінокислотну послідовність GIPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPEDFATYYC (SEQ ID NO: 256); та/або FR-L4, що містить амінокислотну послідовність FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 259), або комбінацію однієї або
 5 більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, ідентичністю 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 251-252, 256 і 259, такі як містяться в анти-TIGIT антитілах h15C8.L4H1. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить FR-L1, що містить амінокислотну послідовність
 10 DIQLTQSPSFLSASVGDRVITC (SEQ ID NO: 251); FR-L2, що містить амінокислотну послідовність WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO: 252); FR-L3, що містить амінокислотну послідовність GVPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPEDFATYYC (SEQ ID NO: 257); та/або FR-L4, що містить амінокислотну послідовність FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 259), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють
 15 ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 251-252, 257 і 259, такі як містяться в анти-TIGIT антитілах h15C8.L5H1 і h15C8.L5H9. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить FR-L1, що містить амінокислотну послідовність
 20 DIQLTQSPSFLSASVGDRVITC (SEQ ID NO: 251); FR-L2, що містить амінокислотну послідовність WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO: 252); FR-L3, що містить амінокислотну послідовність GVPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPEDFATYYC (SEQ ID NO: 258); та/або FR-L4, що містить амінокислотну послідовність FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 259), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють
 25 ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, ідентичністю 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 251-252 і 258-259, такі як містяться в анти-TIGIT антитілах 5C8.L5aH9a.

В деяких випадках антитіло додатково містить щонайменше одну, дві, три або чотири з наступних КД варіабельної ділянки важкого ланцюга: FR-H1, що містить амінокислотну послідовність EVQLX₁QSGX₂EX₃ × X₄PGASVKX₆SCKASGYTFT (SEQ ID NO: 221), де X₁ являє собою Q або V; X₂ являє собою A або P; X₃ являє собою L або V; X₄ являє собою K або Q; X₅ являє собою K або R; і X₆ являє собою L або V; FR-H2, що містить амінокислотну послідовність
 30 WX₁ × X₂QX₃PX₄QX₅LEX₆ × X₇G (SEQ ID NO: 222), де X₁ являє собою L або V; X₂ являє собою K або R; X₃ являє собою A або R; X₄ являє собою G або K; X₅ являє собою R або S; X₆ являє собою I або W; і X₇ являє собою I або M; FR-H3, що містить амінокислотну послідовність RX₁TX₂TX₃ ×
 35 4TSX₅ × X₆TAYMX₇LSSLX₈SEDTAX₉YX₁₀CAR (SEQ ID NO: 223), де X₁ являє собою A або V; X₂ являє собою I або L; X₃ являє собою R або T; X₄ являє собою D або N; X₅ являє собою A або S; X₆ являє собою N або S; X₇ являє собою E або Q; X₈ являє собою R або T; X₉ являє собою I або V; і X₁₀ являє собою F або Y; та/або FR-H4, що містить амінокислотну послідовність WGQGX₁ ×
 40 2VTX₃SS (SEQ ID NO: 224), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, ідентичністю 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 221-224, такі як містяться в анти-TIGIT антитілі rat15C8 і його похідних (наприклад, h15C8.L1H1, h15C8.L2H1, h15C8.L3H1, h15C8.L4H1, h15C8.L5H1, h15C8.L1H2, h15C8.L1H3, h15C8.L1H4, h15C8.L1H5, h15C8.L1H6, h15C8.L1H7,
 45 h15C8.L1H8, h15C8.L1H9, h15C8.L5H9 і 5C8.L5aH9a). Анти-TIGIT антитіло може додатково містити, наприклад, щонайменше одну, дві, три або чотири з наступних ділянок КД варіабельної ділянки важкого ланцюга: FR-H1, що містить амінокислотну послідовність EVQLQQSGPELQRPGLSCKASGYTFT (SEQ ID NO: 225); FR-H2, що містить амінокислотну послідовність WLRQRPKQSLEIIG (SEQ ID NO: 226); FR-H3, що містить амінокислотну послідовність RATLTTNTSSNTAYMQLSSLTSEDTAIFYCAR (SEQ ID NO: 227); та/або FR-H4, що містить амінокислотну послідовність WGQGVMTASS (SEQ ID NO: 228), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, ідентичністю 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із
 55 SEQ ID NO: 225-228, такі як містяться в анти-TIGIT антитілі rat15C8. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить FR-H1, що містить амінокислотну послідовність EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT (SEQ ID NO: 229); FR-H2, що містить амінокислотну послідовність WLRQAPGQRLEIIG (SEQ ID NO: 230); FR-H3, що містить амінокислотну послідовність RATLTTDTASTAYMELSSLRSEDTAVIFYCAR (SEQ ID NO: 235); та/або FR-H4, що
 60 містить амінокислотну послідовність WGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 242), або комбінацію однієї

[illegible]

послідовність WLRQAPGQRLEIIG (SEQ ID NO: 230); FR-H3, що містить амінокислотну послідовність RATLTDTASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 239); та/або FR-H4, що містить амінокислотну послідовність WGQGTSLTVSS (SEQ ID NO: 242), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, ідентичністю 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 229-230, 239 і 242, такі як містяться в анти-TIGIT антитілі h15C8.L1H8. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить FR-H1, що містить амінокислотну послідовність EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFT (SEQ ID NO: 229); FR-H2, що містить амінокислотну послідовність WVRQAPGQRLEWVG (SEQ ID NO: 234); FR-H3, що містить амінокислотну послідовність RVTITRDTASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 240); та/або FR-H4, що містить амінокислотну послідовність WGQGTSLTVSS (SEQ ID NO: 242), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 229, 234, 240 і 242, такі як містяться в анти-TIGIT антитілах h15C8.L1H9 і h15C8.L5H9. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить FR-H1, що містить амінокислотну послідовність EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFT (SEQ ID NO: 229); FR-H2, що містить амінокислотну послідовність WLRQAPGQRLEIMG (SEQ ID NO: 233); FR-H3, що містить амінокислотну послідовність RATITDTASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 241); та/або FR-H4, що містить амінокислотну послідовність WGQGTSLTVSS (SEQ ID NO: 242), або комбінацію однієї або більшої кількості із вищевказаних КД і одного або більшої кількості їх варіантів, що володіють ідентичністю послідовності щонайменше близько 90 % (наприклад, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до будь-якої із SEQ ID NO: 229, 233 і 241-242, такі як містяться в анти-TIGIT антитілі 5C8.L5aH9a.

Крім того, пропонуються анти-TIGIT антитіла, які містять варіабельну ділянку важкого ланцюга, яка володіє ідентичністю послідовності щонайменше 90 % (наприклад, 91 %, 92 %, 93 % або 94 %) або щонайменше 95 % (наприклад, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до або має послідовність будь-якої із SEQ ID NO: 60, 62, 66, 101, 103, 104, 105, 106, 107, 145, 146, 147, 148, 197, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 213, 260, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270 або 276. Крім того, представлені анти-TIGIT антитіла, що містять варіабельну ділянку легкого ланцюга, яка володіє ідентичністю послідовності щонайменше 90 % (наприклад, 91 %, 92 %, 93 % або 94 %) або щонайменше 95 % (наприклад, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до або має послідовність будь-якої із SEQ ID NO: 61, 63, 64, 67, 102, 108, 109, 144, 149, 150, 151, 152, 198, 208, 209, 210, 211, 212, 214, 261, 271, 272, 273, 274, 275 або 277.

В деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, яка володіє ідентичністю послідовності щонайменше 90 % (наприклад, 91 %, 92 %, 93 % або 94 %) або щонайменше 95 % (наприклад, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до або має послідовність SEQ ID NO: 60, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, яка володіє ідентичністю послідовності щонайменше 90 % (наприклад, 91 %, 92 %, 93 % або 94 %), або щонайменше 95 % (наприклад, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до або має послідовність SEQ ID NO: 61. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, яка володіє ідентичністю послідовності щонайменше 90 % (наприклад, 91 %, 92 %, 93 % або 94 %) або щонайменше 95 % (наприклад, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до або має послідовність SEQ ID NO: 62, та варіабельну ділянку легкого ланцюга, яка володіє ідентичністю послідовності щонайменше 90 % (наприклад, 91 %, 92 %, 93 % або 94 %) або щонайменше 95 % (наприклад, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до або має послідовність SEQ ID NO: 63. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, яка володіє ідентичністю послідовності щонайменше 90 % (наприклад, 91 %, 92 %, 93 % або 94 %) або щонайменше 95 % (наприклад, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до або має послідовність SEQ ID NO: 62, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, яка володіє ідентичністю послідовності щонайменше 90 % (наприклад, 91 %, 92 %, 93 % або 94 %) або щонайменше 95 % (наприклад, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до або має послідовність SEQ ID NO: 64. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, яка володіє ідентичністю послідовності щонайменше 90 % (наприклад, 91 %, 92 %, 93 % або 94 %) або щонайменше 95 % (наприклад, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до або має послідовність SEQ ID NO: 66, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, яка володіє ідентичністю послідовності щонайменше 90 % (наприклад, 91 %, 92 %, 93 % або 94 %) або щонайменше 95 % (наприклад, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до або має послідовність SEQ ID NO: 67. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить варіабельну

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

ділянку важкого ланцюга, яка володіє ідентичністю послідовності щонайменше 90 % (наприклад, 91 %, 92 %, 93 % або 94 %) або щонайменше 95 % (наприклад, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до або має послідовність SEQ ID NO: 270, та варіабельну ділянку легкого ланцюга, яка володіє ідентичністю послідовності щонайменше 90 % (наприклад, 91 %, 92 %, 93 % або 94 %) або щонайменше 95 % (наприклад, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до або має послідовність SEQ ID NO: 275. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, яка володіє ідентичністю послідовності щонайменше 90 % (наприклад, 91 %, 92 %, 93 % або 94 %) або щонайменше 95 % (наприклад, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до або має послідовність SEQ ID NO: 262, та варіабельну ділянку легкого ланцюга, яка володіє ідентичністю послідовності щонайменше 90 % (наприклад, 91 %, 92 %, 93 % або 94 %) або щонайменше 95 % (наприклад, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до або має послідовність SEQ ID NO: 272. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, яка володіє ідентичністю послідовності щонайменше 90 % (наприклад, 91 %, 92 %, 93 % або 94 %) або щонайменше 95 % (наприклад, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до або має послідовність SEQ ID NO: 262, та варіабельну ділянку легкого ланцюга, яка володіє ідентичністю послідовності щонайменше 90 % (наприклад, 91 %, 92 %, 93 % або 94 %) або щонайменше 95 % (наприклад, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до або має послідовність SEQ ID NO: 273. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, яка володіє ідентичністю послідовності щонайменше 90 % (наприклад, 91 %, 92 %, 93 % або 94 %) або щонайменше 95 % (наприклад, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до або має послідовність SEQ ID NO: 262, та варіабельну ділянку легкого ланцюга, яка володіє ідентичністю послідовності щонайменше 90 % (наприклад, 91 %, 92 %, 93 % або 94 %) або щонайменше 95 % (наприклад, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до або має послідовність SEQ ID NO: 274. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, яка володіє ідентичністю послідовності щонайменше 90 % (наприклад, 91 %, 92 %, 93 % або 94 %) або щонайменше 95 % (наприклад, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до або має послідовність SEQ ID NO: 275. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, яка володіє ідентичністю послідовності щонайменше 90 % (наприклад, 91 %, 92 %, 93 % або 94 %) або щонайменше 95 % (наприклад, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до або має послідовність SEQ ID NO: 276, та варіабельну ділянку легкого ланцюга, яка володіє ідентичністю послідовності щонайменше 90 % (наприклад, 91 %, 92 %, 93 % або 94 %) або щонайменше 95 % (наприклад, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %) по відношенню до або має послідовність SEQ ID NO: 277.

В іншому аспекті пропонується анти-TIGIT антитіло, в якому антитіло містить VH, як в будь-якому з вищеописаних варіантів реалізації винаходу, і VL, як в будь-якому з вищеописаних варіантів реалізації винаходу, причому одна або обидві послідовності варіабельного домену містять посттрансляційні модифікації.

В деяких випадках будь-яке з анти-TIGIT антитіл, описаних вище, може бути здатним зв'язуватися із TIGIT кролика, на додаток до TIGIT людини. У деяких випадках будь-яке з анти-TIGIT антитіл, описаних вище, може бути здатним зв'язуватися як з TIGIT людини, так і з TIGIT яванського макака (яванця). У деяких випадках будь-яке з анти-TIGIT антитіл, описаних вище, може бути здатним зв'язуватися з TIGIT людини, TIGIT яванця і TIGIT кролика. У деяких випадках будь-яке з анти-TIGIT антитіл, описаних вище (наприклад, 4.1D3 або його похідне), може бути здатним зв'язуватися з TIGIT людини, TIGIT яванця і TIGIT кролика, але не з TIGIT миші.

В деяких випадках анти-TIGIT антитіло зв'язується з TIGIT людини із Kd близько 10 нМ або менше і з TIGIT яванця з Kd близько 10 нМ або менше (наприклад, зв'язується з TIGIT людини із Kd від близько 0,1 нМ до близько 1 нМ і з TIGIT яванця з Kd від близько 0,5 нМ до близько 1 нМ, наприклад, зв'язується з TIGIT людини із Kd близько 0,1 нМ або менше і з TIGIT яванця з Kd близько 0,5 нМ або менше).

У деяких варіантах реалізації винаходу анти-TIGIT антитіло є антагоністичним антитілом. Антагоністичне антитіло може специфічно зв'язуватися з TIGIT і інгібувати або блокувати взаємодію TIGIT з рецептором поліовірусу (ПБР (PVR)) (наприклад, антагоністичне антитіло інгібує внутрішньоклітинне проведення сигналу, опосередковане зв'язуванням TIGIT з ПБР (PVR)). У деяких випадках антагоністичне антитіло інгібує або блокує зв'язування TIGIT людини з ПБР (PVR) людини зі значенням IC₅₀ 10 нМ або менше (наприклад, від 1 нМ до 10 нМ). У деяких випадках антагоністичне антитіло інгібує або блокує зв'язування TIGIT яванця з ПБР

(PVR) яванця зі значенням IC₅₀ 50 нМ або менше (наприклад, від 1 нМ до близько 50 нМ, наприклад від 1 нМ до близько 5 нМ).

В інших варіантах реалізації винаходу анти-TIGIT антитіло може бути агоністичним антитілом. Агоністичне антитіло може специфічно зв'язуватися з TIGIT і стимулювати взаємодію ПБР (PVR) з CD226 або CD96. Наприклад, агоністичне антитіло може специфічно зв'язуватися з TIGIT і стимулювати взаємодію ПБР (PVR) з CD226 і CD96 (наприклад, зв'язується з TIGIT людини і стимулює взаємодію ПБР (PVR) людини з людським CD226 і людським CD96 та/або зв'язується з TIGIT яванця і стимулює взаємодію ПБР (PVR) яванця з CD226 яванця і CD96 яванця).

В наступному аспекті винахід відноситься до виділеного антитіла, яке конкурує за зв'язування з TIGIT із будь-яким з анти-TIGIT антитіл, описаних вище. Ще в одному аспекті винахід відноситься до виділеного антитіла, яке зв'язується з тим же епітопом, що і анти-TIGIT антитіло, описане вище.

Анти-TIGIT антитіло за будь-яким із вищевказаних варіантів реалізації винаходу являє собою моноклональне антитіло, в тому числі гібридне, гуманізоване або людське антитіло. В одному варіанті реалізації винаходу анти-TIGIT антитіло являє собою фрагмент антитіла, наприклад, фрагмент Fv, Fab, Fab', scFv, диатіло або F(ab')₂. В іншому варіанті реалізації винаходу антитіло являє собою повнорозмірне антитіло, наприклад, інтактне IgG антитіло (наприклад, інтактне IgG1 антитіло) або інший клас або ізотип антитіла, як визначено в цьому документі.

У ще одному аспекті анти-TIGIT антитіло відповідно до будь-якого з вищенаведених варіантів реалізації винаходу може володіти будь-якою з ознак, окремо або в комбінації, як описано в розділах 1-7 нижче.

1. Афінність антитіл

У деяких варіантах реалізації винаходу константа дисоціації антитіла (наприклад, анти-TIGIT антитіло), представленого в цьому документі, становить (K_d) ≤ 1 мкМ, ≤ 100 нМ, ≤ 10 нМ, ≤ 1 нМ, ≤ 0,1 нМ, ≤ 0,01 нМ або ≤ 0,001 нМ (наприклад, 10⁻⁸ М або менше, наприклад, від 10⁻⁸ М до 10⁻¹³ М, наприклад, від 10⁻⁹ М до 10⁻¹³ М).

В одному варіанті реалізації винаходу K_d вимірюють за допомогою аналізу зв'язування радіоактивно міченого антигену (PIA (RIA)). В одному варіанті реалізації винаходу PIA (RIA) виконують з Fab-версією антитіла, що представляє інтерес, та його антигену. Наприклад, афінність, зв'язування в розчині для Fab по відношенню до вимірюють шляхом врівноваження Fab з мінімальною концентрацією (¹²⁵I)-міченого антигену в присутності титраційної серії неміченого антигену, з подальшим захопленням зв'язаного на планшеті, вкритим антитілом проти Fab (див., наприклад, Chen et al., J. Mol. Biol. 293: 865-881 (1999)). Для проведення аналізу багатошарові планшети MICROTITER® (Thermo Scientific) вкривають протягом ночі 5 мкг/мл вловлюючого антитіла проти Fab (Cappel Labs) в 50 мМ розчині натрій карбонату (pH 9,6), і потім блокують 2 % (мас./об.) бичачого сироваткового альбуміну у фосфатно-сольовому буфері, ФСБ (PBS) протягом двох-п'яти годин при кімнатній температурі (близько 23 °C). На неадсорбуючому планшеті (Nunc № 269620) 100 пМ або 26 пМ [¹²⁵I]-антигену змішують із серійними розведеннями Fab, що представляє інтерес (наприклад, при оцінці антитіла проти ФРЕС (VEGF), Fab-12, у Presta et al., Cancer Res., 57: 4593-4599 (1997)). Далі Fab, що представляє інтерес, інкубують протягом ночі; однак інкубація може тривати протягом довшого періоду (наприклад, близько 65 годин), щоб забезпечити досягнення рівноваги. Після цього суміші переносять неадсорбуючий планшет для інкубації при кімнатній температурі (наприклад, протягом однієї години). Потім розчин видаляють, і планшет промивають вісім разів 0,1 % полісорбатом 20 (TWEEN-20®) у ФСБ (PBS). Після висушування планшетів додають 150 мкл/лунку сцинтиляційної рідини (MicroScint-20™; Packard), і планшети зчитують на гамма-лічильнику TopCount™ (Packard) протягом десяти хвилин. Концентрації кожного Fab, які дають значення менш ніж або дорівнюють 20 % максимального зв'язування, вибирають для застосування в аналізах конкурентного зв'язування.

Згідно з іншим варіантом реалізації K_d вимірюють із застосуванням аналізу методом поверхневого плазмонного резонансу BIACORE®. Наприклад, аналіз із застосуванням BIACORE®-2000 або BIACORE®-3000 (BIAcore, Inc., Піскатавей, штат Нью-Джерсі) проводять при 25 °C за допомогою іммобілізованих антигенів CM5 в ~ 10 одиниць відповіді (ОВ (RU)). В одному варіанті реалізації винаходу карбоксиметильовані біосенсорні декстранові чіпи (CM5, BIAcore, Inc.) активують за допомогою N-метил-N'-(3-диметиламінопропіл)карбодіїмід гідрохлориду (ЕДК (EDC)) і N-гідроксисукциніміду (NHS) відповідно до інструкцій постачальника. Антиген розбавляють 10 мМ розчином натрій ацетату, pH 4,8, до 5 мкг/мл (~ 0,2 мкм) перед інжекцією при швидкості потоку 5 мкл/хв до досягнення близько 10 одиниць відгуку

(RU) зв'язаного білка. Після інжекції антигену вводять 1 М етаноламіну для блокування груп, що не прореагували. Для вимірювання кінетики здійснюють інжекції дворазових серійних розведень Fab (від 0,78 нМ до 500 нМ) в ФСБ (PBS) з 0,05 % поверхнево-активної речовини полісорбату 20 (Tween-20_Л) (ПБПА (PBST)) при 25 °С із швидкістю потоку близько 25 мкл/хв. Швидкість асоціації (k_{on}) і швидкість дисоціації (k_{off}) обчислюють із застосуванням простої моделі зв'язування Ленгмюра один до одного (програмне забезпечення BIACORE® Evaluation, версія 3.2) шляхом одночасної апроксимації сенсорних діаграм асоціації і дисоціації. Константу рівноважної дисоціації (K_d) обчислюють як співвідношення k_{off}/k_{on} . Див., наприклад, Chen et al., J. Mol. Biol. 293:865-881 (1999). Якщо швидкість асоціації перевищує $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ за даними методу поверхневого плазмонного резонансу, описаного вище, то швидкість асоціації може бути визначена із застосуванням методики гасіння флуоресценції, в якій вимірюють збільшення або зменшення інтенсивності флуоресцентного випромінювання (збудження = 295 нм, випромінювання = 340 нм, смуга пропускання 16 нм) при 25 °С для 20 нМ антитіла проти антигену (форма Fab) у ФСБ (PBS), pH 7,2, в присутності зростаючих концентрацій антигену, з вимірюванням на спектрометрі, такому як спектрофотометр із стоп-потоком (Aviv Instruments) або спектрофотометр SLM-AMINCO_Л серії 8000 (ThermoSpectronic) з перемішуваною кюветою.

2. Фрагменти антитіл

У деяких варіантах реалізації винаходу антитіло, представлене в цьому документі, є фрагментом антитіла. Фрагменти антитіла включають, але не обмежуючись цим, фрагменти Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, Fv і scFv та інші фрагменти, описані нижче. Огляд деяких фрагментів антитіл див. у Hudson et al. Nat. Med. 9:129-134 (2003). Для огляду фрагментів scFv див., наприклад, Pluckthün, у The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., (Springer-Verlag, New York), pp. 269-315 (1994); див. також WO 93/16185; і патенти США № 5571894 та 5587458. Обговорення фрагментів Fab і F(ab')₂, що містять залишки епітопів, які зв'язуються з рецептором реутилізації і володіють збільшеним періодом напіввиведення in vivo, див. у патенті США № 5869046.

Діатіла являють собою фрагменти антитіл із двома антигензв'язуючими сайтами, що можуть бути двохвалентними або біспецифічними. Див., наприклад, EP 404097; WO 1993/01161; Hudson et al. Nat. Med. 9:129-134 (2003); і Hollinger et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448 (1993). Крім того, триатіла і тетратіла описані у Hudson et al. Nat. Med. 9:129-134 (2003).

Однодоменні антитіла являють собою фрагменти антитіл, що містять весь або частину варіабельного домену важкого ланцюга або весь або частину варіабельного домену легкого ланцюга антитіла. У деяких варіантах реалізації винаходу однодоменне антитіло являє собою однодоменне антитіло людини (Domantis, Inc., Уолтхем, штат Массачусетс, див., наприклад, патент США № 6248516 В1).

Фрагменти антитіл можуть бути одержані різними способами, включаючи, але не обмежуючись цим, протеолітичне розщеплення інтактного антитіла, а також продукування рекомбінантними клітинами-хазяями (наприклад, E. coli або фаг), як описано в цьому документі.

3. Гібридні і гуманізовані антитіла

В деяких варіантах реалізації винаходу антитіло, представлене в цьому документі, являє собою гібридне антитіло. Деякі гібридні антитіла описані, наприклад, у патенті США № 4816567; і Morrison et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984)). В одному прикладі гібридне антитіло містить варіабельну ділянку, що не відноситься до людини (наприклад, варіабельна ділянка, одержана від миші, щури, хом'яка, кролика або приматів, що не відносяться до людини, таких як мавпа) і константну ділянку людини. В іншому прикладі гібридне антитіло являє собою "клас-свіч" антитіло, в якому клас або підклас був модифікований в порівнянні з класом вихідного антитіла. Гібридні антитіла включають антигензв'язуючі фрагменти.

В деяких варіантах реалізації винаходу гібридне антитіло являє собою гуманізоване антитіло. Як правило, антитіло, що не відноситься до людини, гуманізують для зниження імуногенності у людини, зберігаючи при цьому специфічність і афінність вихідного антитіла, що не відноситься до людини. Як правило, гуманізоване антитіло містить один або більшу кількість варіабельних доменів, у яких ГВД (HVR), наприклад ДБК (CDR) (або їх частини), одержують з антитіла, яке не відноситься до людини, а КД (або їх частини) одержують з послідовностей антитіл людини. Гуманізоване антитіло необов'язково буде додатково містити щонайменше частину константної ділянки людини. У деяких варіантах реалізації винаходу деякі залишки КД в гуманізованому антитілі заміщені відповідними залишками антитіла, що не відноситься до людини (наприклад, антитіло, з якого одержані залишки ГВД (HVR)), наприклад, для відновлення або покращення специфічності або афінності антитіла.

Гуманізовані антитіла і способи їх одержання розглядаються, наприклад, в Almagro and Fransson, Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008), і далі описані, наприклад, у Riechmann et al., Nature

332:323-329 (1988); Queen et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 86:10029-10033 (1989); патентах США №№ 5821337, 7527791, 6982321 и 7087409; Kashmiri et al., *Methods* 36:25-34 (2005) (описана пересадка ділянки, що визначає специфічність, ДБС (SDR)); Padlan, *Mol. Immunol.* 28:489-498 (1991) (описана "модифікація поверхні"); Dall'Acqua et al., *Methods* 36:43-60 (2005) (описана "перетасовка КД"); i Osbourn et al., *Methods* 36:61-68 (2005) i Klimka et al., *Br. J. Cancer*, 83:252-260 (2000) (описаний підхід "спрямованого відбору" до перетасування КД).

Каркасні ділянки людини, які можуть бути застосовані для гуманізації, включають, але не обмежуючись цим: каркасні ділянки, вибрані із застосуванням методу "найкращої відповідності" (див., наприклад, Sims et al. *J. Immunol.* 151:2296 (1993)); каркасні ділянки, одержані з консенсусної послідовності людських антитіл конкретної підгрупи варіабельних ділянок легкого або важкого ланцюга (див., наприклад, Carter et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285 (1992); i Presta et al. *J. Immunol.*, 151:2623 (1993)); зрілі (соматично мутовані) каркасні ділянки людини або каркасні ділянки зародкової лінії людини (див., наприклад, Almagro and Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008)); i каркасні ділянки, одержані в результаті скринінгу бібліотек КД (див., наприклад, Baca et al., *J. Biol. Chem.* 272:10678-10684 (1997) и Rosok et al., *J. Biol. Chem.* 271:22611-22618 (1996)).

4. Людські антитіла

В деяких варіантах реалізації винаходу антитіло, представлене в цьому документі, є людським антитілом. Людські антитіла можуть бути одержані із застосуванням різних методів, відомих в даній галузі техніки. Людські антитіла загалом описані у van Dijk and van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.* 5: 368-74 (2001) i Lonberg, *Curr. Opin. Immunol.* 20:450-459 (2008).

Людські антитіла можуть бути одержані шляхом введення імуногену трансгенній тварині, організм якої був модифікований для одержання інтактних людських антитіл або інтактних антитіл з варіабельними ділянками людини у відповідь на антигенний виклик. Такі тварини зазвичай несуть всі або частину локусів імуноглобуліну людини, які замінюють ендегенні локуси імуноглобуліну або які присутні позахромосомно або інтегровані випадковим чином до хромосом тварини. У таких трансгенних мишей ендегенні локуси імуноглобуліну зазвичай є інактивованими. Огляд методів одержання антитіл людини від трансгенних тварин див. у Lonberg, *Nat. Biotech.* 23:1117-1125 (2005). Див. також, наприклад, патенти США №№ 6075181 i 6150584, в яких описано технологію XENOMOUSE[™]; патент США № 5770429, в якому описано технологію HuMab[®]; патент США № 7041870, в якому описано технологію K-M MOUSE[®], i публікацію патентної заявки США № US 2007/0061900, в якій описано технологію VelociMouse[®]. Варіабельні ділянки людини з інтактних антитіл, що продукуються такими тваринами, можуть бути додатково модифіковані, наприклад, шляхом комбінування з іншою константною ділянкою людини.

Людські антитіла додатково можуть бути одержані за допомогою гібридомних методів. Описані клітинні лінії людської мієломи i мишачо-людської гетеромієломи для продукування людських моноклональних антитіл. (див., наприклад, Kozbor *J. Immunol.*, 133: 3001 (1984); Brodeur et al., *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987); i Boerner et al., *J. Immunol.*, 147: 86 (1991).) Людські антитіла, одержані за допомогою технології гібридоми В-клітин людини, також описані у Li et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103:3557-3562 (2006). Додаткові способи включають описані, наприклад, у патенті США № 7189826 (в якому описано одержання моноклональних антитіл людини IgM з клітинних ліній гібридами) i Ni, Xiandai Mianyixue, 26(4):265-268 (2006) (описані гібридами людини-людини). Крім того, технологія гібридоми людини (технологія Trioma) описана в роботах Vollmers and Brandlein, *Histology and Histopathology*, 20(3):927-937 (2005) i Vollmers and Brandlein, *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 27(3):185-91 (2005).

Людські антитіла також можуть бути одержані шляхом виділення послідовностей варіабельного домену клону Fv, вибраного з бібліотек фагового дисплея, одержаних від людини. Такі послідовності варіабельних доменів потім можуть бути об'єднані з бажаним константним доменом людини. Методи відбору людських антитіл з бібліотек антитіл описані нижче.

5. Одержані з бібліотеки антитіла

Антитіла за винаходом можуть бути виділені шляхом скринінгу комбінаторних бібліотек для антитіл з бажаної активністю або видами активності. Наприклад, в даній галузі техніки відомі різні способи створення бібліотек фагового дисплея i скринінгу таких бібліотек щодо антитіл, які володіють бажаними характеристиками зв'язування. Такі способи розглядаються, наприклад, у Hoogenboom et al. у *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001), i додатково описані, наприклад, у McCafferty et al., *Nature* 348:552-554; Clackson et al., *Nature* 352: 624-628 (1991); Marks et al., *J. Mol. Biol.* 222: 581-597 (1992); Marks

and Bradbury, *y Methods in Molecular Biology* 248:161-175 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003); Sidhu et al., *J. Mol. Biol.* 338(2): 299-310 (2004); Lee et al., *J. Mol. Biol.* 340(5): 1073-1093 (2004); Fellouse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101(34): 12467-12472 (2004); i Lee et al., *J. Immunol. Methods* 284(1-2): 119-132 (2004).

У деяких способах фагового дисплея репертуари генів VH та VL окремо клонують за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) і рекомбінують випадковим чином у фагових бібліотеках, для яких потім може бути проведений скринінг щодо антигензв'язуючого фага, як описано у Winter et al., *Ann. Rev. Immunol.*, 12: 433-455 (1994). Фаг зазвичай відображає фрагменти антитіл у вигляді одноланцюгових фрагментів Fv (scFv), або у вигляді фрагментів Fab. Бібліотеки з імунізованих джерел забезпечують високоафінні антитіла до імуногену без необхідності створення гібридом. Як альтернатива, наївний репертуар може бути клонований (наприклад, від людини), щоб забезпечити єдине джерело антитіл до широкого спектру неауто-, а також аутоантигенів без будь-якої імунізації, як описано Griffiths et al., *EMBO J.*, 12: 725-734 (1993). Нарешті, наївні бібліотеки додатково можуть бути синтезовані шляхом клонування неаранжованих сегментів V-гену із стовбурових клітин та із застосуванням праймерів ПЛР, що містять випадкову послідовність, для кодування високо варіабельних областей CDR3 і для здійснення перегруповування *in vitro*, як описано Hoogenboom and Winter, *J. Mol. Biol.*, 227: 381-388 (1992). Патентні публікації, що описують бібліотеки фагів антитіл людини, включають, наприклад: патент США № 5750373 і патентні публікації США №№ 2005/0079574, 2005/0119455, 2005/0266000, 2007/0117126, 2007/0160598, 2007/0237764, 2007/0292936 і 2009/0002360.

Антитіла або фрагменти антитіл, виділені з бібліотек людських антитіл, вважаються в даному контексті людськими антитілами або фрагментами людського антитіла.

6. Поліспецифічні антитіла

В будь-якому з вищевказаних аспектів анти-TIGIT антитіла (наприклад, 4.1D3 або його варіант, наприклад, 4.1D3.Q1E), представлені в цьому документі, можуть бути поліспецифічними антитілами, наприклад біспецифічними антитілами. Поліспецифічні антитіла можуть бути моноклональними антитілами, які володіють специфічністю зв'язування по відношенню до двох різних сайтів. У деяких варіантах реалізації винаходу біспецифічні антитіла можуть зв'язуватися з двома різними епітопами на TIGIT. У деяких варіантах реалізації винаходу одна зі специфічних характеристик зв'язування спрямована на TIGIT, а інша на будь-який інший антиген (наприклад, друга біологічна молекула, наприклад, антиген клітинної поверхні, наприклад, пухлинний антиген). Відповідно, біспецифічне анти-TIGIT антитіло може володіти специфічністю зв'язування по відношенню до TIGIT і другої біологічної молекули, такої як PD-1, PD-L1, PD-L2, OX40, PD-1, CTLA-4, LAG3, TIM3, BTLA, VISTA, B7H4 або CD96. Біспецифічні антитіла додатково можуть бути одержані як повнорозмірні антитіла або фрагменти антитіл.

В інших варіантах реалізації винаходу біспецифічні антитіла можуть зв'язуватися з двома різними епітопами TIGIT, OX40, PD-1, PD-L1, PD-L2. В деяких варіантах реалізації винаходу одна зі специфічних характеристик зв'язування спрямована на TIGIT, а інша на будь-який інший антиген (наприклад, друга біологічна молекула, така як OX40). В інших варіантах реалізації винаходу біспецифічне антитіло може володіти специфічністю зв'язування по відношенню до TIGIT і PD-L1; TIGIT і PD-L2; TIGIT і PD-1; TIGIT і CTLA-4; TIGIT і LAG3; TIGIT і TIM3; TIGIT і BTLA; TIGIT і VISTA; TIGIT і B7H4; або TIGIT і CD96, причому біспецифічне антитіло переважно являє собою антагоністичне антитіло проти TIGIT і антагоністичне антитіло проти його другий мішені. В інших варіантах реалізації винаходу біспецифічне антитіло може володіти специфічністю зв'язування по відношенню до TIGIT і CD226; TIGIT і CD28; TIGIT і CD27; TIGIT і CD137; TIGIT і HVEM; TIGIT і GITR; TIGIT і MICA; TIGIT і ICOS; TIGIT і ПК (NK) G2D; або TIGIT і 2B4, причому біспецифічне антитіло переважно являє собою антагоністичне антитіло проти TIGIT і його другої мішені. В інших варіантах реалізації винаходу біспецифічне антитіло може володіти специфічністю зв'язування по відношенню до TIGIT, яка не є антагоністичною за своєю природою (тобто біспецифічне антитіло не діє як антагоніст TIGIT).

Методи одержання поліспецифічних антитіл включають, але не обмежуючись цим, рекомбінантну коекспресію двох пар важкого ланцюга-легкого ланцюга імуноглобуліну, які володіють різною специфічністю (див. Milstein and Cuello, *Nature* 305: 537 (1983)), WO 93/08829, і Traunecker et al., *EMBO J.* 10: 3655 (1991)) та інжиніринг "виступ-у-западині" (див., наприклад, патент США № 5731168). Технологія "виступ-у-западині" для поліспецифічних антитіл може бути застосована для створення першого плеча, що містить виступ, і другого плеча, що містить западину, з якою може зв'язуватися виступ першого плеча. В одному варіанті реалізації винаходу виступ поліспецифічних антитіл за винаходом може являти собою анти-TIGIT плече. Як альтернатива, в одному варіанті реалізації винаходу виступ поліспецифічних антитіл за

винаходом може являти собою анти-TIGIT плече. Крім того, поліспецифічні антитіла можуть бути сконструйовані із застосуванням технології імуноглобулінового кросоверу (також відомого як обмін доменів Fab або формат CrossMab) (див., наприклад, WO2009/080253, Schaefer et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 108:11187-11192 (2011)). Поліспецифічні антитіла додатково можуть бути одержані за допомогою інжинірингу електростатичних керуючих ефектів для одержання Fc-гетеродимерних молекул антитіл (WO 2009/089004A1); поперечного зшивання двох або більшої кількості антитіл або фрагментів (див., наприклад, патент США № 4676980 і Brennan et al., Science, 229: 81 (1985)); із застосуванням лейцинових зіперів для одержання біспецифічних антитіл (див., наприклад, Kostelny et al., J. Immunol., 148(5):1547-1553 (1992)); із застосуванням технології "диатіла" для одержання біспецифічних фрагментів антитіл (див., наприклад, Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993)); та із застосуванням одноланцюгових димарів Fv (sFv) (див., наприклад, Gruber et al., J. Immunol., 152:5368 (1994)); і одержання триспецифічних антитіл, як описано, наприклад, у Tutt et al. J. Immunol. 147: 60 (1991).

Додатково, до цього винаходу включені інженерні антитіла з трьома або більшою кількістю функціональних сайтів зв'язування з антигеном, включаючи "восьминожі антитіла" (див., наприклад, US 2006 / 0025576A1).

Крім того, антитіла або фрагменти антитіл можуть містити "Fab подвійної дії" або "DAF", що містить сайт зв'язування з антигеном, який зв'язується із TIGIT, а також з іншим, відмінним антигеном (наприклад, друга біологічна молекула) (див., наприклад, US 2008/0069820).

7. Варіанти антитіл

У деяких варіантах реалізації винаходу пропонуються варіанти амінокислотної послідовності анти-TIGIT антитіл за винаходом. Як детально описано в цьому документі, анти-TIGIT антитіла можуть бути оптимізовані на базі бажаних структурних та функціональних властивостей. Наприклад, може бути бажаним покращити афінність зв'язування та/або інші біологічні властивості антитіла. Варіанти амінокислотної послідовності антитіла можуть бути одержані шляхом введення відповідних модифікацій до нуклеотидної послідовності, яка кодує антитіло, або шляхом синтезу пептидів. Такі модифікації включають, наприклад, делеції та/або вставки та/або заміни залишків у амінокислотних послідовностях антитіла. Будь-яка комбінація делеції, вставки та заміни може бути одержана для кінцевої конструкції, за умови, що кінцева конструкція володіє необхідними характеристиками, наприклад, зв'язування з антигеном.

І. Варіанти заміни, вставки та делеції

У деяких варіантах реалізації винаходу пропонуються варіанти антитіл, що містять одну або більшу кількість амінокислотних заміни. Сайти, що представляють інтерес для мутагенезу із заміною, включають ГВД (HVR) і КД. Консервативні заміни наведені у Табл. 1 під заголовком "Переважаючі заміни". Більш суттєві модифікації наведені в Табл. 1 під заголовком "Типові заміни" і додатково описані нижче стосовно класів бічного ланцюга амінокислот. Амінокислотні заміни можуть бути введені в антитіло, що представляє інтерес, а продукти піддані скринінгу щодо бажаної активності, наприклад, збереження/покращення зв'язування з антигеном, зниження імуногенності або покращення антитілозалежної цитотоксичності, АЗКЦ (ADCC) або комплементзалежної цитотоксичності, КЗЦ (CDC).

Таблиця 1

Типові і переважні заміни амінокислот

Вихідний залишок	Типові заміни	Переважаючі заміни
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp

Таблица 1

Типові і переважні заміни амінокислот

Вихідний залишок	Типові заміни	Переважні заміни
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; норлейцин	Leu
Leu (L)	норлейцин; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; норлейцин	Leu

Амінокислоти можуть бути згруповані у відповідності до загальних властивостей бічного ланцюга:

- (1) гідрофобні: норлейцин, Met, Ala, Val, Leu, Ile;
- (2) нейтральні гідрофільні: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;
- (3) кислі: Asp, Glu;
- (4) основні: His, Lys, Arg;
- (5) залишки, що впливають на орієнтацію ланцюгів: Gly, Pro;
- (6) ароматичні: Trp, Tyr, Phe.

Неконсервативні заміни тягнуть за собою обмін членів одного з цих класів на інший клас.

Один тип варіанту заміни включає заміну одного або більшої кількості залишків гіперваріабельних ділянок початкового антитіла (наприклад, гуманізоване або людське антитіло). Як правило, результуючий варіант (варіанти), вибраний для подальшого вивчення, буде містити модифікації (наприклад, покращення) певних біологічних властивостей (наприклад, підвищена афінність, знижена імуногенність) щодо початкового антитіла та/або буде істотною мірою зберігати певні біологічні властивості початкового антитіла. Типовим варіантом заміни є антитіло з дозрілою афінністю, яке може бути традиційно згенеровано, наприклад, із застосуванням методів дозрівання афінності на базі фагового дисплея, таких як описані в цьому документі. Якщо коротко, один або більшу кількість залишків ГВД (HVR) піддають мутації, а варіанти антитіл відображають на фагу і піддають скринінгу щодо конкретної біологічної активності (наприклад, афінність зв'язування).

Модифікації (наприклад, заміни) можуть бути здійснені у ГВД (HVR), наприклад, для покращення афінності до антитіла. Такі модифікації можуть бути здійснені в "гарячих точках" ГВД (HVR), тобто, в залишках, які кодується кодонами, що з високою частотою піддаються мутації під час процесу соматичного дозрівання (див., наприклад, Chowdhury, Methods Mol. Biol. 207:179-196 (2008)), та/або залишках, які контактують з антигеном, причому одержаний варіант VH або VL тестують щодо афінності зв'язування. Дозрівання афінності шляхом інжинірингу та повторної селекції із вторинних бібліотек було описано, наприклад, в Hoogenboom et al. в Methods in Molecular Biology 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001)). У деяких варіантах дозрівання афінності до варіабельних генів, вибраних для дозрівання, вносять генетичну різноманітність за допомогою будь-якого з численних способів (наприклад, ПЛР із

застосуванням полімерази, що помиляється, перетасування ланцюгів або олігонуклеотид-спрямованого мутагенезу). Потім створюють вторинну бібліотеку. Далі бібліотеку піддають скринінгу для ідентифікації будь-яких варіантів антитіл з бажаною афінністю. Інший спосіб внесення різноманітності включає орієнтовані на ГВД (HVR) підходи, в яких рандомізують декілька залишків ГВД (HVR) (наприклад, 4-6 залишків за один раз). Залишки ГВД (HVR), що беруть участь у зв'язуванні з антигеном, можуть бути специфічно ідентифіковані, наприклад, із застосуванням аланінскануючого мутагенезу або моделювання. Зокрема, мішенню часто виступають CDR-H3 і CDR-L3.

У деяких варіантах реалізації винаходу заміни, вставки або делеції можуть відбуватися в межах однієї або більшої кількості ГВД (HVR), до тих пір, поки такі зміни не зменшать істотною мірою здатність антитіла зв'язуватися з антигеном. Наприклад, у ГВД (HVR) можуть бути здійснені консервативні модифікації (наприклад, консервативні заміни, як вказано в цьому документі), що не зменшують суттєво афінності зв'язування. Такі модифікації можуть, наприклад, бути розташовані поза межами залишків ГВД (HVR), що вступають в контакт з антигеном. У деяких варіантах VH і VL, представлених вище, кожна ГВД (HVR) або є немодифікованою, або містить не більше однієї, двох або трьох заміни амінокислот.

Придатний спосіб ідентифікації залишків або ділянок антитіла, що можуть бути націлені на мутагенез, має назву "аланінскануючого мутагенезу", як описано у статті Cunningham and Wells (1989) Science, 244: 1081-1085. В цьому способі залишок або групу цільових залишків (наприклад, заряджені залишки, такі як arg, asp, his, lys і glu) ідентифікують та замінюють нейтрально або негативно зарядженою амінокислотою (наприклад, аланіном або поліаланіном), щоб визначити, чи зачепить це взаємодію антитіла з антигеном. Подальші заміни можуть бути введені в місцях амінокислот, що демонструють функціональну чутливість до початкових заміни. Як альтернатива або додатково, кристалічна структура комплексу антигену-антитіла для ідентифікації точок контакту між антитілом і антигеном. Такі залишки, що вступають в контакт, і сусідні залишки можуть служити мішенями або бути виключені як кандидати для заміни. Варіанти можуть бути піддані скринінгу, щоб визначити, чи володіють вони необхідними властивостями.

Вставки амінокислотної послідовності включають аміно- та/або карбокси-кінцеві злиття завдовжки від одного залишку до поліпептидів, що містять сто або більшу кількість залишків, а також вставки одного або більшої кількості амінокислотних залишків всередині послідовності. Приклади кінцевих вставок включають антитіло з N-кінцевим метіонільним залишком. Інші варіанти вставок молекули антитіла включають злиття з N- або C-кінцем антитіла ферменту (наприклад, для антитіло-опосередкованої терапії із застосуванням ферментів і проліків, АОТФП (ADEPT)) або поліпептиду, який збільшує період напіввиведення антитіла із сироватки.

II. Варіанти глікозилювання

В деяких варіантах реалізації винаходу анти-TIGIT антитіла за винаходом (наприклад, 4.1D3 або його варіант, 4.1D3.Q1E) можуть бути модифіковані для збільшення або зменшення ступеня глікозилювання антитіла. Додавання або видалення сайтів глікозилювання з анти-TIGIT антитіла за винаходом може бути з легкістю здійснене шляхом модифікації амінокислотної послідовності таким чином, що створюється або видаляється один або більша кількість сайтів глікозилювання.

Якщо антитіло містить ділянку Fc, то карбогідрат, приєднаний до нього, може бути модифікованим. Нативні антитіла, що продукуються клітинами ссавців, зазвичай містять розгалужений двохантений олігосахарид, що зазвичай приєднаний N-зв'язком до Asn297 домену CH2 ділянки Fc. Див., наприклад, Wright et al. TIBTECH 15:26-32 (1997). Олігосахарид може включати різні карбогідрати, наприклад, манозу, N-ацетилглюкозамін (GlcNAc), галактозу і сіалову кислоту, а також фукозу, приєднану до GlcNAc у "стеблі" двохантеної олігосахаридної структури. В деяких варіантах реалізації винаходу можуть бути здійснені модифікації олігосахариду в антитілі за винаходом з метою створення варіантів антитіл з деякими покращеними властивостями.

В одному варіанті реалізації винаходу пропонуються варіанти анти-TIGIT антитіла, що містять карбогідратну структуру, в якій відсутня фукоза, приєднана (прямо або непрямо) до ділянки Fc. Наприклад, кількість фукози в такому антитілі може становити від 1 % до 80 %, від 1 % до 65 %, від 5 % до 65 % або від 20 % до 40 %. Кількість фукози визначають шляхом обчислення середньої кількості фукози в цукровому ланцюзі при Asn297 по відношенню до суми всіх глікоструктур, приєднаних до Asn 297 (наприклад, комплексної, гібридної і високоманозної структури), за даними мас-спектрометрії з часопротітною іонізацією лазерною десорбцією із застосуванням матриці, ЧП-ІЛДЗМ (MALDI-TOF), як описано, наприклад, у WO 2008/077546. Asn297 відноситься до залишку аспарагіну, розташованого приблизно в положенні 297 на

ділянці Fc (нумерація ЄС залишків ділянки Fc); однак через незначні варіації послідовності антитіл Asn297 також може бути розташований на близько ± 3 амінокислоти в напрямку проти ходу транскрипції або по ходу транскрипції відносно положення 297, тобто, між положеннями 294 і 300. Такі варіанти фукозилювання можуть володіти покращеною функцією АЗКЦ (ADCC).

Див., наприклад, патентні публікації США №№ US 2003/0157108 (Presta, L.); US 2004/0093621 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd). Приклади публікацій, що відносяться до "дефукозилюваних" або "фукозодефіцитних" варіантів антитіла, включають: US 2003/0157108; WO 2000/61739; WO 2001/29246; US 2003/0115614; US 2002/0164328; US 2004/0093621; US 2004/0132140; US 2004/0110704; US 2004/0110282; US 2004/0109865; WO 2003/085119; WO 2003/084570; WO 2005/035586; WO 2005/035778; WO2005/053742; WO2002/031140; Okazaki et al. J. Mol. Biol. 336:1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004). Приклади клітинних ліній, здатних продукувати дефукозилювані антитіла, включають клітини Lec13 ЯКХ (CHO), з дефіцитом фукозилювання білка (Ripka et al. Arch. Biochem. Biophys. 249:533-545 (1986) патентна заявка США № US 2003/0157108 A1, Presta, L і WO 2004/056312 A1, Adams et al., особливо у Прикладі 11), клітинні лінії, що містять "нокаут", наприклад, гену альфа-1,6-фукозилтрансферази, FUT8, клітини ЯКХ (CHO) що містять "нокаут" (див., наприклад, Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004); Kanda, Y. et al., Biotechnol. Bioeng., 94(4):680-688 (2006); і WO2003/085107).

Варіанти анти-TIGIT антитіл додатково забезпечені двохантеними олігосахаридами, наприклад, у яких двохантений олігосахарид, приєднаний до ділянки Fc антитіла, ділиться GlcNAc навпіл. Таким варіантам антитіл може бути властивий знижений ступінь фукозилювання та/або покращена функція АЗКЦ (ADCC). Приклади таких варіантів антитіл описані, наприклад, у WO 2003/011878 (Jean-Mairet et al.); патент США № 6602684 (Umana et al.); і US 2005/0123546 (Umana et al.). Крім того, передбачені варіанти антитіл з щонайменше одним галактозним залишком в олігосахариді, приєднаному до ділянки Fc. Такі варіанти антитіл можуть володіти покращеною функцією КЗЦ (CDC). Такі варіанти антитіл описані, наприклад, у WO 1997/30087 (Patel et al.); WO 1998/58964 (Raju, S.); і WO 1999/22764 (Raju, S.).

III. Варіанти ділянки Fc

В деяких варіантах реалізації винаходу одна або більша кількість модифікацій амінокислот можуть бути введені на ділянці Fc анти-TIGIT антитіла за винаходом (наприклад, 4.1D3 або його варіанта, наприклад, 4.1D3.Q1E), з генерацією тим самим варіанта ділянки Fc (див., наприклад, US 2012/0251531). Варіант ділянки Fc може містити послідовність ділянки Fc людини (наприклад, ділянку Fc людини IgG1, IgG2, IgG3 або IgG4), що містить модифікацію амінокислоти (наприклад, заміну) в одному або декількох положеннях амінокислот.

В деяких варіантах реалізації винахід включає варіант анти-TIGIT антитіла, який володіє деякими, але не всіма ефекторними функціями, що робить його бажаним кандидатом для сфер застосування, в яких період напіввиведення антитіла *in vivo* є суттєвим, а деякі ефекторні функції (такі як комплемент і АЗКЦ (ADCC)) є непотрібними або шкідливими. Аналізи цитотоксичності *in vitro* та/або *in vivo* можна проводити для підтвердження зниження/виснаження активності КЗЦ (CDC) та/або АЗКЦ (ADCC). Наприклад, можуть бути проведені аналізи зв'язування з рецептором Fc (FcR), щоб гарантувати, що антитіло не зв'язується з FcγR (а отже, ймовірно, не володіє активністю АЗКЦ (ADCC)), але зберігає здатність до зв'язування з FcRn. Основними клітинами для опосередкування АЗКЦ (ADCC) є ПК (NK)-клітини, що експресують тільки FcγRIII, тоді як моноцити експресують FcγRI, FcγRII і FcγRIII. Експресія FcR на кровотворних клітинах коротко підсумована у Табл. 3 на стор. 464 Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457-492 (1991). Необмежуючі приклади аналізів *in vitro* для оцінки активності АЗКЦ (ADCC) молекули, що представляє інтерес, описані в патенті США № 5500362 (див., наприклад, Hellstrom, I. et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 83:7059-7063 (1986)) і Hellstrom, I et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 82:1499-1502 (1985); 5821337 (див. Bruggemann, M. et al., J. Exp. Med. 166:1351-1361 (1987)). Як альтернатива, можуть бути застосовані методи нерадіоактивного аналізу (див., наприклад, нерадіоактивний аналіз цитотоксичності АСТІ™ для протокової цитометрії (CellTechnology, Inc. Маунтін-В'ю, штат Каліфорнія, і нерадіоактивний аналіз цитотоксичності CytoTox 96® (Promega, Медисон, штат Вісконсин). Придатними ефекторними клітинами для таких аналізів є моноклеарні клітини периферичної крові (МКПК (PBMC)) і природні клітини-кілери (ПК (NK)). Як альтернатива або додатково, активність АЗКЦ (ADCC) молекули, що представляє інтерес, може бути оцінена *in vivo*, наприклад, на тваринній моделі, як, наприклад, розкрито в Clynes et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 95:652-656 (1998). Крім того, аналізи зв'язування з C1q можуть бути проведені для підтвердження того, що антитіло здатне зв'язуватися з C1q, а, отже, не володіє активністю КЗЦ (CDC). Див., наприклад, ІФА (ELISA) зв'язування з C1q і C3c у WO 2006/029879 і WO 2005/100402. Для оцінки активації

комплементу може бути проведений аналіз КЗЦ (CDC) (див., наприклад, Gazzano-Santoro et al. J. Immunol. Methods 202:163 (1996); Cragg, M.S. et al. Blood. 101:1045-1052 (2003); и Cragg, M.S. and M.J. Glennie Blood. 103:2738-2743 (2004)). Крім того, зв'язування з FcRn і визначення кліренсу/періоду напіввиведення *in vivo* можуть бути здійснені із застосуванням методів, відомих в даній галузі техніки (див., наприклад, Petkova, S.B. et al. Int'l. Immunol. 18(12):1759-1769 (2006)).

Антитіла зі зниженою ефекторною функцією включають антитіла з заміною одного або більшої кількості залишків на ділянці Fc 238, 265, 269, 270, 297, 327 і 329 (патенти США №№ 6737056 і 8219149). Такі мутанти Fc включають мутанти Fc із заміною в двох або більшій кількості положень амінокислот 265, 269, 270, 297 і 327, включаючи так званий мутант Fc "DANA" із заміною залишків 265 і 297 на аланін (патенти США №№ 7332581 і 8219149).

В деяких варіантах реалізації винаходу пролін в положенні 329 людської ділянки Fc дикого типу в антитілі заміщений гліцином або аргініном або амінокислотним залишком, досить великим для руйнування проліном сендвіча в межах поверхні рецептора Fc/Fc.γма, який утворюється між проліном 329 Fc і залишками триптофану Trp 87 і Trp 110 FcγRIII (Sondermann et al.: Nature 406, 267-273 (20 Jul. 2000)). У деяких варіантах реалізації винаходу антитіло містить щонайменше ще одну заміну амінокислоти. В одному варіанті реалізації винаходу додаткова заміна амінокислоти являє собою S228P, E233P, L234A, L235A, L235E, N297A, N297D або P331S, а ще в іншому варіанті реалізації винаходу щонайменше одна додаткова заміна амінокислоти являє собою L234A і L235A ділянки Fc IgG1 людини або S228P і L235E ділянки Fc IgG4 людини (див., наприклад, US 2012/0251531), і все ще в іншому варіанті реалізації винаходу щонайменше одна додаткова заміна амінокислоти являє собою L234A і L235A і P329G ділянки Fc IgG1 людини.

Описані деякі варіанти антитіл з покращеним або зниженим зв'язуванням з FcR. (Див., наприклад, патент США № 6737056, WO 2004/056312 і Shields et al., J. Biol. Chem. 9(2): 6591-6604 (2001)).

У деяких варіантах реалізації винаходу варіант антитіла містить ділянку Fc з однією або великою кількістю замін амінокислот, які покращують АЗКЦ (ADCC), наприклад, заміни в положеннях 298, 333 та/або 334 ділянки Fc (нумерація ЕС залишків).

В деяких варіантах реалізації винаходу на ділянці Fc здійснюють модифікації, які призводять до зміни (наприклад, покращення або зниження) зв'язування з C1q та/або комплементзалежної цитотоксичності (КЗЦ (CDC)), наприклад, як описано в патенті США № 6194551, WO 99/51642, і Idusogie et al. J. Immunol. 164: 4178-4184 (2000).

Антитіла зі збільшеним періодом напіввиведення і покращеним зв'язуванням з рецептором Fc новонароджених (FcRn), що є відповідальним за передачу материнських IgG плоду (Guyer et al., J. Immunol. 117:587 (1976) і Kim et al., J. Immunol. 24:249 (1994)), описані в US2005/0014934A1 (Hinton et al.). Такі антитіла містять ділянку Fc з однією або декількома замінами, що покращують зв'язування ділянки Fc із FcRn. Такі варіанти Fc містять заміни одного або декількох залишків на ділянці Fc: 238, 256, 265, 272, 286, 303, 305, 307, 311, 312, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 382, 413, 424 або 434, наприклад, заміну залишку 434 на ділянці Fc (патент США № 7371826).

Див. також Duncan & Winter, Nature 322:738-40 (1988); патент США № 5648260; патент США № 5624821; і WO 94/29351 щодо інших прикладів варіантів ділянки Fc.

В деяких аспектах анти-TIGIT антитіло (наприклад, 4.1D3 або його варіант, наприклад, 4.1D3.Q1E) містить ділянку Fc, що містить мутацію N297G.

В деяких варіантах реалізації винаходу анти-TIGIT антитіло (наприклад, 4.1D3 або його варіант, наприклад, 4.1D3.Q1E) містить один або більшу кількість константних доменів важкого ланцюга, причому один або більша кількість константних доменів важкого ланцюга вибрані з першого домену CH1 (CH1₁), першого домену CH2 (CH2₁), першого домену CH3 (CH3₁), другого домену CH1 (CH1₂), другого домену CH2 (CH2₂), і другого домену CH3 (CH3₂). В деяких випадках принаймні один з одного або більшої кількості константних доменів важкого ланцюга з'єднаний з іншим константним доменом важкого ланцюга. У деяких випадках кожен з доменів CH3₁ і CH3₂ містить виступ або порожнину, причому виступ або порожнина в домені CH3₁ розташована у порожнині або виступі, відповідно, в домені CH3₂. У деяких випадках домени CH3₁ і CH3₂ зустрічаються на межі поділу між виступом і порожниною. У деяких випадках кожен з доменів CH2₁ і CH2₂ містить виступ або порожнину, причому виступ або порожнина в домені CH2₁ розташована, відповідно, у порожнині або виступі в домені CH2₂. В інших випадках домени CH2₁ і CH2₂ зустрічаються на межі поділу між виступом і порожниною. У деяких випадках анти-TIGIT антитіло являє собою антитіло IgG1.

IV. Модифіковані цистеїном варіанти антитіл

В деяких варіантах реалізації винаходу може бути бажаним створення модифікованих цистеїном антитіл, наприклад "тіоMAb", в яких один або більша кількість залишків антитіла заміщені залишками цистеїну. В конкретних варіантах реалізації винаходу заміщені залишки знаходяться у доступних ділянках антитіла. При заміні цих залишків цистеїном, реакційноздатні

5 тіольні групи, таким чином, розміщуються в доступних сайтах антитіла і можуть бути використані для кон'югації антитіла з іншими фрагментами, такими як фрагменти лікарського засобу або фрагменти лінкера-лікарського засобу, для створення імунокон'югату, як описано в цьому документі нижче. В деяких варіантах реалізації винаходу будь-який один або більша

10 кількість з наступних залишків можуть бути заміщені цистеїном: V205 (нумерація за Кабатом) легкого ланцюга; A118 (нумерація ЄС) важкого ланцюга; і S400 (нумерація ЄС) ділянки Fc важкого ланцюга. Модифіковані цистеїном антитіла можуть бути одержані, як описано, наприклад, у патенті США 7521541.

V. Похідні антитіл

В деяких варіантах реалізації винаходу анти-TIGIT антитіло за винаходом (наприклад, 4.1D3 або його варіант, наприклад, 4.1D3.Q1E), запропоноване в даному винаході, може бути

15 додатково модифіковане з метою введення додаткових небілкових фрагментів, які відомі в даній галузі техніки і є легко доступними. Групи, які підходять для дериватизації антитіла, включають, але не обмежуючись цим, водорозчинні полімери. Необмежуючі приклади водорозчинних полімерів включають, але не обмежуючись цим, поліетиленгліколь (ПЕГ),

20 кополімери етиленгліколю/пропіленгліколю, карбоксиметилцелюлозу, декстран, полівініловий спирт, полівінілпіролідон, полі-1,3-діоксолан, полі-1,3,6-триоксан, кополімер етилену і малеїнового ангідриду, поліамінокислоти (гомополімери або статистичні кополімери) і декстрану або полі(н-вінілпіролідон)поліетиленгліколь, гомополімери пропропіленгліколю, кополімери проліпропіленоксиду/етиленоксиду, поліоксietiльовані поліоли (наприклад, гліцерол),

25 полівініловий спирт та їх суміші. Поліетиленгліколь пропіональдегід може мати переваги у виробництві завдяки його стабільності в воді. Полімер може мати будь-яку молекулярну масу і може бути розгалуженим або нерозгалуженим. Кількість полімерів, приєднаних до антитіла, може варіювати, і якщо до нього прикріплено більше одного полімеру, вони можуть являти собою однакові або різні молекули. Загалом, кількість та/або вид полімерів, що застосовуються

30 для дериватизації, можуть бути визначені на базі міркувань, що включають (але не обмежуючись цим) конкретні властивості або функції покращеного антитіла, незалежно від того, чи буде похідне антитіла застосовуватися при терапії певних станів, і т. п.

В іншому варіанті реалізації винаходу пропонуються кон'югати антитіла і небілкового фрагмента, які можуть вибірково нагріватися під впливом випромінювання. В одному варіанті

35 реалізації винаходу небілкова частина являє собою карбонову нанотрубку (Kam et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102: 11600-11605 (2005)). Випромінювання може мати будь-яку довжину хвилі і включає, але не обмежуючись цим, довжини хвиль, які не шкодять звичайним клітинам, але які нагрівають небілковий залишок до температури, при якій гинуть клітини, розташовані проксимально відносно небілкової частини антитіла.

IV. Рекомбінантні способи і композиції

Анти-TIGIT антитіла за винаходом (наприклад, 4.1D3 або його варіант, наприклад, 4.1D3.Q1E) можуть бути одержані із застосуванням рекомбінантних способів і композицій, наприклад, як описано в патенті США № 4816567, який включений до цього документу шляхом посилання в повному обсязі. В одному варіанті реалізації винаходу пропонується виділена

45 нуклеїнова кислота, що кодує анти-TIGIT антитіло, описане в цьому документі. Така нуклеїнова кислота може кодувати амінокислотну послідовність, яка містить VL, та/або амінокислотну послідовність, яка містить VH антитіла (наприклад, легкі та/або важкі ланцюги антитіла). В наступному варіанті реалізації винаходу пропонується один або більша кількість векторів (наприклад, векторів експресії), що містять таку нуклеїнову кислоту. В наступному варіанті

50 реалізації винаходу пропонується клітина-хазяїн, що містить таку нуклеїнову кислоту. В одному з таких варіантів реалізації винаходу клітина-хазяїн містить (наприклад, була трансформована): (1) вектор, який містить нуклеїнову кислоту, що кодує амінокислотну послідовність, яка містить VL антитіла, і амінокислотну послідовність, яка містить VH антитіла, або (2) перший вектор, який

55 містить нуклеїнову кислоту, що кодує амінокислотну послідовність, яка містить VL антитіла, і другий вектор, який містить нуклеїнову кислоту, що кодує амінокислотну послідовність, яка містить VH антитіла. В одному варіанті реалізації винаходу клітина-хазяїн є еукаріотичною, наприклад клітиною яєчника китайського хом'яка (ЯКХ (CHO)) або лімфоїдною клітиною (наприклад, Y0, NS0, клітиною Sp20). В одному варіанті реалізації винаходу пропонується

60 спосіб одержання анти-TIGIT антитіла, причому спосіб включає культивування клітини-хазяїна, яка містить нуклеїнову кислоту, що кодує антитіло, як вказано вище, в умовах, що підходять для

експресії антитіла, і, необов'язково, виділення антитіла з клітини-хазяїна (або середовища культивування клітин-хазяїв).

Для рекомбінантного продукування анти-TIGIT антитіла нуклеїнову кислоту, що кодує антитіло, наприклад, як описано вище, виділяють і вставляють в один або більшу кількість векторів для подальшого клонування та/або експресії в клітині-хазяїні. Така нуклеїнова кислота може бути легко виділена і секвенована із застосуванням звичайних методів (наприклад, із застосуванням олігонуклеотидних зондів, які здатні специфічно зв'язуватися з генами, що кодують важкий і легкий ланцюги антитіла).

Придатні клітини-хазяї для клонування або експресії векторів, які кодують антитіло, включають прокаріотичні або еукаріотичні клітини, описані в цьому документі. Наприклад, антитіла можуть бути одержані в бактеріях, зокрема, якщо глікозилювання та ефекторна функція Fc непотрібні. Щодо експресії фрагментів антитіл і поліпептидів в бактеріях див., наприклад, патенти США №№ 5648237, 5789199 та 5840523. (Див. також Charlton, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003), pp. 245-254, де описано експресію фрагментів антитіл в *E. coli*). Після експресії, антитіло може бути виділено з пасти бактеріальних клітин в розчинній фракції і може бути додатково очищено.

На додаток до прокаріотів, еукаріотичні мікроби, такі як нитчасті гриби або дріжджі, є придатними хазяями клонування або експресії для векторів, що кодують антитіла, включаючи гриби і дріжджові штами, шляхи глікозилювання яких були "гуманізовані", що приводить до продукування антитіла з частково або повністю людським характером глікозилювання. Див. Gerngross, *Nat. Biotech.* 22:1409-1414 (2004), і Li et al., *Nat. Biotech.* 24:210-215 (2006).

Додатково, придатні клітини-хазяї для експресії глікозилюваного антитіла одержують з багатоклітинних організмів (безхребетних і хребетних). Приклади клітин безхребетних включають клітини рослин і комах. Були ідентифіковані численні бакуловірусні штами, які можна застосовувати в поєднанні з клітинами комах, особливо для трансфекції клітин *Spodoptera frugiperda*.

Крім того, культури рослинних клітин можуть бути застосовані як хазяї. Див., наприклад, патенти США №№ 5959177, 6040498, 6420548, 7125978 та 6417429 (описують технологію PLANTIBODIES[®] для одержання антитіл в трансгенних рослинах).

Клітини хребетних також можна застосовувати як хазяї. Наприклад, придатними можуть бути клітинні лінії ссавців, адаптовані для росту в суспензії. Іншими прикладами придатних клітинних ліній ссавців є лінія CV1 нирки мавпи, трансформована SV40 (COS-7); (293 або клітини 293, як описано, наприклад, у Graham et al., *J. Gen Virol.* 36:59 (1977)); клітини нирки дитинчати хом'яка (НДХ (ВНК)); клітини Сертолі миші (клітини TM4, як описано, наприклад, у Mather, *Biol. Reprod.* 23:243-251 (1980)); клітини нирки мавпи (CV1); клітини нирки африканської зеленої мавпи (VERO-76); клітини карциноми шийки матки людини (HELA); клітини нирки собаки (MDCK), клітини печінки щура лінії Buffalo (BRL 3A), клітини легені людини (W138), клітини печінки людини (Hep G2), пухлина молочної залози миші (MMT 060562), клітини TRI, як описано, наприклад, у Mather et al., *Annals N.Y. Acad. Sci.* 383:44-68 (1982); клітини MRC 5, а також клітини FS4. Інші придатні лінії клітин-хазяїв ссавців включають клітини яєчника китайського хом'яка (ЯКХ (CHO)), в тому числі дигідрофолатредуктаза-негативні, ДГФР⁻ (DHFR⁻) клітини ЯКХ (CHO) (Urlaub et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216 (1980)) і клітинні лінії мієломи, такі як Y0, NS0 і Sp2/0. Огляд деяких ліній клітин-хазяїв ссавців, придатних для продукування антитіл, див., наприклад, в Yazaki and Wu, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), pp. 255-268 (2003).

V. Імунокон'югати

Винахід додатково відноситься до імунокон'югатів, які містять анти-TIGIT антитіло за винаходом (наприклад, 4.1D3 або його варіант, наприклад, 4.1D3.Q1E), кон'юговане з одним або більшою кількістю цитотоксичних агентів, таких як хіміотерапевтичні агенти або лікарські засоби, інгібітори росту, токсини (наприклад, білкові токсини, що володіють ферментативною активністю токсини бактеріального, грибового, рослинного або тваринного походження або їх фрагменти) або радіоактивні ізотопи.

В одному варіанті реалізації винаходу імунокон'югат є кон'югатом антитіла-лікарського засобу (КАЛС (ADC)), в якому антитіло кон'юговане з одним або більшою кількістю лікарських засобів, включаючи, але не обмежуючись цим, майтансиноїд (див. патенти США №№ 5208020, 5416064 і європейський патент EP 0425235 B1); ауристин, такий як фрагменти лікарського засобу монометилауристатину DE і DF (MMAE і MMAF) (див. патенти США №№ 5635483 і 5780588 та 7498298); доластатин; каліхеаміцин або його похідне (див. патенти США №№ 5712374, 5714586, 5739116, 5767285, 5770701, 5770710, 5773001 і 5877296; Hinman et al., *Cancer Res.* 53:3336-3342 (1993); і Lode et al., *Cancer Res.* 58:2925-2928 (1998)); антрациклін,

такий як дауноміцин або доксорубіцин (див. Kratz et al., *Current Med. Chem.* 13:477-523 (2006); Jeffrey et al., *Bioorganic & Med. Chem. Letters* 16:358-362 (2006); Torgov et al., *Bioconj. Chem.* 16:717-721 (2005); Nagy et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:829-834 (2000); Dubowchik et al., *Bioorg. & Med. Chem. Letters* 12:1529-1532 (2002); King et al., *J. Med. Chem.* 45:4336-4343 (2002) і патент США № 6630579); метотрексат; віндезин; таксан, такий як доцетаксел, паклітаксел, ларотаксел, тезетаксел і ортатаксел; трихотецени; і CC1065.

В іншому варіанті реалізації винаходу імунокон'югат містить анти-TIGIT антитіло, як описано в цьому документі (наприклад, 4.1D3 або його варіант, наприклад, 4.1D3.Q1E), кон'югований з токсином або його фрагментом, що володіє ферментативною активністю, включаючи, але не обмежуючись цим, ланцюг А дифтерії, незв'язуючі активні фрагменти дифтерійного токсину, ланцюг А екзотоксину (з *Pseudomonas aeruginosa*), ланцюг А рицину, ланцюг А абрину, ланцюг А модесину, альфа-сарцин, білки *Aleurites fordii*, діантинові білки, білки *Phytolaca americana* (PAPI, PAPII і PAP-S), інгібітор *Momordica charantia*, курцин, кротин, інгібітор *Sapanaria officinalis*, гелонін, мітогелін, рестриктоцин, феноміцин, еноміцин і трихотецени.

В іншому варіанті реалізації винаходу імунокон'югат містить анти-TIGIT антитіло, як описано в цьому документі (наприклад, 4.1D3 або його варіант, наприклад, 4.1D3.Q1E), кон'югований з радіоактивним атомом з утворенням радіокон'югату. Численні радіоактивні ізотопи доступні для одержання радіокон'югатів. Приклади включають At^{211} , I^{131} , I^{125} , Y^{90} , Re^{186} , Re^{188} , Sm^{153} , Bi^{212} , P^{32} , Pb^{212} і радіоактивні ізотопи Lu. Якщо для виявлення застосовується радіокон'югат, він може містити радіоактивний атом для сцинтиграфічних досліджень, наприклад, ^{99m}Tc або ^{112}In , або спін-мітку для візуалізації методом ядерного магнітного резонансу (ЯМР) (також відомий як магнітно-резонансна томографія, МРТ), таку як знову йод-123, йод-131, індій-111, флуор-19, карбон-13, нітроген-15, кисень-17, гадоліній, марганець або залізо.

Кон'югати антитіла і цитотоксичного агента можуть бути одержані із застосуванням численних біфункціональних агентів, що зв'язуються з білком, таких як N-сукцинімідил-3-(2-піридилдітіо)пропіонат (СПДП (SPDP)), сукцинімідил-4-(N-малеїнімідометил)циклогексан-1-карбоксилат (СМЦК (SMCC)), імінотіолан (ІТ (IT)), біфункціональні похідні імідоестерів (таких як диметиладипімідат HCl), активні естери (такі як дисукцинімідилсуберат), альдегіди (такі як глутаровий альдегід), біс-азидосполуки (такі як біс(п-азидобензоїл)гександіамін), похідні біс-діазонію (такі як біс(п-діазонійбензоїл)-етилендіамін), діізоціанат (такий як толуен-2,6-діізоціанат) і біс-активні сполуки флуору (такі як 1,5-дифлуор-2,4-динітробензен). Наприклад, імунотоксин рицини може бути одержаний, як описано у Vitetta et al., *Science* 238:1098 (1987). Мічена карбоном-14 1-ізотіоціанатобензил-3-метилдіетилентриамінпентаоцтова кислота (МТ-ДТПО (MX-DTPA)) є типовим хелатуючим агентом для кон'югації радіонуклеотиду з антитілом. Див. WO 94/11026. Лінкер може бути "розщеплюваним лінкером", який полегшує вивільнення цитотоксичного лікарського засобу в клітині. Наприклад, можна застосовувати кислотолабільний лінкер, чутливий до пептидази лінкер, фотолабільний лінкер, диметиловий лінкер або дисульфідовмісний лінкер (Chari et al., *Cancer Res.* 52:127-131 (1992), патент США № 5208020).

Імунокон'югати або КАЛС (ADC) в цьому документі явно включають, але не обмежуючись цим, такі кон'югати, одержані за допомогою поперечно-зшиючих реагентів, включаючи, але не обмежуючись цим, (N-[β -малеїнімідопропілокси]сукцинімідний естер), БМПС (BMPS), (N-(ϵ -малеїнімідокапроїлокси)-сукцинімідний естер), ІМКС (EMCS), 4-малеїнімідомасляної кислоти N-гідроксисукцинімідний естер, ММГС (GMBS), 1,6-гексан-біс-вінілсульфон, ГБВС (HBVS), сукцинімідил-4-(N-малеїнімідометил)циклогексан-1-карбокси-(6-амідокапроат), АК-СМЦК (LC-SMCC), 3-малеїнімідобензойної кислоти N-гідроксисукцинімідний естер, МБС (MBS), 4-(4-N-малеїнімідифеніл)масляної кислоти гідрозид гідрохлорид + 1/2 діоксану, МФМГ (MPBH), сукцинімідил-3-(бромацетамідо)пропіонат, СБАП (SBAP), NS-сукцинімідилйодацетат, СІА (SIA), N-сукцинімідил-(4-йодацетил)амінобензоат, СІАБ (SIAB), N-сукцинімідил-4-(N-малеїнімідометил)циклогексан-1-карбоксилат, СМЦК (SMCC), сукцинімідил-4-(N-малеїнімідифеніл)бутират, СМФБ (SMPB), сукцинімідил-6-((β -малеїнімідопропіонамідо)гексаноат, СМПГ (SMPH), сульфо-ІМКС (EMCS), сульфо-ММГС (GMBS), N-(κ -малеїнімідоундеканоїлокси)сульфосукцинімідний естер, сульфо-КМУС (KMUS), сульфо-МБС (MBS), сульфо-СІАБ (SIAB), сульфо-СМЦК (SMCC) і сульфо-СМФБ (SMPB) і СВСБ (SVSB) (сукцинімідил-(4-вінілсульфон)бензоат), які є комерційно доступними (наприклад, від Pierce Biotechnology, Inc., Рокфорд, штат Іллінойс, США).

VI. Способи та композиції для діагностики і виявлення

В деяких варіантах реалізації винаходу будь-яке з анти-TIGIT антитіл за винаходом (наприклад, 4.1D3 або його варіант, наприклад, 4.1D3.Q1E) є придатним для виявлення присутності TIGIT в біологічному зразку. Використовуваний в цьому документі термін

"виявлення" включає кількісне або якісне виявлення. У деяких варіантах реалізації винаходу біологічний зразок містить клітину або тканину.

В одному варіанті реалізації винаходу пропонується анти-TIGIT антитіло для застосування в способі діагностики або виявлення. У ще одному аспекті представлений спосіб виявлення присутності TIGIT в біологічному зразку. В деяких варіантах реалізації винаходу спосіб включає приведення біологічного зразка в контакт з анти-TIGIT антитілом, як описано в цьому документі, в умовах, що дозволяють зв'язування анти-TIGIT антитіла з TIGIT, і визначення того, чи утворюється комплекс між анти-TIGIT антитілом і TIGIT. Такий спосіб може бути способом *in vitro* або *in vivo*.

У деяких варіантах реалізації винаходу пропонуються мічені анти-TIGIT антитіла. Мітки включають, але не обмежуючись цим, мітки або фрагменти, які виявляються безпосередньо (наприклад, флуоресцентні, хромофорні, електронно-щільні, хемілюмінесцентні і радіоактивні мітки), а також такі фрагменти, як ферменти або ліганди, які виявляються непрямо, наприклад, за допомогою ферментативної реакції або молекулярної взаємодії. Типові мітки включають, але не обмежуючись цим, радіоізотопи ^{32}P , ^{14}C , ^{125}I , ^3H і ^{131}I , флуорофори, такі як рідкоземельні хелати або флуоресцеїн і його похідні, родамін і його похідні, дансил, умбеліферон, люциферази, наприклад, люцифераза світлячків і люцифераза бактерій (патент США № 4737456), люциферин, 2,3-дигідрофталазиндіони, пероксидазу хрону (ПХ (HRP)), лужну фосфатазу, β -галактозидазу, глюкоамілазу, лізоцим, сахаридоксидази, наприклад, глюкозооксидази, галактозооксидази і глюкозо-6-фосфатдегідрогеназу, гетероциклічні оксидази, такі як уриказа і ксантинооксидаза, в поєднанні з ферментом, який використовує гідроген пероксид для окиснення прекурсор барвника, таким як ПХ (HRP), лактопероксидаза або мікропероксидаза, біотин/авідин, спін-мітки, мітки бактеріофага, стабільні вільні радикали і т. п.

VII. Фармацевтичні композиції

Фармацевтичні композиції анти-TIGIT антитіла за винаходом (наприклад, 4.1D3 або його варіанта, наприклад, 4.1D3.Q1E) одержують змішуванням такого антитіла, що володіє бажаним ступенем чистоти, з одним або більшою кількістю необов'язкових фармацевтично прийнятних носіїв (Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)), у вигляді ліофілізованих композицій або водних розчинів. Фармацевтично прийнятні носії, як правило, є нетоксичними для реципієнтів у застосовуваних дозах і концентраціях та включають, але не обмежуючись цим: буферні речовини, такі як фосфат, цитрат та інші органічні кислоти; антиоксиданти, включаючи аскорбінову кислоту та метіонін; консерванти (такі як октадецилдиметилбензиламоній хлорид, гексаметоній хлорид, бензалконій хлорид, бензетоній хлорид, фенол, бутиловий або бензиловий спирт, алкілпарабени, такі як метил- або пропілпарабен, катехол, резорцин, циклогексанол, 3-пентанол і м-крезол); низькомолекулярні (менше 10 залишків) поліпептиди; білки, такі як сироватковий альбумін, желатин або імуноглобуліни; гідрофільні полімери, такі як полівінілпіролідон; амінокислоти, такі як гліцин, глутамін, аспарагін, гістидин, аргінін або лізин; моносахариди, дисахариди та інші карбогідрати, включаючи глюкозу, манозу або декстрини; хелатуючі агенти, такі як ЕДТК; цукри, такі як сахароза, маніт, трегалоза або сорбіт; солеутворюючі протиіони, такі як натрій; комплекси металів (наприклад, Zn-білкові комплекси); та/або неіонні поверхнево-активні речовини, такі як поліетиленгліколь (ПЕГ). Типові фармацевтично прийнятні носії в даному винаході додатково включають дисперсійні агенти для лікарських засобів, що вводяться інстерстиціально, такі як розчинні нейтрально-активні гіалуронідазні глікопротеїни (pHAGGP (sHASEGP)), наприклад, розчинні PH-20 гіалуронідазні глікопротеїни людини, такі як rHuPH20 (HYLENEX®, Baxter International, Inc.). Деякі типові pHAGGP (sHASEGP) і способи їх застосування, включаючи rHuPH20, описані в патентних публікаціях США №№ 2005/0260186 і 2006/0104968. В одному аспекті pHAGGP (sHASEGP) об'єднують з одним або більшою кількістю додаткових глікозаміногліканів, таких як хондроїтинази.

В деяких випадках фармацевтична композиція, що містить анти-TIGIT антитіло, представлене в цьому документі, може додатково містити антагоніст зв'язування осі PD-1, такий як антагоніст зв'язування PD-1 антагоніст зв'язування PD-L1 і антагоніст зв'язування PD-L2.

В деяких випадках фармацевтична композиція, що містить анти-TIGIT антитіло, представлене в цьому документі, може додатково включати агоніст зв'язування OX40, такий як агоністичне антитіло до OX40, фрагмент агоніста OX40L, олігомерний рецептор OX40 та імуноадгезин OX40.

В деяких випадках фармацевтична композиція, що містить анти-TIGIT антитіло, представлене в цьому документі, може додатково містити додатковий терапевтичний агент, такий як хіміотерапевтичний агент або агент, який зменшує або пригнічує один або більшу

кількість додаткових імунних коінгібуючих рецепторів (наприклад, PD-1, CTLA-4, LAG3, TIM3, BTLA, VISTA, B7H4 та/або CD96).

В інших варіантах реалізації винаходу фармацевтична композиція, що містить анти-TIGIT антитіло, може додатково містити (а) антагоніст зв'язування осі PD-1 і агоніст зв'язування OX40; (b) антагоніст зв'язування PD-1 і додатковий терапевтичний агент (наприклад, хіміотерапевтичний агент); (c) антагоніст зв'язування PD-1 і агент, який зменшує або пригнічує один або більшу кількість додаткових імунних коінгібуючих рецепторів (наприклад, PD-1, CTLA-4, LAG3, TIM3, BTLA, VISTA, B7H4 та/або CD96); (d) агоніст зв'язування OX40 і додатковий терапевтичний агент (наприклад, хіміотерапевтичний агент); (e) агоніст зв'язування OX40 і агент, який зменшує або пригнічує один або більшу кількість додаткових імунних коінгібуючих рецепторів (наприклад, PD-1, CTLA-4, LAG3, TIM3, BTLA, VISTA, B7H4 та/або CD96); (f) додатковий терапевтичний агент (наприклад, хіміотерапевтичний агент) і агент, який зменшує або пригнічує один або більшу кількість додаткових імунних коінгібуючих рецепторів (наприклад, PD-1, CTLA-4, LAG3, TIM3, BTLA, VISTA, B7H4, та/або CD96); або (g) антагоніст зв'язування осі PD-1, антагоніст зв'язування OX40 і агент, який зменшує або пригнічує один або більшу кількість додаткових імунних коінгібуючих рецепторів (наприклад, PD-1, CTLA-4, LAG3, TIM3, BTLA, VISTA, B7H4 та/або CD96). Необов'язково, фармацевтична композиція буде містити один або більшу кількість фармацевтично прийнятних носіїв, допоміжних речовин або розбавлювач.

Типові ліофілізовані композиції антитіл описані в патенті США № 6267958. Водні композиції антитіл включають композиції, описані в патенті США № 6171586 і WO 2006/044908, причому останні композиції містять гістидин-ацетатний буфер.

При необхідності, композиція в цьому документі може додатково містити більше одного активного інгредієнта для конкретного показання, яке підлягає лікуванню, переважно такі, які володіють додатковими видами активності, що не здійснюють несприятливого впливу один на одного. Наприклад, може бути бажаним додатково запропонувати додатковий терапевтичний агент (наприклад, хіміотерапевтичний агент, цитотоксичний агент, агент, що пригнічує ріст, та/або антигормональний агент, такий як наведені вище). Такі активні інгредієнти придатним чином присутні в комбінації в кількостях, які є ефективними для досягнення поставленої мети.

Активні інгредієнти можуть бути захоплені в мікрокапсули, одержані, наприклад, методами коацервації або міжфазної полімеризації, наприклад, гідроксиметилцелюлозні або желатинові мікрокапсули і полі(метилметакрилатні) мікрокапсули, відповідно, в колоїдних системах доставки лікарських засобів (наприклад, ліпосоми, мікросфери альбуміну, мікроемульсії, наночастинки і нанокапсули) або в макроемульсії. Такі методи розкриті у Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980).

Можна виготовити препарати з уповільненим вивільненням. Відповідні приклади препаратів з уповільненим вивільненням включають напівпроникні матриці з твердих гідрофобних полімерів, що містять антитіло, причому матриці знаходяться у формі формованих виробів, наприклад, плівок або мікрокапсул.

Композиції, які повинні застосовуватися для введення *in vivo*, зазвичай є стерильними. Стерильність може бути з легкістю досягнута, наприклад, шляхом фільтрування крізь мембрани для стерильної фільтрації.

VIII. Терапевтичні способи

Будь-яке анти-TIGIT антитіло за винаходом (наприклад, 4.1D3 або його варіант, наприклад, 4.1D3.Q1E) можна застосовувати в терапевтичних способах.

В одному аспекті пропонується анти-TIGIT антитіло для застосування як лікарський засіб. В інших аспектах пропонується анти-TIGIT антитіло, описане в цьому документі (наприклад, 4.1D3 або його варіант, наприклад, 4.1D3.Q1E) для застосування при лікуванні або уповільненні прогресування пов'язаного з імунною системою захворювання у суб'єкта. У деяких варіантах реалізації винаходу пропонується анти-TIGIT антитіло для застосування в способі лікування суб'єкта, який має пов'язане з імунною системою захворювання, що пов'язане з дисфункціональним розладом Т-клітин. В інших варіантах пов'язане з імунною системою захворювання являє собою вірусну інфекцію. У деяких варіантах реалізації винаходу вірусна інфекція є хронічною вірусною інфекцією. У деяких варіантах реалізації винаходу дисфункціональний розлад Т-клітин характеризується зниженням чутливості до антигенної стимуляції. У деяких варіантах реалізації винаходу дисфункціональний розлад Т-клітин характеризується анегією Т-клітин або зниженою здатністю до секреції цитокінів, проліферації або здійснення цитолітичної активності. У деяких варіантах реалізації винаходу дисфункціональний розлад Т-клітин характеризується виснаженням Т-клітин. У деяких варіантах реалізації винаходу Т-клітини являють собою CD4⁺ і CD8⁺ Т-клітини. У деяких

варіантах реалізації винаходу дисфункціональний розлад Т-клітин включає неусунену гостру інфекцію, хронічну інфекцію і пухлинний імунітет.

В іншому аспекті пропонується анти-TIGIT антитіло, описане в цьому документі (наприклад, 4.1D3 або його варіант, наприклад, 4.1D3.Q1E) для лікування або сповільнення прогресування раку у суб'єкта. У деяких варіантах реалізації винаходу рак вибраний з групи, що включає недрібноклітинний рак легені, дрібноклітинний рак легені, рак нирки, колоректальний рак, рак яєчника, рак молочної залози, рак підшлункової залози, шлункову карциному, рак сечового міхура, рак стравоходу, мезотеліому, меланому, рак голови та шиї, рак щитоподібної залози, саркому, рак передміхурової залози, гліобластому, рак шийки матки, карциному тимусу, лейкоз, лімфому, мієлому (наприклад, множинну мієлому (MM)), грибоподібні мікози, рак клітин Меркель і злоякісні новоутворення кровотворної системи. Таким чином, можна лікувати різні види раку, або їх прогресування може бути відсунуто в часі. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума може бути присутній рак молочної залози (наприклад, потрійний негативний рак молочної залози). В інших варіантах реалізації винаходу у індивідуума може бути присутній рак підшлункової залози (наприклад, аденокарцинома підшлункової залози (АКПЖ (PDAC))). У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутній недрібноклітинний рак легені. Недрібноклітинний рак легені може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутній дрібноклітинний рак легені. Дрібноклітинний рак легені може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутній рак нирки. Рак нирки може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутній колоректальний рак. Колоректальний рак може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутній рак яєчника. Рак яєчника може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутній рак молочної залози. Рак молочної залози може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутній рак підшлункової залози. Рак підшлункової залози може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутня карцинома шлунку. Карцинома шлунку може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутній рак сечового міхура. Рак сечового міхура може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутній рак стравоходу. Рак стравоходу може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутня мезотеліома. Мезотеліома може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутня меланома. Меланома може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутній рак голови та шиї. Рак голови та шиї може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутній рак щитоподібної залози. Рак щитоподібної залози може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутня саркома. Саркома може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутній рак передміхурової залози. Рак передміхурової залози може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутня гліобластома. Гліобластома може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутній рак шийки матки. Рак шийки матки може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутня карцинома тимусу. Карцинома тимусу може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутній лейкоз. Лейкоз може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутні лімфоми. Лімфома може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутня мієлома (наприклад, MM). Мієлома (наприклад, MM) може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутні грибоподібні мікози. Грибоподібні мікози можуть бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутній рак клітин Меркель. Рак клітин Меркель може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутні злоякісні новоутворення кровотворної системи. Злоякісні новоутворення кровотворної системи можуть бути ранньої стадії або пізньої стадії.

В іншому аспекті представлено анти-TIGIT антитіло, описане в цьому документі (наприклад, 4.1D3 або його варіант, наприклад, 4.1D3.Q1E) для застосування при підвищенні, підсиленні або стимулюванні імунної відповіді або функції у суб'єкта, що потребує цього. У деяких варіантах реалізації винаходу імунна відповідь або функція підвищується, підсилюється та/або стимулюється активуючими ефекторними клітинами (наприклад, Т-клітини, наприклад, CD8+

та/або CD4+ Т-клітини), розширенням (збільшення) популяції ефекторних клітин та/або знищенням клітин-мішеней (наприклад, пухлинних клітин-мішеней) у суб'єкта. У деяких варіантах реалізації винаходу CD4 та/або CD8 Т-клітинам у індивідуума властиве збільшене або підсилене праймування, активація, проліферація, вивільнення цитокінів та/або цитолітична активність в порівнянні з рівнем, що передуює введенню комбінації. У деяких варіантах реалізації винаходу кількість CD4 та/або CD8 Т-клітин підвищується відносно рівня до введення комбінації. У деяких варіантах кількість активованих CD4 та/або CD8 Т-клітин підвищується відносно рівня до введення комбінації. У деяких варіантах реалізації винаходу активовані CD4 та/або CD8 Т-клітини характеризуються продукуючими γ -IFN+CD4 та/або CD8 Т-клітинами та/або підвищеною цитолітичною активністю відносно рівня до введення комбінації. У деяких варіантах реалізації винаходу CD4 та/або CD8 Т-клітини демонструють підвищене вивільнення цитокінів, вибраних з групи, що складається із IFN- γ , TNF- α та інтерлейкінів. У деяких варіантах реалізації способів за даним винаходом CD4 та/або CD8 Т-клітина являє собою ефекторну Т-клітину пам'яті. У деяких варіантах реалізації винаходу CD4 та/або CD8 ефекторна Т-клітина пам'яті характеризується продукуючими γ -IFN+CD4 та/або CD8-Т-клітинами та/або підсиленою цитолітичною активністю. У деяких варіантах реалізації винаходу CD4 та/або CD8 ефекторна Т-клітина пам'яті характеризується експресією CD44^{high} CD62L^{low}. У деяких варіантах реалізації винаходу раку властиві підвищені рівні інфільтрації Т-клітинами.

В будь-якому з вищевказаних аспектів анти-TIGIT антитіло може бути застосоване в комбінації з іншим антагоністом TIGIT, антагоністом зв'язування осі PD-1, агоністом зв'язування OX40, агентом, який зменшує або пригнічує один або більшу кількість додаткових імунних коінгібуючих рецепторів, та/або додатковим терапевтичним агентом, таким як хіміотерапевтичний агент, як детально описано в цьому документі.

В іншому аспекті винаходу пропонується застосування описаного в цьому документі анти-TIGIT антитіла (наприклад, 4.1D3 або його варіанта, наприклад, 4.1D3.Q1E) у виробництві або приготуванні лікарського засобу. В одному варіанті реалізації винаходу лікарський засіб призначений для лікування або сповільнення прогресування раку. В іншому варіанті реалізації винаходу лікарський засіб призначений для лікування або сповільнення прогресування недрібноклітинного раку легені, дрібноклітинного раку легені, раку нирки, колоректального раку, раку яєчника, раку молочної залози, раку підшлункової залози, карциноми шлунка, раку сечового міхура, раку стравоходу, мезотеліоми, меланоми, раку голови та шиї, раку щитоподібної залози, саркоми, раку передміхурової залози, гліобластоми, раку шийки матки, раку тимусу, лейкозу, лімфоми, міеломи, грибоподібних мікозів, раку клітин Меркель і злоякісних утворень кровотворної системи. Таким чином, можна лікувати різні види раку, або їх прогресування може бути відсунуто в часі. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума може бути присутній рак молочної залози (наприклад, потрійний негативний рак молочної залози). В інших варіантах реалізації винаходу у індивідуума може бути присутній рак підшлункової залози (наприклад, аденокарцинома підшлункової залози, АКПЖ (PDAC)). У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутній недрібноклітинний рак легені. Недрібноклітинний рак легені може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутній дрібноклітинний рак легені. Дрібноклітинний рак легені може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутній рак нирки. Рак нирки може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутній колоректальний рак. Колоректальний рак може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутній рак яєчника. Рак яєчника може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутній рак молочної залози. Рак молочної залози може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутній рак підшлункової залози. Рак підшлункової залози може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутня карцинома шлунку. Карцинома шлунка може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутній рак сечового міхура. Рак сечового міхура може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутній рак стравоходу. Рак стравоходу може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутня мезотеліома. Мезотеліома може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутня меланома. Меланома може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутній рак голови та шиї. Рак голови та шиї може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутній рак щитоподібної залози. Рак щитоподібної залози може бути ранньої

стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутня саркома. Саркома може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутній рак передміхурової залози. Рак передміхурової залози може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутня гліобластома. Гліобластома може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутній рак шийки матки. Рак шийки матки може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутня карцинома тимусу. Карцинома тимусу може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутній лейкоз. Лейкоз може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутні лімфоми. Лімфома може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутня міелома (наприклад, MM). Міелома (наприклад, MM) може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутні грибоподібні мікози. Грибоподібні мікози можуть бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутній рак клітин Меркель. Рак клітин Меркель може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутні злоякісні новоутворення кровотворної системи. Злоякісні новоутворення кровотворної системи можуть бути ранньої стадії або пізньої стадії.

В іншому аспекті винахід передбачає застосування описаного в цьому документі анти-TIGIT антитіла (наприклад, 4.1D3 або його варіанта, наприклад, 4.1D3.Q1E), у виробництві лікарського засобу для лікування або сповільнення прогресування пов'язаного з імунною системою захворювання. У деяких варіантах реалізації винаходу пов'язане з імунною системою захворювання пов'язане з дисфункціональним розладом Т-клітин. У деяких варіантах реалізації винаходу пов'язане з імунною системою захворювання являє собою вірусну інфекцію. У деяких варіантах реалізації винаходу вірусна інфекція є хронічною вірусною інфекцією. У деяких варіантах реалізації винаходу дисфункціональний розлад Т-клітин характеризується зниженням чутливості до антигенної стимуляції. У деяких варіантах реалізації винаходу дисфункціональний розлад Т-клітин характеризується анергією Т-клітин або зниженою здатністю секретувати цитокіни, проліферувати або здійснювати цитолітичну активність. У деяких варіантах реалізації винаходу дисфункціональний розлад Т-клітин характеризується виснаженням Т-клітин. У деяких варіантах реалізації винаходу Т-клітини є CD4⁺ і CD8⁺ Т-клітини. У деяких варіантах реалізації винаходу дисфункціональний розлад Т-клітин включає неусунену гостру інфекцію, хронічну інфекцію і пухлинний імунітет.

В іншому аспекті, описаному в цьому документі, пропонується анти-TIGIT антитіло (наприклад, 4.1D3 або його варіант, наприклад, 4.1D3.Q1E) у виробництві лікарського засобу для застосування при підвищенні, підсиленні або стимуляції імунної відповіді або функції у суб'єкта, що потребує цього. У деяких варіантах реалізації винаходу імунну відповідь або функцію підвищують, підсилюють та/або стимулюють шляхом активації ефекторних клітин (наприклад, Т-клітин, наприклад CD8⁺ та/або CD4⁺ Т-клітин), розширення (збільшення) популяції ефекторних клітин та/або знищення клітин-мішеней (наприклад, пухлинних клітин-мішеней) у суб'єкта. У деяких варіантах реалізації винаходу CD4 та/або CD8 Т-клітинам індивідуума властиве збільшене або підсилене праймування, активація, проліферація, вивільнення цитокінів та/або цитолітична активність в порівнянні з рівнем до введення комбінації. У деяких варіантах реалізації винаходу кількість CD4 та/або CD8 Т-клітин збільшується відносно рівня до введення комбінації. У деяких варіантах кількість активованих CD4 та/або CD8 Т-клітин збільшується відносно рівня до введення комбінації. У деяких варіантах реалізації винаходу активовані CD4 та/або CD8 Т-клітини характеризуються продукуючими γ -IFN⁺CD4 та/або CD8 Т-клітинами та/або підвищеною цитолітичною активністю відносно рівня до введення комбінації. У деяких варіантах реалізації винаходу CD4 та/або CD8 Т-клітини демонструють підвищене виділення цитокінів, вибраних з групи, що складається із IFN- γ , TNF- α та інтерлейкінів. У деяких варіантах реалізації способів за даним винаходом CD4 та/або CD8 Т-клітина являє собою ефекторну Т-клітину пам'яті. У деяких варіантах реалізації винаходу CD4 та/або CD8 ефекторна Т-клітина пам'яті характеризується продукуючими γ -IFN⁺CD4 та/або CD8 Т-клітинами та/або підсиленою цитолітичною активністю. У деяких варіантах реалізації винаходу CD4 та/або CD8 ефекторна Т-клітина пам'яті характеризується експресією CD44^{high} CD62L^{low}. У деяких варіантах реалізації винаходу раку властиві підвищені рівні інфільтрації Т-клітинами.

В будь-якому з вищевказаних аспектів анти-TIGIT антитіло може бути застосоване в комбінації з іншим антагоністом TIGIT, антагоністом зв'язування осі PD-1, агоністом зв'язування OX40, агентом, який зменшує або пригнічує один або більшу кількість додаткових імунних

коінгібуючих рецепторів, та/або додатковим терапевтичним агентом, таким як хіміотерапевтичний агент, як детально описано в цьому документі.

В іншому аспекті винахід відноситься до способу лікування або сповільнення прогресування раку у суб'єкта, причому спосіб включає введення суб'єкту ефективної кількості анти-TIGIT антитіла, описаного в цьому документі (наприклад, 4.1D3 або його варіанта, наприклад, 4.1D3.Q1E), з лікуванням або сповільненням в такий спосіб прогресування раку у суб'єкта. У деяких варіантах реалізації винаходу рак вибраний з групи, що включає недрібноклітинний рак легені, дрібноклітинний рак легені, рак нирки, колоректальний рак, рак яєчника, рак молочної залози, рак підшлункової залози, шлункову карциному, рак сечового міхура, рак стравоходу, мезотеліому, меланому, рак голови та шиї, рак щитоподібної залози, саркому, рак передміхурової залози, гліобластому, рак шийки матки, карциному тимусу, лейкоз, лімфому, мієлому (наприклад, множинну мієлому (MM)), грибоподібні мікози, рак клітин Меркель і злоякісні новоутворення кровотворної системи. Таким чином, можна лікувати різні види раку, або їх прогресування може бути відсунуто в часі. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума може бути присутній рак молочної залози (наприклад, потрійний негативний рак молочної залози). В інших варіантах реалізації винаходу у індивідуума може бути присутній рак підшлункової залози (наприклад, аденокарцинома підшлункової залози (АКПЖ (PDAC))). У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутній недрібноклітинний рак легені. Ндрібноклітинний рак легені може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутній дрібноклітинний рак легені. Дрібноклітинний рак легені може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутній рак нирки. Рак нирки може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутній колоректальний рак. Колоректальний рак може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутній рак яєчника. Рак яєчника може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутній рак молочної залози. Рак молочної залози може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутній рак підшлункової залози. Рак підшлункової залози може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутня карцинома шлунку. Карцинома шлунку може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутній рак сечового міхура. Рак сечового міхура може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутній рак стравоходу. Рак стравоходу може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутня мезотеліома. Мезотеліома може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутня меланома. Меланома може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутній рак голови та шиї. Рак голови та шиї може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутній рак щитоподібної залози. Рак щитоподібної залози може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутня саркома. Саркома може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутній рак передміхурової залози. Рак передміхурової залози може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутня гліобластома. Гліобластома може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутній рак шийки матки. Рак шийки матки може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутня карцинома тимусу. Карцинома тимусу може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутній лейкоз. Лейкоз може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутні лімфоми. Лімфома може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутня мієлома (наприклад, MM). Мієлома (наприклад, MM) може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутні грибоподібні мікози. Грибоподібні мікози можуть бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутній рак клітин Меркель. Рак клітин Меркель може бути ранньої стадії або пізньої стадії. У деяких варіантах реалізації винаходу у індивідуума присутні злоякісні новоутворення кровотворної системи. Злоякісні новоутворення кровотворної системи можуть бути ранньої стадії або пізньої стадії.

В іншому аспекті винаходу пропонується спосіб лікування або сповільнення прогресування пов'язаного з імунною системою захворювання у суб'єкта, причому спосіб включає введення суб'єкту ефективної кількості анти-TIGIT антитіла, описаного в цьому документі (наприклад,

4.1D3 або його варіант, наприклад, 4.1D3.Q1E), з лікуванням або сповільненням в такий спосіб прогресування пов'язаного з імунною системою захворювання у суб'єкта. У деяких варіантах реалізації винаходу пов'язане з імунною системою захворювання пов'язане з дисфункціональним розладом Т-клітин. У деяких варіантах реалізації винаходу пов'язане з імунною системою захворювання являє собою вірусну інфекцію. У деяких варіантах реалізації винаходу вірусна інфекція є хронічною вірусною інфекцією. У деяких варіантах реалізації винаходу дисфункціональний розлад Т-клітин характеризується зниженням чутливості до антигенної стимуляції. У деяких варіантах реалізації винаходу дисфункціональний розлад Т-клітин характеризується анергією Т-клітин або зниженою здатністю секретувати цитокіни, проліферувати або здійснювати цитолітичну активність. У деяких варіантах реалізації винаходу дисфункціональний розлад Т-клітин характеризується виснаженням Т-клітин. У деяких варіантах реалізації винаходу Т-клітини є CD4⁺ і CD8⁺ Т-клітинами. У деяких варіантах реалізації винаходу дисфункціональний розлад Т-клітин включає неусунену гостру інфекцію, хронічну інфекцію і пухлинний імунітет.

В іншому аспекті винаходу пропонується спосіб підвищення, підсилення або стимуляції імунної відповіді або функції у суб'єкта, що включає введення суб'єкту ефективної кількості анти-TIGIT антитіла, описаного в цьому документі (наприклад, 4.1D3 або його варіанта, наприклад, 4.1D3.Q1E), тим самим підвищуючи, підсилюючи або стимулюючи імунну відповідь або функцію у суб'єкта. У деяких варіантах реалізації винаходу імунну відповідь або функцію підвищують, підсилюють та/або стимулюють шляхом активації ефекторних клітин (наприклад, Т-клітин, наприклад CD8⁺ та/або CD4⁺ Т-клітин), розширення (збільшення) популяції ефекторних клітин та/або знищення клітин-мішеней (наприклад, пухлинних клітин-мішеней) у суб'єкта. У деяких варіантах реалізації способів за даним винаходом CD4 та/або CD8 Т-клітинам індивідуума властиво збільшене або підсилене праймування, активація, проліферація, вивільнення цитокінів та/або цитолітична активність в порівнянні з рівнем до введення комбінації. У деяких варіантах реалізації способів за даним винаходом кількість CD4 та/або CD8 Т-клітин збільшується в порівнянні з рівнем до введення комбінації. У деяких варіантах реалізації способів за даним винаходом кількість активованих CD4 та/або CD8 Т-клітин збільшується відносно рівня до введення комбінації. У деяких варіантах реалізації способів за даним винаходом активовані CD4 та/або CD8 Т-клітини характеризуються продукуючими γ -IFN+CD4 та/або CD8 Т-клітинами та/або підвищеною цитолітичною активністю в порівнянні з рівнем до введення комбінації. У деяких варіантах реалізації способів за даним винаходом CD4 та/або CD8 Т-клітини демонструють підвищене виділення цитокінів, вибраних з групи, що складається із IFN- γ , TNF- α та інтерлейкінів. У деяких варіантах реалізації способів за даним винаходом CD4 та/або CD8 Т-клітина являє собою ефекторну Т-клітину пам'яті. У деяких варіантах реалізації способів за даним винаходом CD4 та/або CD8 ефекторна Т-клітина пам'яті характеризується продукуючими γ -IFN+CD4 та/або CD8 Т-клітинами та/або підсиленою цитолітичною активністю. У деяких варіантах реалізації способів за даним винаходом CD4 та/або CD8 ефекторна Т-клітина пам'яті характеризується експресією CD44^{high} CD62L^{low}. У деяких варіантах реалізації винаходу раку властиві підвищені рівні інфільтрації Т-клітинами.

В будь-якому з вищевказаних аспектів анти-TIGIT антитіло може бути введене в комбінації з іншим антагоністом TIGIT, антагоністом зв'язування PD-1, агоністом зв'язування OX40, агентом, який зменшує або пригнічує один або більшу кількість додаткових імунних коінгібуючих рецепторів та/або додатковим терапевтичним агентом, таким як хіміотерапевтичний агент, як детально описано в даному документі.

В деяких варіантах реалізації винаходу інший (другий) антагоніст TIGIT може бути антагоністом експресії та/або активності TIGIT, таким як низькомолекулярний інгібітор, інгібіторне антитіло або його антигензв'язуючий фрагмент, аптамери, інгібіторна нуклеїнова кислота та інгібіторний поліпептид. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст TIGIT являє собою інше анти-TIGIT антитіло або його антигензв'язуючий фрагмент (наприклад, зв'язується з іншим епітопом на TIGIT, який не перекривається або частково перекривається з епітопом, що розпізнається застосовуванням анти-TIGIT антитілом за винаходом). У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст TIGIT являє собою інгібіторну нуклеїнову кислоту, вибрану з антисмислового полінуклеотиду, інтерферуючої РНК, каталітичної РНК і гібриди РНК-ДНК.

В деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст TIGIT може бути агентом, який модулює експресію та/або активність CD226. Наприклад, агент, який модулює експресію та/або активність CD226, що здатний збільшувати та/або стимулювати експресію та/або активність CD226; збільшувати та/або стимулювати взаємодію CD226 з PBP (PVR), PVRL2 та/або PVRL3; і збільшувати та/або стимулювати внутрішньоклітинне проведення сигналу, опосередковане

зв'язуванням CD226 з ПБР (PVR), PVRL2 та/або PVRL3. Як використовується в цьому документі, агент, що здатний збільшувати та/або стимулювати експресію та/або активність CD226, включає, але не обмежуючись цим, агенти, які збільшують та/або стимулюють експресію та/або активність CD226. Як використовується в цьому документі, агент, що здатний збільшувати та/або стимулювати взаємодію CD226 з ПБР (PVR), PVRL2 та/або PVRL3, включає, але не обмежуючись цим, агенти, які збільшують та/або стимулюють взаємодію CD226 з ПБР (PVR), PVRL2 та/або PVRL3. Як використовується в цьому документі, агент, що здатний збільшувати та/або стимулювати внутрішньоклітинне проведення сигналу, опосередковане зв'язуванням CD226 з ПБР (PVR), PVRL2 та/або PVRL3, включає, але не обмежуючись цим, агенти, які збільшують та/або стимулюють внутрішньоклітинне проведення сигналу, опосередковане зв'язуванням CD226 з ПБР (PVR), PVRL2 та/або PVRL3.

В деяких варіантах реалізації винаходу агент, який модулює експресію та/або активність CD226, вибраний з агента, який інгібує та/або блокує взаємодію CD226 з TIGIT, антагоніста експресії та/або активності ПБР (PVR), агента, який інгібує та/або блокує взаємодію TIGIT з ПБР (PVR), агента, який інгібує та/або блокує взаємодію TIGIT з PVRL2, агента, який інгібує та/або блокує взаємодію TIGIT з PVRL3, агента, який інгібує та/або блокує внутрішньоклітинне проведення сигналу, опосередковане зв'язуванням TIGIT з ПБР (PVR), агента, який інгібує та/або блокує внутрішньоклітинне проведення сигналу, опосередковане зв'язуванням TIGIT з PVRL2, агента, який інгібує та/або блокує внутрішньоклітинне проведення сигналу, опосередковане зв'язуванням TIGIT з PVRL3, та їх комбінацій.

В деяких варіантах реалізації винаходу агент, який інгібує та/або блокує взаємодію CD226 з TIGIT, являє собою низькомолекулярний інгібітор, інгібіторне антитіло або його антигензв'язуючий фрагмент, аптамери, інгібіторну нуклеїнову кислоту та інгібіторний поліпептид. У деяких варіантах реалізації винаходу агент, який інгібує та/або блокує взаємодію CD226 з TIGIT, являє собою анти-TIGIT антитіло або його антигензв'язуючий фрагмент (наприклад, зв'язується з іншим епітопом на TIGIT, що не перекривається або тільки частково перекривається з епітопом, який розпізнається застосовуванням анти-TIGIT антитілом за винаходом). У деяких варіантах реалізації винаходу агент, який інгібує та/або блокує взаємодію CD226 з TIGIT, являє собою інгібіторну нуклеїнову кислоту, вибрану з антисмислового полінуклеотиду, інтерферуєної РНК, каталітичної РНК і гібриди РНК-ДНК.

В деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст експресії та/або активності ПБР (PVR) являє собою низькомолекулярний інгібітор, інгібіторне антитіло або його антигензв'язуючий фрагмент, аптамери, інгібіторну нуклеїнову кислоту та інгібіторний поліпептид. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст експресії та/або активності ПБР (PVR) вибраний з низькомолекулярного інгібітору, інгібіторного антитіла або його антигензв'язуючого фрагмента, аптамеру, інгібіторної нуклеїнової кислоти та інгібіторного поліпептиду.

В деяких варіантах реалізації винаходу агент, який інгібує та/або блокує взаємодію TIGIT з ПБР (PVR), являє собою низькомолекулярний інгібітор, інгібіторне антитіло або його антигензв'язуючий фрагмент, аптамер, інгібіторну нуклеїнову кислоту та інгібіторний поліпептид. У деяких варіантах реалізації винаходу агент, який інгібує та/або блокує взаємодію TIGIT з ПБР (PVR), вибраний з низькомолекулярного інгібітору, інгібіторного антитіла або його антигензв'язуючого фрагмента, аптамеру, інгібіторної нуклеїнової кислоти та інгібіторного поліпептиду. У деяких варіантах реалізації винаходу агент, який інгібує та/або блокує взаємодію TIGIT з PVRL2, вибраний з низькомолекулярного інгібітору, інгібіторного антитіла або його антигензв'язуючого фрагмента, аптамеру, інгібіторної нуклеїнової кислоти та інгібіторного поліпептиду. У деяких варіантах реалізації винаходу агент, який інгібує та/або блокує взаємодію TIGIT з PVRL3, вибраний з низькомолекулярного інгібітору, інгібіторного антитіла або його антигензв'язуючого фрагмента, аптамеру, інгібіторної нуклеїнової кислоти та інгібіторного поліпептиду.

В деяких варіантах реалізації винаходу агент, який інгібує та/або блокує внутрішньоклітинне проведення сигналу, опосередковане зв'язуванням TIGIT з ПБР (PVR), являє собою низькомолекулярний інгібітор, інгібіторне антитіло або його антигензв'язуючий фрагмент, аптамер, інгібіторну нуклеїнову кислоту та інгібіторний поліпептид. У деяких варіантах реалізації винаходу агент, який інгібує та/або блокує внутрішньоклітинне проведення сигналу, опосередковане зв'язуванням TIGIT з ПБР (PVR), вибраний з низькомолекулярного інгібітору, інгібіторного антитіла або його антигензв'язуючого фрагмента, аптамеру, інгібіторної нуклеїнової кислоти та інгібіторного поліпептиду. У деяких варіантах реалізації винаходу агент, який інгібує та/або блокує внутрішньоклітинне проведення сигналу, опосередковане зв'язуванням TIGIT з PVRL2, вибраний з низькомолекулярного інгібітору, інгібіторного антитіла або його антигензв'язуючого фрагмента, аптамеру, інгібіторної нуклеїнової кислоти та

інгібіторного поліпептиду. У деяких варіантах реалізації винаходу агент, який інгібує та/або блокує внутрішньоклітинне проведення сигналу, опосередковане зв'язуванням TIGIT з PVRL3, вибраний з низькомолекулярного інгібітору, інгібіторного антитіла або його антигензв'язуючого фрагмента, аптамеру, інгібіторної нуклеїнової кислоти та інгібіторного поліпептиду.

5 Інші антагоністи TIGIT, які можуть бути застосовані в комбінації з антитілами анти-TIGIT за винаходом, включають анти-TIGIT антитіла і композиції, що містять такі антитіла, описані у WO 2009/126688, яка включена до цього документу шляхом в повному обсязі.

В деяких випадках запропоновані в цьому документі способи включають введення ефективною кількістю антагоніста зв'язування осі PD-1 до, після або одночасно з анти-TIGIT антитілом за винаходом (і, необов'язково, одним або декількома додатковими агентами, такими як другий, інший антагоніст TIGIT, агоніст зв'язування OX40, хіміотерапевтичний агент і т.д.). Антагоніст зв'язування осі PD-1 може бути вибраний з групи, що складається із антагоніста зв'язування PD-1, антагоніста зв'язування PD-L1 і антагоніста зв'язування PD-L2.

15 У деяких варіантах реалізації вищевказаного аспекту винаходу антагоніст зв'язування PD-1 є антагоністом PD-1. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст зв'язування PD-1 інгібує зв'язування PD-1 з його партнерами-лігандами по зв'язуванню. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст зв'язування PD-1 інгібує зв'язування PD-1 з PD-L1. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст зв'язування PD-1 інгібує зв'язування PD-1 з PD-L2. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст зв'язування PD-1 інгібує зв'язування PD-1 з PD-L1 і PD-L2. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст зв'язування PD-1 являє собою антитіло. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст зв'язування PD-1 вибраний з групи, що складається із MDX1106 (ніволумаб), MK-3475 (пембролізумаб), CT-011 (підилізумаб), MEDI-0680 (AMP-514), PDR001, REGN2810 і BGB-108.

20 В інших варіантах реалізації вищевказаного аспекту винаходу антагоніст зв'язування осі PD-1 є антагоністом зв'язування PD-L1. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст зв'язування PD-L1 інгібує зв'язування PD-L1 з PD-1. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст зв'язування PD-L1 інгібує зв'язування PD-L1-B7-1. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст зв'язування PD-L1 інгібує зв'язування PD-L1 як з PD-1, так і з B7-1. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст зв'язування PD-L1 являє собою антитіло. У деяких варіантах реалізації винаходу антитіло вибрано з групи, що складається із: MPDL3280A (атезолізумаб), YW243.55.S70, MDX-1105, MEDI4736 (дурвалумаб) і MSB0010718C (авелумаб).

В інших варіантах реалізації вищевказаного аспекту винаходу антагоніст зв'язування PD-1 є антагоністом зв'язування PD-L2. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст зв'язування PD-L2 являє собою антитіло. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст зв'язування PD-L2 є імунoadгезином.

35 Як загальне припущення, терапевтично ефективна кількість антагоніста зв'язування осі PD-1 (наприклад, антитіла проти PD-L1) може бути введена людині в діапазоні від близько 0,01 до близько 50 мг/кг маси тіла пацієнта в один або більшу кількість прийомів. У деяких варіантах реалізації винаходу, наприклад, антагоніст (наприклад, анти-PD-L1 антитіло) вводять в дозі від близько 0,01 до близько 45 мг/кг, від близько 0,01 до близько 40 мг/кг, від близько 0,01 до близько 35 мг/кг, від близько 0,01 до близько 30 мг/кг, від близько 0,01 до близько 25 мг/кг, від близько 0,01 до близько 20 мг/кг, від близько 0,01 до близько 15 мг/кг, від близько 0,01 до близько 10 мг/кг, від близько 0,01 до близько 5 мг/кг або близько від 0,01 до близько 1 мг/кг, наприклад, щоденно. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст (наприклад, анти-PD-L1 антитіло) вводять у концентрації 15 мг/кг. Однак придатними можуть бути і інші схеми введення. В одному варіанті реалізації винаходу антагоніст зв'язування осі PD-1 (наприклад, антитіло проти PD-L1), вводять людині в дозі близько 100 мг, близько 200 мг, близько 300 мг, близько 400 мг, близько 500 мг, близько 600 мг, близько 700 мг, близько 800 мг, близько 900 мг, близько 1000 мг, близько 1100 мг, близько 1200 мг, близько 1300 мг, близько 1400 мг або близько 1500 мг. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст зв'язування осі PD-1 (наприклад, антитіло проти PD-L1), вводять в дозі від близько 800 до близько 850 мг кожні два тижні. У деяких варіантах реалізації винаходу антагоніст зв'язування PD-1 (наприклад, антитіло проти PD-L1) вводять в дозі близько 840 мг кожні два тижні. Дозу можна вводити за один або більшу кількість прийомів (наприклад, 2 або 3 дози), наприклад, у вигляді інфузій. Доза антитіла, що вводиться в комбінованому лікуванні, може бути знижена в порівнянні з монотерапією. У деяких варіантах реалізації винаходу, наприклад, спосіб лікування або сповільнення прогресування локально прогресувавшего або метастатичного раку молочної залози у індивідуума включає схему введення, що включає цикли лікування, в ході яких індивідууму вводять в дні 1 та 15 кожного циклу антагоніст зв'язування осі PD-1 людини (наприклад, анти-PD-L1 антитіло) в дозі близько

840 мг, причому кожен цикл складає 28 днів (тобто, кожен цикл повторюється кожні 28 днів). Прогрес такої терапії з легкістю контролюється звичайними методами.

В деяких варіантах реалізації винаходу агоніст зв'язування OX40 включає, наприклад, агоністичне антитіло до OX40 (наприклад, антитіло проти агоніста OX40 людини), фрагмент агоніста OX40L, олігомерний рецептор OX40 та імуоадгезин OX40.

В деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло OX40 виснажує клітини, які експресують OX40 людини (наприклад, CD4+ ефекторні Т-клітини, CD8+ Т-клітини та/або клітини Treg), наприклад, шляхом АЗКЦ (ADCC) та/або фагоцитозу. У деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло OX40 зв'язується з OX40 людини з афінністю, що менш ніж або дорівнює близько 1 нМ (наприклад, менш ніж або дорівнює близько 0,5 нМ, наприклад, менш ніж або дорівнює близько 0,45 нМ, наприклад, менш ніж, ніж або дорівнює близько 0,4 нМ, наприклад, менш ніж або дорівнює близько 0,3 нМ). У деяких варіантах реалізації винаходу афінність зв'язування агоністичного антитіла до OX40 визначають із застосуванням радіоімунологічного аналізу.

В деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло до OX40 зв'язується з OX40 людини і OX40 яванського макака. В інших варіантах реалізації винаходу зв'язування з OX40 людини і OX40 яванського макака визначають із застосуванням аналізу СКАФ (FACS). У деяких варіантах реалізації винаходу ЕС50 для зв'язування з OX40 людини становить менше ніж або дорівнює близько 1 мкг/мл (наприклад, менш ніж або дорівнює близько 0,7 мкг/мл, наприклад, менш ніж або дорівнює близько 0,5 мкг/мл, наприклад, менш ніж або дорівнює близько 0,4 мкг/мл, наприклад, менш ніж або дорівнює близько 0,3 мкг/мл, наприклад, менш ніж або дорівнює близько 0,2 мкг/мл, наприклад, менш ніж або дорівнює близько 0,1 мкг/мл). У деяких варіантах реалізації винаходу ЕС50 для зв'язування з OX40 яванця становить менш ніж або дорівнює 3 мкг/мл (наприклад, менш ніж або дорівнює близько 2 мкг/мл, наприклад, менш ніж або дорівнює близько 1,7 мкг/мл, наприклад, менш ніж або дорівнює близько 1,5 мкг/мл, наприклад, менш ніж або дорівнює близько 1,4 мкг/мл, наприклад, менш ніж або дорівнює близько 1,3 мкг/мл, наприклад, менш ніж або дорівнює близько 1,2 мкг/мл, наприклад, менш ніж або дорівнює близько 1,1 мкг/мл, наприклад, менш ніж або дорівнює близько 1,0 мкг/мл).

В деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло до OX40 збільшує проліферацію CD4+ Т-клітин та/або збільшує продукування цитокінів за допомогою CD4+ ефекторних Т-клітин в порівнянні з проліферацією та/або продукуванням цитокінів до обробки агоністичним антитілом до OX40. У деяких варіантах реалізації винаходу цитокін являє собою IFN-γ.

В деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло до OX40 збільшує проліферацію Т-клітин пам'яті та/або підвищує продукування цитокінів клітиною пам'яті. У деяких варіантах реалізації винаходу цитокін являє собою IFN-γ.

В деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло OX40 інгібує пригнічення Treg ефекторних функцій Т-клітин. У деяких варіантах реалізації винаходу ефекторна функція Т-клітин є проліферацію ефекторних Т-клітин та/або продукуванням цитокінів. У деяких варіантах реалізації винаходу ефекторна Т-клітина являє собою ефекторну CD4+ Т-клітину.

У деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло до OX40 підсилює передачу сигналу OX40 в клітині-мішені, яка експресує OX40. В деяких варіантах реалізації винаходу передачу сигналу OX40 виявляють шляхом моніторингу передачі сигналу NFκB нижче в сигнальному шляху.

В деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло до OX40 залишається стабільним після обробки при 40 °С протягом від одного до чотирьох тижнів, наприклад, один тиждень, два тижні, три тижні або чотири тижні. У деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло до OX40 залишається стабільним після обробки при 40 °С протягом двох тижнів.

В деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло до OX40 містить варіант поліпептиду IgG1 Fc, що містить мутацію, яка усуває зв'язування з ефекторними клітинами людини, і володіє зниженою активністю відносно агоністичного антитіла до OX40, яке містить частину Fc IgG1 з нативною послідовністю. У деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло до OX40 містить варіант Fc, що містить мутацію DANA.

У деяких варіантах реалізації винаходу поперечне зшивання антитіл потрібне для виконання функції антагоністичного антитіла проти OX40 людини.

В деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло до OX40 містить (а) домен VH, який містить (i) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 278, 279 або 280, (ii) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 281, 282, 283, 284, 285 або 286 та (iii) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 287, 288 або 289;

і (b) домен VL, який містить (i) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 290, (ii) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 291 і (iii) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298 або 299. Наприклад, у деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло OX40 містить (a) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 278; (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 281; (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 287; (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 290; (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 291; і (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 292. У деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло до OX40 містить (a) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 278; (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 281; (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 287; (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 290; (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 291; і (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 297. У деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло до OX40 містить (a) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 278; (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 281; (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 287; (d) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 290; (e) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 291; і (f) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 298.

У інших варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло до OX40 містить послідовність VH, яка володіє ідентичністю послідовності щонайменше 90 % по відношенню до амінокислотної послідовності будь-якої із SEQ ID NO: 300-325. Наприклад, агоністичне антитіло OX40 містить послідовність VH, яка володіє ідентичністю послідовності щонайменше 90 % по відношенню до амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 300 (наприклад, в якій від 1 до 10 амінокислот були замінені, вставлені та/або видалені із SEQ ID NO: 300). Таким чином, у деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло до OX40 містить VH, що містить одну, дві або три ГВД (HVR), вибрані з: (a) HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 278, (b) HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 281 і (c) HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 287.

У інших варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло до OX40 містить послідовність VL, яка володіє ідентичністю послідовності щонайменше 90 % по відношенню до амінокислотної послідовності будь-якої із SEQ ID NO: 326-351. Наприклад, агоністичне антитіло OX40 містить VL, яка володіє ідентичністю послідовності щонайменше 90 % по відношенню до амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 326 (наприклад, в якій від 1 до 10 амінокислот були замінені, вставлені та/або видалені із SEQ ID NO: 326). Таким чином, у деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло до OX40 містить VL, що містить одну, дві або три ГВД (HVR), вибрані з (a) HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 290; (b) HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 291; і (c) HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 292.

У деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло до OX40 містить (a) послідовність VH SEQ ID NO: 300; (b) послідовність VL SEQ ID NO: 326; або (c) послідовність VH, як в (a), і послідовність VL, як у (b).

В деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло до OX40 містить (a) послідовність VH SEQ ID NO: 319; (b) послідовність VL SEQ ID NO: 345; або (c) послідовність VH, як в (a), і послідовність VL, як у (b).

В деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло до OX40 містить (a) послідовність VH SEQ ID NO: 320; (b) послідовність VL SEQ ID NO: 346; або (c) послідовність VH, як в (a), і послідовність VL, як у (b).

Крім того, конкретно включено агоністичне антитіло до OX40, таке як антитіло, що поділяє такі ж або істотною мірою такі ж послідовності ГВД (HVR) та/або послідовності VH і VL антитіл до OX40, розкритих у патенті США 7550140 та Міжнародних публікаціях №№ WO 2014/148895 і WO 2013/038191, які включені до цього документу шляхом посилання в повному обсязі.

В деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло OX40 являє собою L106 BD (продукт Pharmingen № 340420). У деяких варіантах реалізації винаходу антитіло містить щонайменше одну, дві, три, чотири, п'ять або шість послідовностей гіперваріабельної ділянки (ГВД (HVR)) антитіла L106 (продукт BD Pharmingen № 340420). У деяких варіантах реалізації винаходу антитіло містить послідовність варіабельної ділянки важкого ланцюга та/або послідовність варіабельної ділянки легкого ланцюга антитіла L106 (продукт BD Pharmingen № 340420).

В деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло до OX40 являє собою АСТ35 (Santa Cruz Biotechnology, номер за каталогом 20073). У деяких варіантах реалізації винаходу антитіло містить щонайменше одну, дві, три, чотири, п'ять або шість послідовностей гіперваріабельної ділянки (ГВД (HVR)) антитіла АСТ35 (Santa Cruz Biotechnology, номер за каталогом 20073). У деяких варіантах реалізації винаходу антитіло містить послідовність варіабельної ділянки важкого ланцюга та/або послідовність варіабельної ділянки легкого ланцюга антитіла АСТ35 (Santa Cruz Biotechnology, номер за каталогом 20073).

В деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло OX40 являє собою MEDI6469. У деяких варіантах реалізації винаходу антитіло містить щонайменше одну, дві, три, чотири, п'ять або шість послідовностей гіперваріабельної ділянки (ГВД (HVR)) антитіла MEDI6469. У деяких варіантах реалізації винаходу антитіло містить послідовність варіабельної ділянки важкого ланцюга та/або послідовність варіабельної ділянки легкого ланцюга антитіла MEDI6469.

В деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло OX40 являє собою MEDI0562. У деяких варіантах реалізації винаходу антитіло містить щонайменше одну, дві, три, чотири, п'ять або шість послідовностей гіперваріабельної ділянки (ГВД (HVR)) антитіла MEDI0562. У деяких варіантах реалізації винаходу антитіло містить послідовність варіабельної ділянки важкого ланцюга та/або послідовність варіабельної ділянки легкого ланцюга антитіла MEDI0562.

В деяких варіантах реалізації винаходу агоністичне антитіло OX40 являє собою агоністичне антитіло, яке зв'язується з тим же епітопом, що і будь-який із вказаних вище агоністів OX40.

В кожному з вищенаведених варіантів реалізації винаходу агоністичне антитіло до OX40 може являти собою повнорозмірне антитіло (наприклад, антитіло IgG1) або фрагмент антитіла.

Агоністи OX40, придатні для описаних в цьому документі способів, жодним чином не обмежуються антитілами. Агоністи OX40, які не є антитілами, включені і добре відомі в даній галузі техніки.

Як описано вище, OX40L (також відомий як CD134L) служить як ліганд для OX40. Таким чином, агоністи, які представляють частину або всі з OX40L, можуть служити агоністами OX40. У деяких варіантах реалізації винаходу агоніст OX40 може містити один або більшу кількість позаклітинних доменів OX40L. Приклади позаклітинних доменів OX40L можуть включати OX40-зв'язуючі домени. У деяких варіантах реалізації винаходу агоніст OX40 може бути розчинною формою OX40L, яка містить один або більшу кількість позаклітинних доменів OX40L, але не містить інших нерозчинних доменів білка, наприклад, трансмембранних доменів. У деяких варіантах реалізації винаходу агоніст OX40 являє собою розчинний білок, що містить один або більшу кількість позаклітинних доменів OX40L, здатних зв'язуватися з OX40L. У деяких варіантах реалізації винаходу агоніст OX40 може бути зв'язаний з іншим білковим доменом, наприклад, для збільшення його ефективності, періоду напіввиведення або інших бажаних характеристик. У деяких варіантах реалізації винаходу агоніст OX40 може містити один або більшу кількість позаклітинних доменів OX40L, зв'язаних з доменом Fc імуноглобуліну.

У деяких варіантах реалізації винаходу агоніст OX40 може бути олігомерною або полімерною молекулою. Наприклад, агоніст OX40 може містити один або більшу кількість доменів (наприклад, домен лейцинового зіпера), що дозволяє олігомеризувати білки. У деяких варіантах реалізації винаходу агоніст OX40 може містити один або більшу кількість позаклітинних доменів OX40L, зв'язаних з одним або більшою кількістю доменів лейцинового зіпера.

У деяких варіантах реалізації винаходу агоністом OX40 може бути будь-який з агоністів OX40, описаних у Європейському патенті № EP0672141 B1.

В деяких варіантах реалізації винаходу агоніст OX40 може являти собою тримерний гібридний білок OX40L. Наприклад, агоніст OX40 може містити один або більшу кількість позаклітинних доменів OX40L, зв'язаних з доменом Fc імуноглобуліну і доменом тримеризації (включаючи, але не обмежуючись цим, домен ізольцинового зіпера).

В деяких варіантах реалізації винаходу агоністом OX40 може бути будь-який з агоністів OX40, описаних у Міжнародній публікації № WO 2006/121810, такий як імуноадгезин OX40. У деяких варіантах реалізації винаходу імуноадгезин OX40 може являти собою тримерний білок OX40-Fc. У деяких варіантах реалізації винаходу агоніст OX40 являє собою MEDI6383.

Така комбінована терапія, вказана вище, включає комбіноване введення, для якого анти-TIGIT антитіло і один або більшу кількість агентів (наприклад, антагоніст зв'язування PD-1, агоніст зв'язування OX40, агент, який зменшує або пригнічує один або більшу кількість додаткових імунних коінгібуючих рецепторів, та/або додатковий терапевтичний агент) вводять в одні і ті ж самі або різні препарати, і роздільне введення, при якому введення анти-TIGIT антитіла за винаходом може відбуватися до, одночасно та/або після введення одного або більшої кількості агентів (наприклад, антагоніста зв'язування PD-1, агоніста зв'язування OX40,

агента, який зменшує або пригнічує один або більшу кількість додаткових імунних коінгібуючих рецепторів та/або додаткового терапевтичного агента). В одному варіанті реалізації винаходу введення анти-TIGIT антитіла і введення одного або більшої кількості агентів відбувається в межах близько одного місяця або протягом близько одного, двох або трьох тижнів або в межах

5 близько одного, двох, трьох, чотирьох, п'яти або шести днів один від одного. Крім того, анти-TIGIT антитіла за винаходом (наприклад, 4.1D3 або його варіант, наприклад, 4.1D3.Q1E) можуть застосовуватися в поєднанні з променевою терапією.

Анти-TIGIT антитіло за винаходом (та/або будь-який додатковий терапевтичний засіб) можна вводити будь-яким придатним способом, включаючи парентеральне,

10 внутрішньолегеневе та інтраназальне, і, при бажанні проведення місцевого лікування, внутрішньовогнищеве введення. Парентеральні інфузії включають внутрішньом'язове, внутрішньовенне, внутрішньоартеріальне, внутрішньочеревне або підшкірне введення. У деяких варіантах реалізації винаходу антитіло вводять шляхом підшкірного введення. У деяких варіантах реалізації винаходу анти-TIGIT антитіло, яке вводять підшкірною ін'єкцією, спричиняє

15 менш токсичну відповідь у пацієнта, ніж те ж саме анти-TIGIT антитіло, яке вводять внутрішньовенною ін'єкцією. Дозування може бути здійснено будь-яким придатним шляхом, наприклад, шляхом ін'єкцій, таких як внутрішньовенні або підшкірні ін'єкції, в залежності від того, чи є введення короткочасним або хронічним. В даному документі розглядаються різні схеми введення, включаючи, але не обмежуючись цим, одноразове або багаторазове введення в різні

20 моменти часу, введення болюсу і пульсуючу інфузію.

Анти-TIGIT антитіла за винаходом будуть складатися, дозуватися і вводитися відповідно до належної медичної практики. Фактори для розгляду в цьому контексті включають конкретний розлад, який підлягає лікуванню, конкретного ссавця, який підлягає лікуванню, клінічний стан окремого пацієнта, причину розладу, місце доставки агента, спосіб введення, розклад введення

25 та інші чинники, відомі лікарям. Антитіло не обов'язково має бути, але може бути складено з одним або більшою кількістю агентів, які в цей час застосовуються для запобігання або лікування розладу, що підлягає лікуванню. Ефективна кількість таких інших агентів залежить від кількості антитіла, присутнього в препараті, виду розладу або лікування та інших чинників, розглянутих вище. Вони зазвичай застосовуються в тих же дозах і тими ж способами введення,

30 як описано в цьому документі, або близько від 1 до 99 % доз, описаних в цьому документі, або в будь-яких дозах і будь-яким способом введення, що емпірично/клінічно визначений як придатний.

Для профілактики або лікування захворювання придатна доза анти-TIGIT антитіла за винаходом (наприклад, 4.1D3 або його варіанта, наприклад, 4.1D3.Q1E), при застосуванні

35 окремо або в поєднанні з одним або більшою кількістю додаткових агентів (наприклад, антагоніст зв'язування PD-1, агоніст зв'язування OX40, агент, який зменшує або пригнічує один або більшу кількість додаткових імунних коінгібуючих рецепторів та/або додатковий терапевтичний агент), буде залежати від виду захворювання, яке підлягає лікуванню, виду застосовуваного антитіла, тяжкості і перебігу захворювання, незалежно від того, чи вводять

40 антитіло з профілактичною або терапевтичною метою, попереднього лікування, клінічного анамнезу пацієнта і відповіді на антитіло, а також на розсуд лікаря. Антитіло придатним чином вводять пацієнтові одноразово або в ході ряду процедур.

Як загальне припущення, терапевтично ефективна кількість анти-TIGIT антитіла, що вводиться людині, буде знаходитися в діапазоні від близько 0,01 до близько 100 мг/кг маси тіла

45 пацієнта, за один або більшу кількість прийомів. У деяких варіантах реалізації винаходу антитіло застосовують, наприклад, в дозі від близько 0,01 до близько 45 мг/кг, від близько 0,01 до близько 40 мг/кг, від близько 0,01 до близько 35 мг/кг, від близько 0,01 до близько 30 мг/кг, від близько 0,01 до близько 25 мг/кг, від близько 0,01 до близько 20 мг/кг, від близько 0,01 до близько 15 мг/кг, від близько 0,01 до близько 10 мг/кг, від близько 0,01 до близько 5 мг/кг або від

50 близько 0,01 до близько 1 мг/кг. В одному варіанті реалізації винаходу анти-TIGIT антитіло, описане в цьому документі, вводять людині в дозі близько 100 мг, близько 200 мг, близько 300 мг, близько 400 мг, близько 500 мг, близько 600 мг, близько 700 мг, близько 800 мг, близько 900 мг, близько 1000 мг, близько 1100 мг, близько 1200 мг, близько 1300 мг або близько 1400 мг в 1 день 21-денного циклу. Дозу можна вводити в один або більшу кількість прийомів (наприклад, 2

55 або 3 прийоми), наприклад, у вигляді інфузії. При повторному введенні протягом декількох днів або довше, в залежності від стану, лікування, як правило, слід продовжувати до тих пір, поки не відбудеться бажане пригнічення симптомів захворювання. Одна типова доза антитіла буде знаходитися в діапазоні від близько 0,05 мг/кг до близько 10 мг/кг. Таким чином, пацієнту може вводитися одна або більша кількість доз близько 0,5 мг/кг, 2,0 мг/кг, 4,0 мг/кг або 10 мг/кг (або

60 будь-яка їх комбінація). Такі дози можна вводити періодично, наприклад, щотижня або кожні три

тижні (наприклад, таким чином, щоб пацієнт одержував від близько двох до близько двадцяти або, наприклад, близько шести доз анти-TIGIT антитіла). Можна вводити початкову більш високу навантажуючу дозу, за якою слідують одна або більша кількість нижчих доз. Прогрес такого лікування з легкістю контролюється за допомогою звичайних способів та аналізів.

В деяких варіантах реалізації винаходу способи можуть додатково включати додаткові терапевтичні засоби. Додатковим терапевтичним засобом може бути променева терапія, хірургія, хіміотерапія, генна терапія, ДНК-терапія, вірусна терапія, РНК-терапія, імунотерапія, трансплантація кісткового мозку, нанотерапія, терапія моноклональними антитілами або комбінація вищевказаного. Додатковий терапевтичний засіб може набувати форми ад'ювантної або неоад'ювантної терапії. У деяких варіантах реалізації винаходу додатковий терапевтичний засіб являє собою введення низькомолекулярного ферментативного інгібітору або антиметастатичного агента. У деяких варіантах реалізації винаходу додатковий терапевтичний засіб являє собою введення обмежуючих побічні ефекти агентів (наприклад, агентів, призначених для зменшення виникнення та/або тяжкості побічних ефектів лікування, таких як засоби проти нудоти і т. д.). У деяких варіантах реалізації винаходу додатковий терапевтичний засіб являє собою променеву терапію. У деяких варіантах реалізації винаходу додатковий терапевтичний засіб являє собою хірургічне втручання. У деяких варіантах реалізації винаходу додатковий терапевтичний засіб являє собою комбінацію променевої терапії та хірургічного втручання. У деяких варіантах реалізації винаходу додатковий терапевтичний засіб являє собою гамма-опромінення. У деяких варіантах реалізації винаходу додатковий терапевтичний засіб може являти собою окреме введення одного або більшої кількості терапевтичних агентів, описаних вище.

IX. Промислові вироби

В іншому аспекті винаходу пропонується виріб або набір, який містить матеріали, придатні для лікування, профілактики та/або діагностики розладів, описаних вище. Промисловий виріб включає ємність та етикетку або листок-вкладиш в упаковку на або в поєднанні з ємністю. Придатні ємності включають, наприклад, бутлі, флакони, шприци, пакети для в/в розчину і т.д. Ємності можуть бути виготовлені з численних матеріалів, таких як скло або пластичний матеріал. Ємність містить композицію, що сама по собі або в поєднанні з іншою композицією є ефективною для лікування, профілактики та/або діагностики стану, і може бути забезпечена стерильним портом доступу (наприклад, ємність може являти собою пакет для внутрішньовенного розчину або флакон з пробкою, яку проколюють голкою для підшкірної ін'єкції). Щонайменше один активний агент в композиції являє собою анти-TIGIT антитіло за винаходом. На етикетці або в листку-вкладиші в упаковку вказується, що композиція застосовується для лікування вибраного стану. Крім того, виріб може включати (а) першу ємність з композицією, що міститься в ній, причому композиція містить антитіло за винаходом; і (b) другу ємність з композицією, що міститься в ній, причому композиція містить додатковий цитотоксичний або інший терапевтичний агент. Промисловий виріб в цьому варіанті реалізації винаходу може додатково містити листок-вкладиш в упаковку, на якому вказано, що композиції можуть застосовуватися для лікування конкретного стану. Як альтернатива або додатково, виріб може додатково включати другу (або третю) ємність, що містить фармацевтично прийнятний буфер, такий як бактеріостатична вода для ін'єкцій (BBI (BWF1)), фосфатно-сольовий буфер, розчин Рінгера та розчин глюкози. Крім того, він може включати інші матеріали, бажані з комерційної та користувацької точок зору, включаючи інші буферні речовини, розчинники, фільтри, голки і шприци.

В одному варіанті реалізації винаходу представлений набір, що включає анти-TIGIT антитіло за винаходом (наприклад, 4.1D3 або його варіант, наприклад, 4.1D3.Q1E), і листок-вкладиш в упаковку, що містить інструкції із застосування анти-TIGIT антитіла для лікування або сповільнення прогресування раку у суб'єкта або для лікування або сповільнення прогресування пов'язаного з імунною системою захворювання у суб'єкта. У відповідному варіанті реалізації винахід відноситься до набору, що включає анти-TIGIT антитіло за винаходом (наприклад, 4.1D3 або його варіант, наприклад, 4.1D3.Q1E), антагоніст зв'язування осі PD-1 (наприклад, антагоніст зв'язування PD-1, антагоніст зв'язування PD-L1 і антагоніст зв'язування PD-L2) і листок-вкладиш в упаковку, що містить інструкцію із застосування анти-TIGIT антитіла для лікування або сповільнення прогресування раку у суб'єкта або для лікування або сповільнення прогресування пов'язаного з імунною системою захворювання у суб'єкта. У відповідному варіанті реалізації винахід відноситься до набору, що включає анти-TIGIT антитіло за винаходом (наприклад, 4.1D3 або його варіант, наприклад, 4.1D3.Q1E), агоніст зв'язування OX40 (наприклад, агоністичне антитіло до OX40, фрагмент агоніста OX40L, олігомерний рецептор OX40 та імуноадгезин OX40) і листок-вкладиш в упаковку, що містить інструкцію із

застосування анти-TIGIT антитіла для лікування або сповільнення прогресування раку у суб'єкта або для лікування або сповільнення прогресування пов'язаного з імунною системою захворювання у суб'єкта. У відповідному варіанті реалізації винахід відноситься до набору, що включає анти-TIGIT антитіло за винаходом (наприклад, 4.1D3 або його варіант, наприклад, 4.1D3.Q1E), антагоніст зв'язування осі PD-1 (наприклад, антагоніст зв'язування PD-1, антагоніст зв'язування PD-L1 і антагоніст зв'язування PD-L2), агоніст зв'язування OX40 (наприклад, агоністичне антитіло до OX40, фрагмент агоніста OX40L, олігомерний рецептор OX40 та імуноадгезин OX40), і містить інструкцію із застосування анти-TIGIT антитіла для лікування або сповільнення прогресування раку у суб'єкта або для лікування або сповільнення прогресування пов'язаного з імунною системою захворювання у суб'єкта. У будь-якому з вищенаведених варіантів реалізації суб'єкт може бути, наприклад, людиною. Зокрема, передбачається, що будь-які анти-TIGIT антитіла, агоністи зв'язування OX40 і антагоністи зв'язування осі PD-1, описані в цьому документі, можуть бути включені до набору.

У ще одному варіанті реалізації винаходу пропонується набір, що включає анти-TIGIT антитіло за винаходом (наприклад, 4.1D3 або його варіант, наприклад, 4.1D3.Q1E), і листок-вкладиш в упаковку, що містить інструкції з підвищення, підсилення або стимуляції відповіді або функції імунної системи у суб'єкта. У відповідному варіанті реалізації винаходу пропонується набір, що включає анти-TIGIT антитіло за винаходом (наприклад, 4.1D3 або його варіант, наприклад, 4.1D3.Q1E), антагоніст зв'язування осі PD-1 (наприклад, антагоніст зв'язування PD-1, антагоніст зв'язування PD-L1 і антагоніст зв'язування PD-L2) і листок-вкладиш в упаковку, що містить інструкцію щодо підвищення, підсилення або стимуляції імунної відповіді або функції у суб'єкта. У відповідному варіанті реалізації винаходу пропонується набір, що включає анти-TIGIT антитіло за винаходом (наприклад, 4.1D3 або його варіант, наприклад, 4.1D3.Q1E), агоніст зв'язування OX40 (наприклад, агоністичне антитіло до OX40, фрагмент агоніста OX40L, олігомерний рецептор OX40 та імуноадгезин OX40) і листок-вкладиш в упаковку, що містить інструкцію із застосування анти-TIGIT антитіла для підвищення, підсилення або стимуляції імунної відповіді або функції у суб'єкта. У відповідному варіанті реалізації винаходу пропонується набір, що включає анти-TIGIT антитіло за винаходом (наприклад, 4.1D3 або його варіант, наприклад, 4.1D3.Q1E), антагоніст зв'язування осі PD-1 (наприклад, антагоніст зв'язування PD-1, антагоніст зв'язування PD-L1 і антагоніст зв'язування PD-L2), агоніст зв'язування OX40 (наприклад, агоністичне антитіло до OX40, фрагмент агоніста OX40L, олігомерний рецептор OX40 та імуноадгезин OX40) і листок-вкладиш в упаковку, що містить інструкції із застосування анти-TIGIT антитіла для підвищення, підсилення або стимуляції імунної відповіді або функції у суб'єкта. У будь-якому з вищенаведених варіантів реалізації винаходу суб'єкт може бути, наприклад, людиною. Зокрема, передбачається, що будь-які анти-TIGIT антитіла, агоністи зв'язування OX40 і антагоністи зв'язування осі PD-1, описані в цьому документі, можуть бути включені до набору.

ПРИКЛАДИ

Винахід може бути краще зрозумілий з посиланням на наступні приклади, які наведені з метою ілюстрації і не призначені для обмеження.

Приклад 1. Генерація анти-TIGIT антитіл

Щурів Спрег-Дуолі або трансгенних щурів OMT (Open Monoclonal Technology, Пало-Альто, штат Каліфорнія) спільно імунізують підшкірно початковою дозою 50 мкг білка TIGIT людини (Genentech, Inc.) і 50 мкг білка TIGIT яванського макака (яванця) (Genentech, Inc.), змішаних з повним ад'ювантом Фрейнда (BD, Франклін-Лейкс, штат Нью-Джерсі), а потім 25 мкг білка TIGIT людини і 25 мкг білка TIGIT яванця, розведених у ФСБ (PBS) на декількох ділянках підшкірно і внутрішньочеревинно кожні два тижні.

Декілька лімфатичних вузлів витягають через три дні після останньої імунізації. В-клітини вказаних щурів збагачують із застосуванням негативної селекції за допомогою біотинільованих антитіл, націлених на не-В-клітини щура (BD; eBioscience, Сан-Дієго, штат Каліфорнія) і магнітних гранул, вкритих стрептавідином (Miltenyi, Сан-Дієго, штат Каліфорнія). Здійснюють злиття одержаної популяції В-клітин з клітинами мієломи миші Р3Х63-Аg8U.1 (Американська Колекція Типових Культур, Роквіль, штат Меріленд) за допомогою електрозлиття (Harvard Apparatus, Холістон, штат Массачусетс). Злиті клітини інкубують при 37 °C, 7 % CO₂, протягом ночі в Середовищі С (StemCell Technologies, Ванкувер, Британська Колумбія, Канада) перед ресуспендуванням у напівтвердому Середовищі D (StemCell Technologies) з анти-щурячим IgG-флуоресцеїн ізотіоціанатом, ФІТЦ (FITC) (Sigma-Aldrich, Сент-Луїс, штат Місурі) і наносять на лотки Omniwell (Thermo Fisher Scientific, Рочестер, штат Нью-Йорк). Через сім днів після нанесення на лотки флуоресцентні колонії відбирають і переносять на 96-лункові планшети для культивування (BD), що містять Середовище Е (StemCell Technologies), із застосуванням

Clonепix FL (Molecular Devices, Санівейл, штат Каліфорнія). Проводять скринінг супернатантів за допомогою ІФА (ELISA) проти білка TIGIT людини через сім днів після збирання колоній. 384-лункові планшети (Greiner Microlon, Greiner Bio-One, Монро, штат Північна Кароліна) вкривають 1 мкг/мл білка, розведеного в 0,05 М буферному розчині натрій карбонату, рН 9,6, та інкубують протягом ночі при 4 °С. Потім лунки блокують 100 мкл ФСБ (PBS), що містить 0,5 % бичачого сироваткового альбуміну, БСА (BSA) і 0,5 % Tween-20, протягом однієї години при кімнатній температурі. Після промивання додають супернатанти та/або сироватки в кількості 50 мкл і струшують протягом 30 хвилин при кімнатній температурі. Для виявлення специфічних антитіл, кон'югованих з пероксидазою хрому антитіла проти IgG щура (Bethyl Laboratories, Монтгомері, штат Техас) розбавляють ФСБ (PBS), що містить 0,5 % БСА (BSA) і 0,5 % Tween-20, до оптимальної концентрації і після промивання додають в кількості 50 мкл на лунку, а планшети струшують протягом 30 хвилин при кімнатній температурі. Планшети тричі промивають 100 мкл ФСБ (PBS), що містить 0,05 % Tween-20. Додають 50 мкл субстрату тетраметилбензидину, ТМБ (TMB) (BioFX, Овінгс Мілс, штат Меріленд), і планшети інкубують протягом п'яти хвилин при кімнатній температурі з наступним додаванням 50 мкл стоп-розчину (BioFX), а потім зчитують при 630 нм. Клітинні лінії гібридом, що зв'язуються з TIGIT людини, розводять і культивують протягом двох-чотирьох днів, а потім проводять скринінг за допомогою ІФА (ELISA) проти білків TIGIT людини, TIGIT яванця і TIGIT миші (Genentech, Inc.). Супернатант клітинних ліній, що перехресно реагують з білками людини і яванця, збирають і очищують за допомогою білка G (Protein G Sepharose 4 Fast Flow, GE Healthcare, Пітсбург, штат Пенсільванія). Близько 500 клонів були піддані скринінгу. За допомогою скринінгу ідентифіковано клони 4.1D3, 7.4A3 і 4.1A4, одержані в результаті імунізації щурів ОМТ, і клони 1.6B2, 1.10A5, 1.7E7 і 1.15C8, ідентифіковані після імунізації щурів Спрег-Доулі.

Приклад 2. Оптимізація анти-TIGIT антитіл

А. Доведення одержаного від щурів ОМТ моноклонального антитіла проти TIGIT людини

Щоб запобігти небажаному утворенню піроглутамату для клонів 4.1A4, 4.1D3 і 7.4A3 (також мають назву 1A4, 1D3 і 4A3, відповідно) і з метою вирішення проблеми неспарених залишків цистеїну для клонів 4.1A4 і 7.4A3, були згенеровані наступні оптимізовані варіанти анти-TIGIT антитіл: 4.1A4.C96S.Q1E, 4.1A4.C96Y.Q1E, 4.1D3.Q1E, 7.4A3.C96S.Q1E і 7.4A3.C96Y.Q1E (також мають назву 1A4.C96S. Q1E, 1A4.C96Y.Q1E, 1D3.Q1E, 4A3.C96S.Q1E і 4A3.C96Y.Q1E, відповідно). Як описано в Табл. 2 нижче, афінність цих п'яти оптимізованих варіантів для TIGIT людини і яванського макака (яванця) в подальшому визначали за допомогою поверхневого плазмонного резонансу (ППР (SRP)) (аналіз BIACORE™) і порівнювали з афінністю відповідних батьківських клонів.

Якщо коротко, біосенсорний чіп серії S CM5 активують за допомогою реагентів N-метил-N'-(3-диметиламінопропіл)карбодіїміду (ЕДК (EDC)) і N-гідроксисукциніміду (NHS) відповідно до інструкцій постачальника (GE Healthcare Biosciences, Піскатауей, штат Нью-Джерсі), і набір для захоплення антитіл людини використовують для сполучення з козиними антитілами проти Fc IgG людини для одержання близько 10 000 одиниць відповіді (ОВ (RU)) на кожній протоковій кюветі, а потім блокують групи, що не прореагували, за допомогою 1 М етаноламіну.

Для визначення показників кінетики кожен клон захоплюють до досягнення близько 250 ОВ (RU) та здійснюють інжекцію 5-разових серійних розведень антигену TIGIT (від 1,23 до 300 нМ) в буфері ГСБ-П (HBS-P) (0,01 М ГЕПЕС (HEPES), рН 7,4, 0,15 М NaCl, 0,005 % поверхнево-активної речовини P20) при 25 °С (швидкість потоку: 30 мл/хв.) без регенерації між інжекціями. Сенсограми реєструють і оцінюють за допомогою програмного забезпечення BIAcore™ T200 Evaluation (версія 2.0) після віднімання сигналу референтної кювети. Швидкість асоціації (k_{on}) і швидкість дисоціації (k_{off}) обчислюють із застосуванням простої моделі зв'язування один до одного Ленгмюра. Константу рівноважної дисоціації (K_D) обчислюють як співвідношення k_{off}/k_{on} .

Таблиця 2

Показники афінності BIACORE™ для варіантів одержаного від щура OMT антитіла проти TIGIT людини і яванця 1A4, 1D3 і 4A3

xTIGIT mAb	TIGIT людини			TIGIT яванця		
	Kon (10 ⁵ M ⁻¹ s ⁻¹)	Koff (10 ⁻⁴ s ⁻¹)	KD (нМ)	Kon (10 ⁵ M ⁻¹ s ⁻¹)	Koff (10 ⁻⁴ s ⁻¹)	KD (нМ)
1A4	3,42	12,2	3,57	2,66	6,43	2,42
1A4.C96S.Q1E	12,5	367,9	29,4	13,4	169,1	12,6
1A4.C96Y.Q1E	-	-	> 100	-	-	> 100
1D3	38,4	16,4	0,43	6,21	20,7	3,33
1D3.Q1E	17,2	9,7	0,56	4,78	15,4	3,22
4A3	3,02	10,4	3,44	3,34	6,99	2,09
4A3.C96S.Q1E	2,88	8,56	2,97	2,76	5,56	2,01
4A3.C96Y.Q1E	3,72	364,7	98,0	3,95	140,5	35,6

- 5 Клони 4.1A4.C96S.Q1E, 7.4A3.C96S.Q1E і 4.1D3.Q1E розглядалися як кінцеві молекули з аналогічною і прийнятною афінністю зв'язування з TIGIT людини і яванця в порівнянні з батьківськими клонами. Додаткові аналізи BIACORE™ показали, що клон 4.1D3.Q1E, зокрема, здатний перехресно реагувати і зв'язуватися з TIGIT кролика з афінністю в діапазоні низьких наномолярних значень (Табл. 3).

Таблиця 3

4.1D3.Q1E здатне перехресно реагувати з TIGIT людини, яванця і кролика

Джерело	Клон	Аналіз кінетики BIAcore		
		TIGIT людини	TIGIT яванця	TIGIT кролика
		Одновалентна афінність (нМ)		
OMT	4.1D3.Q1E	0,56	3,2	4,9
	7.4A3.Q1E.C96S	2,97	2,01	> 500
Миша	h1A5.L2H8	5,76	> 500	> 500

- 10 В. Гуманізація моноклональних анти-TIGIT антитіл, одержаних від щурів СД (SD)
Моноклональні антитіла 1.6B2, 1.10A5, 1.7E7 і 1.15C8 (в даному документі мають назву 6B2, 10A5, 7E7 та 15C8, відповідно) були гуманізовані, як описано нижче. Номери залишків відповідають Kabat et al. (Sequences of Proteins of Immunological Interest. 5th Ed., Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)).
- 15 Для гуманізації антитіл 6B2 гіперваріабельні ділянки щурячого антитіла 6B2 (rat6B2) були сконструйовані в найближчих до них акцепторних каркасах людини з метою генерації гуманізованих 6B2 (h6B2.L1H1). Зокрема, положення 24-34 (L1), 50-56 (L2) і 89-97 (L3) домену VL rat6B2 були пересаджені на IGKV1-33*01 зародкової лінії людини. Положення 26-35 (H1), 50-65 (H2) і 95-102 (H3) з домену VH rat6B2 були пересаджені на IGHV2-5*08 зародкової лінії людини. Крім того, положення 43 в каркасі II VL і положення 69, 73, 78 в каркасі III VH були збережені із послідовності щура в h6B2.L1H1. Було виявлено, що ці залишки є частиною каркасних залишків, що діють як зона "верньєра", яка може регулювати структуру ДБК (CDR)/ГВД (HVR) і точно налаштовувати відповідність антигену. Див., наприклад, Foote and Winter, J. Mol. Biol. 224: 487-499 (1992). Ці визначення ДБК (CDR)/ГВД (HVR) містять положення, які визначаються гіперваріабельністю їх послідовності (Wu, TT & Kabat, EA (1970)), їх структурним розташуванням (Chothia, C. & Lesk, AM (1987)) та їх участю в контактах антигену з антитілом (MacCallum et al. J. Mol. Biol. 262: 732-745 (1996)).
- 20 Додаткові гуманізовані варіанти 6B2 були одержані шляхом інжинірингу кожного залишку щура h6B2.L1H1 в зоні верньєра назад до залишку зародкової лінії людини, причому ці варіанти

являють собою h6B2.L2H1 (VL: S43A), h6B2.L1H2 (VH: V69I), h6B2.L1H3 (VH: A73T), h6B2.L1H4 (VH: A78V), h6B2.L1H5 (VH: V69I, A73T, A78V) і h6B2.L2H5 (VL: S43A, VH: V69I, A73T, A78V, повністю гуманізована версія).

Для гуманізації антитіла 10A5 був здійснений інжиніринг гіперваріабельних ділянок щурячого антитіла 10A5 (rat10A5) в найближчих до них акцепторних каркасах людини для генерації гуманізованого 10A5 (h10A5.L1H1). Зокрема, положення 24-34 (L1), 50-56 (L2) і 89-97 (L3) з домену VL rat10A5 були пересаджені на IGKV3-15*01 зародкової лінії людини. Положення 26-35 (H1), 50-65 (H2) і 95-102 (H3) з домену VH rat10A5 були пересаджені на IGHV2-5*08 зародкової лінії людини. Крім того, положення 43 в каркасі II і положення 58 в каркасі III VL і положення 69 і 78 в каркасі III VH були збережені із послідовності щура в h10A5.L1H1. Було виявлено, що ці залишки є частиною каркасних залишків, що діють як зона "верньєра", як описано вище.

Додаткові гуманізовані варіанти 10A5 були одержані шляхом інжинірингу кожного залишку щура h10A5.L1H1 в зоні верньєра назад до залишку зародкової лінії людини, і ці варіанти являють собою h10A5.L2H1 (VL: S43A), h10A5.L3H1 (VL: V58I), h10A5.L4H1 (VL: S43A, V58I), h10A5.L1H2 (VH: V69I), h10A5.L1H3 (VH: A78V), h10A5.L1H4 (VH: V69I, A78V) і h10A5.L4H4 (VL: S43A, V58I, VH: V69I, A78V, повністю гуманізована версія).

Для гуманізації антитіла 7E7 був здійснений інжиніринг гіперваріабельних ділянок щурячого антитіла 7E7 (rat7E7) в найближчих до них акцепторних каркасах людини для генерації гуманізованого 7E7 (h7E7.L1H1). Зокрема, положення 24-34 (L1), 50-56 (L2) і 89-97 (L3) з домену VL rat7E7 були пересаджені на IGKV1-9*01 зародкової лінії людини. Положення 26-35 (H1), 50-65 (H2) і 95-102 (H3) з домену VH rat7E7 були пересаджені на IGHV1-3*01 зародкової лінії людини. Крім того, в h7E7.L1H1 положення 58, 71 і 87 в каркасі III VL, положення 47, 48 в каркасі II VH і положення 67, 69, 71, 91 і 93 в каркасі III VH були збережені із послідовності щура. Було виявлено, що ці залишки є частиною каркасних залишків, що діють як зона "верньєра", як описано вище.

Додаткові гуманізовані варіанти 7E7 були одержані шляхом інжинірингу кожного залишку щура h7E7.L1H1 в зоні верньєра назад до залишку зародкової лінії людини, і ці варіанти являють собою h7E7.L2H1 (VL: I58V), h7E7.L3H1 (VL: Y71F), h7E7.L4H1 (VL: F87Y), h7E7.L5H1 (VL: I58V, Y71F, F87Y), h7E7.L1H2 (VH: I47W), h7E7.L1H3 (VH: I48M), h7E7.L1H4 (VH: A67V), h7E7.L1H5 (VH: L69I), h7E7.L1H6 (VH: A71R), h7E7.L1H7 (VH: F91Y), h7E7.L1H8 (VH: T93A), h7E7.L1H9 (VH: I47W, I48M, A67V, L69I, A71R, F91Y, T93A), і h7E7.L5H9 (VL: I58V, Y71F, F87Y, VH: I47W, I48M, A67V, L69I, A71R, F91Y, T93A, повністю гуманізована версія).

Для гуманізації антитіла 15C8 було здійснено інжиніринг гіперваріабельних ділянок щурячого антитіла 15C8 (rat15C8) в найближчих до них акцепторних каркасах людини для одержання гуманізованого 15C8 (h15C8.L1H1). Зокрема, положення 24-34 (L1), 50-56 (L2) і 89-97 (L3) з домену VL rat15C8 були пересаджені на IGKV1-9*01 зародкової лінії людини. Положення 26-35 (H1), 50-65 (H2) і 95-102 (H3) з домену VH rat15C8 були пересаджені на IGHV1-3*01 зародкової лінії людини. Крім того, в h15C8.L1H1 були збережені положення 58, 71 і 87 в каркасі III VL, положення 37, 47 і 48 в каркасі II VH і положення 67, 69, 71 і 91 в каркасі III VH із послідовності щура. Було виявлено, що ці залишки є частиною каркасних залишків, що діють як зона "верньєра", як описано вище.

Додаткові гуманізовані варіанти 15C8 були одержані шляхом інжинірингу кожного залишку щура h15C8.L1H1 в зоні верньєра назад до залишку зародків людини, і ці варіанти являють собою h15C8.L2H1 (VL: I58V), h15C8.L3H1 (VL: Y71F), h15C8.L4H1 (VL: F87Y), h15C8.L5H1 (VL: I58V, Y71F, F87Y), h15C8.L1H2 (VH: L37V), h15C8.L1H3 (VH: I47W), h15C8.L1H4 (VH: I48M), h15C8.L1H5 (VH: A67V), h15C8.L1H6 (VH: L69I), h15C8.L1H7 (VH: T71R), h15C8.L1H8 (VH: F91Y), h15C8.L1H9 (VH: L37V, I47W, I48M, A67V, L69I, T71R, F91Y), і h7E7.L5H9 (VL: I58V, Y71F, F87Y, VH: L37V, I47W, I48M, A67V, L69I, T71R, F91Y, повністю гуманізована версія).

Для перших гуманізованих версій h6B2, L1H1, h10A5.L1H1, h7E7, L1H1 і h15C8.L1H1, що містять як ДБК (CDR) щура, так і каркасні залишки в зоні верньєра, а також повністю гуманізованих версій h6B2.L2H5, h10A5.L4H4, h7E7.L5H9 і h15C8.L5H9, що містять тільки ДБК (CDR) щура, проводили вимірювання афінності BiAcore в порівнянні з початковими антитілами щура, rat6B2, rat10A5, rat7E7 і rat15C8. Для визначення афінності зв'язування антитіл TIGIT проти TIGIT людини, TIGIT яванського макака і аланінсканованих мутантів TIGIT людини за допомогою однократної кінетики, проводили вимірювання методом поверхневого плазмонного резонансу (ППР) за допомогою приладу BIACORE™-T200, як описано вище. Результати BIACORE™ у Табл. 4 нижче показують, що всі гуманізовані варіанти демонструють зниження афінності зв'язування (тобто, підвищення K_D) приблизно в 5-10 разів у порівнянні з TIGIT людини і яванського макака. Повністю гуманізовані версії h6B2.L2H5 і h10A5.L4H4 несподівано продемонстрували афінність зв'язування, подібну до перших гуманізованих версій h6B2.L1H1 і

h10A5.L1H1, і це свідчить про те, що каркасні залишки rat6B2 і rat10A5 в зоні верньєра не вносять вклад до зв'язування з TIGIT людини і яванця. Тому обидва h6B2.L2H5 і h10A5.L4H4 являють собою остаточну гуманізовану версію для rat6B2 і rat10A5, відповідно. Навпаки, повністю гуманізовані версії h7E7.L5H9 і h15C8.L5H9 втратили здатність зв'язуватися з TIGIT людини і яванця.

Для подальшого з'ясування того, які залишки каркаса щура в положеннях верньєра для перших гуманізованих антитіл h7E7, L1H1 і h15C8.L1H1 мають вирішальне значення для зв'язування, вимірювали афінність методом BIAcore для всіх варіантів доведення каркаса. У разі доведення каркаса 7E7 варіанти h7E7.L1H2, h7E7.L1H9 і h7E7.L5H9, що містять заміну VH: I47W, продемонстрували зниження афінності зв'язування з TIGIT людини і яванця більш ніж у 100 разів, а варіанти h7E7.L3H1 і h7E7.L5H1, що містять заміну VL: Y71F, продемонстрували зниження афінності зв'язування з TIGIT яванця приблизно в 2-3 рази. Таким чином, залишки каркаса VH: I47 і VL: Y71 були збережені в остаточній гуманізованій версії 7E7 під назвою h7E7.L5aH9a, для збереження зв'язування з TIGIT людини і яванця. З метою доведення каркаса, варіанти 15C8 h15C8.L1H3, h15C8.L1H9 і h15C8.L5H9, що містять заміну VH: I47W, продемонстрували зниження афінності зв'язування з TIGIT людини і яванця більш ніж у 100 разів, а варіанти h15C8.L3H1 і h15C8.L5H1, що містять заміну VL: Y71F, продемонстрували зниження афінності зв'язування з TIGIT людини і яванця приблизно в 2-3 рази. Крім того, інші варіанти, h15C8.L1H2, h15C8.L1H5 і h15C8.L1H7, що містять заміни VH: L37V, A67V і T71R відповідно, продемонстрували зниження афінності зв'язування з TIGIT людини приблизно в 2-3 рази. Таким чином, всі п'ять залишків каркаса VH: I47, L37, A67, T71 і VL: Y71 були збережені в остаточній гуманізованій версії 15C8 під назвою h15C8.L5aH9a, щоб зберегти зв'язування з TIGIT людини і яванця.

Таблиця 4

Коротка характеристика одержаних методом BIACORE™ показників афінності гуманізованих варіантів антитіл 6B2, 10A5, 7E7 та 15C8, одержаних від щурів СД (SD), по відношенню до TIGIT людини і яванця

xTIGIT mAb	TIGIT людини			TIGIT яванця		
	Kon (10 ⁵ M ⁻¹ s ⁻¹)	Koff (10 ⁻⁴ s ⁻¹)	KD (нМ)	Kon (10 ⁵ M ⁻¹ s ⁻¹)	Koff (10 ⁻⁴ s ⁻¹)	KD (нМ)
rat6B2	9,97	0,35	0,04	6,88	2,02	0,29
h6B2.L1H1	46,7	25,3	0,54	12,3	11,8	0,96
h6B2.L2H5	46,5	22,2	0,48	12,8	12,4	0,97
rat10A5	9,05	0,84	0,09	6,78	2,81	0,41
h10A5.L1H1	45,7	23,8	0,52	14,7	12,7	0,86
h10A5.L4H4	52,1	22,7	0,44	15,2	12,9	0,85
rat7E7	5,68	0,18	0,03	3,99	0,27	0,07
h7E7.L1H1	20,6	4,76	0,23	4,18	1,52	0,36
h7E7.L2H1	20,6	5,04	0,24	4,93	1,79	0,36
h7E7.L3H1	9,2	2,18	0,24	12,8	12,2	0,95
h7E7.L4H1	29,5	7,96	0,27	6,29	2,74	0,44
h7E7.L5H1	32,1	10,4	0,32	5,75	3,24	0,56
h7E7.L1H2	-	-	> 100	-	-	> 100
h7E7.L1H3	28,2	10,7	0,38	9,08	3,81	0,42
h7E7.L1H4	27,9	7,49	0,27	6,01	2,43	0,40
h7E7.L1H5	32,4	12,9	0,40	8,98	3,59	0,40
h7E7.L1H6	18,5	6,48	0,35	6,41	2,84	0,44
h7E7.L1H7	27,4	8,49	0,31	6,64	2,86	0,43
h7E7.L1H8	27,8	10,1	0,36	8,45	3,31	0,39
h7E7.L1H9	-	-	> 100	-	-	> 100
h7E7.L5H9	-	-	> 100	-	-	> 100
h7E7.L5aH9a	12,8	3,63	0,28	5,91	1,82	0,31
rat15C8	5,22	0,18	0,03	3,81	0,96	0,25
h15C8.L1H1	9,22	3,57	0,39	4,93	4,64	0,94
h15C8.L2H1	7,71	5,06	0,66	5,02	5,02	1,00

Продовження таблиці 4

h15C8.L3H1	6,31	5,33	0,84	3,36	5,88	1,75
h15C8.L4H1	9,55	6,11	0,64	4,85	5,59	1,15
h15C8.L5H1	6,74	5,62	0,83	2,81	7,52	2,68
h15C8.L1H2	10,4	10,7	1,03	3,82	8,06	2,1
h15C8.L1H3	-	-	> 100	-	-	> 100
h15C8.L1H4	8,41	4,98	0,59	5,32	5,58	1,05
h15C8.L1H5	7,98	5,67	0,71	4,84	5,58	1,15
h15C8.L1H6	13,8	7,56	0,55	6,63	5,56	0,84
h15C8.L1H7	6,1	5,97	0,98	2,19	2,06	0,94
h15C8.L1H8	6,2	3,81	0,61	2,91	1,19	0,41
h15C8.L1H9	-	-	> 100	-	-	> 100
h15C8.L5H9	-	-	> 100	-	-	> 100
h15C8.L5aH9a	11,2	4,21	0,38	5,96	6,13	1,03

Приклад 3. Дослідження зв'язування і блокування анти-TIGIT антитілами in vitro

А. Характеристика зв'язування анти-TIGIT антитіл in vitro

- 5 Одержані від ОМТ і СД (SD) анти-TIGIT антитіла охарактеризовані in vitro щодо їх здатності зв'язуватися з TIGIT і блокувати зв'язування рецептора поліовірусу (ПВР (PVR)) з TIGIT. Зв'язування з TIGIT людини і яванця досліджували методом BIACORE™, як описано вище, в контексті як одновалентної, так і двохвалентної афінності та в умовах порівняння з анти-TIGIT антитілом, одержаним від миші (1A5), і гібридним анти-TIGIT антитілом, одержаним від хом'яка (10A7, див., наприклад, патент США 2009/0258013, який включений до цього опису шляхом посилання в повному обсязі). Результати аналізу BIACORE™, наведені у Табл. 5, демонструють, що численні варіанти анти-TIGIT клонів, одержані від ОМТ, такі як 4.1D3.Q1E і 7.4A3.C96S.Q1E, і одержані від СД (SD) варіанти анти-TIGIT клонів здатні зв'язуватися як з TIGIT людини, так і з TIGIT яванця, в кожному випадку з високим і подібним ступенем афінності.
- 15 Такі властивості є бажаними для терапевтичних анти-TIGIT антитіл, оскільки вони дозволяють з легкістю проводити тестування на токсичність з використанням яванського макака (*Macaca fascicularis*) як неклінічного виду для вивчення токсичності. Додаткова перехресна реактивність клону 4.1D3.Q1E з кроликом може забезпечити додатковий вид для вивчення токсичності.

Таблиця 5

Аналіз методом BIACORE™ оптимізованих анти-TIGIT клонів, одержаних від ОМТ і СД (SD)

Джерело	Клон	Аналіз кінетики методом BIACORE			
		TIGIT людини	TIGIT яванця	TIGIT людини	TIGIT яванця
		Одновалентна афінність (нМ)		Двохвалентна афінність (нМ)	
Щур ОМТ	4.1A4.Q1.C96	4,9	2,6	0,31	0,035
	4.1A4.Q1E.C96	3,6	2,4		
	4.1A4.Q1E.C96S	29,4	12,6		
	4.1A4.Q1E.C96Y	>100	>100		
	4.1D3.Q1	0,61	3,4	≤ 0,019	0,36
	4.1D3.Q1E	0,57	3,2		
	7.4A3.Q1.C96	3,60	1,6	0,098	≤ 0,05

Продовження таблиці 5

	7.4A3.Q1E.C96	3,45	2,09		
	7.4A3.Q1E.C96S	2,97	2,02		
	7.4A3.Q1E.C96Y	98,1	35,5		
Щур (SD)	СД Гібридне 1.6B2	0,035	0,29	$\leq 0,027$	0,091
	h1.6B2.L1H1	0,54	0,96		
	Гібридне 1.10A5	0,093	0,41	$\leq 0,003$	0,013
	h1.10A5.L1H1	0,52	0,86		
	Гібридне 1.7E7	$\leq 0,018$	0,067	$\leq 0,004$	$\leq 0,009$
	h1.7E7.L1H1	0,33	0,51		
	Гібридне 1.15C8	0,034	0,25	$\leq 0,007$	$\leq 0,013$
	h1.15C8.L1H1	0,58	1,39		
Миша	h1A5.L2H8	5,76	> 500	0,26	7,77
Хом'як	c10A7 (до людського)	24		0,54	8,22
	c10A7 (до мишачого)	0,24			

Були проведені додаткові дослідження *in vitro* зв'язування клонів анти-TIGIT антитіл, одержаних від ОМТ і СД (SD). Одержані від ОМТ і СД (SD) анти-TIGIT клони тестували щодо зв'язування з TIGIT людини і яванця, експресованим на поверхні клітин ЯКХ (CHO), за допомогою аналізу СКАФ (FACS). Клітини ЯКХ (CHO) трансфікують повнорозмірним TIGIT людини (CHO-hTIGIT) або TIGIT яванського макака (CHO-cyTIGIT). Клітини ЯКХ (CHO), що експресують TIGIT, інкубують з кожним анти-TIGIT антитілом у вказаних концентраціях, а потім проводять виявлення за допомогою міченого ФІТЦ (FITC) анти-hlgG антитіла (див. Фіг. 1A) із застосуванням стандартних способів. Результати, наведені в Табл. 6 і на Фіг. 1B-1E, підтверджують результати аналізу методом BIACORE™, описані вище.

Одержані від ОМТ і СД (SD) анти-TIGIT клони додатково тестували щодо предмет зв'язування з первинними Т-клітинами людини за допомогою аналізу СКАФ (FACS). МКПК (PBMC) людини активують за допомогою зв'язаного з планшетом анти-CD3 (5 мкг/мл) і розчинного анти-CD28 (2 мкг/мл) протягом 2 днів, як описано у Yu et al. Nature Immunology. 10: 48-57, 2009, що включено до цього документу шляхом посилання в повному обсязі. Потім клітини промивають та інкубують з кожним анти-TIGIT антитілом у вказаних концентраціях, після чого проводять виявлення за допомогою міченого ФІТЦ (FITC) антитіла проти hlgG. Додатково, клітини фарбують анти-CD4, анти-CD8 і анти-CD25 (BD bioscience). CD4+ (CD25+CD4+) людини і CD8+ (CD25+CD8+) Т-клітини людини оцінюють щодо зв'язування з ними анти-TIGIT клонів за допомогою СКАФ (FACS). Всі зразки зчитують на приладах LSR-II або LSR-Fortessa (BD Biosciences) та аналізують із застосуванням програмного забезпечення FlowJo (Treestar). Як наведено у Табл. 6 і на Фіг. 2A-2D, клони продемонстрували приблизно еквівалентне зв'язування з їх цільовим TIGIT.

Коротка характеристика зв'язування оптимізованих анти-TIGIT клонів, одержаних від OMT і СД (SD), з CHO-TIGIT і Т-клітинами людини

Аналіз	10A7 (mu TIGIT) & 1A5 (hu TIGIT)	Клони OMT (hu TIGIT)	Клони СД (SD) (hu TIGIT)
Зв'язування с CHO-TIGIT (EC50)	10A7 0,54 нМ 1A5 0,14 нМ	4.1A4.C96S.Q1E 0,90 нМ 4.1D3.Q1E 1,04 нМ 7.4A3.C96S.Q1E 3,04 нМ	1,6B2 0,52 нМ 1,7E7 0,10 нМ
Зв'язування з Т-клітинами людини (EC50)	10A7 0,63 нМ 1A5 0,14 нМ	4.1A4.C96S.Q1E 0,38 нМ 4.1D3.Q1E 1,36 нМ 7.4A3.C96S.Q1E 2,63 нМ	1,6B2 0,09 нМ 1,7E7 0,11 нМ

В. Характеристика блокування анти-TIGIT антитілами in vitro

Одержані від OMT і СД (SD) клони анти-TIGIT антитіл додатково тестували щодо їх здатності блокувати взаємодію TIGIT-PVR і TIGIT-CD226.

Для перевірки здатності клонів блокувати взаємодію TIGIT-PVR застосовували блокуючий аналіз ІФА (ELISA). Якщо коротко, рекомбінантним гібридним білком PVR людини-Fc, гібридним білком PVR яванського макака-Fc або гібридним білком PVR миші-Fc в концентрації 4 мкг/мл у фосфатно-сольовому буфері, ФCB (PBS, pH 7,0) в кількості 25 мкл/лунку вкривають 384-лункові мікротитрувальні планшети Maxisorp (NUNC, Данія) та інкубують протягом ночі при 4 °C. Потім розчин для покриття відкидають, планшет блокують із застосуванням 0,5 % бичачого сироваткового альбуміну (BCA (BSA)) в ФCB (PBS) в кількості 80 мкл/лунку та інкубують з обережним перемішуванням протягом 1 години. Зразки для кривих титрування анти-TIGIT антитіл і контрольного ізо типу Fab розбавляють буфером аналізу (ФCB (PBS), 0,5 % BCA (BSA), 0,05 % Tween 20) із застосуванням 12 серійних 2,5-разових розведень (40000-1,7 нг/мл). До цих зразків для кривих титрування додають рівні об'єми TIGIT людини-AviFlag-біотину (1 мкг/мл), TIGIT яванця-AviFlag-біотину (150 нг/мл) або TIGIT миші-His (1 мкг/мл) та інкубують при кімнатній температурі протягом 1 години з обережним перемішуванням. Блокований планшет промивають 3х промивальним буфером (ФCB (PBS), 0,05 % Tween 20, pH 7,4) із застосуванням автоматичного пристрою для промивання мікропланшетів ELx405 (BioTek Instruments, Вермонт), додають суміш антитіла/ліганду-біотину або ліганду-His в кількості 25 мкл/лунку та інкубують протягом 1 години при кімнатній температурі з обережним перемішуванням. Далі планшет промивають 6х промивальним буфером і зв'язаний TIGIT людини-AviFlag-біотин, TIGIT яванця-AviFlag-біотин або TIGIT миші-His виявляють шляхом додавання 25 мкл/лунку кон'югованого з пероксидазою хрому стрептавідину (1: 10000, Amersham, Великобританія) або кон'югованого з пероксидазою хрому мишачого анти-His (1: 2500, Qiagen, Німеччина), розведених в буфері аналізу. Після інкубації протягом 30 хвилин або 1 години планшет промивають 6х промивальним буфером і додають 100 мкл/лунку субстрату 3,3', 5,5'-тетраметилбензидину (ТМБ (TMB)) (KPL, Inc., Гайтерсберг, штат Меріленд, США), щоб надати можливість проявитися кольору. Реакцію гасять додаванням 1 М фосфорної кислоти. Оптичну щільність реєструють на довжині хвилі 450 нм на зчитуючому пристрої для мікротитрувальних планшетів MULTISKAN ASCENT® (Thermo Labsystems, Гельсінкі, Фінляндія). На базі одержаних значень оптичної щільності на планшетах ІФА (ELISA) одержують криві залежності, а значення IC50 обчислюють із застосуванням програмного забезпечення Genedata Screener (Genedata, Швейцарія). Як проілюстровано на Фіг. 3А-3D нижче, вказані аналізи демонструють здатність 4.1D3.Q1E до перехресно реагування і блокування по відношенню до TIGIT людини і TIGIT яванця, що відрізняє 4.1D3.Q1E від анти-TIGIT антитіла, одержаного від хом'яка, 10A7, яке перехресно реагує з TIGIT миші, але не з TIGIT яванця. Дані вказують на те, що 4.1D3.Q1E більш активно блокує зв'язування TIGIT яванця з ПБР (PVR) яванця. Крім того, дані вказують на те, що 4.1D3.Q1E є більш активним блокатором зв'язування TIGIT людини з ПБР (PVR) людини, ніж клон анти-TIGIT антитіла 10A7, одержаний від хом'яка.

Дані дослідження були додатково валідовані в експериментах із блокування CHO-TIGIT ПБР (PVR), в яких клітини ЯКХ (CHO), що експресують TIGIT, інкубують з міченим PVR-Fc гібридним

білком в присутності анти-TIGIT антитіла або контрольного IgG1 людини (Фіг. 4A). Як наведено у Табл. 7 і на Фіг. 4B-4E, інкубація з 10 мкг/мл одержаного від ОМТ анти-TIGIT антитіла (Фіг. 4B і 4C) або одержаного від СД (SD) анти-TIGIT антитіла (Фіг. 4D і 4E) приводила до блокування зв'язування TIGIT-PVR як у разі huTIGIT-huPVR, так і в разі cyTIGIT-cyPVR, зі значеннями IC₅₀ в наномолярному і субнаномолярному діапазоні.

Для перевірки здатності клонів блокувати взаємодію TIGIT-CD226 застосовували резонансний перенос енергії флуоресценції з розрізненням в часі, РЧ-РПЕФ (TR-FRET). Спочатку, мічений SNAP (ST) CD226 з непереносними донорним і акцепторним флуорофорами експресують із введенням мітки за допомогою клітин CHO. ST-CD226 людини спільно експресують з міченим гемаглютиніном, ГА (HA), TIGIT, в присутності клонів одержаних від ОМТ і СД (SD) анти-TIGIT антитіл. Додавання кожного із тестованих клонів до культур клітин значно знижує здатність TIGIT і CD226 до зв'язування (Табл. 7). Одержані дані свідчать про те, що анти-TIGIT обробка ідентифікованими анти-TIGIT антитілами може обмежувати взаємодію TIGIT з CD226, вказуючи на те, що ці антитіла можуть бути сприятливими терапевтичними засобами на базі їх здатності активувати активність Т-клітин шляхом вивільнення опосередкованого TIGIT пригнічення активності CD226 і запобігання подальшому виснаженню CD8⁺ Т-клітин.

Таблиця 7

Коротка характеристика блокування TIGIT-ПВР (PVR) і блокування TIGIT-CD226 одержаними від ОМТ і СД (SD) оптимізованими анти-TIGIT клонами

Аналіз	10A7 (mu TIGIT) & 1A5 (hu TIGIT)	Клони ОМТ (hu TIGIT)	Клони СД (hu TIGIT)
Блокування TIGIT-PVR (IC ₅₀)	10A7 0,07 нМ 1A5 0,18 нМ	4.1A4.C96S.Q1E 0,14 нМ 4.1D3.Q1E 0,29 нМ 7.4A3.C96S.Q1E 0,38 нМ	1.6B2 0,08 нМ 1.7E7 0,04 нМ
Блокування TIGIT-CD226 РПЕФ (IC ₅₀)	10A7 17,6 нМ 1A5 13,7 нМ	4.1A4.C96S.Q1E 25,2 нМ 4.1D3.Q1E 45,0 нМ 7.4A3.C96S.Q1E 19,3 нМ	

Приклад 4. Фармакокінетична характеристика анти-TIGIT антитіл

Далі, фармакокінетичні (ФК (РК)) властивості одержаних від ОМТ і СД (SD) клонів анти-TIGIT антитіл були протестовані у яванського макака в порівнянні з одержаним від миші анти-TIGIT антитілом, що несе мутацію аглікозілювання N297G (1A5 N297G), і контрольним анти-gD антитілом. У цих експериментах концентрацію антитіл в сироватці яванського макака вимірюють протягом 28 днів після внутрішньовенного введення 10 мг/кг. Дослідження ФК (РК) показали, що одержаний від СД (SD) варіант h1.6B2 демонструє найшвидший кліренс, близько 20 мл/добу/кг (Фіг. 5A і 5B). Досліджуваний варіант 1A5 також демонструє швидкий кліренс, близько 15 мл/добу/кг (Фіг. 5A і 5B). На відміну від цих анти-TIGIT варіантів, досліджувані варіанти ОМТ (4.1D3.Q1E, 7.4A3.C96S.Q1E і 4.1A4.C96S.Q1E) демонструють кліренс близько 8-10 мл/добу/кг (Фіг. 5A і 5B), який знаходиться на верхньому кінці історично прийнятого діапазону для яванця близько 4-8 мл/добу/кг. ФК (РК) профілі варіантів ОМТ є подібними до контрольного анти-gD антитіла аж до д10, і в цей час опосередкований мішенню розподіл лікарського засобу (ОПРЛС (TMDD)) та/або ефекти антитерапевтичного антитіла (ATA (ATA)) відповідають теоретично оціненим.

Одержане від ОМТ анти-TIGIT антитіло 4.1D3, яке виявило сприятливі ФК (РК) властивості, додатково порівнювали з гуманізованим 10A7 (h10A7.K4G3) у 7-денному дослідженні ФК (РК). В цьому експерименті вісім самок яванського макака ділять на дві групи по чотири макака, причому перша група одержує h10A7.K4G3, а друга група одержує 4.1D3. Обидва анти-TIGIT антитіла вводять у дозі 10 мг/кг (об'єм дози 5 мл/кг, концентрація 2 мг/мл) шляхом повільної внутрішньовенної ін'єкції болюсу. Зразки крові (0,5 мл) відбирають через 0 год. (до введення дози), 0,25 години, 2 години, 8 годин, 1 день, 3 дні і 7 днів після введення у відповідності до наступних "вікон" збирання:

Точка часу після введення дози	"Вікно" збирання
від 0 до 15 хвилин	+/- 1 хвилини
від 16 до 30 хвилин	+/- 2 хвилини
від 31 до 45 хвилин	+/- 3 хвилини
від 46 до 60 хвилин	+/- 4 хвилини
від 61 хвилин до 2 годин	+/- 5 хвилини
від > 2 до 8 годин	+/-10 хвилин
від > 8 до 24 годин	+/- 20 хвилин

- із застосуванням сепараторних пробірок для розділення гелю-сироватки. Кров зберігають при температурі навколишнього середовища і дозволяють згортатися протягом щонайменше 20 хвилин до центрифугування. Зразки центрифугують (приблизно від 10 до 15 хвилин при близько 1500-2000 × g [сила], від 2 °C до 8 °C) в межах 1 години після відбору. Сироватку збирають в межах 30 хвилин після початку центрифугування і переносять до маркованих штрих-кодом пробірок з верхньою кришкою, що нагвинчується, місткістю 0,5 мл (каталог Thermofisher Scientific № 3744 або аналогічні). Зразок сироватки маркують номером тварини, видом, групою дози, днем збирання, видом зразка (тобто, ФК (PK) сироватка) і номерами досліджень. Потім зразки сироватки аналізують щодо концентрації h10A7.K4G3 або 4.1D3. Як проілюстровано на Фіг. 5C і 5D, дане дослідження ФК (PK) показало, що h10A7.K4G3 демонструє більш швидкий кліренс (нижчу площу під кривою, AUC), ніж 4.1D3, і що кліренс h10A7.K4G3 (> 9 мл/добу/кг) є вищим за рекомендований для вибору моноклональних антитіл у яванського макака. Оціночний кліренс базувався на даних з 0 по 7 день і обчислений Winnonlin із застосуванням некомпартментального аналізу, НКА (NCA).

Приклад 5. Молекулярний аналіз анти-TIGIT антитіл

- Клони одержаних від OMT (4.1D3, 7.4A3.C96S і 4.1A4.C96S) і одержаних від СД (SD) (h1.6B2.L1H1, h1.10A5.L1H1, h1.7E7.L1H1 і h1.15C8.L1H1) антитіл TIGIT додатково тестували в аналізах молекулярної оцінки (МО (MA)) щодо стабільних властивостей клітинної лінії. Якщо коротко, анти-TIGIT антитіла (1 мг/мл) тестують на стрес в хімічних умовах з 2,2-азобіс-(2-амідинопропан)-дигідрохлоридом, ААРГ (AAPH), молекулою невеликого розміру, що, як відомо, генерує вільні радикали, а також в умовах термічного стресу при різних значеннях pH (двотижневий тест термічного стресу при 40 °C і pH 5,5 або pH 7,4). Як наведено в Табл. 8 і 9 нижче, 4.1A4.C96S було визначено як нестабільне, оскільки демонструвало неприйнятне зниження інтенсивності основного піку і підвищене дезамідування у дослідженнях МО (MA). Аналогічно, h1.7E7.L1H1 і h1.15C8.L1H1 показали високе початкове дезамідування (> 30 %). З іншого боку, анти-TIGIT антитіла 4.1D3, 7.4A3.C96S, h1.6B2.L1H1 і h1.10A5.L1H1, як було знайдено, виявляють прийнятні властивості стабільності в дослідженнях МО (MA).

Таблиця 8

Коротка характеристика стабільності МО (МА) клонів анти-TIGIT антитіл, одержаних від ОМТ

	4.1A4.C96S	4.1D3	7.4A3.C96S
Стрес ААФГ	М у CDR-H1 стабільний W у CDR-H2 стабільний	W у CDR-H1 стабільний W у CDR-H2 стабільний W у CDR-L2 стабільний	М у CDR-H1 стабільний W у CDR-H2 стабільний
Термічний стрес pH 5,5 (2 тижні) Аналіз пептидної карти Об'ємний заряд РХ/МС ЖХ/МС	NY у CDR-H1 стабільний N(52)T у CDR-H2 стабільні N(54)T у CDR-H2 стабільні DY у CDR-H3 стабільний NS у CDR-L3 нестабільний - збільшення ступеню дезамідування на 15,7 %	DS у CDR-H1 стабільний NS у CDR-H1 стабільний DY у CDR-H2 стабільний DY у CDR-H3 стабільний NN у CDR-L1 стабільний	N(52)T у CDR-H2 стабільний N(54)T у CDR-H2 стабільний NP у CDR-H2 стабільний DS у CDR-H3 стабільний
	Втрата мономеру (0,5 %) є прийнятною Зниження основного піку (16,7 %) є неприйнятним Значення маси відповідають очікуваним	Втрата мономеру (0,6 %) є прийнятною Зниження основного піку (11,1 %) є прийнятним Значення маси відповідають очікуваним	Втрата мономеру (1,1 %) є прийнятною Зниження основного піку (7,3 %) є прийнятним Значення маси відповідають очікуваним
Термічний стрес pH 7,4 (2 тижні) Аналіз пептидної карти Об'ємний заряд РХ/МС ЖХ/МС	NY у CDR-H1 без змін N(52)T & N(54)T у CDR-H2 без змін DY у CDR-H3 без змін NS у CDR-L3 збільшення ступеню дезамідування на 9,4 %	DS CDR-H1 збільшення ступеню ізомеризації на 2,8 % NS CDR-H1 без змін DY у CDR-H2 без змін DY у CDR-H3 збільшення ступеню ізомеризації на 2,7 % NN у CDR-L1 без змін	N(52)T у CDR-H2 без змін N(54)T у CDR-H2 без змін NP у CDR-H2 без змін DS у CDR-H3 без змін
	Втрата мономеру (2,7 %) Зниження основного піку (21,9 %) Значення маси відповідають очікуваним	Втрата мономеру (0,9 %) Зниження основного піку (27,7 %) Значення маси відповідають очікуваним	Втрата мономеру (2,3 %) Зниження основного піку (15,7 %) Значення маси відповідають очікуваним

Таблиця 9-1

Коротка характеристика стабільності МО (МА) клонів анти-TIGIT антитіл, одержаних від СД (SD)

	h7E7.L1H1	h15C8.L1H1
Стрес ААФГ	"Гарячі точки" окиснення відсутні	"Гарячі точки" окиснення відсутні
Термічний стрес pH 5,5 (2 тижні) Аналіз пептидної карти Об'ємний заряд РХ/МС ЖХ/МС	DP у CDR-H2 стабільний NG у CDR-H2 стабільний NT у CDR-L2 стабільний NL у CDR-L2 стабільний N(92)N(93)G у CDR-L3 стабільний - високий початковий рівень дезамідування 31,5 %	DP у CDR-H2 стабільний NG у CDR-H2 стабільний DG у CDR-H3 нестабільний (підвищення ступеню ізомеризації на 14,7 % (от 3,8 % до 18,5 %) N(92)N(93)G у CDR-L3 стабільний - високий початковий рівень дезамідування 39,2 %
	Втрата мономеру (0,8 %) є прийнятною Зниження основного піку (6,2 %) є прийнятним Значення маси відповідають очікуваним	Втрата мономеру (0,9 %) є прийнятною Зниження основного піку (10,3 %) є прийнятним Значення маси відповідають очікуваним
Термічний стрес pH 7,4 (2 тижні) Аналіз пептидної карти Об'ємний заряд РХ/МС ЖХ/МС	DP у CDR-H2 без змін NG у CDR-H2 підвищення ступеню дезамідування на 1,9 % NT у CDR-L2 без змін NL у CDR-L2 без змін N(92)N(93)G у CDR-L3 - підвищення ступеню дезамідування на 24,3 %	DP у CDR-H2 без змін NG у CDR-H2 підвищення ступеню дезамідування на 3,3 % DG у CDR-H3 підвищення ступеню ізомеризації на 7,0 % N(92)N(93)G у CDR-L3 - підвищення ступеню дезамідування на 15,5 %
	Втрата мономеру (0,5 %) Зниження основного піку (16,7 %) Значення маси відповідають очікуваним	Втрата мономеру (1,5 %) Зниження основного піку (25,2 %) Значення маси відповідають очікуваним

Таблиця 9-2

Коротка характеристика стабільності МО (МА) клонів анти-TIGIT антитіл, одержаних від СД (SD)

	h6B2.L1H1	h10A5.L1H1
Стрес ААФГ	М у CDR-H1 стабільний W(52) и W(53) у CDR-H2 стабільні W у CDR-H3 стабільний	М у CDR-H1 стабільний W(52) и W(53) у CDR-H2 стабільні W у CDR-H3 стабільний
Термічний стрес рН 5,5 (2 тижні) Аналіз пептидної карти Об'ємний заряд РХ/МС ЖХ/МС	NG у CDR-H2 стабільний NT у CDR-H2 стабільний NP у CDR-H2 стабільний NS у CDR-L3 стабільний	NG у CDR-H2 стабільний NT у CDR-H2 стабільний NP у CDR-H2 стабільний NS у CDR-L3 стабільний
	Втрата мономеру (0,2 %) є прийнятною Зниження основного піку (2,4 %) є прийнятним Значення маси відповідають очікуваням	Втрата мономеру (0,1 %) є прийнятною Зниження основного піку (6,3 %) є прийнятним Значення маси відповідають очікуваням
Термічний стрес рН 7,4 (2 тижні) Аналіз пептидної карти Об'ємний заряд РХ/МС ЖХ/МС	NG у CDR-H2 підвищення ступеню дезамідування на 5,6 % NT у CDR-H2 без змін NP у CDR-H2 без змін NS у CDR-L3 без змін	NG у CDR-H2 підвищення ступеню дезамідування на 4,8 % NT у CDR-H2 без змін NP у CDR-H2 без змін NS у CDR-L3 без змін
	Втрата мономеру (0,0 %) Зниження основного піку (9,9 %) Значення маси відповідають очікуваням	Втрата мономеру (0,2 %) Зниження основного піку (14,5 %) Значення маси відповідають очікуваням

Приклад 6. Структурне і функціональне відображення епітопів TIGIT

Для кращого розуміння того, яким чином анти-TIGIT антитіло 4.1D3 і його оптимізовані варіанти (наприклад, 4.1D3.Q1E), зокрема, здатні до типової перехресної реактивності (наприклад, перехресної реактивності між TIGIT людини, яванця і кролика) з високою афінністю до TIGIT і надійним блокуванням взаємодії/функції TIGIT-PVR і TIGIT-CD226 при виявленні властивостей фармакокінетики і молекулярної оцінки, визначали кристалічну структуру 4.1D3 в комплексі TIGIT і порівнювали з кристалічною структурою мишачого анти-TIGIT антитіла 1A5, зв'язаного з TIGIT, та одержаного від хом'яка анти-TIGIT антитіла 10A7, зв'язаного з TIGIT, як детально описано нижче. Крім того, для ідентифікації функціональних залишків епітопа проводили експерименти з аналізу інтерфейсу TIGIT методом аланінскануючого мутагенезу.

А. Експресія, очищення і кристалізація TIGIT і Fab

Залишки TIGIT людини 23-128 експресують і очищують, як було описано (див., наприклад, Stengel et al. PNAS. 109 (14): 5399-5404, 2012). Фрагменти Fab, включаючи важкі і легкі ланцюги, експресують і очищують, як було описано (див., наприклад, Carter et al. Nat. Biotech. 1992). Очищений TIGIT змішують з надлишком очищеного фрагменту Fab для одержання комплексу TIGIT/Fab. Далі комплекс додатково очищають на ексклюзійній колонці, врівноважений буферизованим ГЕПЕС (HEPES) фізіологічним розчином (10 мМ ГЕПЕС (HEPES), рН 7,5 і 100

мМ NaCl), щоб одержати зразок, який містить тільки комплекси TIGIT і Fab 1:1. Потім кожен із комплексів TIGIT/Fab концентрують для кристалізації і обробляють стандартними методиками високопродуктивного скринінгу кристалізацією з дифузією пари. Для комплексу TIGIT/10A7 зразок концентрують до близько 25 мг/мл, причому було виявлено, що він кристалізується в 0,1 М ГЕПЕС (HEPES), pH 7,5, 20 % ПЕГ (PEG) 4000 і 10 % ізопропанолу. Для комплексу TIGIT/1A5 зразок концентрують до близько 25 мг/мл, причому було виявлено, що він кристалізується в 0,05 М ГЕПЕС (HEPES), pH 7,0, 12 % ПЕГ (PEG) 3350 і 1 % Tryptone. Для комплексу TIGIT/4.1D3 зразок концентрують до близько 25 мг/мл, і було виявлено, що він кристалізується в 0,1 М ГЕПЕС (HEPES), pH 7,5, 10 % ПЕГ (PEG) 6000 і 5 % МПД (MPD). Кристали піддають кріозахисту гліцерином і миттєво заморожують в рідкому нітрогені у відповідності до стандартних методів збирання даних.

В. Збирання даних та віднесення структури

Дані рентгеноструктурного аналізу одержують в умовах кріоохолодження при 100 Кельвінів із застосуванням різних рентгенівських променів синхротронного випромінювання на Advanced Light Source (Берклі, штат Каліфорнія) або Advanced Photon Source (Аргон, штат Іллінойс) у відповідності до стандартних способів. Дифракційні зображення обробляють і зменшують із застосуванням програмного забезпечення для обробки даних XDS (Kabsch W. Acta Cryst. D. Biol. Crystl. 66: 125-132, 2010). Моделі генерують із застосуванням методу молекулярної заміни за допомогою програми PHASER. Як пошукові моделі застосовують структуру TIGIT людини (Stengel et. Al. PNAS 2012) і модель антитіла Fab (Nakamura et. Al. Cell Host Microbe 2013). Структури проходять ітеративні раунди настройки моделі із застосуванням програми COOT і уточнення із застосуванням програм Phenix.refine або BUSTER. Моделі уточнені до прийнятних значень R і вільного R та статистики Рамачандрана (обчислені за Molprobity). Статистичні дані обробки і уточнення наведені у Табл. 10.

Таблиця 10

Статистика збирання і уточнення даних

Статистика збирання і уточнення даних			
	TIGIT/10A7	TIGIT/1A5	TIGIT/1D3
Збирання даних	ALS 5.0.2	APS LS-CAT 21ID-G	APS 22ID-D
Просторова група	P21	P1	I4
Розміри комірки			
a, b, c (Å)	53,02, 76,99, 136,91	74,60, 88,78, 101,10	212,39, 212,39, 66,52
α, β, γ (°)	90, 90,6, 90	101,1, 101,5, 110,5	90, 90, 90
Розрізнення (Å)	136,90-1,84 (1,94-1,84)*	81,11-2,77 (2,92-2,77)*	106,19-1,91 (2,01-1,91)*
R_{sym} або R_{merge}	0,063 (0,512)	0,062 (0,558)	0,089 (0,973)
$I/\sigma I$	12,7 (2,4)	12,1 (2,3)	12,8 (1,8)
Повнота (%)	96,4 (95,7)	97,8 (97,1)	93,8 (69,3)
Надлишок	3,8 (3,8)	2,2 (2,1)	7,4 (6,6)
Уточнення			
Розрізнення (Å)	136,9-1,85	81,11-2,77	27,96-1,91
К-сть зображень	90418	58936	107910
$R_{\text{work}} / R_{\text{tree}}$	17,8/21,8 %	19,9/27,1 %	18,6/21,6 %
Відхилення сер. квадр.			
Довжина зв'язків (Å)	0,010	0,010	0,010
Кути зв'язків (°)	1,16	1,26	1,13
Рамачандран			
Найбільш сприятливий	97,0 %	91,2 %	97,4 %
Відхилений	0,3 %	1,4 %	0,1 %

* Значення в дужках відносяться до оболонки з найвищим розрізненням

С. Структура 4.1D3, зв'язаного з TIGIT людини

Комплекс 4.1D3 Fab з TIGIT кристалізувався у просторової групі I4 з двома комплексами в асиметричному блоці і дифракцією до 1,91 Å. Накладення двох окремих комплексів в асиметричному блоці показує тільки незначні варіації розміщення основного ланцюга між
 5 окремими копіями. Структура 4.1D3, зв'язаного з TIGIT людини (Фіг. 6A), показує, що 4.1D3 стерично перешкоджає зв'язуванню з ПБР (PVR) (Фіг. 6B і 6C). Площа прихованої поверхні між 4.1D3 і TIGIT становить близько 1630Å². Взаємодія з легкими ланцюгами 4.1D3 групується навколо залишків TIGIT 77-82, причому CDR L1 Tyr27d і CDR L3 Tyr92, Ser93, Thr94 і Phe96, вступають в контакт із залишками TIGIT Ile77, Pro79, Ser80 і Lys82. CDR L2 не вступає в контакт
 10 з TIGIT. Взаємодія з важкими ланцюгами 4.1D3 в основному опосередковується CDR H2 і H3 і забезпечує більш широкий контакт з TIGIT. 4.1D3 CDR H1 Asn32 вступає в контакт з TIGIT Leu73. 4.1D3 CDR H2 Tyr52, Arg52b, Phe53, Lys54, Tyr56 і Asp58 вступають в контакт із залишками TIGIT Thr55, Gln56, Asn58, Glu60, Asp63, Gln64, Leu65, Ile68, Asn70, Ser80 і His111. Залишки 4.1D3 CDR H3 Tyr99, Asp100, Leu100a Leu100b і Ala100c вступають в контакт із
 15 залишками TIGIT Leu65, Ala67, Ile68, Leu73, His76, Ile77, Ser78, Pro79 і Lys82. 4.1D3 взаємодіє з TIGIT, використовуючи комбінацію неполярних і полярних взаємодій. Залишок легкого ланцюга CDR L3 Thr94 утворює полярні контакти з TIGIT Pro79 і Ser80. Залишки важкого ланцюга CDR H2 Arg52b і Tyr56 утворюють гідрогенові зв'язки із залишками TIGIT Asn58 і Glu60. Залишок важкого ланцюга CDR H3 Leu100a утворює гідрогеновий зв'язок із TIGIT His76. Залишок CDR H2
 20 Lys54 і залишок CDR H3 Asp100 важкого ланцюга утворюють сольові містки із залишками TIGIT Glu60 і Lys82, відповідно. Додатково див. Фіг. 6D і 6E.

Базуючись на кристалічній структурі комплексу 4.1D3/TIGIT, визначені залишки TIGIT, з якими контактує 4.1D3 (тобто, залишки епітопа TIGIT, з якими зв'язується 4.1D3) і залишки 4.1D3, з якими вступає в контакт TIGIT (тобто, були визначені залишки паратопа 4.1D3, що
 25 вступають в контакт з TIGIT). У Табл. 11 і 12 нижче наведені залишки TIGIT і залишки легкого або важкого ланцюга 4.1D3, з якими вони вступають в контакт, за остаточною оцінкою із застосуванням жорсткості контактної відстані 3,7 Å, точки, в якій сили ван-дер-ваальсівських (неполярних) взаємодій є максимальними.

30

Таблиця 11

Залишки епітопа TIGIT і
 відповідні залишки паратопа
 на легкому ланцюгу 4.1D3

TIGIT		Легкий ланцюг 4.1D3	
Ile	77	Tyr	27d
Pro	79	Tyr	92
		Ser	93
		Thr	94
Ser	80	Thr	94
Lys	82	Tyr	27d

Таблиця 12

Залишки епітопа TIGIT і
відповідні залишки паратопа
на важкому ланцюгу 4.1D3

TIGIT		Важкий ланцюг 4.1D3	
Thr	55	Phe	53
Gln	56	Phe	53
Asn	58	Arg	52b
		Tyr	56
Glu	60	Lys	54
		Tyr	56
Leu	65	Leu	100b
Ile	68	Leu	100a
Leu	73	Leu	100a
His	76	Tyr	99
		Asp	100
		Leu	100a
		Leu	100b
Ser	78	Leu	100b
Pro	79	Leu	100b
Ser	80	Asp	58
Lys	82	Asp	100
His	111	Phe	53

Додатково проведено аланінове сканування інтерфейсу TIGIT людини з аланіновими мутаціями залишків TIGIT, здійсненими для Gln53, Gln56, Glu60, Leu65, Ile68, Asn70, Leu73, His76, His111, Tyr113 і Thr117. Зазначені мутанти, поряд з диким типом, тестували щодо зв'язування з Fab фрагментом 4.1D3. В цьому експерименті мутація залишків TIGIT Glu60, Leu65 і Ile68 зменшувала зв'язування з 4.1D3 більш ніж у 10 разів (Фіг. 7A, 7B і 7E). Мутація залишків TIGIT Gln56, Asn70, Leu73, His111 і Tyr113 зменшувала зв'язування з 4.1D3 в межах від 1 до 10 разів (Фіг. 7A, 7B і 7E). Мутація TIGIT Gln53, His76 і Thr117 не впливала на зв'язування з 4.1D3 (Фіг. 7A, 7B і 7E). Проведений аналіз узгоджується з аналізом кристалічної структури, причому виявлено, що залишки TIGIT, які найбільш схильні до зв'язування з 4.1D3, взаємодіють з 4.1D3 в структурі.

D. Структура 1A5, зв'язаного з TIGIT людини

Комплекс 1A5 Fab з TIGIT кристалізувався у просторовій групі P1 з чотирма комплексами в асиметричному блоці і дифракцією до 2,77 Å. Накладення чотирьох окремих комплексів в асиметричному блоці показує тільки незначні варіації розташування основних ланцюгів між окремими копіями. Структура 1A5, зв'язаного з TIGIT людини (Фіг. 8), показує, що 1A5 стерично перешкоджає зв'язуванню з ПБР (PVR), але епітоп на TIGIT людини, з яким зв'язується 1A5, не є ідентичним епітопу 4.1D3 (Фіг. 9). Площа прихованої поверхні між 1A5 і TIGIT становить близько 1715 Å². Взаємодія легкого ланцюга 1A5 з TIGIT в основному групується між залишками 109 та 119 з одним зовнішнім контактом із Glu60. Легкий ланцюг 1A5 CDR L1 містить єдиний контактуючий залишок Trp32, який вступає в контакт із залишками TIGIT Ile109, Thr117 і Thr119. Залишок 1A5 CDR L2 Lys50 вступає в контакт з TIGIT Glu60. Залишки 1A5 CDR L3 Gly91, Gln92, Ser93 і Tyr94 вступають в контакт із залишками TIGIT Thr112, Tyr113, Pro114, Asp115, Gly116 і Thr117. У разі важкого ланцюга 10A7 залишки CDR H1 Thr30 і Asp31 вступають в контакт із залишком TIGIT Leu73. Залишки 10A7 CDR H2 Tyr52, Val53, Ser54, Tyr58 і Tyr59 вступають в

контакт із залишками TIGIT Gln53, Thr55, Asp72, Leu73 і Tyr113. 10A7 CDR H3 Phe97, Arg98, Pro100 і Trp100a вступають в контакт із залишками TIGIT Gln56, Asn58, Glu60, Asp63, Gln64, Leu65, Ile68, Leu73, His76 і His111. Контакти між 1A5 і TIGIT мають в основному неполярний характер, причому двома винятками є гідрогеновий зв'язок між залишком 1A5 CDR H2 Ser54 і залишком TIGIT Asp72 і сольовий місток між залишком 1A5 CDR H3 Arg98 і залишком TIGIT Glu60.

На базі кристалічної структури комплексу 1A5/TIGIT визначені залишки TIGIT, з якими вступає в контакт 1A5 (тобто, залишки епітопа TIGIT, з якими зв'язується 1A5), і залишки 1A5, з якими вступає в контакт TIGIT (тобто, залишки паратопа 1A5, з якими зв'язується TIGIT). У Табл. 13 і 14 нижче наведені залишки TIGIT і залишки легкого або важкого ланцюга 1A5, з якими вони вступають в контакт, за остаточною оцінкою із застосуванням жорсткості контактної відстані 3,7 Å, в точці, в якій сили ван-дер-ваальсівських взаємодій (неполярних) є максимальними.

Таблиця 13

Залишки епітопа TIGIT і
відповідні залишки паратопа
на легкому ланцюгу 1A5

TIGIT		Легкий ланцюг 1A5	
Thr	112	Tyr	94
Tyr	113	Tyr	94
Pro	114	Tyr	94
Gly	116	Gln	92
Thr	117	Trp	32
		Gly	91
		Gln	92

Таблиця 14

Залишки епітопа TIGIT і
відповідні залишки паратопа
на важкому ланцюгу 1A5

TIGIT		Важкий ланцюг 1A5	
Gln	53	Tyr	58
Thr	55	Tyr	52
		Tyr	58
Gln	56	Phe	97
		Arg	98
		Pro	100
Asn	58	Arg	98
Glu	60	Arg	98
Leu	65	Arg	98
Asp	72	Tyr	52
		Val	53
		Ser	54
Leu	73	Thr	30
		Asp	31

Tyr	113	Tyr	58
		Tyr	59

Додатково проведено аланінове сканування інтерфейсу TIGIT з аланіновими мутаціями залишків TIGIT для Gln53, Gln56, Glu60, Leu65, Ile68, Asn70, Leu73, His76, His111, Tyr113 і Thr117. Вказані мутанти поряд з диким типом були протестовані щодо зв'язування з Fab фрагментом 1A5. В цьому експерименті мутація залишків TIGIT Gln56, Glu60, Leu65, Ile68 і Tyr113 зменшувала зв'язування c1A5 більш ніж у 10 разів (Фіг. 7A, 7B і 7D). Мутація залишків TIGIT Leu73, His76, Asn70, His111 і Thr117 зменшувала зв'язування з 1A5 в межах від 1 до 10 разів (Фіг. 7A, 7B і 7D). Тільки мутація TIGIT Gln53 не впливала на зв'язування c1A5 (Фіг. 7A, 7B і 7D). Проведений аналіз узгоджується з аналізом кристалічної структури, причому виявлено, що залишки TIGIT, які найбільш схильні до зв'язування з 1A5, взаємодіють з 1A5 в структурі.

Е. Структура 10A7, зв'язаного з TIGIT людини

Комплекс 10A7 Fab/TIGIT кристалізувався у просторовій групі P21 з двома комплексами 10A7/TIGIT в асиметричному блоці і дифракцією до 1,85 Å. Накладення двох комплексів показує тільки незначні варіації розміщення основного ланцюгу як для TIGIT, так і для 10A7. Структура 10A7, зв'язаного з TIGIT людини (Фіг. 10A), показує, що 10A7 стерично перешкоджає зв'язуванню з ПБР (PVR) (Фіг. 10B), але епітоп на TIGIT людини, з яким зв'язується 10A7, не є ідентичним епітопу для 4.1D3 або 1A5 (Фіг. 9). Площа прихованої поверхні між 10A7 і TIGIT становить близько 1420 Å². Залишки TIGIT, що вступають в контакт, згруповані між Leu65 і Ile77, із двома зовнішніми контактами 10A7 CDR з TIGIT Gln56 і Pro87. Легкий ланцюг CDR L1 містить вставку розміром шість амінокислот і використовує залишки Tyr27d, Gly27f, Val28, Lys29 і Leu32 для встановлення контактів із залишками TIGIT Gln56, Leu65, Ile68, Asn70, Leu73, His76, Ser78, Ile77 і Pro79. CDR L2 встановлює тільки два контакти через Tyr50 і Ile53 з TIGIT His76, Ile77 і Pro79. CDR L3 Gly91, Ile92, Asn93 і Asn94 вступають в контакт із залишками TIGIT Asp72, Leu73 і His76. У разі CDR важкого ланцюга залишки H1 не зв'язуються з TIGIT. У разі CDR H2 Phe50 і Arg52 вступають в контакт з Asn70, Ala71, Asp72, Leu73 і Gly74. У разі CDR H3 залишки Arg95, Leu97, Gly98, His99 і Asn100 вступають в контакт із залишками TIGIT Leu73, Gly74, Trp75, His76, Ile77 і Pro87. В цілому, взаємодія між легким ланцюгом 10A7 і TIGIT була в основному гідрофобною за своєю природою, з одним контактом у вигляді гідрогенового зв'язку між гідроксильною групою CDR L2 Tyr50 і карбонілом основного ланцюга Ile77. У разі важкого ланцюга 10A7 полярні контакти знайдені між Arg52 і карбонільними групами основного ланцюга TIGIT Ala71 і Asp72, а також між Arg95 і карбонільними групами основного ланцюга Gly74 і Trp75.

Базуючись на кристалічній структурі комплексу 10A7/TIGIT, визначені залишки TIGIT, з якими вступають в контакт 10A7 (тобто, залишки епітопа TIGIT, з якими зв'язується 10A7), і залишки 10A7, з якими вступає в контакт TIGIT (тобто, залишки паратопа 10A7, з якими зв'язується TIGIT). У Табл. 15 і 16 нижче наведені залишки TIGIT і залишки легкого або важкого ланцюга 10A7, з якими вони вступають в контакт, за остаточною оцінкою із застосуванням жорсткості контактної відстані 3,7 Å, в точці, в якій сили ван-дер-ваальсівських взаємодій (неполярних) є максимальними.

Таблиця 15

Залишки епітопа TIGIT і
відповідні залишки паратопа
на легкому ланцюгу 10A7

TIGIT		Легкий ланцюг 10A7	
Asp	72	Asn	94
Leu	73	Gly	91
		Ile	92
His	76	Tyr	27d
		Leu	32
		Tyr	50
Ile	77	Tyr	50
Pro	79	Glu	30
		Tyr	50
		Ile	53

Таблиця 16

Залишки епітопа TIGIT
і відповідні залишки
паратопа на важкому
ланцюгу 10A7

TIGIT		Важкий ланцюг 10A7	
Ala	71	Arg	52
		Phe	58
Asp	72	Arg	52
Leu	73	Arg	52
		Arg	95
		Asn	100
Gly	74	Arg	52
Trp	75	Arg	95
		Leu	97
		Gly	98
		His	99
His	76	Gly	98
		Asn	100
Ile	77	Gly	98
Pro	87	Leu	97

5 Додатково проведено аланінове сканування інтерфейсу TIGIT з аланіновими мутаціями залишків TIGIT для Gln53, Gln56, Glu60, Leu65, Ile68, Asn70, Leu73, His76, His111, Tyr113 і Thr117. Зазначені мутанти, поряд з диким типом, тестували щодо зв'язування з Fab фрагментом 10A7. В цьому експерименті тільки мутації Leu73Ala і His76Ala впливали на зв'язування з 10A7 більш ніж у 10 разів (Фіг. 7A-7C). Мутація інших наведених залишків не впливала суттєво на

зв'язування з 10A7 (Фіг. 7A-7C). Це узгоджується з кристалічною структурою 10A7, зв'язаного з TIGIT, у якій Leu73 і His76 були виявлені безпосередньо в епітопі, з яким зв'язується 10A7.

Ф. Анти-TIGIT антитіла 4.1D3, 1A5 і 10A7 розпізнають TIGIT на унікальних епітопах

Структурні дослідження, описані вище, показують, що три анти-TIGIT антитіла 4.1D3, 1A5 і 10A7 розпізнають TIGIT на унікальних епітопах, що може пояснити їх різні функціональні властивості і характеристики. Як наведено в Табл. 17 нижче, наприклад, 4.1D3 зв'язується з TIGIT на залишках Ser78, Ser80 і Lys82, що не зв'язуються ані з 1A5, ані з 10A7 антитілами. На Фіг. 11 зображена структурна інтерпретація, яка зображує, що залишки Ser78, Ser80 і Lys82 TIGIT вступають в тісний контакт з 4.1D3, але не з 1A5 або 10A7.

Таблиця 17

Залишки епітопа TIGIT в межах 3,7 Å для анти-TIGIT антитіл 4.1D3, 1A5 і 10A7

4.1D3	1A5	10A7
	53	
55	55	
56	56	
58	58	
60	60	
65	65	
68		
		71
	72	72
73	73	73
		74
		75
76		76
77		77
78		
79		79
80		
82		
		87
111		
	112	
	113	
	114	
	116	
	117	

Приклад 7. Характеристика експресії TIGIT, PD-1 і CD226 на імунних клітинах

Далі ми охарактеризували експресію TIGIT, PD-1 і CD226 на CD4⁺ і CD8⁺ Т-клітинах із зразків кісткового мозку множинної мієломи (ММ) із застосуванням кольорової протокової цитометрії. Клітини були виділені із замороженого кісткового мозку, витягнутого у пацієнтів з ММ (n=10). Від двох пацієнтів з ММ були одержані зразки при постановці діагнозу, і знову після ремісії. Заморожений кістковий мозок здорових донорів використовували як контроль (n=8). У цих експериментах зразки кісткового мозку фарбували наступними флуоресцентно кон'югованими моноклональними антитілами: BV605 (PD-1), Alexa Fluor 488 (FoxP3), PE-DNAM-

1 (CD226), PE-Cy7 (CD45), BUV737 (CD8), PerCP-eF710 (CD4), АПК (APC) (TIGIT), Діамантовий фіолетовий 421 (NKp46), Діамантовий фіолетовий 421 (CD56), Діамантовий фіолетовий 510 (CD3), Діамантовий фіолетовий 510 (CD38), PE-Cy7 (CD319), PE (CD19) і LIVE/DEAD FixableNear-IR фарбник мертвих клітин (Life Technologies, ThermoFisher).

5 Було показано, що TIGIT, PD-1 і CD226 високою мірою експресуються на CD4+ і CD8+ Т-клітинах, одержаних з кісткового мозку пацієнтів з ММ, в порівнянні з CD4+ і CD8+ Т-клітинами, одержаними з периферичної крові здорових пацієнтів (Фіг. 12). CD4+ і CD8+ Т-клітини, одержані з кісткового мозку пацієнтів з ММ, також були визначені як такі, що спільно експресують TIGIT і PD-1 (Фіг. 13). З огляду на цю картину експресії, анти-TIGIT антитіла за винаходом є
10 придатними для лікування пацієнтів із пов'язаним з імунною системою захворюванням або раком (наприклад, мієломою, наприклад, ММ) у вигляді монотерапії або в поєднанні з додатковим терапевтичним агентом, таким як антагоніст зв'язування осі PD-1 (наприклад, антагоніст зв'язування PD-L1, наприклад, антитіло проти PD-L1, наприклад, MPDL3280A (атезолізумаб)).

15 Інші варіанти реалізації винаходу

Хоча вищевикладений винахід було описано більш детально шляхом ілюстрації та прикладів з метою ясності розуміння, опис і приклади не слід інтерпретувати як обмежуючі об'єм винаходу. Необхідно розуміти, що різні інші варіанти реалізації винаходу можуть бути здійснені на практиці з урахуванням загального опису, наведеного вище. Вміст всієї патентної
20 та наукової літератури, процитованої в цьому документі, включено шляхом посилання в повному обсязі.

ПЕРЕЛІК ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

25 <110> Genentech, Inc.

F. Hoffmann-La Roche AG

<120> АНТИ-TIGIT АНТИТІЛА І СПОСОБИ ЗАСТОСУВАННЯ

30 <130> 50474-120WO3

<150> US 62/369,299

<151> 2016-08-01

35 <150> US 62/233,230

<151> 2015-09-25

<160> 354

40 <170> PatentIn версія 3.5

<210> 1

<211> 7

<212> Білок

45 <213> Homo sapiens

<400> 1

Ser Asn Ser Ala Ala Trp Asn

50 1 5

<210> 2

<211> 18

<212> Білок

<213> Homo sapiens

<400> 2

5

Lys Thr Tyr Tyr Arg Phe Lys Trp Tyr Ser Asp Tyr Ala Val Ser Val

1 5 10 15

10 Lys Gly

<210> 3

15 <211> 14

<212> Білок

<213> Homo sapiens

<400> 3

20

Glu Ser Thr Thr Tyr Asp Leu Leu Ala Gly Pro Phe Asp Tyr

1 5 10

25 <210> 4

<211> 17

<212> Білок

<213> Homo sapiens

30 <400> 4

Lys Ser Ser Gln Thr Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Lys Tyr Leu

1 5 10 15

35

Ala

40 <210> 5

<211> 7

<212> Білок

<213> Homo sapiens

45 <400> 5

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser

1 5

50

<210> 6
 <211> 9
 <212> Білок
 <213> Homo sapiens
 5
 <400> 6

 Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Phe Thr
 1 5
 10

 <210> 7
 <211> 23
 <212> Білок
 15 <213> Homo sapiens

 <400> 7

 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 20 1 5 10 15

 Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys
 20
 25

 <210> 8
 <211> 15
 <212> Білок
 30 <213> Homo sapiens

 <400> 8

 Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Asn Leu Leu Ile Tyr
 35 1 5 10 15

 <210> 9
 <211> 32
 40 <212> Білок
 <213> Homo sapiens

 <400> 9

 Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 45 1 5 10 15

 Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys
 50 20 25 30

<210> 10
 <211> 10
 5 <212> Білок
 <213> Homo sapiens

 <400> 10

 10 Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 1 5 10

 <210> 11
 15 <211> 30
 <212> Білок
 <213> Homo sapiens

 20 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> Хаа являє собою Gln або Glu

 25 <400> 11

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

 30 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser
 20 25 30

 35 <210> 12
 <211> 14
 <212> Білок
 <213> Homo sapiens

 40 <400> 12

 Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu Trp Leu Gly
 1 5 10

 45 <210> 13
 <211> 32
 <212> Білок
 <213> Homo sapiens

 50

<400> 13

Arg Ile Thr Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Gln
1 5 10 15

5

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

10

<210> 14

<211> 11

<212> Білок

<213> Homo sapiens

15

<400> 14

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

20

<210> 15

<211> 30

<212> Білок

25 <213> Homo sapiens

<400> 15

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
30 1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser
20 25 30

35

<210> 16

<211> 30

<212> Білок

40 <213> Homo sapiens

<400> 16

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
45 1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser
20 25 30

50

<210> 17
 <211> 5
 <212> Білок
 5 <213> Homo sapiens

 <400> 17

 Ser Tyr Pro Met Asn
 10 1 5

 <210> 18
 <211> 17
 15 <212> Білок
 <213> Homo sapiens

 <400> 18

 Trp Ile Asn Thr Asn Thr Gly Asn Pro Thr Tyr Val Gln Gly Phe Thr
 20 1 5 10 15

 Gly
 25

 <210> 19
 <211> 13
 30 <212> Білок
 <213> Homo sapiens

 <400> 19

 Thr Gly Gly His Thr Tyr Asp Ser Tyr Ala Phe Asp Val
 35 1 5 10

 <210> 20
 40 <211> 11
 <212> Білок
 <213> Homo sapiens

 <400> 20
 45
 Arg Ala Ser Gln Val Ile Ser Ser Ser Leu Ala
 1 5 10

 50 <210> 21

<211> 7
 <212> Білок
 <213> Homo sapiens
 5 <400> 21
 Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser
 1 5
 10
 <210> 22
 <211> 9
 <212> Білок
 <213> Homo sapiens
 15
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)..(8)
 20 <223> Хаа являє собою Cys, Ser або Tyr
 <400> 22
 Gln His Leu His Gly Tyr Pro Xaa Asn
 25 1 5
 <210> 23
 <211> 9
 30 <212> Білок
 <213> Homo sapiens
 <400> 23
 35 Gln His Leu His Gly Tyr Pro Ser Asn
 1 5
 <210> 24
 40 <211> 30
 <212> Білок
 <213> Homo sapiens
 <400> 24
 45
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Asp Leu Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 50 Ser Val Arg Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr

	20	25	30
	<210> 25		
5	<211> 14		
	<212> Білок		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 25		
10	Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Met Gly		
	1	5	10
15	<210> 26		
	<211> 32		
	<212> Білок		
	<213> Homo sapiens		
20	<400> 26		
	Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Asn Thr Ala Tyr Leu Gln		
	1	5	10 15
25	Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg		
	20	25	30
30	<210> 27		
	<211> 11		
	<212> Білок		
	<213> Homo sapiens		
35	<400> 27		
	Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser		
	1	5	10
40	<210> 28		
	<211> 9		
	<212> Білок		
	<213> Homo sapiens		
45	<400> 28		
	Gln His Leu His Gly Tyr Pro Cys Asn		
	1	5	
50			

<210> 29
 <211> 30
 <212> Білок
 5 <213> Homo sapiens

 <400> 29

 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Asp Leu Lys Lys Pro Gly Ala
 10 1 5 10 15

 Ser Val Arg Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
 20 25 30
 15

 <210> 30
 <211> 23
 <212> Білок
 20 <213> Homo sapiens

 <400> 30

 Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Thr Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
 25 1 5 10 15

 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
 20
 30

 <210> 31
 <211> 15
 <212> Білок
 35 <213> Homo sapiens

 <400> 31

 Trp Tyr Gln Gln Asn Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 40 1 5 10 15

 <210> 32
 <211> 32
 45 <212> Білок
 <213> Homo sapiens

 <400> 32

 50 Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr

1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Val Thr Tyr Tyr Cys

5 20 25 30

<210> 33

<211> 10

10 <212> Білок

<213> Homo sapiens

<400> 33

15 Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 34

20 <211> 126

<212> Білок

<213> Homo sapiens

<400> 34

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

1 5 10 15

30 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Ser Asn

20 25 30

Ser Ala Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu

35 35 40 45

Trp Leu Gly Lys Thr Tyr Tyr Arg Phe Lys Trp Tyr Ser Asp Tyr Ala

50 55 60

40

Val Ser Val Lys Gly Arg Ile Thr Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn

65 70 75 80

45

Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val

85 90 95

50 Phe Tyr Cys Thr Arg Glu Ser Thr Thr Tyr Asp Leu Leu Ala Gly Pro

	100	105	110
	Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
5	115	120	125
	<210> 35		
	<211> 126		
10	<212> Білок		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 35		
15	Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln		
	1	5	10 15
20	Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Ser Asn		
	20	25	30
25	Ser Ala Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu		
	35	40	45
30	Trp Leu Gly Lys Thr Tyr Tyr Arg Phe Lys Trp Tyr Ser Asp Tyr Ala		
	50	55	60
35	Val Ser Val Lys Gly Arg Ile Thr Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn		
	65	70	75 80
40	Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val		
	85	90	95
45	Phe Tyr Cys Thr Arg Glu Ser Thr Thr Tyr Asp Leu Leu Ala Gly Pro		
	100	105	110
50	Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
	115	120	125
	<210> 36		
	<211> 113		
	<212> Білок		
	<213> Homo sapiens		

<400> 36

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

10 Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Thr Val Leu Tyr Ser
20 25 30

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

20 Pro Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

25 Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

30 Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95

35 Tyr Tyr Ser Thr Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

35

<210> 37

<211> 122

<212> Білок

<213> Homo sapiens

40

<400> 37

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

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

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

5 Gly Trp Ile Asn Thr Asn Thr Gly Asn Pro Thr Tyr Val Gln Gly Phe
50 55 60

10 Thr Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

15 Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Arg Thr Gly Gly His Thr Tyr Asp Ser Tyr Ala Phe Asp Val Trp
100 105 110

20 Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

25 <210> 38
<211> 107
<212> Білок
<213> Homo sapiens

30 <400> 38

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

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

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

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

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

50

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

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

10 <210> 39
<211> 122
<212> Білок
<213> Homo sapiens

15 <400> 39

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Asp Leu Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

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

30 Gly Trp Ile Asn Thr Asn Thr Gly Asn Pro Thr Tyr Val Gln Gly Phe
50 55 60

Thr Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
35

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

40 Ala Arg Thr Gly Gly His Thr Tyr Asp Ser Tyr Ala Phe Asp Val Trp
100 105 110

45 Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 40
50 <211> 107

<212> Білок

<213> Homo sapiens

<400> 40

5

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

10

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

15

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

20

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

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

25

Glu Asp Phe Val Thr Tyr Tyr Cys Gln His Leu His Gly Tyr Pro Cys
85 90 95

30

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

<210> 41

35

<211> 5

<212> Білок

<213> Homo sapiens

<400> 41

40

Asn Tyr Pro Met Asn
1 5

45

<210> 42

<211> 17

<212> Білок

<213> Homo sapiens

50

<400> 42

Trp Ile Asn Thr Asn Thr Gly Ser Pro Ala Tyr Ala Gln Asp Phe Thr
1 5 10 15

5

Glu

10

<210> 43

<211> 11

<212> Білок

<213> Homo sapiens

15

<400> 43

Thr Ala Ile Thr Ser Val Tyr His Phe Asp Tyr

1 5 10

20

<210> 44

<211> 11

<212> Білок

<213> Homo sapiens

25

<400> 44

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

30

<210> 45

<211> 7

<212> Білок

35

<213> Homo sapiens

<400> 45

Gly Ala Thr Thr Leu Gln Ser

40

1 5

<210> 46

<211> 9

45

<212> Білок

<213> Homo sapiens

<220>

50

<221> MOD_RES

<222> (8)..(8)

<223> Хаа являє собою Cys, Ser або Tyr

<400> 46

5

Gln Lys Leu Asn Ser His Pro Xaa Ser

1 5

10

<210> 47

<211> 9

<212> Білок

<213> Homo sapiens

15

<400> 47

Gln Lys Leu Asn Ser His Pro Cys Ser

1 5

20

<210> 48

<211> 9

<212> Білок

<213> Homo sapiens

25

<400> 48

Gln Lys Leu Asn Ser His Pro Ser Ser

1 5

30

<210> 49

<211> 9

<212> Білок

35

<213> Homo sapiens

<400> 49

Gln Lys Leu Asn Ser His Pro Tyr Ser

40

1 5

<210> 50

<211> 30

45

<212> Білок

<213> Homo sapiens

<220>

50

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> Хаа являє собою Glu або Gln

<400> 50

5

Xaa Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

10

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Leu Thr

20 25 30

<210> 51

15

<211> 14

<212> Білок

<213> Homo sapiens

<400> 51

20

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Met Gly

1 5 10

25

<210> 52

<211> 32

<212> Білок

<213> Homo sapiens

30

<400> 52

Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Thr Thr Ala Tyr Leu Gln

1 5 10 15

35

Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg

20 25 30

40

<210> 53

<211> 11

<212> Білок

<213> Homo sapiens

45

<400> 53

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

50

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

5

<400> 54

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

10

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

15

<210> 55
 <211> 30
 <212> Білок
 <213> Homo sapiens

20

<400> 55

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

25

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

30

<210> 56
 <211> 23
 <212> Білок
 <213> Homo sapiens

35

<400> 56

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

40

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
 20

45

<210> 57
 <211> 15
 <212> Білок
 <213> Homo sapiens

50

<400> 57

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Arg Val Leu Ile Tyr
1 5 10 15

5

<210> 58

<211> 32

<212> Білок

10 <213> Homo sapiens

<400> 58

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Glu Ser Gly Thr Glu Phe Thr
1 5 10 15

15

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

20

<210> 59

<211> 10

<212> Білок

25 <213> Homo sapiens

<400> 59

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
1 5 10

30

<210> 60

<211> 120

<212> Білок

35 <213> Homo sapiens

<400> 60

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

40

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Leu Thr Asn Tyr
20 25 30

45

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

50

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

5

Thr Glu Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Thr Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

10

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

15

Ala Arg Thr Ala Ile Thr Ser Val Tyr His Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

20

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 61
 <211> 107
 <212> Білок
 25 <213> Homo sapiens
 <400> 61

30

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

35

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

40

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

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

45

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

50

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

Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105
 5
 <210> 62
 <211> 120
 <212> Білок
 10 <213> Homo sapiens
 <400> 62
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
 15 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Leu Thr Asn Tyr
 20 20 25 30
 Pro Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Met
 25 35 40 45
 Gly Trp Ile Asn Thr Asn Thr Gly Ser Pro Ala Tyr Ala Gln Asp Phe
 50 55 60
 Thr Glu Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Thr Thr Ala Tyr
 30 65 70 75 80
 Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 35 85 90 95
 Ala Arg Thr Ala Ile Thr Ser Val Tyr His Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 40 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 45
 <210> 63
 <211> 107
 <212> Білок
 <213> Homo sapiens
 50

<400> 63

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

5

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

10

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

15

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

20

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

25

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

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

30

<210> 64

<211> 107

<212> Білок

<213> Homo sapiens

35

<400> 64

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

40

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

45

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

50

Tyr Gly Ala Thr Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Glu Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
5 65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Lys Leu Asn Ser His Pro Tyr
10 85 90 95

Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
15 100 105

<210> 65
<211> 9
<212> Білок
<213> Homo sapiens
20
<400> 65

Gln His Leu His Gly Tyr Pro Tyr Asn
25 1 5

<210> 66
<211> 122
<212> Білок
30 <213> Homo sapiens

<400> 66

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Asp Leu Lys Lys Pro Gly Ala
35 1 5 10 15

Ser Val Arg Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
40 20 25 30

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

Gly Trp Ile Asn Thr Asn Thr Gly Asn Pro Thr Tyr Val Gln Gly Phe
50 50 55 60

Thr Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
5 85 90 95

Ala Arg Thr Gly Gly His Thr Tyr Asp Ser Tyr Ala Phe Asp Val Trp
10 100 105 110

Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

15
<210> 67
<211> 107
<212> Білок
<213> Homo sapiens

20
<400> 67

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

25

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

30

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

35

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

40

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

45

Glu Asp Phe Val Thr Tyr Tyr Cys Gln His Leu His Gly Tyr Pro Tyr
85 90 95

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

50

<210> 68
 <211> 7
 <212> Білок
 <213> Rattus norvegicus
 5
 <400> 68

 Thr Tyr Gly Met Gly Val Ser
 1 5
 10

 <210> 69
 <211> 16
 <212> Білок
 15 <213> Rattus norvegicus

 <400> 69

 Ser Ile Trp Trp Asn Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
 20 1 5 10 15

 <210> 70
 <211> 11
 25 <212> Білок
 <213> Rattus norvegicus

 <400> 70

 30 Thr Gly Gly Ala Val Ile Thr Trp Phe Ala Tyr
 1 5 10

 <210> 71
 35 <211> 11
 <212> Білок
 <213> Rattus norvegicus

 <400> 71
 40
 Lys Ala Ser Gln Ser Val Gly Lys Asn Ile Ala
 1 5 10

 45 <210> 72
 <211> 7
 <212> Білок
 <213> Rattus norvegicus

 50 <400> 72

Tyr Ala Ser Asn Arg Tyr Thr
1 5

5

<210> 73
<211> 9
<212> Білок
<213> Rattus norvegicus

10

<400> 73

Gln His Ile Tyr Asn Ser Pro Tyr Pro
1 5

15

<210> 74
<211> 30
<212> Білок
20 <213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

25

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> Хаа являє собою Glu або Gln

30

<220>
<221> MOD_RES
<222> (3)..(3)
<223> Хаа являє собою Ser або Thr

35

<220>
<221> MOD_RES
<222> (10)..(10)
<223> Хаа являє собою Ala або Gly

40

<220>
<221> MOD_RES
<222> (11)..(11)
<223> Хаа являє собою Ile або Leu

45

<220>
<221> MOD_RES
<222> (12)..(12)
<223> Хаа являє собою Leu або Val

50

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (13)..(13)
 <223> Хаа являє собою Lys або Gln
 5
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (15)..(15)
 <223> Хаа являє собою Ser або Thr
 10
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (16)..(16)
 <223> Хаа являє собою His або Gln
 15
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (19)..(19)
 <223> Хаа являє собою Ser або Thr
 20
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (23)..(23)
 <223> Хаа являє собою Ser або Thr
 25
 <400> 74

 Хаа Val Хаа Leu Lys Glu Ser Gly Pro Хаа Хаа Хаа Хаа Pro Хаа Хаа
 1 5 10 15
 30
 Thr Leu Хаа Leu Thr Cys Хаа Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser
 20 25 30
 35
 <210> 75
 <211> 14
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
 40
 <220>
 <223> Синтетична конструкція

 45
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> Хаа являє собою Pro або Ser
 50
 <220>

<221> MOD_RES
 <222> (7)..(7)
 <223> Хаа являє собою Glu або Gly

5 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (9)..(9)
 <223> Хаа являє собою Ala або Gly

10 <400> 75

 Trp Ile Arg Gln Pro Хаа Хаа Lys Хаа Leu Glu Trp Leu Ala
 1 5 10

15 <210> 76
 <211> 32
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

20 <220>
 <223> Синтетична конструкція

25 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (4)..(4)
 <223> Хаа являє собою Ile або Val

30 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (5)..(5)
 <223> Хаа являє собою Ser або Thr

35 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)..(8)
 <223> Хаа являє собою Ala або Thr

40 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (10)..(10)
 <223> Хаа являє собою Lys або Asn

45 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (11)..(11)
 <223> Хаа являє собою Asp або Asn

50 <220>

<221> MOD_RES
 <222> (13)..(13)
 <223> Хаа являє собою Ala або Val

5

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (14)..(14)
 <223> Хаа являє собою Phe або Val

10

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (16)..(16)
 <223> Хаа являє собою Asn або Thr

15

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (17)..(17)
 <223> Хаа являє собою Met або Val

20

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (19)..(19)
 <223> Хаа являє собою Asn або Ser

25

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (20)..(20)
 <223> Хаа являє собою Met або Val

30

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (22)..(22)
 <223> Хаа являє собою Pro або Thr

35

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (23)..(23)
 <223> Хаа являє собою Thr або Val

40

<400> 76

Arg Leu Thr Xaa Xaa Lys Asp Xaa Ser Xaa Xaa Gln Xaa Xaa Leu Xaa
 1 5 10 15

45

Xaa Thr Xaa Xaa Asp Xaa Xaa Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala His
 20 25 30

50

<210> 77

<211> 11
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

5 <220>
 <223> Синтетична конструкція

<400> 77

10 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 1 5 10

<210> 78
 15 <211> 30
 <212> Білок
 <213> *Rattus norvegicus*

<400> 78

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

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

<210> 79
 30 <211> 14
 <212> Білок
 <213> *Rattus norvegicus*

<400> 79

35 Trp Ile Arg Gln Pro Ser Glu Lys Gly Leu Glu Trp Leu Ala
 1 5 10

40 <210> 80
 <211> 32
 <212> Білок
 <213> *Rattus norvegicus*

45 <400> 80

Arg Leu Thr Val Ser Lys Asp Ala Ser Asn Asp Gln Ala Phe Leu Asn
 1 5 10 15

50

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

5 <210> 81
<211> 30
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

10 <220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 81

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

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

<210> 82
<211> 14
25 <212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція
30
<400> 82

35 Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu Trp Leu Ala
1 5 10

<210> 83
<211> 32
<212> Білок
40 <213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 83

50 Arg Leu Thr Val Thr Lys Asp Ala Ser Lys Asn Gln Ala Val Leu Thr
1 5 10 15

Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala His
20 25 30

5 <210> 84
<211> 32
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

10 <220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 84

15 Arg Leu Thr Ile Thr Lys Asp Ala Ser Lys Asn Gln Ala Val Leu Thr
1 5 10 15

20 Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala His
20 25 30

25 <210> 85
<211> 32
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 85

35 Arg Leu Thr Val Thr Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Ala Val Leu Thr
1 5 10 15

Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala His
20 25 30

40 <210> 86
<211> 32
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

45 <220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 86

50

Arg Leu Thr Val Thr Lys Asp Ala Ser Lys Asn Gln Val Val Leu Thr
1 5 10 15

5 Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala His
20 25 30

<210> 87

10 <211> 32

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

15 <223> Синтетична конструкція

<400> 87

20 Arg Leu Thr Ile Thr Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Val Leu Thr
1 5 10 15

Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala His
20 25 30

25

<210> 88

<211> 23

<212> Білок

30 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

35

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> Хаа являє собою Asp або Asn

40

<220>

<221> MOD_RES

<222> (3)..(3)

<223> Хаа являє собою Gln або Val

45

<220>

<221> MOD_RES

<222> (9)..(9)

<223> Хаа являє собою Lys або Ser

50

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (11)..(11)
 <223> Хаа являє собою Leu або Met
 5
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (13)..(13)
 <223> Хаа являє собою Ala або Ile
 10
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (21)..(21)
 <223> Хаа являє собою Ile або Met
 15
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (22)..(22)
 <223> Хаа являє собою Asn або Thr
 20
 <400> 88

 Хаа Ile Хаа Met Thr Gln Ser Pro Хаа Ser Хаа Ser Хаа Ser Val Gly
 1 5 10 15
 25
 Asp Arg Val Thr Хаа Хаа Cys
 20
 30
 <210> 89
 <211> 15
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
 35
 <220>
 <223> Синтетична конструкція

 40
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)..(8)
 <223> Хаа являє собою Lys або Gln

 45
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (9)..(9)
 <223> Хаа являє собою Ala або Ser

 50
 <400> 89

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Xaa Xaa Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

- 5
<210> 90
<211> 32
<212> Білок
<213> Штучна послідовність
- 10
<220>
<223> Синтетична конструкція
- 15
<220>
<221> MOD_RES
<222> (4)..(4)
<223> Xaa являє собою Asp або Ser
- 20
<220>
<221> MOD_RES
<222> (7)..(7)
<223> Xaa являє собою Ser або Thr
- 25
<220>
<221> MOD_RES
<222> (9)..(9)
<223> Xaa являє собою Gly або Ser
- 30
<220>
<221> MOD_RES
<222> (17)..(17)
<223> Xaa являє собою Phe або Leu
- 35
<220>
<221> MOD_RES
<222> (20)..(20)
<223> Xaa являє собою Asn або Ser
- 40
<220>
<221> MOD_RES
<222> (21)..(21)
<223> Xaa являє собою Ser або Thr
- 45
<220>
<221> MOD_RES
<222> (22)..(22)
<223> Xaa являє собою Leu або Val
- 50
<220>

<221> MOD_RES
 <222> (24)..(24)
 <223> Хаа являє собою Ala або Pro

5

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (27)..(27)
 <223> Хаа являє собою Ala або Ile

10

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (29)..(29)
 <223> Хаа являє собою Phe або Thr

15

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (30)..(30)
 <223> Хаа являє собою Phe або Tyr

20

<400> 90

 Gly Val Pro Хаа Arg Phe Хаа Gly Хаа Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15

25

Хаа Thr Ile Хаа Хаа Хаа Gln Хаа Glu Asp Хаа Ala Хаа Хаа Tyr Cys
 20 25 30

30

<210> 91
 <211> 10
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

35

<220>
 <223> Синтетична конструкція

40

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> Хаа являє собою Gln або Thr

45

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (7)..(7)
 <223> Хаа являє собою Leu або Val

50

<400> 91

Phe Gly Xaa Gly Thr Lys Xaa Glu Ile Lys
1 5 10

5 <210> 92
<211> 23
<212> Білок
<213> Rattus norvegicus

10 <400> 92

Asn Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Lys Ser Met Ser Ile Ser Val Gly
1 5 10 15

15 Asp Arg Val Thr Met Asn Cys
20

20 <210> 93
<211> 15
<212> Білок
<213> Rattus norvegicus

25 <400> 93

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

30 <210> 94
<211> 32
<212> Білок
<213> Rattus norvegicus

35 <400> 94

Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Gly Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

40

Leu Thr Ile Asn Thr Val Gln Ala Glu Asp Ala Ala Phe Phe Tyr Cys
20 25 30

45 <210> 95
<211> 10
<212> Білок
<213> Rattus norvegicus

50

<400> 95

Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
1 5 10

5

<210> 96

<211> 23

<212> Білок

10 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

15 <400> 96

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

20

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
20

25 <210> 97

<211> 15

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

30 <220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 97

35 Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 98

40 <211> 15

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

45 <223> Синтетична конструкція

<400> 98

50 Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

5 <210> 99
 <211> 32
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> Синтетична конструкція
 10
 <400> 99

 Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15
 15

 Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys
 20 25 30
 20
 <210> 100
 <211> 10
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
 25
 <220>
 <223> Синтетична конструкція

 <400> 100
 30
 Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 1 5 10
 35
 <210> 101
 <211> 121
 <212> Білок
 <213> Rattus norvegicus
 40
 <400> 101

 Gln Val Ser Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Ile Leu Gln Pro Ser His
 1 5 10 15
 45
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Tyr
 20 25 30
 50 Gly Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Ser Glu Lys Gly Leu Glu

35 40 45

5 Trp Leu Ala Ser Ile Trp Trp Asn Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

10 Leu Lys Ser Arg Leu Thr Val Ser Lys Asp Ala Ser Asn Asp Gln Ala
65 70 75 80

Phe Leu Asn Val Thr Ser Val Asp Thr Thr Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

15 Cys Ala His Thr Gly Gly Ala Val Ile Thr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly
100 105 110

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

<210> 102
25 <211> 107
<212> Білок
<213> Rattus norvegicus

<400> 102

30 Asn Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Lys Ser Met Ser Ile Ser Val Gly
1 5 10 15

35 Asp Arg Val Thr Met Asn Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Gly Lys Asn
20 25 30

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

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

45 Gly Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Thr Val Gln Ala
65 70 75 80

50

Glu Asp Ala Ala Phe Phe Tyr Cys Gln His Ile Tyr Asn Ser Pro Tyr
85 90 95

5 Pro Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 103

10 <211> 121

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

15 <223> Синтетична конструкція

<400> 103

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

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

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

30 Trp Leu Ala Ser Ile Trp Trp Asn Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

35 Leu Lys Ser Arg Leu Thr Val Thr Lys Asp Ala Ser Lys Asn Gln Ala
65 70 75 80

40 Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala His Thr Gly Gly Ala Val Ile Thr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly
100 105 110

45

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

50

<210> 104
 <211> 121
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

5

<220>
 <223> Синтетична конструкція

<400> 104

10

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

15

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

20

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

25

Trp Leu Ala Ser Ile Trp Trp Asn Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Thr Lys Asp Ala Ser Lys Asn Gln Ala
 65 70 75 80

30

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95

35

Cys Ala His Thr Gly Gly Ala Val Ile Thr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly
 100 105 110

40

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

45

<210> 105
 <211> 121
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична конструкція

50

<400> 105

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

5

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

10

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

15

Trp Leu Ala Ser Ile Trp Trp Asn Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

20

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

25

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala His Thr Gly Gly Ala Val Ile Thr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly
100 105 110

30

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

35

<210> 106

<211> 121

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

40

<220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 106

45

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

50

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

Gly Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 5

Trp Leu Ala Ser Ile Trp Trp Asn Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60

10

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

15

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95

20

Cys Ala His Thr Gly Gly Ala Val Ile Thr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly
 100 105 110

25

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

30

<210> 107
 <211> 121
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична конструкція

35

<400> 107

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

40

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

45

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

50

Trp Leu Ala Ser Ile Trp Trp Asn Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60

5 Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Thr Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 10 Cys Ala His Thr Gly Gly Ala Val Ile Thr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly
 100 105 110
 15 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 <210> 108
 20 <211> 107
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 25 <223> Синтетична конструкція
 <400> 108
 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 Ser Val Gly Lys Asn
 20 25 30
 35 Ile Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 40 Tyr Tyr Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 45 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 50 Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ile Tyr Asn Ser Pro Tyr
 85 90 95

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

5

<210> 109
<211> 107
<212> Білок
10 <213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

15 <400> 109

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

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

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

30 Tyr Tyr Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

35 Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ile Tyr Asn Ser Pro Tyr
85 90 95

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

45 <210> 110
<211> 7
<212> Білок
<213> Rattus norvegicus

50 <400> 110

Thr Tyr Gly Met Gly Val Ser
1 5

5
<210> 111
<211> 16
<212> Білок
<213> Rattus norvegicus

10
<400> 111

Ser Ile Trp Trp Asn Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Arg Ser
1 5 10 15

15
<210> 112
<211> 11
<212> Білок
20 <213> Rattus norvegicus

<400> 112

Thr Gly Gly Ala Val Ile Thr Trp Phe Ala Tyr
25 1 5 10

<210> 113
<211> 11
30 <212> Білок
<213> Rattus norvegicus

<400> 113

35 Lys Ala Ser Gln Ser Val Gly Lys Asn Ile Ala
1 5 10

<210> 114
40 <211> 7
<212> Білок
<213> Rattus norvegicus

<400> 114

45 Tyr Ala Ser Asn Arg Tyr Thr
1 5

50 <210> 115

<211> 9
 <212> Білок
 <213> Rattus norvegicus
 5 <400> 115
 Gln His Ile Tyr Asn Ser Pro Tyr Pro
 1 5
 10
 <210> 116
 <211> 30
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
 15
 <220>
 <223> Синтетична конструкція
 20
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> Хаа являє собою Glu або Gln
 25
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> Хаа являє собою Ser або Thr
 30
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (10)..(10)
 <223> Хаа являє собою Ala або Gly
 35
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (11)..(11)
 <223> Хаа являє собою Ile або Leu
 40
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (12)..(12)
 <223> Хаа являє собою Leu або Val
 45
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (13)..(13)
 <223> Хаа являє собою Lys або Gln
 50
 <220>

- <221> MOD_RES
 <222> (15)..(15)
 <223> Хаа являє собою Ser або Thr
- 5 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (16)..(16)
 <223> Хаа являє собою His або Gln
- 10 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (19)..(19)
 <223> Хаа являє собою Ser або Thr
- 15 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (23)..(23)
 <223> Хаа являє собою Ser або Thr
- 20 <400> 116
- Xaa Val Xaa Leu Lys Glu Ser Gly Pro Xaa Xaa Xaa Xaa Pro Xaa Xaa
 1 5 10 15
- 25 Thr Leu Xaa Leu Thr Cys Xaa Phe Ser Gly Phe Ser Leu Thr
 20 25 30
- 30 <210> 117
 <211> 14
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
- 35 <220>
 <223> Синтетична конструкція
- <220>
- 40 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> Хаа являє собою Pro або Ser
- <220>
- 45 <221> MOD_RES
 <222> (7)..(7)
 <223> Хаа являє собою Glu або Gly
- <220>
- 50 <221> MOD_RES

- <222> (9)..(9)
 <223> Хаа являє собою Ala або Gly
- <400> 117
- 5 Trp Ile Arg Gln Pro Хаа Хаа Lys Хаа Leu Glu Trp Leu Ala
 1 5 10
- 10 <210> 118
 <211> 32
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
- 15 <220>
 <223> Синтетична конструкція
- <220>
- 20 <221> MOD_RES
 <222> (4)..(4)
 <223> Хаа являє собою Ile або Val
- <220>
- 25 <221> MOD_RES
 <222> (5)..(5)
 <223> Хаа являє собою Ser або Thr
- <220>
- 30 <221> MOD_RES
 <222> (10)..(10)
 <223> Хаа являє собою Lys або Asn
- <220>
- 35 <221> MOD_RES
 <222> (11)..(11)
 <223> Хаа являє собою Asp або Asn
- <220>
- 40 <221> MOD_RES
 <222> (13)..(13)
 <223> Хаа являє собою Ala або Val
- <220>
- 45 <221> MOD_RES
 <222> (14)..(14)
 <223> Хаа являє собою Phe або Val
- <220>
- 50 <221> MOD_RES

<222> (16)..(16)
 <223> Хаа являє собою Asn або Thr

 <220>
 5 <221> MOD_RES
 <222> (17)..(17)
 <223> Хаа являє собою Met або Val

 <220>
 10 <221> MOD_RES
 <222> (19)..(19)
 <223> Хаа являє собою Asn або Ser

 <220>
 15 <221> MOD_RES
 <222> (20)..(20)
 <223> Хаа являє собою Met або Val

 <220>
 20 <221> MOD_RES
 <222> (22)..(22)
 <223> Хаа являє собою Pro або Thr

 <220>
 25 <221> MOD_RES
 <222> (23)..(23)
 <223> Хаа являє собою Thr або Val

 <400> 118
 30 Arg Leu Thr Хаа Хаа Lys Asp Thr Ser Хаа Хаа Gln Хаа Хаа Leu Хаа
 1 5 10 15

 35 Хаа Thr Хаа Хаа Asp Хаа Хаа Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala His
 20 25 30

 <210> 119
 40 <211> 11
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 45 <223> Синтетична конструкція

 <400> 119

 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 50 1 5 10

<210> 120
 <211> 30
 5 <212> Білок
 <213> Rattus norvegicus

 <400> 120

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

 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Thr
 15 20 25 30

 <210> 121
 <211> 14
 20 <212> Білок
 <213> Rattus norvegicus

 <400> 121

 25 Trp Ile Arg Gln Pro Ser Glu Lys Gly Leu Glu Trp Leu Ala
 1 5 10

 <210> 122
 30 <211> 32
 <212> Білок
 <213> Rattus norvegicus

 <400> 122
 35
 Arg Leu Thr Val Ser Lys Asp Thr Ser Asn Asp Gln Ala Phe Leu Asn
 1 5 10 15

 40 Val Thr Ser Val Asp Thr Thr Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala His
 20 25 30

 <210> 123
 45 <211> 30
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 50 <223> Синтетична конструкція

<400> 123

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

10 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Thr
 20 25 30

<210> 124

<211> 14

<212> Білок

15 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

20 <400> 124

Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu Trp Leu Ala
 1 5 10

25 <210> 125
 <211> 32

<212> Білок

30 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 125

35 Arg Leu Thr Val Thr Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Ala Val Leu Thr
 1 5 10 15

40 Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala His
 20 25 30

<210> 126

45 <211> 32

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

50 <223> Синтетична конструкція

<400> 126

5 Arg Leu Thr Ile Thr Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Ala Val Leu Thr
1 5 10 15

10 Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala His
20 25 30

<210> 127

<211> 32

<212> Білок

15 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

20 <400> 127

Arg Leu Thr Val Thr Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Val Leu Thr
1 5 10 15

25 Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala His
20 25 30

30 <210> 128

<211> 32

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

35 <220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 128

40 Arg Leu Thr Ile Thr Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Val Leu Thr
1 5 10 15

45 Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala His
20 25 30

<210> 129

<211> 23

50 <212> Білок

<213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Синтетична конструкція
 5
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 10 <223> Хаа являє собою Glu або Asn
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (9)..(9)
 15 <223> Хаа являє собою Ala або Lys
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (10)..(10)
 20 <223> Хаа являє собою Ser або Thr
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (11)..(11)
 25 <223> Хаа являє собою Leu або Met
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (13)..(13)
 30 <223> Хаа являє собою Ile або Val
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (15)..(15)
 35 <223> Хаа являє собою Ile або Pro
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (17)..(17)
 40 <223> Хаа являє собою Asp або Glu
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (19)..(19)
 45 <223> Хаа являє собою Ala або Val
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (21)..(21)
 50 <223> Хаа являє собою Leu або Met

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (22)..(22)
 5 <223> Хаа являє собою Asn або Ser

 <400> 129

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

 Xaa Arg Xaa Thr Xaa Xaa Cys
 20
 15

 <210> 130
 <211> 15
 <212> Білок
 20 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> Синтетична конструкція

 25
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> Хаа являє собою Pro або Thr
 30
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (9)..(9)
 <223> Хаа являє собою Ala або Ser
 35
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (11)..(11)
 <223> Хаа являє собою Gln або Arg
 40
 <400> 130

 Trp Tyr Gln Gln Lys Xaa Gly Gln Xaa Pro Xaa Leu Leu Ile Tyr
 1 5 10 15
 45

 <210> 131
 <211> 32
 <212> Білок
 50 <213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

5

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> Хаа являє собою Ile або Val

10

<220>
<221> MOD_RES
<222> (4)..(4)
<223> Хаа являє собою Ala або Asp

15

<220>
<221> MOD_RES
<222> (7)..(7)
<223> Хаа являє собою Ser або Thr

20

<220>
<221> MOD_RES
<222> (9)..(9)
<223> Хаа являє собою Gly або Ser

25

<220>
<221> MOD_RES
<222> (14)..(14)
<223> Хаа являє собою Asp або Glu

30

<220>
<221> MOD_RES
<222> (20)..(20)
<223> Хаа являє собою Asn або Ser

35

<220>
<221> MOD_RES
<222> (22)..(22)
<223> Хаа являє собою Leu або Val

40

<220>
<221> MOD_RES
<222> (24)..(24)
<223> Хаа являє собою Ala або Ser

45

<220>
<221> MOD_RES
<222> (27)..(27)
<223> Хаа являє собою Ala або Phe

50

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (29)..(29)
 <223> Хаа являє собою Phe або Val
 5
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (30)..(30)
 <223> Хаа являє собою Phe або Tyr
 10
 <400> 131

 Gly Хаа Pro Хаа Arg Phe Хаа Gly Хаа Gly Ser Gly Thr Хаа Phe Thr
 1 5 10 15
 15
 Leu Thr Ile Хаа Ser Хаа Gln Хаа Glu Asp Хаа Ala Хаа Хаа Tyr Cys
 20 25 30
 20
 <210> 132
 <211> 10
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
 25
 <220>
 <223> Синтетична конструкція
 30
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> Хаа являє собою Gln або Thr
 35
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (7)..(7)
 <223> Хаа являє собою Leu або Val
 40
 <400> 132

 Phe Gly Хаа Gly Thr Lys Хаа Glu Ile Lys
 1 5 10
 45
 <210> 133
 <211> 23
 <212> Білок
 <213> Rattus norvegicus
 50

<400> 133

Asn Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Lys Ser Met Ser Ile Ser Ile Gly
1 5 10 15

5

Asp Arg Val Thr Met Asn Cys
20

10

<210> 134

<211> 15

<212> Білок

<213> Rattus norvegicus

15

<400> 134

Trp Tyr Gln Gln Lys Thr Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

20

<210> 135

<211> 32

<212> Білок

25

<213> Rattus norvegicus

<400> 135

Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Gly Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

30

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

35

<210> 136

<211> 10

<212> Білок

40

<213> Rattus norvegicus

<400> 136

Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
1 5 10

45

<210> 137

<211> 23

50

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

5

<400> 137

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

1 5 10 15

10

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys

20

15

<210> 138

<211> 15

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

20

<220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 138

25

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Arg Leu Leu Ile Tyr

1 5 10 15

30

<210> 139

<211> 15

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

35

<220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 139

40

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr

1 5 10 15

45

<210> 140

<211> 32

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

50

<223> Синтетична конструкція

<400> 140

5 Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr
1 5 10 15

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

<210> 141

<211> 32

<212> Білок

15 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

20 <400> 141

Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr
1 5 10 15

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

30 <210> 142

<211> 10

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

35 <220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 142

40 Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 143

45 <211> 121

<212> Білок

<213> Rattus norvegicus

<400> 143

50

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

5 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Thr Thr Tyr
 20 25 30

10 Gly Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Ser Glu Lys Gly Leu Glu
 35 40 45

15 Trp Leu Ala Ser Ile Trp Trp Asn Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60

20 Leu Arg Ser Arg Leu Thr Val Ser Lys Asp Thr Ser Asn Asp Gln Ala
 65 70 75 80

Phe Leu Asn Val Thr Ser Val Asp Thr Thr Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95

25 Cys Ala His Thr Gly Gly Ala Val Ile Thr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly
 100 105 110

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

35 <210> 144
 <211> 107
 <212> Білок
 <213> Rattus norvegicus
 <400> 144

40 Asn Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Lys Ser Met Ser Ile Ser Ile Gly
 1 5 10 15

45 Asp Arg Val Thr Met Asn Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Gly Lys Asn
 20 25 30

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

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

5

Gly Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Val Gln Ala
 65 70 75 80

10

Glu Asp Ala Ala Phe Phe Tyr Cys Gln His Ile Tyr Asn Ser Pro Tyr
 85 90 95

15

Pro Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 145
 <211> 121
 20 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична конструкція

25

<400> 145

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

30

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

35

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

40

Trp Leu Ala Ser Ile Trp Trp Asn Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60

45

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

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95

50

Cys Ala His Thr Gly Gly Ala Val Ile Thr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly
100 105 110

5

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

10

<210> 146
<211> 121
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

15

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 146

20

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

25

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

30

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

Trp Leu Ala Ser Ile Trp Trp Asn Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

35

Leu Arg Ser Arg Leu Thr Ile Thr Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Ala
65 70 75 80

40

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

45

Cys Ala His Thr Gly Gly Ala Val Ile Thr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly
100 105 110

50

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 147
 <211> 121
 <212> Білок
 5 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> Синтетична конструкція

 10 <400> 147

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

 15 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Thr Thr Tyr
 20 25 30

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

 Trp Leu Ala Ser Ile Trp Trp Asn Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
 25 50 55 60

 Leu Arg Ser Arg Leu Thr Val Thr Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 30

 Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95

 35 Cys Ala His Thr Gly Gly Ala Val Ile Thr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly
 100 105 110

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

 <210> 148
 45 <211> 121
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 50 <223> Синтетична конструкція

<400> 148

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

10 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Thr Thr Tyr
 20 25 30

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

20 Trp Leu Ala Ser Ile Trp Trp Asn Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60

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

30 Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95

35 Cys Ala His Thr Gly Gly Ala Val Ile Thr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly
 100 105 110

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

45 <210> 149
 <211> 107
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

50 <220>
 <223> Синтетична конструкція

55 <400> 149

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

65 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Gly Lys Asn

20 25 30

Ile Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Arg Leu Leu Ile
5 35 40 45

Tyr Tyr Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly
10 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
15 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Ile Tyr Asn Ser Pro Tyr
85 90 95

Pro Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
20 100 105

<210> 150
25 <211> 107
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
30 <223> Синтетична конструкція

<400> 150

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
35 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Gly Lys Asn
40 20 25 30

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

Tyr Tyr Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly
45 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
50

65 70 75 80

5 85 90 95

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Ile Tyr Asn Ser Pro Tyr

Pro Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

10 100 105

<210> 151

<211> 107

<212> Білок

15 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

20 <400> 151

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

1 5 10 15

25

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Gly Lys Asn

20 25 30

30 Ile Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Arg Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Tyr Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly

35 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser

40 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Ile Tyr Asn Ser Pro Tyr

85 90 95

45

Pro Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

50 <210> 152

<211> 107

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

5 <220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 152

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

15 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Gly Lys Asn
20 25 30

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

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

25 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
65 70 75 80

30 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Ile Tyr Asn Ser Pro Tyr
85 90 95

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

<210> 153

<211> 5

40 <212> Білок

<213> *Rattus norvegicus*

<400> 153

45 Glu Tyr Ser Ile Tyr
1 5

<210> 154

50 <211> 17

<212> Білок
<213> Rattus norvegicus

<400> 154

5

Arg Ile Asp Pro Lys Asn Gly Arg Thr Tyr Tyr Val Asp Lys Phe Lys
1 5 10 15

10 Asn

<210> 155
<211> 8
<212> Білок
<213> Rattus norvegicus

15

<400> 155

20

Ile Tyr Gly Phe Tyr Phe Asp Phe
1 5

<210> 156
<211> 11
<212> Білок
<213> Rattus norvegicus

25

30 <400> 156

Lys Gly Ser Gln Asn Val Asn Lys Tyr Leu Val
1 5 10

35

<210> 157
<211> 7
<212> Білок
<213> Rattus norvegicus

40

<400> 157

Asn Thr Asp Asn Leu Gln Ser
1 5

45

<210> 158
<211> 8
<212> Білок
<213> Rattus norvegicus

50

<400> 158

5 Tyr Gln Tyr Asn Asn Gly Phe Thr
1 5

<210> 159

<211> 30

10 <212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

15 <223> Синтетична конструкція

<220>

<221> MOD_RES

<222> (5)..(5)

20 <223> Хаа являє собою Gln або Val

<220>

<221> MOD_RES

<222> (9)..(9)

25 <223> Хаа являє собою Ala або Pro

<220>

<221> MOD_RES

<222> (11)..(11)

30 <223> Хаа являє собою Leu або Val

<220>

<221> MOD_RES

<222> (12)..(12)

35 <223> Хаа являє собою Lys або Gln

<220>

<221> MOD_RES

<222> (13)..(13)

40 <223> Хаа являє собою Lys або Arg

<220>

<221> MOD_RES

<222> (20)..(20)

45 <223> Хаа являє собою Leu або Val

<220>

<221> MOD_RES

<222> (25)..(25)

50 <223> Хаа являє собою Ser або Thr

<400> 159

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

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

<210> 160

<211> 14

<212> Білок

15 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

20

<220>

<221> MOD_RES

<222> (3)..(3)

<223> Хаа являє собою Lys або Arg

25

<220>

<221> MOD_RES

<222> (5)..(5)

<223> Хаа являє собою Ala або Arg

30

<220>

<221> MOD_RES

<222> (7)..(7)

<223> Хаа являє собою Gly або Lys

35

<220>

<221> MOD_RES

<222> (9)..(9)

<223> Хаа являє собою Arg або Ser

40

<220>

<221> MOD_RES

<222> (12)..(12)

<223> Хаа являє собою Ile або Trp

45

<220>

<221> MOD_RES

<222> (13)..(13)

<223> Хаа являє собою Ile або Met

50

<400> 160

Trp Val Xaa Gln Xaa Pro Xaa Gln Xaa Leu Glu Xaa Xaa Gly
1 5 10

5

<210> 161

<211> 32

<212> Білок

10 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

15

<220>

<221> MOD_RES

<222> (2)..(2)

<223> Хаа являє собою Ala або Val

20

<220>

<221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> Хаа являє собою Ile або Leu

25

<220>

<221> MOD_RES

<222> (6)..(6)

<223> Хаа являє собою Ala або Arg

30

<220>

<221> MOD_RES

<222> (10)..(10)

<223> Хаа являє собою Ala або Ser

35

<220>

<221> MOD_RES

<222> (11)..(11)

<223> Хаа являє собою Asn або Ser

40

<220>

<221> MOD_RES

<222> (16)..(16)

<223> Хаа являє собою Glu або Gln

45

<220>

<221> MOD_RES

<222> (21)..(21)

<223> Хаа являє собою Arg або Thr

50

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (27)..(27)
 <223> Хаа являє собою Thr або Val
 5
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (29)..(29)
 <223> Хаа являє собою Phe або Tyr
 10
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (31)..(31)
 <223> Хаа являє собою Ala або Thr
 15
 <400> 161

 Arg Хаа Thr Хаа Thr Хаа Asp Thr Ser Хаа Хаа Thr Ala Tyr Met Хаа
 1 5 10 15
 20
 Leu Ser Ser Leu Хаа Ser Glu Asp Thr Ala Хаа Tyr Хаа Cys Хаа Arg
 20 25 30
 25
 <210> 162
 <211> 11
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
 30
 <220>
 <223> Синтетична конструкція

 35 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (5)..(5)
 <223> Хаа являє собою Thr або Val

 40 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> Хаа являє собою Leu або Met

 45 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (9)..(9)
 <223> Хаа являє собою Ala або Val

 50 <400> 162

Trp Gly Gln Gly Xaa Xaa Val Thr Xaa Ser Ser
1 5 10

5

<210> 163
<211> 30
<212> Білок
<213> Rattus norvegicus

10

<400> 163

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

15

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

20

<210> 164
<211> 14
<212> Білок
<213> Rattus norvegicus

25

<400> 164

Trp Val Lys Gln Arg Pro Lys Gln Ser Leu Glu Ile Ile Gly
1 5 10

30

<210> 165
<211> 32
<212> Білок
<213> Rattus norvegicus

35

<400> 165

Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr Met Gln
1 5 10 15

40

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

45

<210> 166
<211> 11
<212> Білок
<213> Rattus norvegicus

50

<400> 166

5 Trp Gly Gln Gly Val Met Val Thr Ala Ser Ser
1 5 10

<210> 167

<211> 30

10 <212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

15

<400> 167

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

20

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

25

<210> 168

<211> 14

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

30

<220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 168

35

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Ile Ile Gly
1 5 10

40

<210> 169

<211> 14

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

45

<220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 169

50 Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Ile Gly

1 5 10

<210> 170

5 <211> 14

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

10 <223> Синтетична конструкція

<400> 170

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Ile Met Gly

15 1 5 10

<210> 171

<211> 14

20 <212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

25 <400> 171

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met Gly

30 1 5 10

<210> 172

<211> 32

<212> Білок

35 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

40 <400> 172

Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Met Glu

1 5 10 15

45 Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Thr Arg

20 25 30

50 <210> 173

<211> 32
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

5 <220>
 <223> Синтетична конструкція

<400> 173

10 Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Met Glu
 1 5 10 15

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

20 <210> 174
 <211> 32
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична конструкція

25 <400> 174

30 Arg Ala Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Met Glu
 1 5 10 15

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

35 <210> 175
 <211> 32
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

40 <220>
 <223> Синтетична конструкція

<400> 175

45 Arg Ala Thr Leu Thr Arg Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Met Glu
 1 5 10 15

50 Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Thr Arg

	20	25	30
	<210> 176		
5	<211> 32		
	<212> Білок		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
10	<223> Синтетична конструкція		
	<400> 176		
	Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Met Glu		
15	1	5	10 15
	Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Arg		
	20	25	30
20			
	<210> 177		
	<211> 32		
	<212> Білок		
25	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
	<223> Синтетична конструкція		
30	<400> 177		
	Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Met Glu		
	1	5	10 15
35			
	Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg		
	20	25	30
40	<210> 178		
	<211> 32		
	<212> Білок		
	<213> Штучна послідовність		
45	<220>		
	<223> Синтетична конструкція		
	<400> 178		
50	Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Met Glu		

1 5 10 15

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

<210> 179

<211> 11

10 <212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

15

<400> 179

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

20

<210> 180

<211> 23

<212> Білок

25 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

30

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> Хаа являє собою Asp або Asn

35

<220>

<221> MOD_RES

<222> (3)..(3)

<223> Хаа являє собою His або Gln

40

<220>

<221> MOD_RES

<222> (10)..(10)

<223> Хаа являє собою Phe або Leu

45

<220>

<221> MOD_RES

<222> (21)..(21)

<223> Хаа являє собою Ile або Leu

50

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (22)..(22)
 <223> Хаа являє собою Ser або Thr
 5
 <400> 180

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

 Asp Arg Val Thr Xaa Xaa Cys
 20
 15
 <210> 181
 <211> 15
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
 20
 <220>
 <223> Синтетична конструкція
 25
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> Хаа являє собою Leu або Pro
 30
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)..(8)
 <223> Хаа являє собою Glu або Lys
 35
 <400> 181

 Trp Tyr Gln Gln Lys Xaa Gly Xaa Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 1 5 10 15
 40
 <210> 182
 <211> 32
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
 45
 <220>
 <223> Синтетична конструкція
 50
 <220>

- <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> Хаа являє собою Ile або Val
- 5 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (14)..(14)
 <223> Хаа являє собою Asp або Glu
- 10 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (15)..(15)
 <223> Хаа являє собою Phe або Tyr
- 15 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (27)..(27)
 <223> Хаа являє собою Ala або Phe
- 20 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (31)..(31)
 <223> Хаа являє собою Phe або Tyr
- 25 <400> 182
- Gly Хаа Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Хаа Хаа Thr
 1 5 10 15
- 30 Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Хаа Ala Thr Tyr Хаа Cys
 20 25 30
- 35 <210> 183
 <211> 10
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
- 40 <220>
 <223> Синтетична конструкція
- <220>
 45 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> Хаа являє собою Gln або Ser
- <220>
 50 <221> MOD_RES

<222> (7)..(7)

<223> Хаа являє собою Leu або Val

<400> 183

5

Phe Gly Хаа Gly Thr Lys Хаа Glu Ile Lys

1 5 10

10

<210> 184

<211> 23

<212> Білок

<213> Rattus norvegicus

15

<400> 184

Asn Ile His Leu Thr Gln Ser Pro Ser Leu Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

20

Asp Arg Val Thr Leu Ser Cys

20

25

<210> 185

<211> 15

<212> Білок

<213> Rattus norvegicus

30

<400> 185

Trp Tyr Gln Gln Lys Leu Gly Glu Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr

1 5 10 15

35

<210> 186

<211> 32

<212> Білок

<213> Rattus norvegicus

40

<400> 186

Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr

1 5 10 15

45

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

20 25 30

50

- <210> 187
 <211> 10
 <212> Білок
 <213> Rattus norvegicus
- 5
 <400> 187
- Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 1 5 10
- 10
- <210> 188
 <211> 23
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
- 15
 <220>
 <223> Синтетична конструкція
- 20
 <400> 188
- Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
- 25
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
 20
- 30
 <210> 189
 <211> 15
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
- 35
 <220>
 <223> Синтетична конструкція
- <400> 189
- 40
 Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 1 5 10 15
- 45
 <210> 190
 <211> 32
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
- 50
 <220>
 <223> Синтетична конструкція

<400> 190

5 Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr
1 5 10 15

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

<210> 191

<211> 32

<212> Білок

15 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

20 <400> 191

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr
1 5 10 15

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

30 <210> 192

<211> 32

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

35 <220>

<223> Seq_193

<400> 192

40 Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr
1 5 10 15

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

<210> 193

<211> 32

50 <212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

5

<400> 193

Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr

1 5 10 15

10

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

20 25 30

15

<210> 194

<211> 32

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

20

<220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 194

25

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr

1 5 10 15

30

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

20 25 30

<210> 195

35

<211> 32

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

40

<223> Синтетична конструкція

<400> 195

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr

1 5 10 15

45

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

20 25 30

50

<210> 196
 <211> 10
 <212> Білок
 5 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> Синтетична конструкція

 10 <400> 196

 Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 1 5 10

 15
 <210> 197
 <211> 117
 <212> Білок
 <213> Rattus norvegicus
 20
 <400> 197

 Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Gln Arg Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 25
 Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Thr Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Tyr
 20 25 30

 30
 Ser Ile Tyr Trp Val Lys Gln Arg Pro Lys Gln Ser Leu Glu Ile Ile
 35 40 45

 35 Gly Arg Ile Asp Pro Lys Asn Gly Arg Thr Tyr Tyr Val Asp Lys Phe
 50 55 60

 Lys Asn Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
 40 65 70 75 80

 Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys
 85 90 95
 45
 Thr Arg Ile Tyr Gly Phe Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Val Met
 100 105 110

 50

Val Thr Ala Ser Ser
115

5 <210> 198
<211> 106
<212> Білок
<213> Rattus norvegicus

10 <400> 198

Asn Ile His Leu Thr Gln Ser Pro Ser Leu Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

15 Asp Arg Val Thr Leu Ser Cys Lys Gly Ser Gln Asn Val Asn Lys Tyr
20 25 30

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

25 Tyr Asn Thr Asp Asn Leu Gln Ser Gly Ile 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
30

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Phe Cys Tyr Gln Tyr Asn Asn Gly Phe Thr
85 90 95

35 Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

40 <210> 199
<211> 117
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

45 <220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 199

50 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

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

10 Ser Ile Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Ile Ile
 35 40 45

15 Gly Arg Ile Asp Pro Lys Asn Gly Arg Thr Tyr Tyr Val Asp Lys Phe
 50 55 60

20 Lys Asn Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

30 Thr Arg Ile Tyr Gly Phe Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110

35 Val Thr Val Ser Ser
 115

40 <210> 200
 <211> 117
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

45 <220>
 <223> Синтетична конструкція

50 <400> 200

 Glu 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 Glu Tyr
 20 25 30

 Ser Ile Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Ile

35 40 45

5 Gly Arg Ile Asp Pro Lys Asn Gly Arg Thr Tyr Tyr Val Asp Lys Phe
50 55 60

10 Lys Asn Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

20 Thr Arg Ile Tyr Gly Phe Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

25 Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 201
<211> 117
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

30 <220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 201

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

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

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

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

50 Lys Asn Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
5 85 90 95

Thr Arg Ile Tyr Gly Phe Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu
10 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

15
<210> 202
<211> 117
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

20
<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 202

25
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

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

Gly Arg Ile Asp Pro Lys Asn Gly Arg Thr Tyr Tyr Val Asp Lys Phe
40 50 55 60

Lys Asn Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

45
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
 85 90 95

50 Thr Arg Ile Tyr Gly Phe Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu

	100	105	110
	Val Thr Val Ser Ser		
5	115		
	<210> 203		
	<211> 117		
10	<212> Білок		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
	<223> Синтетична конструкція		
15	<400> 203		
	Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala		
	1	5	10 15
20			
	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Tyr		
	20	25	30
25			
	Ser Ile Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Ile Ile		
	35	40	45
30			
	Gly Arg Ile Asp Pro Lys Asn Gly Arg Thr Tyr Tyr Val Asp Lys Phe		
	50	55	60
	Lys Asn Arg Ala Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr		
35	65	70	75 80
	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys		
	85	90	95
40			
	Thr Arg Ile Tyr Gly Phe Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu		
	100	105	110
45			
	Val Thr Val Ser Ser		
	115		
50	<210> 204		

<211> 117

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

5 <220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 204

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

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

20 Ser Ile Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Ile Ile
35 40 45

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

25 Lys Asn Arg Ala Thr Leu Thr Arg Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

35 Thr Arg Ile Tyr Gly Phe Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

40

<210> 205

<211> 117

<212> Білок

45 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

50 <400> 205

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

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

10 Ser Ile Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Ile Ile
35 40 45

15 Gly Arg Ile Asp Pro Lys Asn Gly Arg Thr Tyr Tyr Val Asp Lys Phe
50 55 60

Lys Asn Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

20

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

25

Thr Arg Ile Tyr Gly Phe Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

30 Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 206
35 <211> 117
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
40 <223> Синтетична конструкція

<400> 206

45 Glu 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 Glu Tyr
20 25 30

50

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

5

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

10

Lys Asn Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

15

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

20

Ala Arg Ile Tyr Gly Phe Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110

25

Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 207
 <211> 117
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

30

<220>
 <223> Синтетична конструкція

35

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

40

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

45

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

50

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

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

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

10 Ala Arg Ile Tyr Gly Phe Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110

15 Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 208
 <211> 106
 20 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична конструкція
 25

<400> 208

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

30 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Gly Ser Gln Asn Val Asn Lys Tyr
 20 25 30

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

40 Tyr Asn Thr Asp Asn Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 45 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Tyr Gln Tyr Asn Asn Gly Phe Thr
 50 85 90 95

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

5

<210> 209
<211> 106
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

10

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 209

15

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

20

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Gly Ser Gln Asn Val Asn Lys Tyr
20 25 30

25

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

30

Tyr Asn Thr Asp Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

35

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Tyr Gln Tyr Asn Asn Gly Phe Thr
85 90 95

40

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

45

<210> 210
<211> 106
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

50

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 210

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

 10 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Gly Ser Gln Asn Val Asn Lys Tyr
 20 25 30

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

 15 Tyr Asn Thr Asp Asn Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Tyr Gln Tyr Asn Asn Gly Phe Thr
 25 85 90 95

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

30

<210> 211

<211> 106

<212> Білок

35 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

40 <400> 211

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

 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Gly Ser Gln Asn Val Asn Lys Tyr
 20 25 30

 50 Leu Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

5 Tyr Asn Thr Asp Asn Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

10 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Tyr Gln Tyr Asn Asn Gly Phe Thr
85 90 95

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

20 <210> 212
<211> 106
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

25 <220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 212

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

35 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Gly Ser Gln Asn Val Asn Lys Tyr
20 25 30

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

Tyr Asn Thr Asp Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

50 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Tyr Gln Tyr Asn Asn Gly Phe Thr

85 90 95

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

<210> 213

<211> 117

10 <212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

15

<400> 213

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

20

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

25

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

30

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

35

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

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

40

Ala Arg Ile Tyr Gly Phe Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

45

Val Thr Val Ser Ser
115

50

<210> 214

<211> 106

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

5 <220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 214

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

15 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Gly Ser Gln Asn Val Asn Lys Tyr
20 25 30

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

Tyr Asn Thr Asp Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

25 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

30 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Tyr Gln Tyr Asn Asn Gly Phe Thr
85 90 95

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

<210> 215

<211> 5

40 <212> Білок

<213> *Rattus norvegicus*

<400> 215

45 Glu His Ser Ile Tyr
1 5

<210> 216

50 <211> 17

<212> Білок
<213> Rattus norvegicus

<400> 216

5

Arg Ile Asp Pro Lys Asn Gly Arg Thr Tyr Phe Val Asp Lys Phe Lys
1 5 10 15

10 Asn

<210> 217
<211> 8
<212> Білок
<213> Rattus norvegicus

15

<400> 217

20

Ile Asp Gly Phe Tyr Phe Asp Phe
1 5

<210> 218
<211> 11
<212> Білок
<213> Rattus norvegicus

25

30 <400> 218

Lys Gly Ser Gln Asn Val Asn Lys Tyr Leu Val
1 5 10

35

<210> 219
<211> 7
<212> Білок
<213> Rattus norvegicus

40

<400> 219

Ser Thr Asp Asn Leu Gln Ser
1 5

45

<210> 220
<211> 8
<212> Білок
<213> Rattus norvegicus

50

<400> 220

Tyr Gln Tyr Asn Asn Gly Phe Thr
5 1 5

<210> 221
<211> 30
10 <212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція
15

<220>
<221> MOD_RES
<222> (5)..(5)
20 <223> Хаа являє собою Gln або Val

<220>
<221> MOD_RES
<222> (9)..(9)
25 <223> Хаа являє собою Ala або Pro

<220>
<221> MOD_RES
<222> (11)..(11)
30 <223> Хаа являє собою Leu або Val

<220>
<221> MOD_RES
<222> (12)..(12)
35 <223> Хаа являє собою Lys або Gln

<220>
<221> MOD_RES
<222> (13)..(13)
40 <223> Хаа являє собою Lys або Arg

<220>
<221> MOD_RES
<222> (20)..(20)
45 <223> Хаа являє собою Leu або Val

<400> 221

Glu Val Gln Leu Xaa Gln Ser Gly Xaa Glu Xaa Xaa Xaa Pro Gly Ala
50 1 5 10 15

	Ser	Val	Lys	Xaa	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr
			20			25				30				
5														
				<210>										
10														
15														
20														
25														
30														
35														
40														
45														
50														

<400> 222

Trp Xaa Xaa Gln Xaa Pro Xaa Gln Xaa Leu Glu Xaa Xaa Gly
1 5 10

5

<210> 223

<211> 32

<212> Білок

10 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

15

<220>

<221> MOD_RES

<222> (2)..(2)

<223> Хаа являє собою Ala або Val

20

<220>

<221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> Хаа являє собою Ile або Leu

25

<220>

<221> MOD_RES

<222> (6)..(6)

<223> Хаа являє собою Arg або Thr

30

<220>

<221> MOD_RES

<222> (7)..(7)

<223> Хаа являє собою Asp або Asn

35

<220>

<221> MOD_RES

<222> (10)..(10)

<223> Хаа являє собою Ala або Ser

40

<220>

<221> MOD_RES

<222> (11)..(11)

<223> Хаа являє собою Asn або Ser

45

<220>

<221> MOD_RES

<222> (16)..(16)

<223> Хаа являє собою Glu або Gln

50

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (21)..(21)
 <223> Хаа являє собою Arg або Thr
 5
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (27)..(27)
 <223> Хаа являє собою Ile або Val
 10
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (29)..(29)
 <223> Хаа являє собою Phe або Tyr
 15
 <400> 223

 Arg Хаа Thr Хаа Thr Хаа Хаа Thr Ser Хаа Хаа Thr Ala Tyr Met Хаа
 1 5 10 15
 20

 Leu Ser Ser Leu Хаа Ser Glu Asp Thr Ala Хаа Tyr Хаа Cys Ala Arg
 20 25 30
 25
 <210> 224
 <211> 11
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
 30
 <220>
 <223> Синтетична конструкція

 35 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (5)..(5)
 <223> Хаа являє собою Thr або Val

 40 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> Хаа являє собою Leu або Met

 45 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (9)..(9)
 <223> Хаа являє собою Ala або Val

 50 <400> 224

Trp Gly Gln Gly Xaa Xaa Val Thr Xaa Ser Ser
1 5 10

5

<210> 225
<211> 30
<212> Білок
<213> Rattus norvegicus

10

<400> 225

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

15

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

20

<210> 226
<211> 14
<212> Білок
<213> Rattus norvegicus

25

<400> 226

Trp Leu Lys Gln Arg Pro Lys Gln Ser Leu Glu Ile Ile Gly
1 5 10

30

<210> 227
<211> 32
<212> Білок
<213> Rattus norvegicus

35

<400> 227

Arg Ala Thr Leu Thr Thr Asn Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr Met Gln
1 5 10 15

40

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

45

<210> 228
<211> 11
<212> Білок
<213> Rattus norvegicus

50

<400> 228

5 Trp Gly Gln Gly Val Met Val Thr Ala Ser Ser
1 5 10

<210> 229

<211> 30

10 <212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

15

<400> 229

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

20

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

25

<210> 230

<211> 14

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

30

<220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 230

35

Trp Leu Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Ile Ile Gly
1 5 10

40

<210> 231

<211> 14

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

45

<220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 231

50

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Ile Ile Gly

1 5 10

<210> 232

5 <211> 14

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

10 <223> Синтетична конструкція

<400> 232

Trp Leu Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Ile Gly

15 1 5 10

<210> 233

<211> 14

20 <212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

25

<400> 233

Trp Leu Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Ile Met Gly

30 1 5 10

<210> 234

<211> 14

<212> Білок

35 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

40

<400> 234

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met Gly

1 5 10

45

<210> 235

<211> 32

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

50

<220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 235

5

Arg Ala Thr Leu Thr Thr Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Met Glu
1 5 10 15

10

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

<210> 236

15

<211> 32

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

20

<223> Синтетична конструкція

<400> 236

25

Arg Val Thr Leu Thr Thr Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Met Glu
1 5 10 15

30

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

<210> 237

<211> 32

<212> Білок

35

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

40

<400> 237

Arg Ala Thr Ile Thr Thr Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Met Glu
1 5 10 15

45

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

50

<210> 238

<211> 32
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
 5 <220>
 <223> Синтетична конструкція
 <400> 238
 10 Arg Ala Thr Leu Thr Arg Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Met Glu
 1 5 10 15
 Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg
 15 20 25 30
 <210> 239
 <211> 32
 20 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Синтетична конструкція
 25 <400> 239
 Arg Ala Thr Leu Thr Thr Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Met Glu
 1 5 10 15
 30 Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
 20 25 30
 35 <210> 240
 <211> 32
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
 40 <220>
 <223> Синтетична конструкція
 <400> 240
 45 Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Met Glu
 1 5 10 15
 50 Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg

	20	25	30
	<210> 241		
5	<211> 32		
	<212> Білок		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
10	<223> Синтетична конструкція		
	<400> 241		
	Arg Ala Thr Ile Thr Thr Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Met Glu		
15	1	5	10 15
	Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg		
	20	25	30
20			
	<210> 242		
	<211> 11		
	<212> Білок		
25	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
	<223> Синтетична конструкція		
30	<400> 242		
	Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
	1	5	10
35			
	<210> 243		
	<211> 23		
	<212> Білок		
	<213> Штучна послідовність		
40			
	<220>		
	<223> Синтетична конструкція		
45	<220>		
	<221> MOD_RES		
	<222> (1)..(1)		
	<223> Хаа являє собою Asp або Asn		
50	<220>		

<221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> Хаа являє собою His або Gln

 5 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (10)..(10)
 <223> Хаа являє собою Phe або Leu

 10 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (21)..(21)
 <223> Хаа являє собою Ile або Leu

 15 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (22)..(22)
 <223> Хаа являє собою Ser або Thr

 20 <400> 243

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

 25
 Asp Arg Val Thr Хаа Хаа Cys
 20

 30 <210> 244
 <211> 15
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

 35 <220>
 <223> Синтетична конструкція

 <220>
 40 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> Хаа являє собою Leu або Pro

 <220>
 45 <221> MOD_RES
 <222> (8)..(8)
 <223> Хаа являє собою Glu або Lys

 <400> 244
 50

Trp Tyr Gln Gln Lys Xaa Gly Xaa Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

5 <210> 245
<211> 32
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

10 <220>
<223> Синтетична конструкція

<220>
15 <221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> Хаа являє собою Ile або Val

<220>
20 <221> MOD_RES
<222> (14)..(14)
<223> Хаа являє собою Asp або Glu

<220>
25 <221> MOD_RES
<222> (15)..(15)
<223> Хаа являє собою Phe або Tyr

<220>
30 <221> MOD_RES
<222> (27)..(27)
<223> Хаа являє собою Ala або Phe

<220>
35 <221> MOD_RES
<222> (31)..(31)
<223> Хаа являє собою Phe або Tyr

<400> 245
40 Gly Xaa Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Xaa Xaa Thr
1 5 10 15

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

<210> 246
50 <211> 10

<212> Білок
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 5 <223> Синтетична конструкція

 <220>
 <221> MOD_RES
 10 <222> (3)..(3)
 <223> Хаа являє собою Gln або Ser

 <220>
 <221> MOD_RES
 15 <222> (7)..(7)
 <223> Хаа являє собою Leu або Val

 <400> 246

 20 Phe Gly Хаа Gly Thr Lys Хаа Glu Ile Lys
 1 5 10

 <210> 247
 25 <211> 23
 <212> Білок
 <213> Rattus norvegicus

 <400> 247
 30 Asn Ile His Leu Thr Gln Ser Pro Ser Leu Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

 35 Asp Arg Val Thr Leu Ser Cys
 20

 <210> 248
 40 <211> 15
 <212> Білок
 <213> Rattus norvegicus

 <400> 248
 45 Trp Tyr Gln Gln Lys Leu Gly Glu Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 1 5 10 15

 50 <210> 249

<211> 32
 <212> Білок
 <213> Rattus norvegicus

5 <400> 249

Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr
 1 5 10 15

10

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

15

<210> 250
 <211> 10
 <212> Білок
 <213> Rattus norvegicus

20

<400> 250

Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 1 5 10

25

<210> 251
 <211> 23
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

30

<220>
 <223> Синтетична конструкція

<400> 251

35

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

40

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
 20

45

<210> 252
 <211> 15
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

50

<220>
 <223> Синтетична конструкція

<400> 252

5 Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 253

<211> 32

10 <212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

15

<400> 253

Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr
1 5 10 15

20

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

25

<210> 254

<211> 32

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

30

<220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 254

35

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr
1 5 10 15

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

<210> 255

45 <211> 32

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

50 <223> Синтетична конструкція

<400> 255

5 Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr
1 5 10 15

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

<210> 256

<211> 32

<212> Білок

15 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

20 <400> 256

Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr
1 5 10 15

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

30 <210> 257

<211> 32

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

35 <220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 257

40 Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr
1 5 10 15

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

<210> 258

<211> 32

50 <212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

5

<400> 258

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr

1 5 10 15

10

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

20 25 30

15

<210> 259

<211> 10

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

20

<220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 259

25

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

1 5 10

30

<210> 260

<211> 117

<212> Білок

<213> Rattus norvegicus

35

<400> 260

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Gln Arg Pro Gly Ala

1 5 10 15

40

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu His

20 25 30

45

Ser Ile Tyr Trp Leu Lys Gln Arg Pro Lys Gln Ser Leu Glu Ile Ile

35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Lys Asn Gly Arg Thr Tyr Phe Val Asp Lys Phe

50 50 55 60

5 Lys Asn Arg Ala Thr Leu Thr Thr Asn Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Phe Cys
 85 90 95
 10 Ala Arg Ile Asp Gly Phe Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Val Met
 100 105 110
 15 Val Thr Ala Ser Ser
 115
 <210> 261
 20 <211> 106
 <212> Білок
 <213> Rattus norvegicus
 <400> 261
 25 Asn Ile His Leu Thr Gln Ser Pro Ser Leu Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 30 Asp Arg Val Thr Leu Ser Cys Lys Gly Ser Gln Asn Val Asn Lys Tyr
 20 25 30
 Leu Val Trp Tyr Gln Gln Lys Leu Gly Glu Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 35 40 45
 Tyr Ser Thr Asp Asn Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 40 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 45 Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Phe Cys Tyr Gln Tyr Asn Asn Gly Phe Thr
 85 90 95
 50 Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

5 <210> 262
 <211> 117
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

10 <220>
 <223> Синтетична конструкція

<400> 262

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

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

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

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

30 Lys Asn Arg Ala Thr Leu Thr Thr Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

40 Ala Arg Ile Asp Gly Phe Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
 115

45 <210> 263
 <211> 117
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

50

<220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 263

5

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

10

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

15

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

20

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

Lys Asn Arg Ala Thr Leu Thr Thr Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

25

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

30

Ala Arg Ile Asp Gly Phe Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

35

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 264

<211> 117

40

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

45

<400> 264

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

50

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

5
Ser Ile Tyr Trp Leu Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Ile
35 40 45

10
Gly Arg Ile Asp Pro Lys Asn Gly Arg Thr Tyr Phe Val Asp Lys Phe
50 55 60

15
Lys Asn Arg Ala Thr Leu Thr Thr Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

20
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

25
Ala Arg Ile Asp Gly Phe Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

30
Val Thr Val Ser Ser
115

30
<210> 265
<211> 117
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

35
<220>
<223> Синтетична конструкція

40
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

45
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu His
20 25 30

50
Ser Ile Tyr Trp Leu Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Ile Met
35 40 45

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

5

Lys Asn Arg Ala Thr Leu Thr Thr Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

10

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

15

Ala Arg Ile Asp Gly Phe Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110

20

Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 266
 <211> 117
 <212> Білок
 25 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Синтетична конструкція

30

<400> 266

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

35

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

40

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

45

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

Lys Asn Arg Val Thr Leu Thr Thr Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

50

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

5
Ala Arg Ile Asp Gly Phe Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

10 Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 267
15 <211> 117
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
20 <223> Синтетична конструкція

<400> 267

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
25 1 5 10 15

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

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

35 Gly Arg Ile Asp Pro Lys Asn Gly Arg Thr Tyr Phe Val Asp Lys Phe
50 55 60

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

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
45 85 90 95

Ala Arg Ile Asp Gly Phe Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

50

Val Thr Val Ser Ser

115

5

<210> 268

<211> 117

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

10

<220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 268

15

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1

5

10

15

20

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu His

20

25

30

Ser Ile Tyr Trp Leu Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Ile Ile

25

35

40

45

Gly Arg Ile Asp Pro Lys Asn Gly Arg Thr Tyr Phe Val Asp Lys Phe

50

55

60

30

Lys Asn Arg Ala Thr Leu Thr Arg Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr

65

70

75

80

35

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys

85

90

95

40

Ala Arg Ile Asp Gly Phe Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100

105

110

Val Thr Val Ser Ser

45

115

<210> 269

<211> 117

50

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

5

<400> 269

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

10

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu His

20 25 30

15

Ser Ile Tyr Trp Leu Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Ile Ile

35 40 45

20

Gly Arg Ile Asp Pro Lys Asn Gly Arg Thr Tyr Phe Val Asp Lys Phe

50 55 60

Lys Asn Arg Ala Thr Leu Thr Thr Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr

25 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

30

Ala Arg Ile Asp Gly Phe Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

35

Val Thr Val Ser Ser

115

40

<210> 270

<211> 117

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

45

<220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 270

50

Glu 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 Glu His
5 20 25 30

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

10 Gly Arg Ile Asp Pro Lys Asn Gly Arg Thr Tyr Phe Val Asp Lys Phe
50 55 60

15 Lys Asn Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Ile Asp Gly Phe Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu
25 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

30 <210> 271
<211> 106
<212> Білок
35 <213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

40 <400> 271

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

45 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Gly Ser Gln Asn Val Asn Lys Tyr
20 25 30

50 Leu Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

5 Tyr Ser Thr Asp Asn Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

10 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Tyr Gln Tyr Asn Asn Gly Phe Thr
85 90 95

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

20 <210> 272
<211> 106
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

25 <220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 272

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

35 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Gly Ser Gln Asn Val Asn Lys Tyr
20 25 30

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

Tyr Ser Thr Asp Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

45 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

50 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Tyr Gln Tyr Asn Asn Gly Phe Thr

85 90 95

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

<210> 273

<211> 106

10 <212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

15

<400> 273

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

20

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Gly Ser Gln Asn Val Asn Lys Tyr
20 25 30

25

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

30

Tyr Ser Thr Asp Asn Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
35 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Tyr Gln Tyr Asn Asn Gly Phe Thr
85 90 95

40

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

45

<210> 274

<211> 106

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

50

<220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 274

5

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

10

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Gly Ser Gln Asn Val Asn Lys Tyr
20 25 30

15

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

20

Tyr Ser Thr Asp Asn Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

25

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Tyr Gln Tyr Asn Asn Gly Phe Thr
85 90 95

30

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

35

<210> 275

<211> 106

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

40

<223> Синтетична конструкція

<400> 275

45

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

50

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Gly Ser Gln Asn Val Asn Lys Tyr
20 25 30

Leu Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 5
 Tyr Ser Thr Asp Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 10 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 15 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Tyr Gln Tyr Asn Asn Gly Phe Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105
 20
 <210> 276
 <211> 117
 <212> Білок
 25 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Синтетична конструкція
 30 <400> 276
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 35 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu His
 20 25 30
 40 Ser Ile Tyr Trp Leu Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Ile Met
 35 40 45
 Gly Arg Ile Asp Pro Lys Asn Gly Arg Thr Tyr Phe Val Asp Lys Phe
 45 50 55 60
 Lys Asn Arg Ala Thr Ile Thr Thr Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 50

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

5

Ala Arg Ile Asp Gly Phe Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

10

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 277

15

<211> 106

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

20

<223> Синтетична конструкція

<400> 277

25

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

30

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Gly Ser Gln Asn Val Asn Lys Tyr
20 25 30

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

35

Tyr Ser Thr Asp Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

40

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

45

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Tyr Gln Tyr Asn Asn Gly Phe Thr
85 90 95

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

50

- <210> 278
 <211> 5
 <212> Білок
 5 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> Синтетична конструкція

 10 <400> 278

 Asp Ser Tyr Met Ser
 1 5

 15
 <210> 279
 <211> 5
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
 20
 <220>
 <223> Синтетична конструкція

 <400> 279
 25
 Asp Ala Tyr Met Ser
 1 5

 30 <210> 280
 <211> 5
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

 35 <220>
 <223> Синтетична конструкція

 <400> 280

 40 Glu Ser Tyr Met Ser
 1 5

 <210> 281
 45 <211> 17
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 50 <223> Синтетична конструкція

<400> 281

5 Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Arg
1 5 10 15

Glu

10

<210> 282

<211> 17

<212> Білок

15 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

20 <400> 282

Asp Met Tyr Pro Asp Asn Ala Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Arg
1 5 10 15

25

Glu

30 <210> 283

<211> 17

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

35 <220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 283

40 Asp Met Tyr Pro Asp Asn Ala Asp Ala Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Arg
1 5 10 15

Glu

45

<210> 284

<211> 17

50 <212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

5

<400> 284

Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ala Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Arg

1 5 10 15

10

Glu

15

<210> 285

<211> 17

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

20

<220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 285

25

Asp Met Tyr Pro Asp Ser Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Arg

1 5 10 15

30

Glu

<210> 286

35

<211> 17

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

40

<223> Синтетична конструкція

<400> 286

Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Ser Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Arg

45

1 5 10 15

Glu

50

	<210> 287
	<211> 8
	<212> Білок
5	<213> Штучна послідовність
	<220>
	<223> Синтетична конструкція
10	<400> 287
	Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val
	1 5
15	<210> 288
	<211> 8
	<212> Білок
	<213> Штучна послідовність
20	<220>
	<223> Синтетична конструкція
	<400> 288
25	Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Ala
	1 5
30	<210> 289
	<211> 8
	<212> Білок
	<213> Штучна послідовність
35	<220>
	<223> Синтетична конструкція
	<400> 289
40	Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ala Val
	1 5
45	<210> 290
	<211> 11
	<212> Білок
	<213> Штучна послідовність
	<220>
50	<223> Синтетична конструкція

<400> 290

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn
5 1 5 10

<210> 291

<211> 7

10 <212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

15

<400> 291

Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser

1 5

20

<210> 292

<211> 9

<212> Білок

25 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

30

<400> 292

Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Pro Thr

1 5

35

<210> 293

<211> 9

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

40

<220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 293

45

Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Ala Thr

1 5

50

<210> 294

- <211> 9
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
- 5 <220>
 <223> Синтетична конструкція
- <400> 294
- 10 Gln Gln Gly His Thr Ala Pro Pro Thr
 1 5
- <210> 295
 15 <211> 9
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
- <220>
 20 <223> Синтетична конструкція
- <400> 295
- Gln Gln Gly Ala Thr Leu Pro Pro Thr
 25 1 5
- <210> 296
 30 <211> 9
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
- <220>
 35 <223> Синтетична конструкція
- <400> 296
- Gln Gln Gly His Ala Leu Pro Pro Thr
 40 1 5
- <210> 297
 45 <211> 9
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
- <220>
 <223> Синтетична конструкція
- 50 <400> 297

Gln Gln Ala His Thr Leu Pro Pro Thr
1 5

5

<210> 298
<211> 9
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

10

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 298

15

Gln Gln Gly His Thr Leu Ala Pro Thr
1 5

20

<210> 299
<211> 9
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

25

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 299

30

Gln Ala Gly His Thr Leu Pro Pro Thr
1 5

35

<210> 300
<211> 117
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

40

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 300

45

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

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

50

Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 5
 Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60
 10 Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 15 Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
 20
 Val Thr Val Ser Ser
 115
 25
 <210> 301
 <211> 117
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
 30
 <220>
 <223> Синтетична конструкція
 <400> 301
 35
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 40 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
 20 25 30
 Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 45 35 40 45
 Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60
 50

Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

5

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

10

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

15

Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 302
 <211> 117
 20 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична конструкція
 25

<400> 302

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

30

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

35

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

40

Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60

45

Arg Glu Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

50

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

5

Val Thr Val Ser Ser
115

10

<210> 303
<211> 117
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

15

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 303

20

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

25

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

30

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

Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

35

Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

40

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

45

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

Val Thr Val Ser Ser
115

50

<210> 304
 <211> 117
 <212> Білок
 5 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> Синтетична конструкція

 10 <400> 304

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

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

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

 Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
 25 50 55 60

 Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 30

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

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

 40 Val Thr Val Ser Ser
 115

 <210> 305
 45 <211> 117
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 50 <223> Синтетична конструкція

<400> 305

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

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

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

20 Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60

25 Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

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

40 Val Thr Val Ser Ser
 115

45 <210> 306
 <211> 117
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

50 <220>
 <223> Синтетична конструкція

55 <400> 306

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

65 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser

20 25 30

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

10 Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

25 Val Thr Val Ser Ser
115

30 <210> 307
<211> 117
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

35 <400> 307

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

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

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

50 Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
5 65 70 75 80

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

10

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

15

Val Thr Val Ser Ser
 115

20 <210> 308
 <211> 117
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

25 <220>
 <223> Синтетична конструкція

 <400> 308

30 Glu 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 Glu Ser
35 20 25 30

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

40

Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60

45

Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

50 Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

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

10 Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 309
<211> 117
<212> Білок
15 <213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

20 <400> 309

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

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

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

35 Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Ala Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

40 Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

50 Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 310

5 <211> 117

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

10 <223> Синтетична конструкція

<400> 310

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

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

20

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

25

Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Ala Asp Ala Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

30 Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
35 85 90 95

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

40

Val Thr Val Ser Ser
115

45

<210> 311

<211> 117

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

50

<220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 311

5

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

10

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

15

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

20

Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ala Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

25

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

30

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

35

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 312

<211> 117

40

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

45

<400> 312

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

50

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

5
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

10
Gly Asp Met Tyr Pro Asp Ser Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

15
Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

20
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

25
Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

30
Val Thr Val Ser Ser
115

30
<210> 313
<211> 117
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

35
<220>
<223> Синтетична конструкція

40
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

45
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
20 25 30

50
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Ser Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60

5

Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

10

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

15

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

20

Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 314
 <211> 117
 <212> Білок
 25 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Синтетична конструкція

30

<400> 314

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

35

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

40

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

45

Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Ala Asp Ala Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60

50

Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

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

10 Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 315
 15 <211> 117
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

<220>
 20 <223> Синтетична конструкція

<400> 315

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

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

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

35 Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60

40 Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

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

Val Thr Val Ser Ser
115

5

<210> 316
<211> 117
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

10

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 316

15

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

20

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

25

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

30

Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

35

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

40

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

45

Val Thr Val Ser Ser
115

50

<210> 317
<211> 117
<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

5

<400> 317

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

10

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser

20 25 30

15

Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

20

Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

25 65 70 75 80

Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

30

Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

35

Val Thr Val Ser Ser

115

40

<210> 318

<211> 117

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

45

<220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 318

50

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

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

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

Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

15 Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

30 Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 319

<211> 117

<212> Білок

35 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

40 <400> 319

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

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

50 Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

5 Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

10 Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

20 Val Thr Val Ser Ser
115

25 <210> 320
<211> 117
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

30 <220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 320

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

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

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

45 Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

50 Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
5 85 90 95

Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
10 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

15
<210> 321
<211> 117
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

20
<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 321

25
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

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

Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
40 50 55 60

Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

45
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

50 Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu

	100	105	110
	Val Thr Val Ser Ser		
5	115		
	<210> 322		
	<211> 117		
10	<212> Білок		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
	<223> Синтетична конструкція		
15	<400> 322		
	Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala		
	1	5	10 15
20			
	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser		
	20	25	30
25			
	Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile		
	35	40	45
30			
	Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe		
	50	55	60
35			
	Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr		
	65	70	75 80
40			
	Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
	85	90	95
45			
	Val Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu		
	100	105	110
50			
	Val Thr Val Ser Ser		
	115		
50	<210> 323		

<211> 117

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

5 <220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 323

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

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

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

Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

25 Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

Val Thr Val Ser Ser
115

40

<210> 324

<211> 117

<212> Білок

45 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

50 <400> 324

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 5
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
 20 25 30
 10 Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
 15 50 55 60
 Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 20
 Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 25
 Ala Leu Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
 30 Val Thr Val Ser Ser
 115
 <210> 325
 35 <211> 117
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 40 <223> Синтетична конструкція
 <400> 325
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 45 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
 20 25 30
 50

Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 5
 Gly Asp Met Tyr Pro Asp Asn Gly Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60
 10 Arg Glu Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 15 Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Val Ala Ala Pro Arg Trp Tyr Phe Ser Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
 20
 Val Thr Val Ser Ser
 115
 25
 <210> 326
 <211> 107
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
 30
 <220>
 <223> Синтетична конструкція
 <400> 326
 35
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 40 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 45 35 40 45
 Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 50

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

5
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Pro
85 90 95

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

<210> 327
15 <211> 107
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
20 <223> Синтетична конструкція

<400> 327

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
25 1 5 10 15

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

30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

35
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Pro
45 85 90 95

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

50

<210> 328
 <211> 107
 <212> Білок
 5 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> Синтетична конструкція

 10 <400> 328

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

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

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

 Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 25 50 55 60

 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 30

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

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

 40 <210> 329
 <211> 107
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

 45 <220>
 <223> Синтетична конструкція

 <400> 329

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
5 20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Thr Val Lys Leu Leu Ile
10 35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
15 50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Pro
20 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
25 100 105

<210> 330
<211> 107
30 <212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція
35

<400> 330

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

40

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

45

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

50 Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
5 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Pro
10 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
15 100 105

<210> 331
<211> 107
<212> Білок
<213> Штучна послідовність
20
<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 331
25

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

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

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

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
40 50 55 60

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

45

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

50 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

5 <210> 332
 <211> 107
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 10 <223> Синтетична конструкція

 <400> 332

 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 Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
 20 20 25 30

 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Thr Val Lys Leu Leu Ile
 25 35 40 45

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

 Ser Gly Ser Gly Lys Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 30 65 70 75 80

 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Pro
 35 85 90 95

 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 40 100 105

45 <210> 333
 <211> 107
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> Синтетична конструкція

 50 <400> 333

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 5
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
 20 25 30
 10 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 15 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 20
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Pro
 85 90 95
 25
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105
 30 <210> 334
 <211> 107
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
 35 <220>
 <223> Синтетична конструкція
 <400> 334
 40 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
 45 20 25 30
 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 50

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

5

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

10

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

15

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

<210> 335
 <211> 107
 20 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична конструкція

25

<400> 335

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

30

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

35

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

40

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

45

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

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

50

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

5

<210> 336
<211> 107
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

10

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 336

15

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

20

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

25

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

30

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

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

35

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

40

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

45

<210> 337
<211> 107
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

50

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 337

5 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 Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

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

20 Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 338

<211> 107

<212> Білок

35 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

40 <400> 338

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

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

50 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

5 Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

20 <210> 339
<211> 107
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

25 <220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 339

30 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 Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

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

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

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

50 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Pro

85 90 95

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

<210> 340

<211> 107

10 <212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

15

<400> 340

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

20

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

25

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

30

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
35 65 70 75 80

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

40

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

45

<210> 341

<211> 107

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

50

<220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 341

5

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 Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

15

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

20

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

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

25

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

30

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

<210> 342

35

<211> 107

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

40

<223> Синтетична конструкція

<400> 342

45

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

50

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

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 5
 Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 10 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 15 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Ala Pro Pro
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105
 20
 <210> 343
 <211> 107
 <212> Білок
 25 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Синтетична конструкція
 30 <400> 343
 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 Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
 20 25 30
 40 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 45 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 50

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

5

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

10

<210> 344
<211> 107
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

15

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 344

20

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

25

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

30

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

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

35

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

40

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

45

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

50

<210> 345
<211> 107
<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

5

<400> 345

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 Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr

20 25 30

15

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

20

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

25 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala His Thr Leu Pro Pro

85 90 95

30

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

35

<210> 346

<211> 107

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

40

<220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 346

45

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

1 5 10 15

50

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr

20 25 30

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

10 Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 347
25 <211> 107
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
30 <223> Синтетична конструкція

<400> 347

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

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

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

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

50 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

	65	70	75	80	
5	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ala Gly His Thr Leu Pro Pro	85	90	95	
10	Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys	100	105		
15	<210> 348 <211> 107 <212> Білок <213> Штучна послідовність				
20	<220> <223> Синтетична конструкція <400> 348				
25	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly	1	5	10	15
30	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr	20	25	30	
35	Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile	35	40	45	
40	Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly	50	55	60	
45	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro	65	70	75	80
50	Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Thr Leu Pro Pro	85	90	95	
	Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys	100	105		
	<210> 349				

<211> 107

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

5 <220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 349

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

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

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

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

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

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

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

<210> 350

<211> 107

40 <212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

45

<400> 350

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

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

5

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

10

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

15

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

20

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

25

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

<210> 351
 <211> 107
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

30

<220>
 <223> Синтетична конструкція

35

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

40

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

45

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

50

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

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

5

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

10

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

<210> 352
 <211> 244
 <212> Білок
 <213> Homo sapiens

<400> 352

20

Met Arg Trp Cys Leu Leu Leu Ile Trp Ala Gln Gly Leu Arg Gln Ala
 1 5 10 15

25

Pro Leu Ala Ser Gly Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn
 20 25 30

30

Ile Ser Ala Glu Lys Gly Gly Ser Ile Ile Leu Gln Cys His Leu Ser
 35 40 45

35

Ser Thr Thr Ala Gln Val Thr Gln Val Asn Trp Glu Gln Gln Asp Gln
 50 55 60

40

Leu Leu Ala Ile Cys Asn Ala Asp Leu Gly Trp His Ile Ser Pro Ser
 65 70 75 80

45

Phe Lys Asp Arg Val Ala Pro Gly Pro Gly Leu Gly Leu Thr Leu Gln
 85 90 95

50

Ser Leu Thr Val Asn Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Ile Tyr His Thr
 100 105 110

Tyr Pro Asp Gly Thr Tyr Thr Gly Arg Ile Phe Leu Glu Val Leu Glu
 115 120 125

Ser Ser Val Ala Glu His Gly Ala Arg Phe Gln Ile Pro Leu Leu Gly
 130 135 140
 5
 Ala Met Ala Ala Thr Leu Val Val Ile Cys Thr Ala Val Ile Val Val
 145 150 155 160
 10
 Val Ala Leu Thr Arg Lys Lys Lys Ala Leu Arg Ile His Ser Val Glu
 165 170 175
 15 Gly Asp Leu Arg Arg Lys Ser Ala Gly Gln Glu Glu Trp Ser Pro Ser
 180 185 190
 20 Ala Pro Ser Pro Pro Gly Ser Cys Val Gln Ala Glu Ala Ala Pro Ala
 195 200 205
 25 Gly Leu Cys Gly Glu Gln Arg Gly Glu Asp Cys Ala Glu Leu His Asp
 210 215 220
 Tyr Phe Asn Val Leu Ser Tyr Arg Ser Leu Gly Asn Cys Ser Phe Phe
 225 230 235 240
 30 Thr Glu Thr Gly
 35 <210> 353
 <211> 223
 <212> Білок
 <213> Homo sapiens
 40 <400> 353
 Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn Ile Ser Ala Glu Lys
 1 5 10 15
 45 Gly Gly Ser Ile Ile Leu Gln Cys His Leu Ser Ser Thr Thr Ala Gln
 20 25 30
 50 Val Thr Gln Val Asn Trp Glu Gln Gln Asp Gln Leu Leu Ala Ile Cys

35 40 45
 Asn Ala Asp Leu Gly Trp His Ile Ser Pro Ser Phe Lys Asp Arg Val
 5 50 55 60
 Ala Pro Gly Pro Gly Leu Gly Leu Thr Leu Gln Ser Leu Thr Val Asn
 10 65 70 75 80
 Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Ile Tyr His Thr Tyr Pro Asp Gly Thr
 15 85 90 95
 Tyr Thr Gly Arg Ile Phe Leu Glu Val Leu Glu Ser Ser Val Ala Glu
 100 105 110
 His Gly Ala Arg Phe Gln Ile Pro Leu Leu Gly Ala Met Ala Ala Thr
 20 115 120 125
 Leu Val Val Ile Cys Thr Ala Val Ile Val Val Val Ala Leu Thr Arg
 25 130 135 140
 Lys Lys Lys Ala Leu Arg Ile His Ser Val Glu Gly Asp Leu Arg Arg
 30 145 150 155 160
 Lys Ser Ala Gly Gln Glu Glu Trp Ser Pro Ser Ala Pro Ser Pro Pro
 165 170 175
 Gly Ser Cys Val Gln Ala Glu Ala Ala Pro Ala Gly Leu Cys Gly Glu
 180 185 190
 Gln Arg Gly Glu Asp Cys Ala Glu Leu His Asp Tyr Phe Asn Val Leu
 195 200 205
 Ser Tyr Arg Ser Leu Gly Asn Cys Ser Phe Phe Thr Glu Thr Gly
 210 215 220
 <210> 354
 <211> 249
 50 <212> Білок

<213> Homo sapiens

<400> 354

5 Leu His Cys Val Gly Asp Thr Tyr Pro Ser Asn Asp Arg Cys Cys His
1 5 10 15

10 Glu Cys Arg Pro Gly Asn Gly Met Val Ser Arg Cys Ser Arg Ser Gln
20 25 30

15 Asn Thr Val Cys Arg Pro Cys Gly Pro Gly Phe Tyr Asn Asp Val Val
35 40 45

20 Ser Ser Lys Pro Cys Lys Pro Cys Thr Trp Cys Asn Leu Arg Ser Gly
50 55 60

25 Ser Glu Arg Lys Gln Leu Cys Thr Ala Thr Gln Asp Thr Val Cys Arg
65 70 75 80

30 Cys Arg Ala Gly Thr Gln Pro Leu Asp Ser Tyr Lys Pro Gly Val Asp
85 90 95

35 Cys Ala Pro Cys Pro Pro Gly His Phe Ser Pro Gly Asp Asn Gln Ala
100 105 110

40 Cys Lys Pro Trp Thr Asn Cys Thr Leu Ala Gly Lys His Thr Leu Gln
115 120 125

45 Pro Ala Ser Asn Ser Ser Asp Ala Ile Cys Glu Asp Arg Asp Pro Pro
130 135 140

50 Ala Thr Gln Pro Gln Glu Thr Gln Gly Pro Pro Ala Arg Pro Ile Thr
145 150 155 160

55 Val Gln Pro Thr Glu Ala Trp Pro Arg Thr Ser Gln Gly Pro Ser Thr
165 170 175

60 Arg Pro Val Glu Val Pro Gly Gly Arg Ala Val Ala Ala Ile Leu Gly
180 185 190

Leu Gly Leu Val Leu Gly Leu Leu Gly Pro Leu Ala Ile Leu Leu Ala
195 200 205

5

Leu Tyr Leu Leu Arg Arg Asp Gln Arg Leu Pro Pro Asp Ala His Lys
210 215 220

10

Pro Pro Gly Gly Gly Ser Phe Arg Thr Pro Ile Gln Glu Glu Gln Ala
225 230 235 240

15 Asp Ala His Ser Thr Leu Ala Lys Ile
245

20

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Антитіло, яке специфічно зв'язується з TIGIT людини, причому антитіло містить наступні шість гіперваріабельних ділянок (ГВД (HVR)):

- 25 HVR-H1, що містить амінокислотну послідовність SNSAAWN (SEQ ID NO: 1);
HVR-H2, що містить амінокислотну послідовність KTYRFRKWYSDYAVSVKG (SEQ ID NO: 2);
HVR-H3, що містить амінокислотну послідовність ESTTYDLLAGPFDY (SEQ ID NO: 3);
HVR-L1, що містить амінокислотну послідовність KSSQTVLYSSNNKKYLA (SEQ ID NO: 4);
HVR-L2, що містить амінокислотну послідовність WASTRES (SEQ ID NO: 5); і
HVR-L3, що містить амінокислотну послідовність QQYYSTPFT (SEQ ID NO: 6).

30 2. Антитіло за п. 1, яке **відрізняється** тим, що вказане антитіло додатково містить наступні каркасні ділянки (КД) варіабельної ділянки легкого ланцюга:

- FR-L1, що містить амінокислотну послідовність DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC (SEQ ID NO: 7);
FR-L2, що містить амінокислотну послідовність WYQQKPGQPPNLLIY (SEQ ID NO: 8);
FR-L3, що містить амінокислотну послідовність GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC
35 (SEQ ID NO: 9); а також FR-L4, що містить амінокислотну послідовність FGPGTKVEIK (SEQ ID NO: 10).

3. Антитіло за п. 1, яке **відрізняється** тим, що вказане антитіло додатково містить наступні КД ділянки варіабельної ділянки важкого ланцюга:

- 40 FR-H1, що містить амінокислотну послідовність X1VQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVS (SEQ ID NO: 11), де X1 являє собою Q або E;
FR-H2, що містить амінокислотну послідовність WIRQSPSRGLEWLG (SEQ ID NO: 12);
FR-H3, що містить амінокислотну послідовність RITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVFYCTR (SEQ ID NO: 13); і
FR-H4, що містить амінокислотну послідовність WGQGTSLTVSS (SEQ ID NO: 14).

45 4. Антитіло за п. 3, яке **відрізняється** тим, що вказане антитіло додатково містить наступні КД ділянки варіабельної ділянки важкого ланцюга:

- FR-H1, що містить амінокислотну послідовність EVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVS (SEQ ID NO: 15);
FR-H2, що містить амінокислотну послідовність WIRQSPSRGLEWLG (SEQ IDNO: 12);
50 FR-H3, що містить амінокислотну послідовність RITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVFYCTR (SEQ ID NO: 13); і
FR-H4, що містить амінокислотну послідовність WGQGTSLTVSS (SEQ ID NO: 14).

5. Антитіло за п. 3, яке **відрізняється** тим, що вказане антитіло додатково містить наступні КД ділянки варіабельної ділянки важкого ланцюга:

- 55 FR-H1, що містить амінокислотну послідовність QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVS (SEQ ID NO: 16);
FR-H2, що містить амінокислотну послідовність WIRQSPSRGLEWLG (SEQ ID NO: 12);

FR-H3, що містить амінокислотну послідовність RITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVFYCTR (SEQ ID NO: 13); і

FR-H4, що містить амінокислотну послідовність WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 14).

6. Антитіло за будь-яким із пп. 1-5, причому антитіло містить (а) варіабельну ділянку важкого ланцюга (VH), що має ідентичність послідовності щонайменше 95 % відносно амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 34 або 35, і варіабельну ділянку легкого ланцюга (VL), що має ідентичність послідовності щонайменше 95 % відносно амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 36.

7. Антитіло за п. 6, яке **відрізняється** тим, що антитіло містить (а) VH, що має ідентичність послідовності щонайменше 96 % відносно амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 34 або 35, і VL, що має ідентичність послідовності щонайменше 96 % відносно амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 36.

8. Антитіло за п. 7, яке **відрізняється** тим, що антитіло містить (а) VH, що має ідентичність послідовності щонайменше 97 % відносно амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 34 або 35, і VL, що має ідентичність послідовності щонайменше 97 % відносно амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 36.

9. Антитіло за п. 8, яке **відрізняється** тим, що антитіло містить (а) VH, що має ідентичність послідовності щонайменше 98 % відносно амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 34 або 35, і VL, що має ідентичність послідовності щонайменше 98 % відносно амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 36.

10. Антитіло за п. 9, яке **відрізняється** тим, що антитіло містить (а) VH, що має ідентичність послідовності щонайменше 99 % відносно амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 34 або 35; (b) VL, що має ідентичність послідовності щонайменше 99 % відносно амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 36; або (c) VH, як в (а), і VL, як у (b).

11. Антитіло, яке специфічно зв'язується з TIGIT людини, причому антитіло містить домен VH, який містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 34, і домен VL, який містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36.

12. Антитіло, яке специфічно зв'язується з TIGIT людини, причому антитіло містить домен VH, який містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35, і домен VL, який містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36.

13. Антитіло за будь-яким з пп. 1-12, яке **відрізняється** тим, що вказане антитіло здатне зв'язуватися з TIGIT кролика.

14. Антитіло за будь-яким з пп. 1-13, яке **відрізняється** тим, що вказане антитіло здатне зв'язуватися з TIGIT людини і TIGIT яванського макака (яванця), але не TIGIT миші.

15. Антитіло за п. 14, яке **відрізняється** тим, що вказане антитіло зв'язується з TIGIT людини із Kd близько 10 нМ або менше і з TIGIT яванця з Kd близько 10 нМ або менше.

16. Антитіло за п. 15, яке **відрізняється** тим, що вказане антитіло зв'язується з TIGIT людини із Kd від близько 0,1 нМ до близько 1 нМ і з TIGIT яванця з Kd від близько 0,5 нМ до близько 1 нМ.

17. Антитіло за п. 16, яке **відрізняється** тим, що вказане антитіло зв'язується з TIGIT людини із Kd близько 0,1 нМ або менше і з TIGIT яванця з Kd близько 0,5 нМ або менше.

18. Антитіло за будь-яким з пп. 1-17, яке **відрізняється** тим, що вказане антитіло являє собою антагоністичне антитіло.

19. Антитіло за п. 18, яке **відрізняється** тим, що вказане антагоністичне антитіло специфічно зв'язується з TIGIT і інгібує або блокує взаємодію TIGIT з рецептором поліовірусу (ПБП (PVR)).

20. Антитіло за п. 19, яке **відрізняється** тим, що вказане антагоністичне антитіло інгібує внутрішньоклітинну передачу сигналу, опосередковану зв'язуванням TIGIT з ПБП (PVR).

21. Антитіло за будь-яким з пп. 18-20, яке **відрізняється** тим, що вказане антагоністичне антитіло інгібує або блокує зв'язування TIGIT людини з ПБП (PVR) людини зі значенням IC50 10 нМ або менше.

22. Антитіло за будь-яким з пп. 18-21, яке **відрізняється** тим, що вказане антагоністичне антитіло інгібує або блокує зв'язування TIGIT людини з ПБП (PVR) людини зі значенням IC50 від 1 нМ до близько 10 нМ.

23. Антитіло за будь-яким з пп. 14-18, яке **відрізняється** тим, що вказане антагоністичне антитіло інгібує або блокує зв'язування TIGIT яванця з ПБП (PVR) яванця зі значенням IC50 50 нМ або менше.

24. Антитіло за п. 23, яке **відрізняється** тим, що вказане антагоністичне антитіло інгібує або блокує зв'язування TIGIT яванця з ПБП (PVR) яванця зі значенням IC50 від 1 нМ до близько 50 нМ.

25. Антитіло за п. 24, яке **відрізняється** тим, що вказане антагоністичне антитіло інгібує або блокує зв'язування TIGIT яванця з PBP (PVR) яванця зі значенням IC50 від 1 нМ до близько 5 нМ.
- 5 26. Антитіло за будь-яким з пп. 1-25, яке **відрізняється** тим, що вказане антитіло є моноклональним.
27. Антитіло за будь-яким з пп. 1-25, яке **відрізняється** тим, що вказане антитіло є людським, гуманізованим або гібридним.
28. Антитіло за п. 27, яке **відрізняється** тим, що вказане антитіло є людським.
- 10 29. Антитіло за п. 27 або п. 28, яке **відрізняється** тим, що щонайменше частина каркасної послідовності являє собою консенсусну каркасну послідовність людини.
30. Антитіло за будь-яким з пп. 1-29, яке **відрізняється** тим, що вказане антитіло є повнорозмірним антитілом.
31. Антитіло за будь-яким з пп. 1-30, яке **відрізняється** тим, що кліренс вказаного антитіла після внутрішньовенної ін'єкції становить від близько 3 мл/кг/добу до близько 10 мл/кг/добу.
- 15 32. Антитіло за п. 31, яке **відрізняється** тим, що кліренс вказаного антитіла після внутрішньовенної ін'єкції становить від близько 3 мл/кг/добу до близько 8 мл/кг/добу.
33. Антитіло за будь-яким з пп. 1-29, яке **відрізняється** тим, що вказане антитіло являє собою фрагмент антитіла, який зв'язується з TIGIT.
- 20 34. Антитіло за п. 33, яке **відрізняється** тим, що вказаний фрагмент антитіла вибраний з групи, що складається із фрагментів Fab, Fab', Fab'-SH, Fv, одноланцюгового варіабельного фрагмента (scFv) і фрагментів (Fab')₂.
35. Антитіло за будь-яким з пп. 1-34, яке **відрізняється** тим, що вказане антитіло являє собою антитіло класу IgG.
- 25 36. Антитіло за п. 35, яке **відрізняється** тим, що вказане антитіло класу IgG є антитілом підкласу IgG1.
37. Полінуклеотид, що кодує антитіло за будь-яким з пп. 1-36.
38. Вектор, що містить полінуклеотид за п. 37.
39. Клітина-хазяїн, що містить вектор за п. 38.
40. Клітина-хазяїн за п. 39, яка **відрізняється** тим, що клітина-хазяїн є прокаріотичною.
- 30 41. Клітина-хазяїн за п. 40, яка **відрізняється** тим, що клітина-хазяїн являє собою *Escherichia coli*.
42. Клітина-хазяїн за п. 39, яка **відрізняється** тим, що клітина-хазяїн є еукаріотичною.
43. Клітина-хазяїн за п. 42, яка **відрізняється** тим, що клітина-хазяїн являє собою клітину 293, клітину СНО, дріжджову клітину або рослинну клітину.
- 35 44. Спосіб одержання антитіла за будь-яким з пп. 1-36, що включає культивування клітини-хазяїна за п. 39 в поживному середовищі.
45. Спосіб за п. 44, який **відрізняється** тим, що додатково включає виділення антитіла з клітини-хазяїна або поживного середовища.
46. Імунокон'югат, що містить антитіло за будь-яким з пп. 1-36 і цитотоксичний агент.
- 40 47. Композиція, яка містить антитіло за будь-яким із пп. 1-36 і фармацевтично прийнятний носій, допоміжну речовину або розбавлювач.
48. Композиція за п. 47, яка **відрізняється** тим, що композиція являє собою фармацевтичну композицію.
49. Композиція за п. 47 або п. 48, яка **відрізняється** тим, що композиція додатково містить антагоніст зв'язування осі PD-1 або додатковий терапевтичний агент.
- 45 50. Застосування антитіла за будь-яким з пп. 1-36 у виробництві лікарського засобу для лікування або сповільнення прогресування раку у суб'єкта, який потребує цього.
51. Застосування за п. 50, в якому рак вибраний з групи, що складається із недрібноклітинного раку легені, дрібноклітинного раку легені, раку нирки, колоректального раку, раку яєчника, раку молочної залози, раку підшлункової залози, карциноми шлунка, раку сечового міхура, раку стравоходу, мезотеліоми, меланоми, раку голови та шиї, раку щитоподібної залози, саркоми, раку передміхурової залози, гліобластоми, раку шийки матки, карциноми тимусу, лейкозу, лімфоми, міеломи, грибоподібних мікозів, раку клітин Меркель і злоякісних новоутворень кровотворної системи.
- 50 52. Застосування за п. 51, в якому міелома являє собою множинну мієлому (ММ).
53. Спосіб лікування або сповільнення прогресування раку у суб'єкта, що включає введення суб'єкту ефективної кількості антитіла за будь-яким з пп. 1-36, з лікуванням або сповільненням в такий спосіб розвитку раку у суб'єкта.
- 55 54. Спосіб за п. 53, який **відрізняється** тим, що рак вибраний з групи, що складається із недрібноклітинного раку легені, дрібноклітинного раку легені, раку нирки, колоректального раку,
- 60

раку яєчника, раку молочної залози, раку підшлункової залози, карциноми шлунка, раку сечового міхура, раку стравоходу, мезотеліоми, меланоми, раку голови та шиї, раку щитоподібної залози, саркоми, раку передміхурової залози, гліобластоми, раку шийки матки, карциноми тимусу, лейкозу, лімфоми, міеломи, грибоподібних мікозів, раку клітин Меркель і злоякісних новоутворень кровотворної системи.

55. Спосіб за п. 54, який **відрізняється** тим, що міелома являє собою множинну мієлому (ММ).

56. Спосіб за будь-яким з пп. 53-55, який додатково включає введення суб'єкту антагоніста зв'язування осі PD-1.

57. Спосіб за п. 56, який **відрізняється** тим, що антагоніст зв'язування осі PD-1 вводять до або після введення антитіла.

58. Спосіб за п. 56, який **відрізняється** тим, що антагоніст зв'язування осі PD-1 вводять одночасно з антитілом.

59. Спосіб за будь-яким з пп. 56-58, який **відрізняється** тим, що антагоніст зв'язування осі PD-1 вибраний з групи, що складається із антагоніста зв'язування PD-1, антагоніста зв'язування PD-L1 і антагоніста зв'язування PD-L2.

60. Спосіб за п. 59, який **відрізняється** тим, що антагоніст зв'язування осі PD-1 є антагоністом зв'язування PD-1.

61. Спосіб за п. 60, який **відрізняється** тим, що антагоніст зв'язування PD-1 інгібує зв'язування PD-1 з його партнерами-лігандами по зв'язуванню.

62. Спосіб за п. 61, який **відрізняється** тим, що антагоніст зв'язування PD-1 інгібує зв'язування PD-1 з PD-L1.

63. Спосіб за п. 61, який **відрізняється** тим, що антагоніст зв'язування PD-1 інгібує зв'язування PD-1 з PD-L2.

64. Спосіб за п. 61, який **відрізняється** тим, що антагоніст зв'язування PD-1 інгібує зв'язування PD-1 як з PD-L1, так і з PD-L2.

65. Спосіб за будь-яким з пп. 61-64, який **відрізняється** тим, що антагоніст зв'язування PD-1 являє собою анти-PD-1 антитіло.

66. Спосіб за п. 61, який **відрізняється** тим, що антагоніст зв'язування PD-1 вибраний з групи, що складається із MDX 1106 (ніволумаб), MK-3475 (пембролізумаб), MEDI-0680 (AMP-514), PDR001, REGN2810 і BGB-108.

67. Спосіб за п. 59, який **відрізняється** тим, що антагоніст зв'язування PD-1 є антагоністом зв'язування PD-L1.

68. Спосіб за п. 67, який **відрізняється** тим, що антагоніст зв'язування PD-L1 інгібує зв'язування PD-L1 з PD-1.

69. Спосіб за п. 67, який **відрізняється** тим, що антагоніст зв'язування PD-L1 інгібує зв'язування PD-L1 з B7-1.

70. Спосіб за п. 67, який **відрізняється** тим, що антагоніст зв'язування PD-L1 інгібує зв'язування PD-L1 як з PD-1, так і з B7-1.

71. Спосіб за будь-яким з пп. 67-70, який **відрізняється** тим, що антагоніст зв'язування PD-L1 являє собою анти-PD-L1 антитіло.

72. Спосіб за п. 71, який **відрізняється** тим, що анти-PD-L1 антитіло вибрано з групи, що складається із: MPDL3280A (атезолізумаб), MDX-1105, MEDI4736 (дурвалумаб) і MSB0010718C (авелумаб).

73. Спосіб за п. 72, який **відрізняється** тим, що антитіло являє собою MPDL3280A.

74. Спосіб за п. 59, який **відрізняється** тим, що антагоніст зв'язування осі PD-1 є антагоністом зв'язування PD-L2.

75. Спосіб за п. 74, який **відрізняється** тим, що антагоніст зв'язування PD-L2 являє собою анти-PD-L2 антитіло.

76. Спосіб за п. 74, який **відрізняється** тим, що антагоніст зв'язування PD-L2 являє собою імуноадгезин.

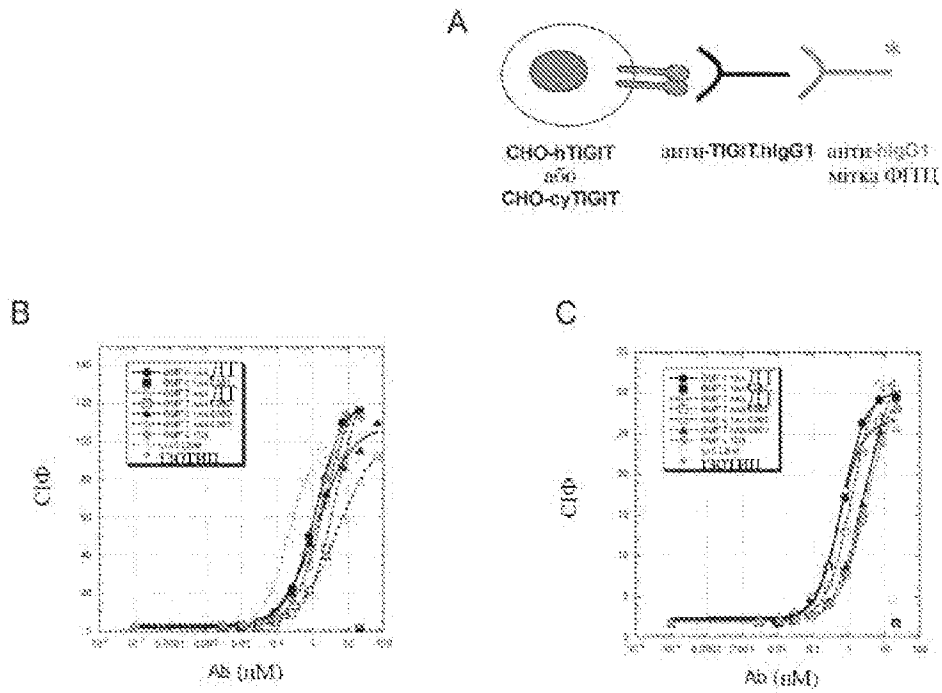
77. Спосіб за будь-яким з пп. 53-76, який додатково включає введення суб'єкту додаткового терапевтичного агента.

78. Спосіб за п. 77, який **відрізняється** тим, що додатковий терапевтичний агент являє собою хіміотерапевтичний засіб.

79. Спосіб за будь-яким з пп. 53-78, який **відрізняється** тим, що антитіло вводять підшкірно, внутрішньовенно, внутрішньом'язово, застосовують місцево, перорально, трансдермально, внутрішньочеревинно, внутрішньоорбітально, шляхом імплантації, шляхом інгаляції, інтратекально, інтравентрикулярно або інтраназально.

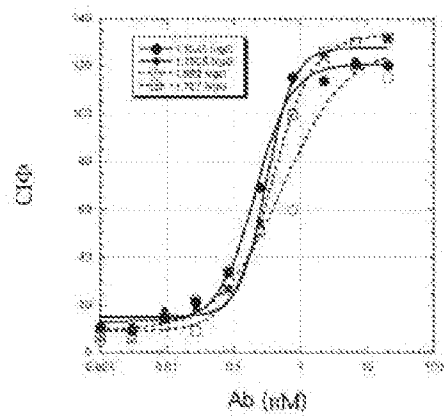
80. Спосіб за будь-яким з пп. 53-79, який **відрізняється** тим, що суб'єкт є людиною.

81. Набір для лікування або сповільнення прогресування раку у суб'єкта, що містить упаковку, що містить антитіло за будь-яким з пп. 1-36, і листок-вкладиш в упаковку, який містить інструкцію із застосування антитіла для лікування або сповільнення прогресування раку у суб'єкта.
- 5 82. Набір за п. 81, який відрізняється тим, що суб'єкт є людиною.



Фіг. 1A-1C

D



E

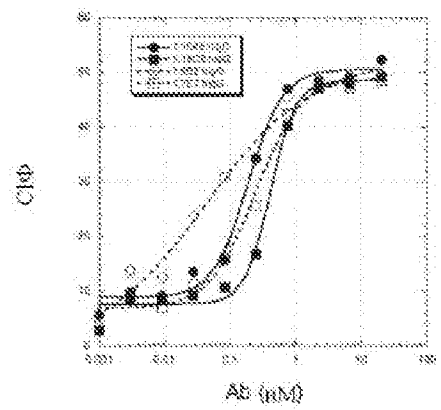
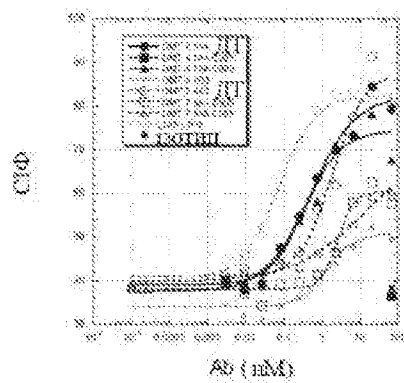


Fig. 1D-1E

A



B

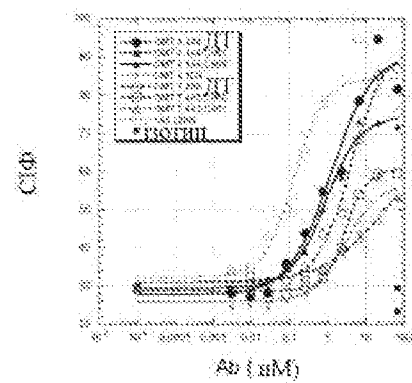


Fig. 2A-2B

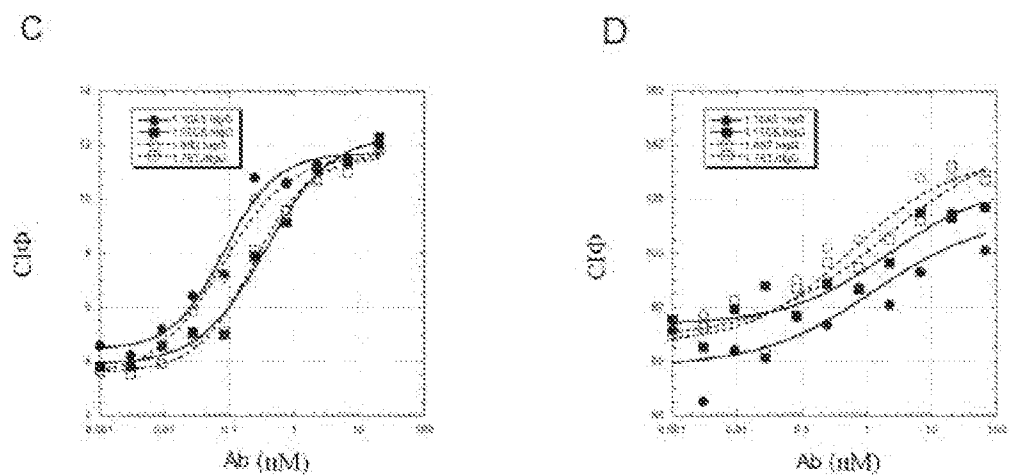


Fig. 2C-2D

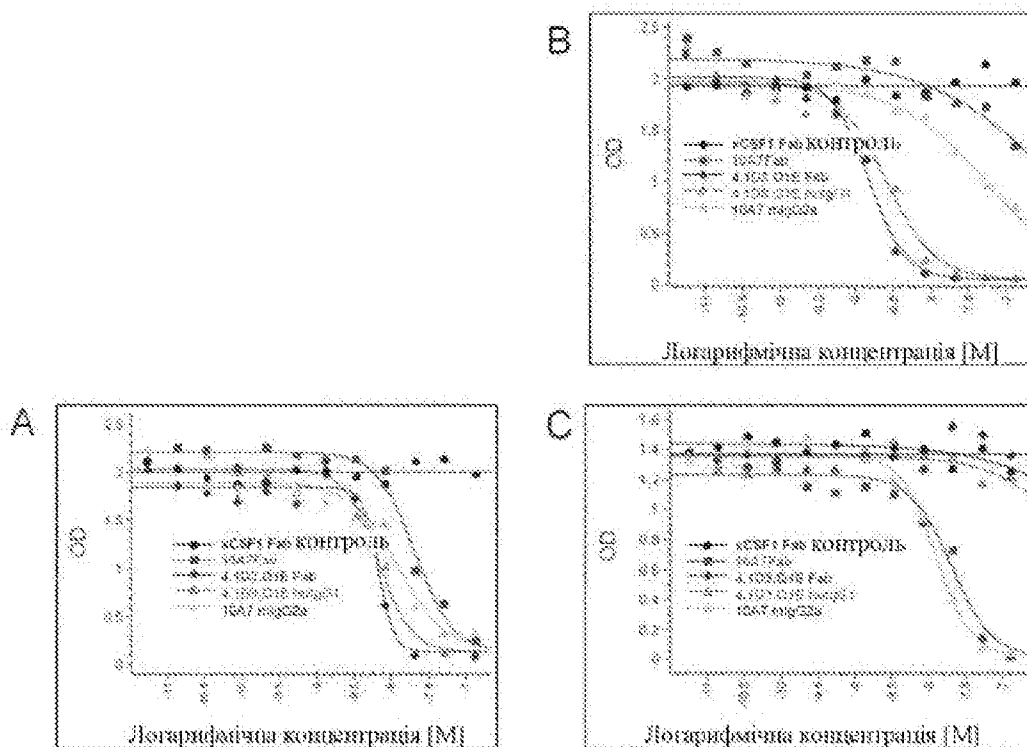
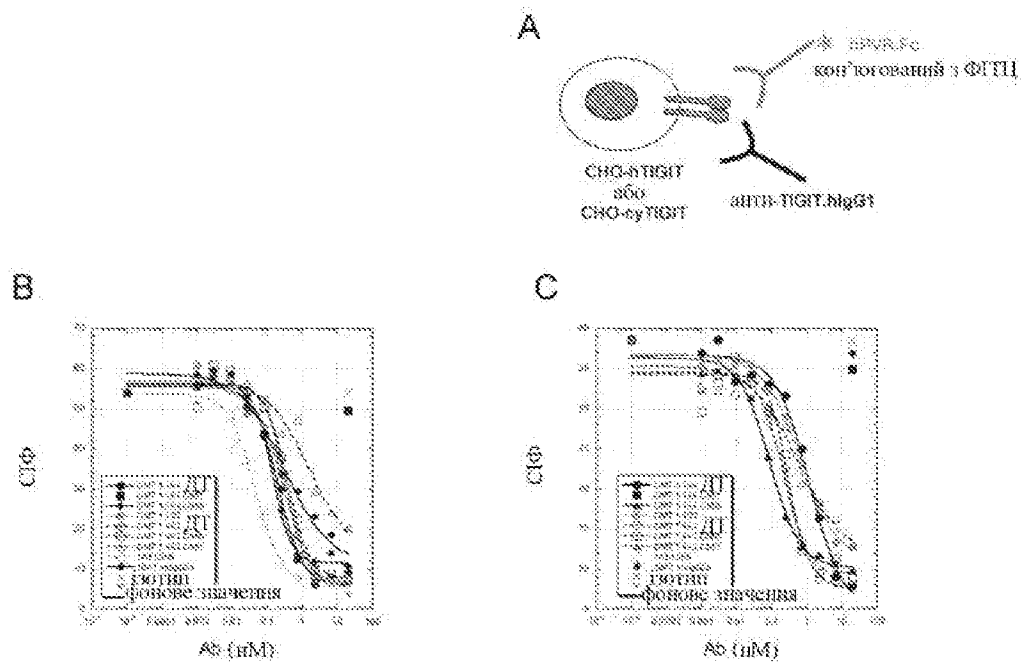


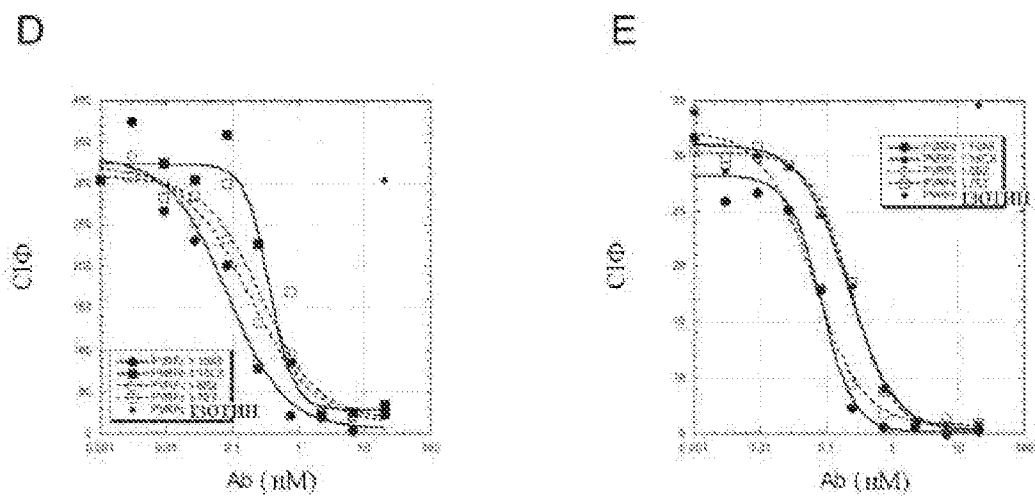
Fig. 3A-3C

аgггг-TIGIT	Блокующий ТiФА ПВР додиди-Fc:Bio- TIGIT-AviFlag IC50, нМ	Блокующий ТiФА ПВР явддд-Fc:Bio- TIGIT-AviFlag IC50, нМ	Блокующий ТiФА ПВР миддд- Fc:TIGIT-His IC50, нМ
10A7Fab	21.2	>133	20.9
10A7 mlgG2a	12.9	55.7	12.6
4.1D3.Q1E Fab	6.9	1.5	>133
4.1D3.Q1E hulgG1	6.9	2.6	>133
xCSF1 Fab контроль	>133	>133	>133

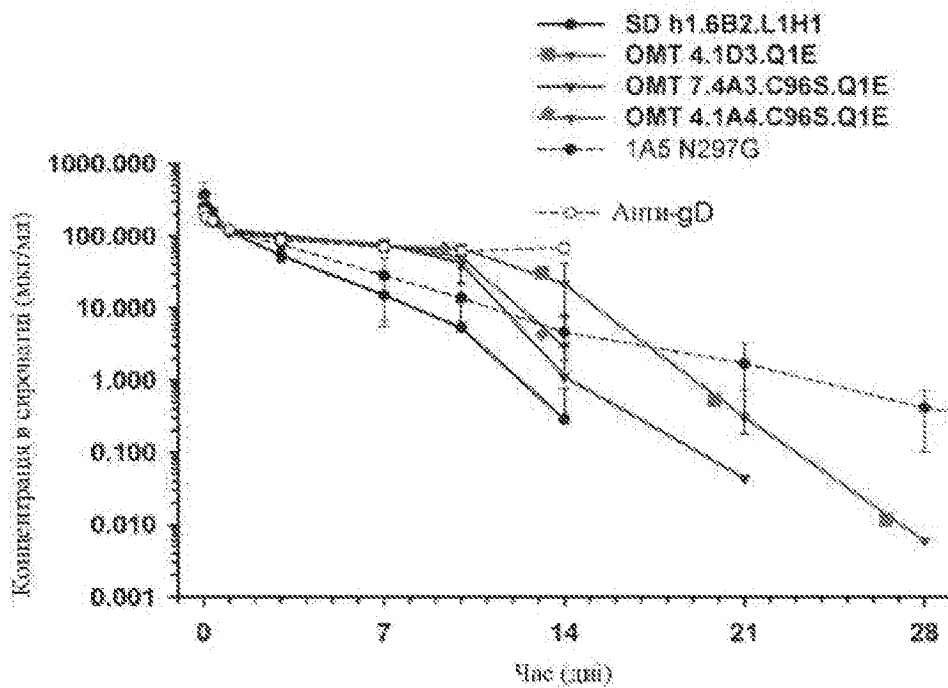
Dir. 3D



Qir. 4A-4C



Фиг. 4D-4E



Фиг. 5A

Анти-TIGIT Варіанти	AUC_{INF} (Доба • мг/мл)	CL (мл/добу/кг)	C_{max} (мг/мл)
Анти-gD	3480 ± 1450	3.19 ± 1.18	216 ± 26.7
1A5 N297G	735 ± 166	14.1 ± 2.85	376 ± 168
SD h1.6B2.L1H1	512 ± 88.7	19.9 ± 3.75	246 ± 22.1
OMT 4.1D3.Q1E	1200 ± 88.5	8.39 ± 0.64	214 ± 11.1
OMT 7.4A3.C96S.Q1E	973 ± 128	10.4 ± 1.44	218 ± 18.5
OMT 4.1A4.C96S.Q1E	1016 ± 123	9.93 ± 1.21	206 ± 22.9

Fig. 5B

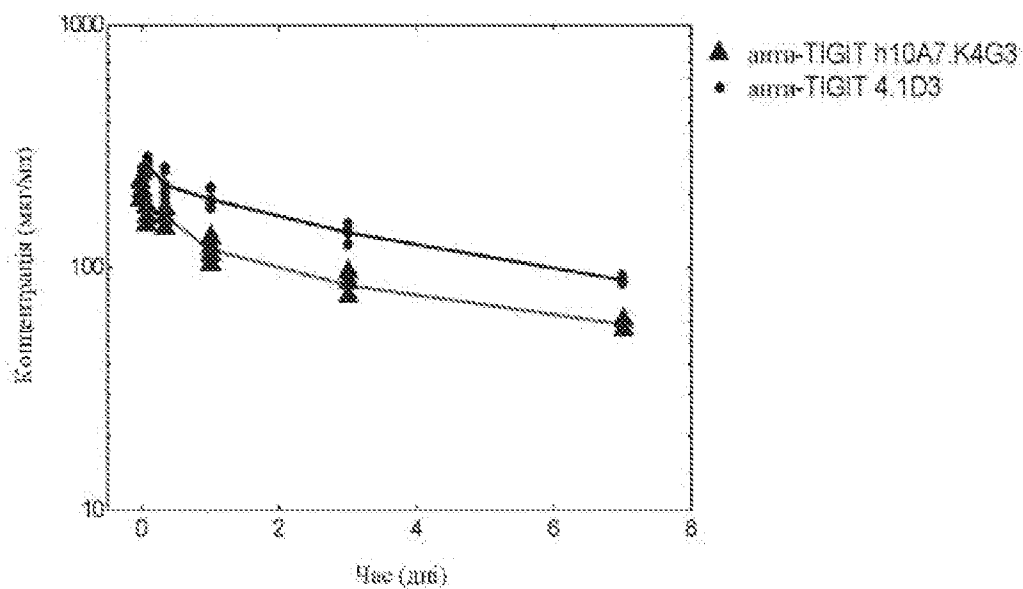


Fig. 5C

	AUC_{0-7} ($\text{до́ба}^{\circ}\text{мкг/мл}$)
	Средне значение (co)
ВИТН-TIGIT h10A7.K4G3	641 (co, 34)
ВИТН-TIGIT 4.1D3	1,006 (co, 49)

Fig. 5D

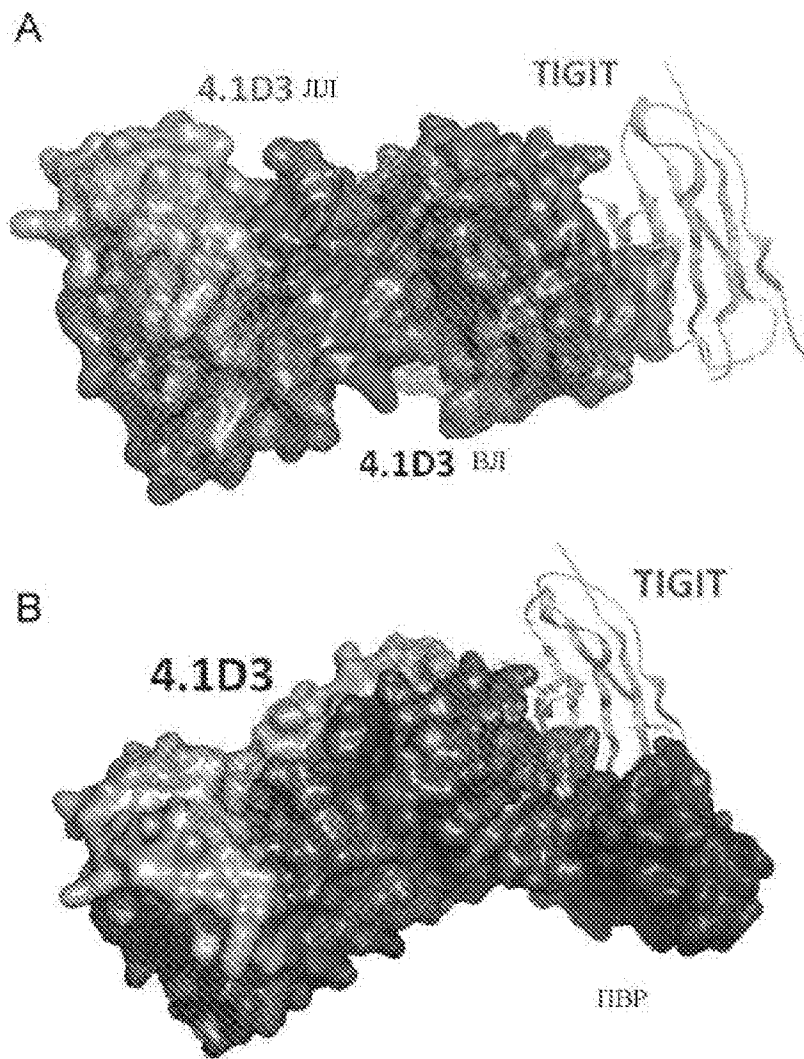
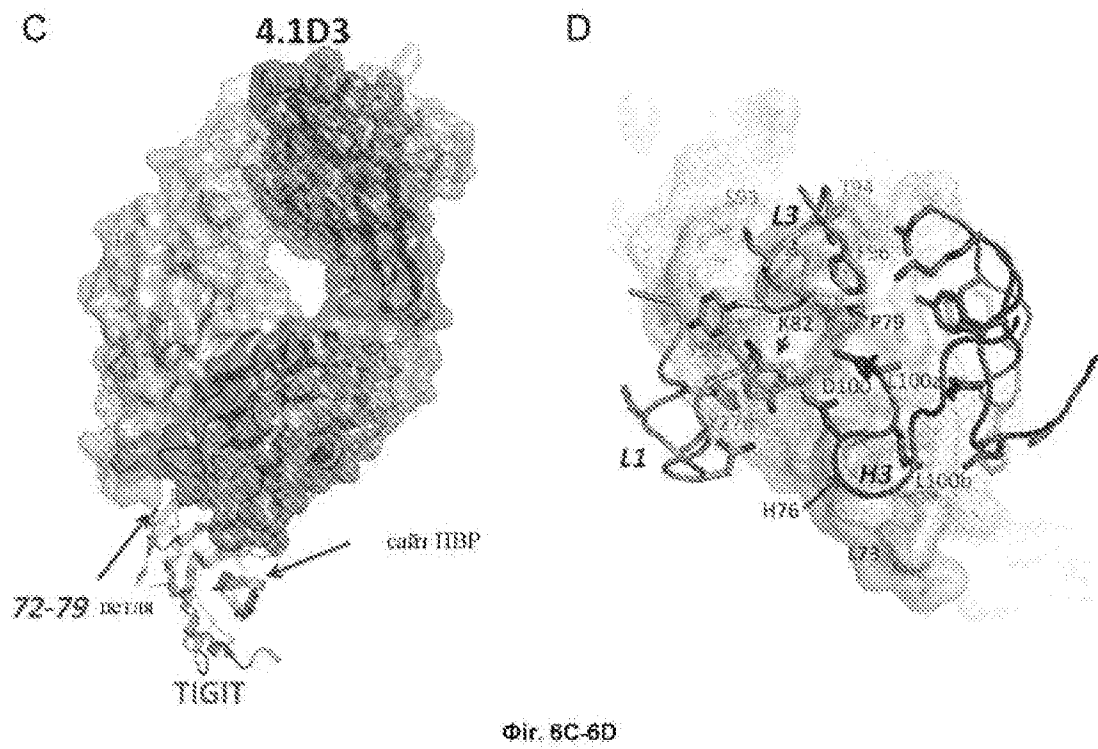
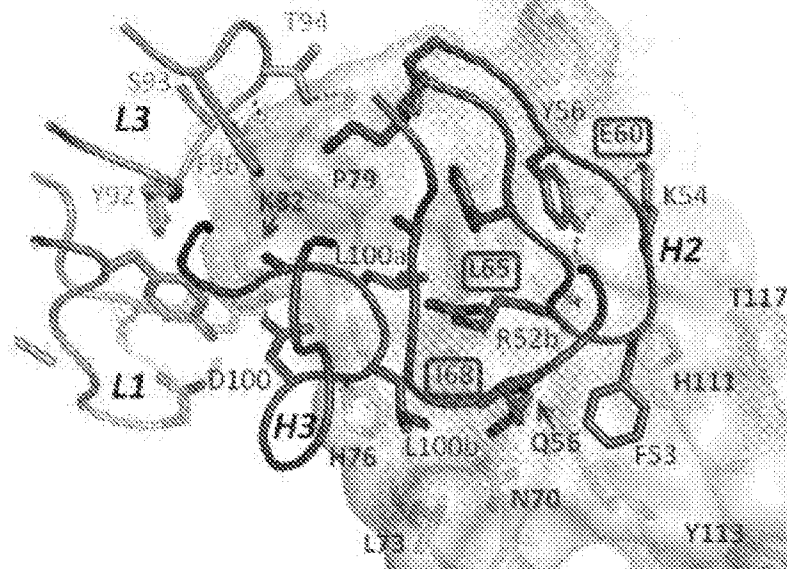


Fig. 6A-6B





Φir. 6E

A

Мутанти		Афінність зв'язування КД (нМ) [N=2]					
Гібриди		83A5.1218	4.303	7.483.1985	4.184.1985	8882.1218	8712.15.8884
ДП	44.2 ± 20.1	8.4 ± 0.9	0.5 ± 0.04	1.8 ± 1.1	30.8 ± 0.9	0.7 ± 0.1	0.8 ± 0.1
С55A	32.0 ± 5.7	8.1 ± 1.7	8.8 ± 0.3	> 100	> 500	0.9 ± 0.1	0.8 ± 0.1
С56A	38.5 ± 15.5	> 500	2.7 ± 0.9	22.7 ± 12.9	1.4 ± 0.1	1.3 ± 0.1	2.1 ± 0.1
С60A	40.3 ± 8.6	> 500	5.1 ± 0.4	6.9 ± 1.5	7.9 ± 0.1	8.4 ± 0.3	0.7 ± 0.1
С65A	50.6 ± 2.3	50.6 ± 4.0	2.8 ± 1.1	5.9 ± 1.6	42.8 ± 2.9	3.9 ± 0.8	1.0 ± 0.4
С68A	17.3 ± 8.5	> 500	0.15 ± 0.2	4.9 ± 1.9	18.6 ± 2.8	11.3 ± 1.1	0.9 ± 0.3
С70A	24.3 ± 5.7	61.2 ± 1.8	1.7 ± 0.8	10.7 ± 8.7	> 500	7.8 ± 0.1	1.6 ± 0.6
С73A	> 500	41.0 ± 8.3	1.3 ± 0.8	6.4 ± 4.9	82.9 ± 8.9	> 100	44.8 ± 5.8
С76A	> 500	23.3 ± 9.8	0.7 ± 0.3	6.7 ± 1.8	44.5 ± 30.0	> 100	1.0 ± 0.1
Н111A	33.3 ± 4.5	12.8 ± 3.7	1.9 ± 1.4	101.2 ± 75.3	85.0 ± 7.6	1.3 ± 0.1	1.8 ± 0.6
У115A	55.5 ± 18.8	> 500	2.8 ± 1.5	> 100	> 500	2.5 ± 0.6	0.0 ± 0.1
У117A	36.4 ± 6.4	22.7 ± 1.1	0.7 ± 0.4	9.3 ± 1.6	37.9 ± 4.3	1.1 ± 0.1	0.8 ± 0.1

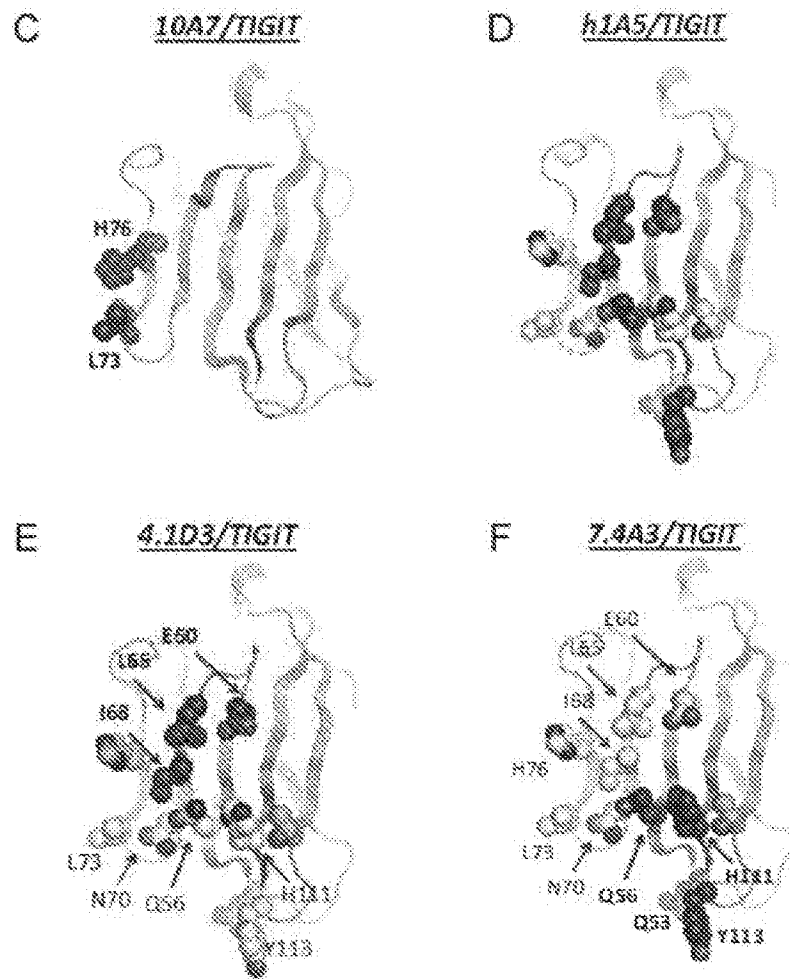
B

Мутанти		Зниження афінності зв'язування проти ДП [N=2]					
Гібриди		83A5.1218	4.303	7.483.1985	4.184.1985	8882.1218	8712.15.8884
ДП	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
С55A	0.7	1.7	1.6	1.0	1.6	1.3	2.0
С56A	0.7	1.1	5.4	1.2	0.1	1.8	2.2
С60A	0.9	1.0	0.7	2.1	0.3	3.4	1.8
С65A	0.2	1.1	0.6	2.3	1.4	4.3	2.5
С68A	0.4	0.1	0.8	2.7	0.9	10.5	2.3
С70A	0.5	0.0	1.4	5.8	10.7	4.0	4.0
С73A	1.1	0.3	2.6	9.8	2.7	110.0	11.2
С76A	1.1	5.1	1.4	2.3	1.4	100.0	2.5
Н111A	0.7	2.0	1.8	11.0	7.8	1.9	4.5
У115A	1.3	1.0	5.8	1.6	1.0	3.6	1.5
У117A	0.8	5.2	1.4	1.8	1.3	1.8	2.0

Позначення:

- 10-кратне зниження
- 100-кратне зниження

Фіг. 7A-7B



Φir. 7C-7F

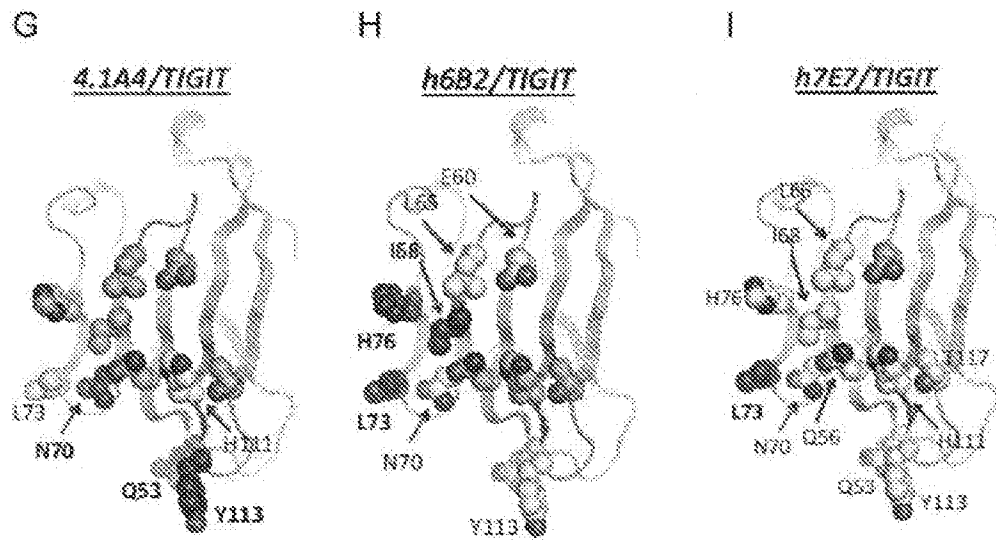


Fig. 7G-7I

Fab 1A5/TIGIT

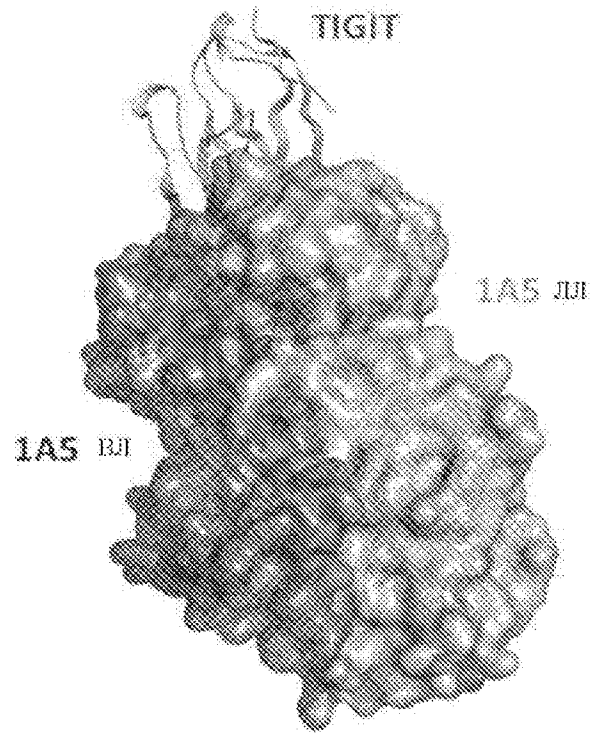


Fig. 8

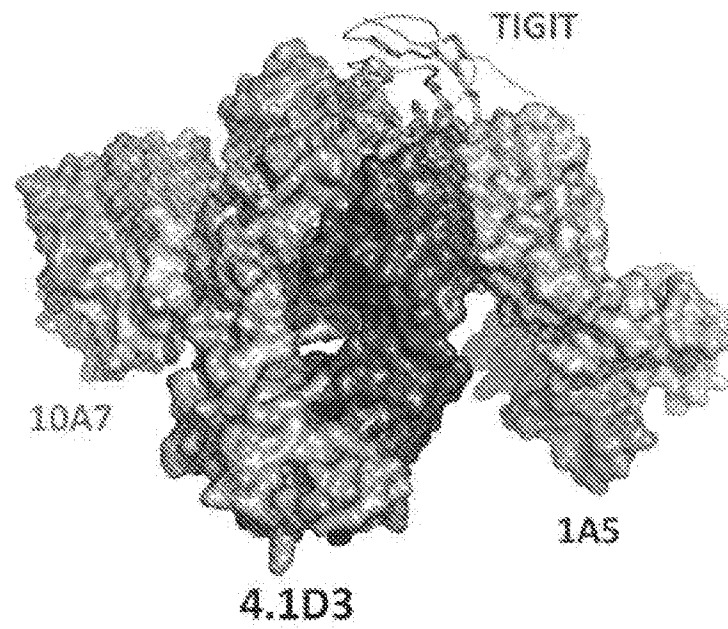
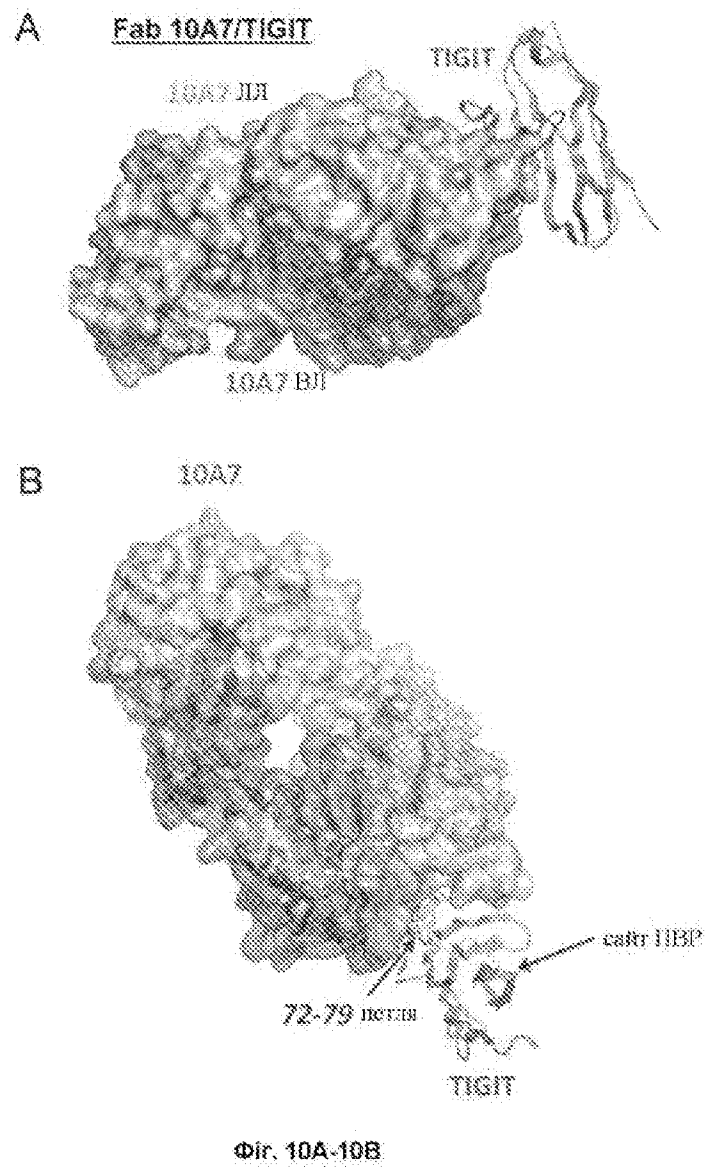
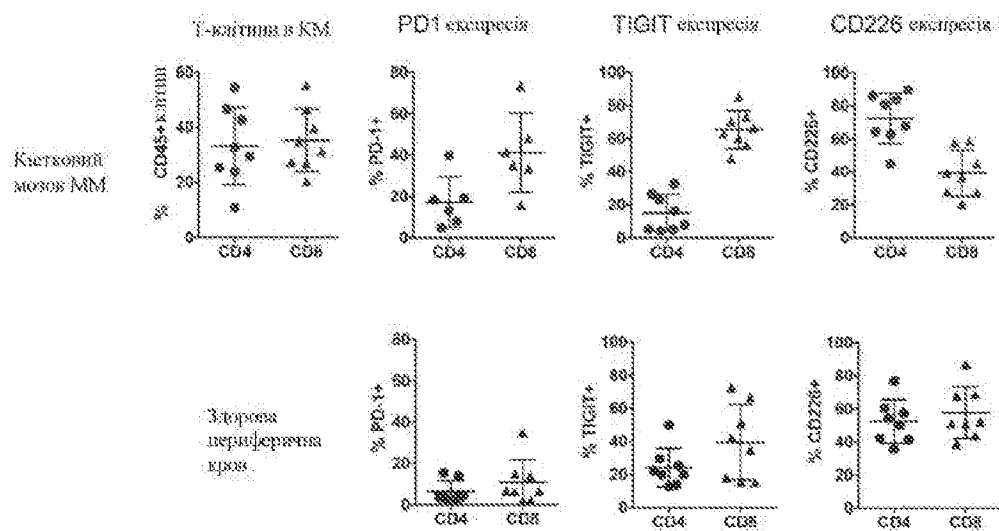
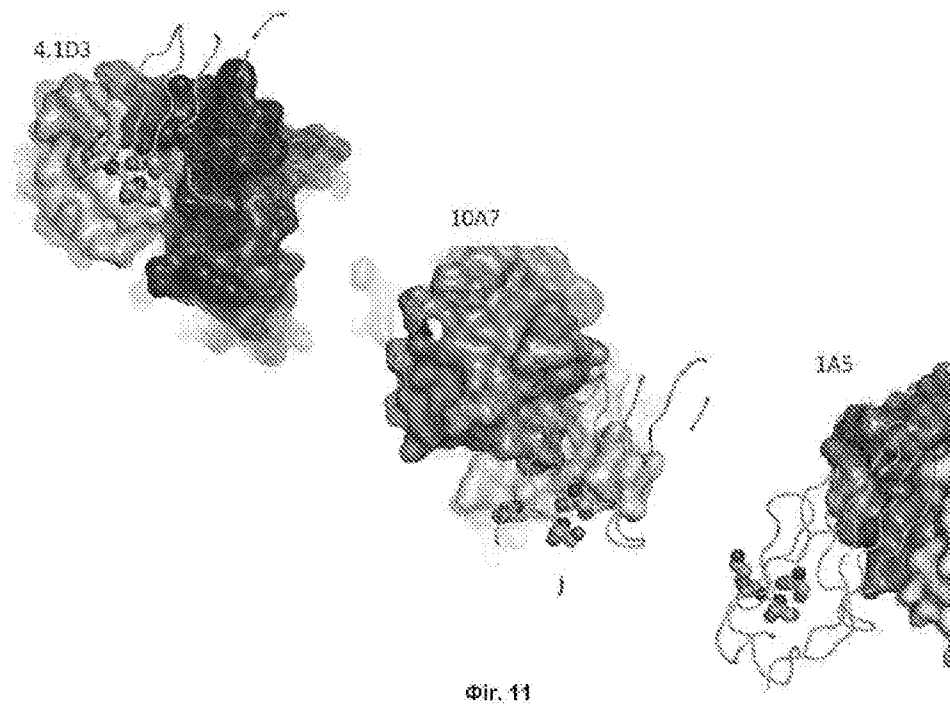


Fig. 9





Фиг. 12

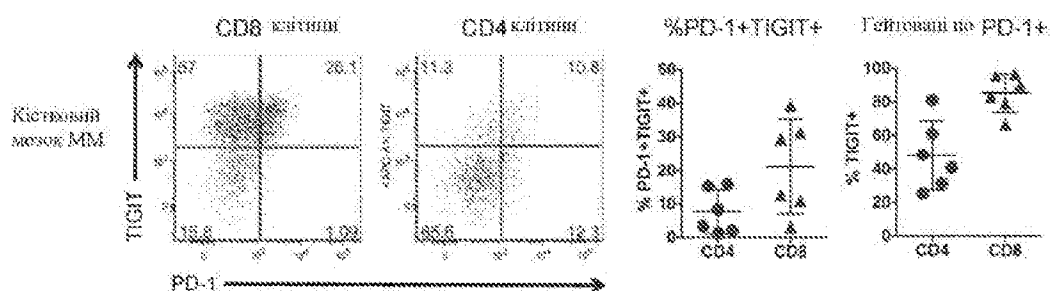


Fig. 13