

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **201591771** (13) **A1**

**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки  
**2016.06.30**

(22) Дата подачи заявки  
**2014.03.13**

(51) Int. Cl. *A61K 39/395* (2006.01)  
*C07K 16/08* (2006.01)  
*C07K 16/10* (2006.01)  
*C07K 19/00* (2006.01)  
*C12N 15/09* (2006.01)  
*G01N 33/53* (2006.01)  
*G01N 33/569* (2006.01)  
*A61K 38/16* (2006.01)  
*A61K 39/12* (2006.01)  
*A61K 39/155* (2006.01)  
*C07K 14/765* (2006.01)  
*C07K 16/00* (2006.01)  
*C07K 14/00* (2006.01)  
*G01N 33/566* (2006.01)  
*A61K 45/06* (2006.01)

---

**(54) ЧЕЛОВЕЧЕСКИЕ АНТИТЕЛА К БЕЛКУ F РЕСПИРАТОРНОГО СИНЦИТИАЛЬНОГО ВИРУСА И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ**

---

(31) **61/782,215; 61/911,093**

(32) **2013.03.14; 2013.12.03**

(33) **US**

(86) **PCT/US2014/025259**

(87) **WO 2014/159822 2014.10.02**

(88) **2015.01.08**

(71) Заявитель:  
**РИДЖЕНЕРОН  
ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ, ИНК. (US)**

(72) Изобретатель:  
**Гарнетт-Бандер Энн, Перес-  
Кабальеро Давид, Сивапаласингам  
Суматхи, Дуань Сюньбао, Макдоналд  
Дуглас (US)**

(74) Представитель:  
**Медведев В.Н. (RU)**

(57) В настоящем изобретении предложены полностью человеческие антитела, которые связываются с белком F респираторного синцициального вируса, композиции, содержащие антитела, и способы применения. Антитела согласно изобретению применимы для предотвращения слияния вируса с клеточной мембраной и предотвращения распространения вируса от клетки к клетке и поэтому представляют собой средства для предотвращения инфекции или лечения пациента, страдающего от инфекции, и облегчения одного или более симптомов или осложнений, связанных с вирусной инфекцией. Также антитела можно применять для диагностирования инфицирования РСВ.

**A1**

**201591771**

**201591771**

**A1**

## ЧЕЛОВЕЧЕСКИЕ АНТИТЕЛА К БЕЛКУ F РЕСПИРАТОРНОГО СИНЦИТИАЛЬНОГО ВИРУСА И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

### ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

[0001] Настоящее изобретение относится к человеческим антителам и антигенсвязывающим фрагментам человеческих антител, которые специфически связываются с белком F респираторного синцитиального вируса (РСВ-F), составам, содержащим эти антитела, и способам применения этих антител.

### УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0002] Респираторный синцитиальный вирус (РСВ) представляет собой отрицательно-полярный одноцепочечный РНК-вирус, который является основной причиной серьезных инфекций дыхательных путей у новорожденных и детей, при этом первичная инфекция возникает у детей возрастом от 6 недель до 2 лет и, редко, в первые 4 недели жизни во время нозокомиальных эпидемий (Hall *et al.*, 1979, *New Engl. J. Med.* 300:393-396). (Feigen *et al.*, eds., 1987, В: *Textbook of Pediatric Infectious Diseases*, W B Saunders, Philadelphia at pages 1653-1675; *New Vaccine Development, Establishing Priorities*, Vol. 1, 1985, National Academy Press, Washington D.C. на страницах 397-409; Ruuskanen *et al.*, 1993, *Curr. Probl. Pediatr.* 23:50-79; Hall *et al.*, 1979, *New Engl. J. Med.* 300:393-396). Некоторые группы детей находятся в зоне риска развития РСВ-инфекции, включая недоношенных новорожденных детей (Hall *et al.*, 1979, *New Engl. J. Med.* 300:393-396), детей с врожденными пороками верхних дыхательных путей, детей с бронхопульмональной дисплазией (Groothuis *et al.*, 1988, *Pediatrics* 82:199-203), детей с врожденными пороками сердца (MacDonald *et al.*, *New Engl. J. Med.* 307:397-400) и детей с врожденным или приобретенным иммунодефицитом (Ogra *et al.*, 1988, *Pediatr. Infect. Dis. J.* 7:246-249; и Pohl *et al.*, 1992, *J. Infect. Dis.* 165:166-169) и муковисцидозом (Abman *et al.*, 1988, *J. Pediatr.* 113:826-830).

[0003] РСВ может также инфицировать взрослых людей. У этих людей РСВ приводит главным образом к заболеваниям верхних дыхательных путей, хотя для пожилых пациентов может существовать повышенный риск развития серьезной инфекции и воспаления легких (Evans, A. S., eds., 1989, *Viral Infections of Humans. Epidemiology and Control*, 3<sup>rd</sup> ed., Plenum Medical Book, New York на страницах 525-544), как и для взрослых людей после курса иммуносупрессивной терапии, в частности, для пациентов, перенесших трансплантацию костного мозга (Hertz *et al.*, 1989, *Medicine* 68:269-281).

Другие пациенты, находящиеся в зоне риска, включают пациентов с застойной сердечной недостаточностью и пациентов с хроническим обструктивным заболеванием легких (т.е. ХОЗЛ). Также сообщалось об эпидемиях среди пациентов домов для престарелых и помещенных в специальные лечебные учреждения людей молодого возраста (Falsey, A. R., 1991, *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 12:602-608; и Garvie *et al.*, 1980, *Br. Med. J.* 281:1253-1254).

**[0004]** При том, что методы лечения развившегося РСВ-заболевания ограничены, более тяжелые формы заболевания нижних дыхательных путей часто требуют существенной поддерживающей терапии, включая подачу увлажненного кислорода и проведение искусственной вентиляции легких (Fields *et al.*, eds, 1990, *Fields Virology*, 2<sup>nd</sup> ed., Vol. 1, Raven Press, New York на страницах 1045-1072).

**[0005]** Было показано, что рибавирин, который является единственным лекарственным препаратом, утвержденным для лечения инфекции, эффективен в лечении воспаления легких и бронхиолита, связанных с РСВ-инфекцией, и способен модифицировать течение тяжелого РСВ-заболевания в случае детей, не страдающих иммунодефицитом (Smith *et al.*, 1991, *New Engl. J. Med.* 325:24-29). Применение рибавирина ограничено вследствие опасений, касающихся возможного риска для беременных женщин, которые могут принимать данный лекарственный препарат в виде аэрозоля в условиях стационара.

**[0006]** Аналогично, несмотря на то, что целесообразным могло бы стать применение вакцины, коммерчески доступной вакцины на сегодняшний день разработано не было. От нескольких кандидатных вакцин отказались, а остальные находятся на стадии разработки (Murphy *et al.*, 1994, *Virus Res.* 32:13-36). Разработка вакцины оказалась проблематичной. В частности, понадобилась бы иммунизация в течение раннего неонатального периода, так как пик возникновения заболеваний нижних дыхательных путей приходится на возраст 2-5 месяцев. При этом известно, что в это время неонатальный иммунный ответ является незрелым. Плюс, новорожденные в это время имеют высокие титры материнских антител к РСВ, которые могут снижать иммуногенность вакцины (Murphy *et al.*, 1988, *J. Virol.* 62:3907-3910; и Murphy *et al.*, 1991, *Vaccine* 9:185-189).

**[0007]** Было показано, что два гликопротеина – F и G – на поверхности РСВ являются мишенями нейтрализующих антител (Fields *et al.*, 1990, выше; и Murphy *et al.*, 1994, выше). Эти два белка отвечают главным образом за распознавание вируса и попадание в клетки-мишени; белок G связывается со специфическим клеточным рецептором, а белок F способствует слиянию вируса с клеткой. Также белок F экспрессируется на поверхности

инфицированных клеток и отвечает за последующее слияние с другими клетками, что приводит к образованию синцития и распространению вируса от клетки к клетке.

**[0008]** На данный момент единственным утвержденным подходом для профилактики РСВ является пассивная иммунизация. Например, гуманизированное антитело паливизумаб (SYNAGIS®), являющееся специфическим в отношении эпитопа белка F, утверждено для внутримышечного введения педиатрическим пациентам для предотвращения вызванных РСВ тяжелых заболеваний нижних дыхательных путей в рекомендуемой месячной дозировке, составляющей 15 мг/кг массы тела, на протяжении всего сезона РСВ (с ноября по апрель для северного полушария). SYNAGIS® представляет собой композицию из последовательностей человеческих (95%) и мышиных (5%) антител. (Johnson *et al.*, (1997), J. Infect. Diseases 176:1215-1224 и патент США № 5824307).

**[0009]** Хотя SYNAGIS® успешно применяют для предотвращения РСВ-инфекции у педиатрических пациентов, для достижения профилактического эффекта необходимо многократное внутримышечное введение доз по 15 мг/кг SYNAGIS®. Необходимость многократного внутримышечного введения доз антител требует повторных визитов к врачу, что не только неудобно для пациента, но также может привести к пропускам некоторых доз.

**[0010]** Были предприняты попытки улучшить терапевтический профиль анти-РСВ-F антитела и это привело к выявлению и разработке мотавизумаба, известного также как NUMAX™. Однако в ходе клинических исследований было обнаружено, что у некоторых пациентов, которым вводили мотавизумаб, проявлялись тяжелые аллергические реакции. Поэтому дальнейшая разработка этого гуманизированного анти-РСВ-F антитела была прекращена.

**[0011]** Были описаны другие антитела к белку РСВ-F, информацию о которых можно найти в US6656467; US5824307, US 7786273; US 7670600; US 7083784; US6818216; US7700735; US7553489; US7323172; US7229619; US7425618; US7740851; US7658921; US7704505; US7635568; US6855493; US6565849; US7582297; US7208162; US7700720; US6413771; US5811524; US6537809; US5762905; US7070786; US7364742; US7879329; US7488477; US7867497; US5534411; US6835372; US7482024; US7691603; US8562996; US8568726; US20100015596; WO2009088159A1. На сегодняшний день ни одного препарата за исключением SYNAGIS® не было утверждено агентством по контролю для применения для предотвращения РСВ-инфекции.

**[0012]** Таким образом, до сих пор существует потребность в антителах, которые специфически связываются с антигеном РСВ, таким как РСВ-F, которые являются

высокоэффективными и не вызывают нежелательных реакций, которые препятствовали бы их утверждению для клинического применения.

## СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

**[0013]** В изобретении предложены полностью человеческие моноклональные антитела (mAb) и их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфически связываются с белком F респираторного синцитиального вируса (РСВ-F). Учитывая роль, которую белок F играет в слиянии вируса с клеткой и распространении вируса от клетки к клетке, описанные в данном документе антитела обеспечивают способ ингибирования этого процесса и, таким образом, их можно применять для предотвращения инфицирования пациента, предрасположенного к или находящегося в зоне риска приобретения РСВ-инфекции, или для лечения и/или облегчения одного или более симптомов, связанных с РСВ-инфекцией у пациента, предрасположенного к или находящегося в зоне риска приобретения РСВ-инфекции, или страдающего от РСВ-инфекции. Описанные в данном документе антитела также можно применять для предотвращения или для лечения РСВ-инфекции у пациента, у которого может развиться более тяжелая форма РСВ-инфекции вследствие наличия первопричинного или предсуществующего патологического состояния. Пациентом, которому лечение антителом согласно изобретению могло бы принести пользу, может быть недоношенный ребенок, доношенный ребенок, родившийся во время сезона РСВ (начиная приблизительно с поздней осени (ноябрь) до ранней весны (апрель)), который находится в зоне риска из-за наличия других предсуществующих или первопричинных патологических состояний, включая врожденный порок сердца или хроническое заболевание легких, ребенок старше одного года, имеющий или нет первопричинное патологическое состояние, помещенный в лечебное учреждение или госпитализированный пациент или пожилой человек (возрастом > 65 лет), имеющий или не имеющий первопричинное патологическое состояние, такое как застойная сердечная недостаточность (ЗСН) или хроническое обструктивное заболевание легких (ХОЗЛ). Пациент, которому такая терапия могла бы принести пользу, может страдать от патологического состояния в результате нарушения легочной, сердечнососудистой, нервно-мышечной или иммунной системы. Например, пациент может страдать патологией дыхательных путей или нарушением функции дыхательных путей, хроническим заболеванием легких, хроническим или врожденным заболеванием сердца, нервно-мышечным заболеванием, которое приводит к нарушению управления секрецией из органов дыхания, или у пациента может быть ослаблен иммунитет вследствие наличия тяжелого комбинированного иммунодефицита или тяжелого приобретенного

иммунодефицита, или у пациента может быть ослаблен иммунитет вследствие лечения иммуносупрессорными лекарственными препаратами (например, любыми препаратами, применяемыми при лечении перенесших трансплантацию пациентов) или лучевой терапии. Пациент, которому антитела согласно изобретению могут принести пользу, может быть пациентом, страдающим от хронического обструктивного заболевания легких (ХОЗЛ), муковисцидоза (МВ), бронхопьюльмональной дисплазии, застойной сердечной недостаточности (ЗСН) или врожденного порока сердца.

**[0014]** Из-за того, что антитела согласно изобретению более эффективно нейтрализуют РСВ по сравнению с известными антителами, для достижения более высокого уровня защиты от инфицирования РСВ и более эффективного лечения и/или облегчения симптомов, связанных с РСВ-инфекцией, можно применять более низкие дозы антител или фрагментов антител. Соответственно, результатом применения более низких доз антител или их фрагментов, которые иммуноспецифически связываются с антигеном РСВ-F, может стать меньшее количество или меньшая степень тяжести нежелательных явлений. Аналогично, результатом применения более эффективных нейтрализующих антител может стать снижение потребности в частом введении антител или фрагментов антител, которое раньше считалось необходимым для предотвращения инфекции или для нейтрализации вируса, или для лечения или облегчения одного или более симптомов, связанных с РСВ-инфекцией. Симптомы РСВ-инфекции могут включать синеватый оттенок кожи вследствие недостатка кислорода (гипоксия), затруднение дыхания (учащенное дыхание или нехватку дыхания), кашель, непреодолимый кашель («лающий» кашель), высокую температуру, раздувание крыльев носа, заложенность носа (забитый нос), апноэ, снижение аппетита, обезвоживание, плохое питание, изменение психического состояния или свистящее дыхание.

**[0015]** Такие антитела могут быть полезны при профилактическом применении (до контакта с вирусом и инфицирования вирусом) для снижения тяжести или длительности первичного инфицирования РСВ, или облегчения по меньшей мере одного симптома, связанного с инфекцией. Антитела можно применять сами по себе или в совокупности со вторым агентом, применяемым для лечения РСВ-инфекции. В определенных вариантах реализации изобретения антитела можно применять терапевтически (после контакта с и инфицирования вирусом), как сами по себе, так и в совокупности со вторым агентом для снижения тяжести или длительности первичного инфицирования или для облегчения по меньшей мере одного симптома, связанного с инфекцией. В определенных вариантах реализации изобретения антитела можно применять профилактически в качестве

самостоятельной терапии для защиты пациентов, которые подвержены риску приобретения РСВ-инфекции, таких как те, которые были описаны выше. Любой из этих групп пациентов лечение антителами согласно изобретению может принести пользу, как при отдельном применении, так и в совокупности со вторым агентом, включая, например, противовирусную терапию, осуществляемую при помощи рибавирина или других противовирусных вакцин.

**[0016]** Антитела согласно изобретению могут быть полноразмерными (например, антитело IgG1 или IgG4) или могут содержать только антигенсвязывающую часть (например, фрагмент Fab, F(ab')<sub>2</sub> или scFv), а также могут быть модифицированными для изменения функциональности, *например*, для устранения остаточных эффекторных функций (Reddy *et al.*, (2000), J. Immunol. 164:1925-1933).

**[0017]** Соответственно, в первом аспекте в изобретении предложено выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с белком F респираторного синцитиального вируса (PCV-F).

**[0018]** В одном варианте реализации в изобретении предложено выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с белком F респираторного синцитиального вируса (PCV-F), при этом антитело обладает одной или более из следующих характеристик:

- (a) представляет собой полностью человеческое моноклональное антитело;
- (b) взаимодействует с аминокислотной последовательностью, содержащей аминокислотные остатки в диапазоне приблизительно от позиции 161 приблизительно до позиции 188 из SEQ ID NO: 354;
- (c) взаимодействует с серином в позиции 173 из SEQ ID NO: 354 или треонином в позиции 174 из SEQ ID NO: 354 или как с серином в позиции 173 из SEQ ID NO: 354, так и с треонином в позиции 174 из SEQ ID NO: 354;
- (d) способно нейтрализовать штаммы респираторного синцитиального вируса подтипа А и подтипа В *in vitro*;
- (e) демонстрирует способность существенно снижать назальную и/или легочную вирусную нагрузку *in vivo* в животной модели РСВ-инфекции; или
- (f) ингибирует слияние вируса с клеткой.

**[0019]** В одном варианте реализации в изобретении предложено выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с белком F

респираторного синцитиального вируса (PCV-F), при этом антитело взаимодействует с аминокислотной последовательностью, содержащей аминокислотные остатки в диапазоне приблизительно от позиции 161 приблизительно до позиции 188 из SEQ ID NO: 354.

**[0020]** В одном варианте реализации изобретения антитело представляет собой полностью человеческое моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с белком F респираторного синцитиального вируса (PCV-F), при этом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент взаимодействует с аминокислотной последовательностью, содержащей аминокислотные остатки в диапазоне приблизительно от позиции 161 приблизительно до позиции 188 из SEQ ID NO: 354, и нейтрализует штаммы респираторного синцитиального вируса подтипа А и/или подтипа В *in vitro* и *in vivo*.

**[0021]** В одном варианте реализации в изобретении предложено выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с белком F респираторного синцитиального вируса (PCV-F), при этом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент демонстрирует способность существенно снижать легочную вирусную нагрузку в мышинной модели РСВ-инфекции при применении в дозировке в диапазоне от около 0,05 мг/кг до около 0,15 мг/кг.

**[0022]** В одном варианте реализации в изобретении предложено выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с белком F респираторного синцитиального вируса (PCV-F), при этом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент демонстрирует в 1-2 раза большее логарифмическое снижение назальных и/или легочных вирусных титров по сравнению с паливизумабом в модели РСВ-инфекции с хлопковыми хомяками при применении в дозировке в диапазоне от около 0,62 мг/кг до около 5,0 мг/кг.

**[0023]** В одном варианте реализации в изобретении предложено выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с белком F респираторного синцитиального вируса (PCV-F), при этом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент демонстрирует ED<sub>99</sub>, составляющую около 0,15 мг/кг или менее при применении в мышинной модели РСВ-инфекции подтипа А.

**[0024]** В одном варианте реализации в изобретении предложено выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с белком F респираторного синцитиального вируса (PCV-F), при этом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент демонстрирует ED<sub>99</sub>, составляющую около 0,62 мг/кг или менее при применении в модели РСВ-инфекции подтипа А с хлопковыми хомяками.

**[0025]** В одном варианте реализации в изобретении предложено выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с белком F респираторного синцитиального вируса (РСВ-F), при этом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент демонстрирует ED<sub>99</sub>, составляющую около 2,5 мг/кг или менее при применении в модели РСВ-инфекции подтипа В с хлопковыми хомяками.

**[0026]** В одном варианте реализации изобретения выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с белком F респираторного синцитиального вируса (РСВ-F), демонстрирует ED<sub>99</sub>, приблизительно в 2-3 раза ниже, чем ED<sub>99</sub> для паливизумаба или мотавизумаба.

**[0027]** В одном варианте реализации изобретения выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с белком F респираторного синцитиального вируса (РСВ-F), демонстрирует концентрацию полумаксимального ингибирования (IC<sub>50</sub>), составляющую от около 2 пМ до около 600 пМ в анализе микронейтрализации, специфическом в отношении штаммов РСВ подтипа А.

**[0028]** В одном варианте реализации изобретения выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с белком F респираторного синцитиального вируса (РСВ-F), демонстрирует концентрацию полумаксимального ингибирования (IC<sub>50</sub>), составляющую от около 6 пМ до около 100 пМ в анализе микронейтрализации, специфическом в отношении штаммов РСВ подтипа В.

**[0029]** В одном варианте реализации изобретения выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с белком РСВ-F, демонстрирует эффективность нейтрализации одного или более лабораторных штаммов РСВ подтипа А, которая приблизительно в 15-17 раз улучшена по сравнению с паливизумабом, или демонстрирует эффективность нейтрализации одного или более клинических штаммов РСВ подтипа А, которая приблизительно в 10-22 раза улучшена по сравнению с паливизумабом.

**[0030]** В одном варианте реализации изобретения выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с белком F респираторного синцитиального вируса (РСВ-F), демонстрирует эффективность нейтрализации одного или более лабораторных штаммов РСВ подтипа В, которая приблизительно в 2-5 раз улучшена по сравнению с паливизумабом.

**[0031]** В одном варианте реализации изобретения выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с белком F

респираторного синцитиального вируса (PCV-F), демонстрирует эффективность нейтрализации одного или более лабораторных штаммов РСВ подтипа А или клинических штаммов РСВ подтипа А, которая приблизительно в 0,5-2 раза улучшена по сравнению с АМ-22.

**[0032]** В одном варианте реализации изобретения выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с белком F респираторного синцитиального вируса (PCV-F), демонстрирует эффективность нейтрализации одного или более лабораторных штаммов РСВ подтипа В, которая приблизительно в 2,5-17 раз улучшена по сравнению с АМ-22.

**[0033]** В одном варианте реализации изобретения выделенное человеческое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с белком F респираторного синцитиального вируса (PCV-F), при проведении измерений методом поверхностного плазмонного резонанса демонстрирует  $K_D$  в диапазоне от  $1 \times 10^{-7}$  М до  $6 \times 10^{-10}$  М.

**[0034]** В одном варианте реализации изобретения выделенное человеческое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с белком F респираторного синцитиального вируса (PCV-F), при проведении измерений методом поверхностного плазмонного резонанса демонстрирует  $K_D$  в диапазоне от  $1 \times 10^{-7}$  М до  $9 \times 10^{-9}$  М.

**[0035]** В одном варианте реализации изобретения выделенное человеческое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с белком F респираторного синцитиального вируса (PCV-F), содержит три CDR тяжелой цепи (HCDR1, HCDR2 и HCDR3), которые находятся в пределах аминокислотной последовательности HCVR, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146, 162, 178, 194, 210, 226, 242, 258, 274, 290, 306, 322 и 338; и три CDR легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3), которые находятся в пределах аминокислотной последовательности LCVR, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 138, 154, 170, 186, 202, 218, 234, 250, 266, 282, 298, 314, 330 и 346.

**[0036]** Методы и способы определения CDR в пределах аминокислотных последовательностей HCVR и LCVR хорошо известны в данной области техники и могут применяться для определения CDR в пределах раскрытых в данном документе определенных аминокислотных последовательностей HCVR и/или LCVR. Типовые подходы, которые можно применять для определения границ CDR, включают, *например*,

определение Кабата, определение Хотиа и определение AbM. В общих чертах, определение Кабата основано на вариабельности последовательностей, определение Хотиа основано на расположении областей структурных петель, а определение AbM является компромиссом между подходами Кабата и Хотиа. Смотрите, например, Kabat, "Sequences of Proteins of Immunological Interest," National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991); Al-Lazikani *et al.*, (1997), *J. Mol. Biol.* 273:927-948; и Martin *et al.*, (1989), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:9268-9272. Также для определения последовательностей CDR в пределах антитела доступны публичные базы данных.

**[0037]** В одном варианте реализации изобретения выделенное человеческое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с белком F респираторного синцитиального вируса (PCB-F), содержит вариабельную область тяжелой цепи (HCVR), имеющую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146, 162, 178, 194, 210, 226, 242, 258, 274, 290, 306, 322 и 338.

**[0038]** В одном варианте реализации изобретения выделенное человеческое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с белком F респираторного синцитиального вируса (PCB-F), содержит вариабельную область легкой цепи (LCVR), имеющую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 138, 154, 170, 186, 202, 218, 234, 250, 266, 282, 298, 314, 330 и 346.

**[0039]** В одном варианте реализации изобретения выделенное человеческое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с белком F респираторного синцитиального вируса (PCB-F), содержит вариабельную область тяжелой цепи (HCVR), имеющую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146, 162, 178, 194, 210, 226, 242, 258, 274, 290, 306, 322 и 338; и вариабельную область легкой цепи (LCVR), имеющую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 138, 154, 170, 186, 202, 218, 234, 250, 266, 282, 298, 314, 330 и 346.

**[0040]** В одном варианте реализации изобретения выделенное человеческое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с белком F респираторного синцитиального вируса (PCB-F), содержит вариабельную область тяжелой цепи из SEQ ID NO: 363 и вариабельную область легкой цепи из SEQ ID NO: 364.

**[0041]** В одном варианте реализации изобретения выделенное человеческое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с белком F респираторного синцитиального вируса (PCB-F), содержит пару аминокислотных последовательностей HCVR/LCVR, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: SEQ ID NO: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154, 162/170, 178/186, 194/202, 210/218, 226/234, 242/250, 258/266, 274/282, 290/298, 306/314, 322/330 и 338/346.

**[0042]** В одном варианте реализации изобретения выделенное человеческое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с белком F респираторного синцитиального вируса (PCB-F), содержит пару аминокислотных последовательностей HCVR/LCVR, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 274/282 и 338/346.

**[0043]** В одном варианте реализации изобретения выделенное человеческое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с белком F респираторного синцитиального вируса (PCB-F), содержит:

(a) домен HCDR3, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 8, 24, 40, 56, 72, 88, 104, 120, 136, 152, 168, 184, 200, 216, 232, 248, 264, 280, 296, 312, 328 и 344; и

(b) домен LCDR3, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 16, 32, 48, 64, 80, 96, 112, 128, 144, 160, 176, 192, 208, 224, 240, 256, 272, 288, 304, 320, 336 и 352.

**[0044]** В одном варианте реализации изобретения выделенное человеческое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с белком F респираторного синцитиального вируса (PCB-F), дополнительно содержит:

(c) домен HCDR1, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 4, 20, 36, 52, 68, 84, 100, 116, 132, 148, 164, 180, 196, 212, 228, 244, 260, 276, 292, 308, 324 и 340;

(d) домен HCDR2, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 6, 22, 38, 54, 70, 86, 102, 118, 134, 150, 166, 182, 198, 214, 230, 246, 262, 278, 294, 310, 326 и 342;

(e) домен LCDR1, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 12, 28, 44, 60, 76, 92, 108, 124, 140, 156, 172, 188, 204, 220, 236, 252, 268, 284, 300, 316, 332 и 348; и

(f) домен LCDR2, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 14, 30, 46, 62, 78, 94, 110, 126, 142, 158, 174, 190, 206, 222, 238, 254, 270, 286, 302, 318, 334 и 350.

**[0045]** В одном варианте реализации изобретения выделенное человеческое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с белком F респираторного синцитиального вируса (PCV-F), содержит:

(a) домен HCDR1, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 4, 20, 36, 52, 68, 84, 100, 116, 132, 148, 164, 180, 196, 212, 228, 244, 260, 276, 292, 308, 324 и 340;

(b) домен HCDR2, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 6, 22, 38, 54, 70, 86, 102, 118, 134, 150, 166, 182, 198, 214, 230, 246, 262, 278, 294, 310, 326 и 342;

(c) домен HCDR3, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 8, 24, 40, 56, 72, 88, 104, 120, 136, 152, 168, 184, 200, 216, 232, 248, 264, 280, 296, 312, 328 и 344;

(d) домен LCDR1, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 12, 28, 44, 60, 76, 92, 108, 124, 140, 156, 172, 188, 204, 220, 236, 252, 268, 284, 300, 316, 332 и 348;

(e) домен LCDR2, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 14, 30, 46, 62, 78, 94, 110, 126, 142, 158, 174, 190, 206, 222, 238, 254, 270, 286, 302, 318, 334 и 350; и

(f) домен LCDR3, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 16, 32, 48, 64, 80, 96, 112, 128, 144, 160, 176, 192, 208, 224, 240, 256, 272, 288, 304, 320, 336 и 352.

**[0046]** В одном варианте реализации изобретения выделенное человеческое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с белком F респираторного синцитиального вируса (PCV-F), содержит:

(a) домен HCDR1, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 276 и 340;

(b) домен HCDR2, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 278 и 342;

(с) домен HCDR3, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 280 и 344;

(d) домен LCDR1, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 284 и 348;

(e) домен LCDR2, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 286 и 350; и

(f) домен LCDR3, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 288 и 352.

**[0047]** В одном варианте реализации изобретения выделенное человеческое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с РСВ-F, содержит аминокислотные последовательности HCDR1, HCDR2 и HCDR3 из SEQ ID NO: 276, 278 и 280, соответственно, и аминокислотные последовательности LCDR1, LCDR2 и LCDR3 из SEQ ID NO: 284, 286 и 288, соответственно.

**[0048]** В одном варианте реализации изобретения выделенное человеческое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с РСВ-F, содержит аминокислотные последовательности HCDR1, HCDR2 и HCDR3 из SEQ ID NO: 340, 342 и 344, соответственно, и аминокислотные последовательности LCDR1, LCDR2 и LCDR3 из SEQ ID NO: 348, 350 и 352, соответственно.

**[0049]** В одном варианте реализации изобретения выделенное человеческое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с белком F респираторного синцитиального вируса (РСВ-F), конкурирует за специфическое связывание с РСВ-F с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, содержащим пары последовательностей тяжелой и легкой цепей, выбранные из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154, 162/170, 178/186, 194/202, 210/218, 226/234, 242/250, 258/266, 274/282, 290/298, 306/314, 322/330 и 338/346.

**[0050]** В одном варианте реализации изобретения выделенное человеческое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое содержит пары последовательностей тяжелой и легкой цепей, выбранные из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154, 162/170, 178/186, 194/202, 210/218, 226/234, 242/250, 258/266, 274/282, 290/298, 306/314, 322/330 и 338/346, и которое специфически связывается с белком F респираторного синцитиального вируса (РСВ-F), не конкурирует за специфическое связывание с РСВ-F с паливизумабом, мотавизумабом или АМ-22.

**[0051]** В одном варианте реализации изобретения выделенное человеческое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с белком F респираторного синцитиального вируса (PCV-F), связывается с тем же самым эпитопом PCV-F, который распознается антителом, содержащим пары последовательностей тяжелой и легкой цепей, выбранные из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154, 162/170, 178/186, 194/202, 210/218, 226/234, 242/250, 258/266, 274/282, 290/298, 306/314, 322/330 и 338/346.

**[0052]** В одном варианте реализации изобретения выделенное человеческое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое содержит пары последовательностей тяжелой и легкой цепей, выбранные из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154, 162/170, 178/186, 194/202, 210/218, 226/234, 242/250, 258/266, 274/282, 290/298, 306/314, 322/330 и 338/346, и которое специфически связывается с белком F респираторного синцитиального вируса (PCV-F), не связывается с тем же самым эпитопом PCV-F, что и паливизумаб или мотавизумаб.

**[0053]** В одном варианте реализации в изобретении предложено полностью человеческое моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с PCV-F, при этом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент демонстрирует одну из следующих характеристик: (i) содержит HCVR, имеющую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146, 162, 178, 194, 210, 226, 242, 258, 274, 290, 306, 322 и 338 или в значительной степени сходную с ними последовательность, обладающую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательностей; (ii) содержит LCVR, имеющую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 138, 154, 170, 186, 202, 218, 234, 250, 266, 282, 298, 314, 330 и 346 или в значительной степени сходную с ними последовательность, обладающую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательностей; (iii) содержит домен HCDR3, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 8, 24, 40, 56, 72, 88, 104, 120, 136, 152, 168, 184, 200, 216, 232, 248, 264, 280, 296, 312, 328 и 344 или в значительной степени сходную с ними последовательность, обладающую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательностей; и домен LCDR3, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 16, 32, 48, 64, 80,

96, 112, 128, 144, 160, 176, 192, 208, 224, 240, 256, 272, 288, 304, 320, 336 и 352 или в значительной степени сходную с ними последовательность, обладающую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательностей; (iv) содержит домен HCDR1, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 4, 20, 36, 52, 68, 84, 100, 116, 132, 148, 164, 180, 196, 212, 228, 244, 260, 276, 292, 308, 324 и 340 или в значительной степени сходную с ними последовательность, обладающую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательностей; (v) домен HCDR2, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 6, 22, 38, 54, 70, 86, 102, 118, 134, 150, 166, 182, 198, 214, 230, 246, 262, 278, 294, 310, 326 и 342 или в значительной степени сходную с ними последовательность, обладающую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательностей; (vi) домен LCDR1, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 12, 28, 44, 60, 76, 92, 108, 124, 140, 156, 172, 188, 204, 220, 236, 252, 268, 284, 300, 316, 332 и 348 или в значительной степени сходную с ними последовательность, обладающую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательностей; (vii) и домен LCDR2, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 14, 30, 46, 62, 78, 94, 110, 126, 142, 158, 174, 190, 206, 222, 238, 254, 270, 286, 302, 318, 334 и 350 или в значительной степени сходную с ними последовательность, обладающую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательностей; (viii) демонстрирует  $K_d$  в диапазоне от около  $1 \times 10^{-7}$  М до около  $6 \times 10^{-10}$  М, измеренную методом поверхностного плазмонного резонанса; (ix) способно нейтрализовать штаммы респираторного синцитиального вируса подтипа А и/или подтипа В *in vitro*; (x) демонстрирует способность существенно снижать вирусную нагрузку в мышинной модели РСВ-инфекции при применении в дозировке в диапазоне от около 0,05 мг/кг до около 0,15 мг/кг; (xi) демонстрирует в 1-2 раза большее логарифмическое снижение назальных и/или легочных вирусных титров у хлопковых хомяков в модели РСВ-инфекции при применении в дозировке в диапазоне от около 0,62 мг/кг до около 5,0 мг/кг при сравнении с паливизумабом; (xii) демонстрирует эффективную дозу 99 (ED<sub>99</sub>) в диапазоне от около 0,15 мг/кг до около 2,5 мг/кг при применении в животной модели РСВ-инфекции (*например*, мышинной модели или модели с хлопковыми хомяками); или (xiii) демонстрирует концентрацию полумаксимального

ингибирования ( $IC_{50}$ ), составляющую от около 2 пМ до около 15 пМ в анализе микронеutralизации, специфическом в отношении штаммов РСВ подтипа А, и концентрацию полумаксимального ингибирования ( $IC_{50}$ ), составляющую от около 6 пМ до около 100 пМ в анализе микронеutralизации.

**[0054]** В одном варианте реализации в изобретении предложено полностью человеческое моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с РСВ-F, при этом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент демонстрирует одну из следующих характеристик: (i) содержит HCVR, имеющую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146, 162, 178, 194, 210, 226, 242, 258, 274, 290, 306, 322 и 338 или в значительной степени сходную с ними последовательность, обладающую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательностей; (ii) содержит LCVR, имеющую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 138, 154, 170, 186, 202, 218, 234, 250, 266, 282, 298, 314, 330 и 346 или в значительной степени сходную с ними последовательность, обладающую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательностей; (iii) содержит домен HCDR3, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 8, 24, 40, 56, 72, 88, 104, 120, 136, 152, 168, 184, 200, 216, 232, 248, 264, 280, 296, 312, 328 и 344 или в значительной степени сходную с ними последовательность, обладающую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательностей; и домен LCDR3, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 16, 32, 48, 64, 80, 96, 112, 128, 144, 160, 176, 192, 208, 224, 240, 256, 272, 288, 304, 320, 336 и 352 или в значительной степени сходную с ними последовательность, обладающую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательностей; (iv) содержит домен HCDR1, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 4, 20, 36, 52, 68, 84, 100, 116, 132, 148, 164, 180, 196, 212, 228, 244, 260, 276, 292, 308, 324 и 340 или в значительной степени сходную с ними последовательность, обладающую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательностей; (v) домен HCDR2, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 6, 22, 38, 54, 70, 86, 102, 118, 134, 150, 166, 182, 198, 214, 230, 246, 262, 278, 294, 310, 326 и 342 или в

значительной степени сходную с ними последовательность, обладающую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательностей; (vi) домен LCDR1, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 12, 28, 44, 60, 76, 92, 108, 124, 140, 156, 172, 188, 204, 220, 236, 252, 268, 284, 300, 316, 332 и 348 или в значительной степени сходную с ними последовательность, обладающую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательностей; (vii) и домен LCDR2, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 14, 30, 46, 62, 78, 94, 110, 126, 142, 158, 174, 190, 206, 222, 238, 254, 270, 286, 302, 318, 334 и 350 или в значительной степени сходную с ними последовательность, обладающую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательностей; (viii) демонстрирует  $K_d$  в диапазоне от около  $1 \times 10^{-7}$  М до около  $6 \times 10^{-10}$  М; (ix) способно нейтрализовать штаммы респираторного синцитиального вируса подтипа А и/или подтипа В *in vitro*; (x) демонстрирует способность существенно снижать вирусную нагрузку в животной модели РСВ-инфекции (*например*, мышинной модели) при применении в дозировке в диапазоне от около 0,05 мг/кг до около 0,15 мг/кг; (xi) демонстрирует в 1-2 раза большее логарифмическое снижение назальных и/или легочных вирусных титров в животной модели РСВ-инфекции (*например*, модели с хлопковыми хомяками) при дозировке в диапазоне от около 0,62 мг/кг до около 5,0 мг/кг при сравнении с паливизумабом; (xii) демонстрирует эффективную дозу 99 ( $ED_{99}$ ) в диапазоне от около 0,05 мг/кг до около 2,5 мг/кг при применении в животной модели РСВ-инфекции (*например*, мышинной модели или модели с хлопковыми хомяками); (xiii) демонстрирует  $ED_{99}$  приблизительно в 2-3 раза ниже, чем  $ED_{99}$  для паливизумаба или мотавизумаба; (xiv) демонстрирует эффективность нейтрализации одного или более лабораторных штаммов РСВ подтипа А, которая приблизительно в 15-17 раз улучшена по сравнению с паливизумабом, или демонстрирует эффективность нейтрализации одного или более клинических штаммов РСВ подтипа А, которая приблизительно в 10-22 раза улучшена по сравнению с паливизумабом; (xv) демонстрирует эффективность нейтрализации одного или более лабораторных штаммов РСВ подтипа В, которая приблизительно в 2-5 раз улучшена по сравнению с паливизумабом; (xvi) демонстрирует эффективность нейтрализации одного или более лабораторных штаммов РСВ подтипа А или одного или более клинических штаммов РСВ подтипа А, которая приблизительно в 0,5-2 раза улучшена по сравнению с АМ-22; (xvii)

демонстрирует эффективность нейтрализации одного или более лабораторных штаммов РСВ подтипа В, которая приблизительно в 2,5-17 раз улучшена по сравнению с АМ-22.

**[0055]** В одном варианте реализации в изобретении предложено полностью человеческое моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с РСВ-F, при этом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент демонстрирует одну из следующих характеристик: (i) содержит HCVR, имеющую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146, 162, 178, 194, 210, 226, 242, 258, 274, 290, 306, 322 и 338 или в значительной степени сходную с ними последовательность, обладающую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательностей; (ii) содержит LCVR, имеющую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 138, 154, 170, 186, 202, 218, 234, 250, 266, 282, 298, 314, 330 и 346 или в значительной степени сходную с ними последовательность, обладающую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательностей; (iii) содержит домен HCDR3, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 8, 24, 40, 56, 72, 88, 104, 120, 136, 152, 168, 184, 200, 216, 232, 248, 264, 280, 296, 312, 328 и 344 или в значительной степени сходную с ними последовательность, обладающую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательностей; и домен LCDR3, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 16, 32, 48, 64, 80, 96, 112, 128, 144, 160, 176, 192, 208, 224, 240, 256, 272, 288, 304, 320, 336 и 352 или в значительной степени сходную с ними последовательность, обладающую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательностей; (iv) содержит домен HCDR1, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 4, 20, 36, 52, 68, 84, 100, 116, 132, 148, 164, 180, 196, 212, 228, 244, 260, 276, 292, 308, 324 и 340 или в значительной степени сходную с ними последовательность, обладающую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательностей; (v) домен HCDR2, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 6, 22, 38, 54, 70, 86, 102, 118, 134, 150, 166, 182, 198, 214, 230, 246, 262, 278, 294, 310, 326 и 342 или в значительной степени сходную с ними последовательность, обладающую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%

идентичности последовательностей; (vi) домен LCDR1, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 12, 28, 44, 60, 76, 92, 108, 124, 140, 156, 172, 188, 204, 220, 236, 252, 268, 284, 300, 316, 332 и 348 или в значительной степени сходную с ними последовательность, обладающую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательностей; (vii) и домен LCDR2, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 14, 30, 46, 62, 78, 94, 110, 126, 142, 158, 174, 190, 206, 222, 238, 254, 270, 286, 302, 318, 334 и 350 или в значительной степени сходную с ними последовательность, обладающую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательностей; (viii) демонстрирует  $K_d$  в диапазоне от около  $1 \times 10^{-7}$  М до около  $6 \times 10^{-10}$  М; (ix) способно нейтрализовать штаммы респираторного синцитиального вируса подтипа А и/или подтипа В *in vitro*; (x) демонстрирует способность существенно снижать вирусную нагрузку у млекопитающего, пораженного РСВ-инфекцией; (xi) взаимодействует с аминокислотной последовательностью, содержащей аминокислотные остатки в диапазоне приблизительно от позиции 161 приблизительно до позиции 188 из SEQ ID NO: 354; (xii) взаимодействует с серином в позиции 173 из SEQ ID NO: 354 или треонином в позиции 174 из SEQ ID NO: 354 или как с серином в позиции 173 из SEQ ID NO: 354, так и с треонином в позиции 174 из SEQ ID NO: 354; (xiii) ингибирует слияние РСВ с клеткой-хозяином; (xiv) перекрестно не конкурирует с паливизумабом или АМ-22 за связывание РСВ-F.

**[0056]** В одном варианте реализации в изобретении предложено выделенное человеческое моноклональное антитело, которое специфически связывается с белком F респираторного синцитиального вируса (РСВ-F), или его антигенсвязывающий фрагмент, при этом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент взаимодействует с аминокислотной последовательностью, содержащей аминокислотные остатки в диапазоне приблизительно от позиции 161 приблизительно до позиции 188 из SEQ ID NO: 354.

**[0057]** В одном варианте реализации в изобретении предложено выделенное человеческое моноклональное антитело, которое специфически связывается с РСВ-F, или его антигенсвязывающий фрагмент, при этом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент взаимодействует по меньшей мере с одной аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 355 и 356.

**[0058]** В одном варианте реализации в изобретении предложено выделенное человеческое моноклональное антитело, которое специфически связывается с РСВ-F, или его

антигенсвязывающий фрагмент, при этом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент взаимодействует по меньшей мере с одним аминокислотным остатком в пределах остатков от 161 до 188 из SEQ ID NO: 354.

**[0059]** В одном варианте реализации в изобретении предложено выделенное человеческое моноклональное антитело, которое специфически связывается с РСВ-F, или его антигенсвязывающий фрагмент, при этом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент взаимодействует по меньшей мере с одним аминокислотным остатком в пределах SEQ ID NO: 355 или SEQ ID NO:356.

**[0060]** В одном варианте реализации в изобретении предложено выделенное человеческое моноклональное антитело, которое специфически связывается с РСВ-F, или его антигенсвязывающий фрагмент, при этом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент взаимодействует с серином в позиции 173 из SEQ ID NO: 354 или треонином в позиции 174 из SEQ ID NO: 354 или как с серином в позиции 173 из SEQ ID NO: 354, так и с треонином в позиции 174 из SEQ ID NO: 354.

**[0061]** В одном варианте реализации в изобретении предложено выделенное человеческое моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с белком F респираторного синцитиального вируса (РСВ-F), при этом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент взаимодействует с аминокислотной последовательностью, содержащей аминокислотные остатки в диапазоне приблизительно от позиции 161 приблизительно до позиции 188 из SEQ ID NO: 354, и при этом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит три CDR тяжелой цепи (HCDR1, HCDR2 и HCDR3), которые находятся в пределах аминокислотной последовательности варибельной области тяжелой цепи (HCVR) из SEQ ID NO: 274; и три CDR легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3), которые находятся в пределах аминокислотной последовательности варибельной области легкой цепи (LCVR) из SEQ ID NO: 282.

**[0062]** В одном варианте реализации в изобретении предложено выделенное человеческое моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с белком F респираторного синцитиального вируса (РСВ-F), при этом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

(a) домен HCDR1, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 276;

(b) домен HCDR2, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 278;

- (с) домен HCDR3, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 280;
- (d) домен LCDR1, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 284;
- (е) домен LCDR2, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 286; и
- (f) домен LCDR3, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 288.

**[0063]** В одном варианте реализации в изобретении предложено выделенное человеческое моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с PCB-F, при этом антитело содержит три HCDR, которые находятся в пределах аминокислотной последовательности варибельной области тяжелой цепи (HCVR) из SEQ ID NO: 274; и три CDR легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3), которые находятся в пределах аминокислотной последовательности варибельной области легкой цепи (LCVR) из SEQ ID NO: 282, а антитело или его антигенсвязывающий фрагмент взаимодействует по меньшей мере с одной аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 355 и 356.

**[0064]** В одном варианте реализации в изобретении предложено выделенное человеческое моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с PCB-F, при этом антитело содержит три HCDR, которые находятся в пределах аминокислотной последовательности варибельной области тяжелой цепи (HCVR) из SEQ ID NO: 274; и три CDR легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3), которые находятся в пределах аминокислотной последовательности варибельной области легкой цепи (LCVR) из SEQ ID NO: 282, а антитело или его антигенсвязывающий фрагмент взаимодействует по меньшей мере с одним аминокислотным остатком в пределах остатков от 161 до 188 из SEQ ID NO: 354.

**[0065]** В одном варианте реализации в изобретении предложено выделенное человеческое моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с PCB-F, при этом антитело содержит три HCDR, которые находятся в пределах аминокислотной последовательности варибельной области тяжелой цепи (HCVR) из SEQ ID NO: 274; и три CDR легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3), которые находятся в пределах аминокислотной последовательности варибельной области легкой цепи (LCVR) из SEQ ID NO: 282, а антитело или его антигенсвязывающий фрагмент

взаимодействует по меньшей мере с одним аминокислотным остатком в пределах SEQ ID NO: 355 или SEQ ID NO:356.

**[0066]** В одном варианте реализации в изобретении предложено выделенное человеческое моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с РСВ-F, при этом антитело содержит три HCDR, которые находятся в пределах аминокислотной последовательности варибельной области тяжелой цепи (HCVR) из SEQ ID NO: 274; и три CDR легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3), которые находятся в пределах аминокислотной последовательности варибельной области легкой цепи (LCVR) из SEQ ID NO: 282, а антитело или его антигенсвязывающий фрагмент взаимодействует с серином в позиции 173 из SEQ ID NO: 354 или треонином в позиции 174 из SEQ ID NO: 354 или как с серином в позиции 173 из SEQ ID NO: 354, так и с треонином в позиции 174 из SEQ ID NO: 354.

**[0067]** В одном варианте реализации в изобретении предложено выделенное человеческое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое перекрестно не конкурирует с паливизумабом или мотавизумабом за связывание РСВ-F.

**[0068]** В одном варианте реализации в изобретении предложено выделенное человеческое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое перекрестно не конкурирует с АМ-22 за связывание РСВ-F.

**[0069]** В одном варианте реализации в изобретении предложено выделенное человеческое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое не связывает такой же самый эпитоп РСВ-F, что и паливизумаб.

**[0070]** В одном варианте реализации в изобретении предложено выделенное человеческое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое не связывает такой же самый эпитоп РСВ-F, что и мотавизумаб.

**[0071]** В одном варианте реализации в изобретении предложено выделенное человеческое моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое не связывается с эпитопом РСВ-F в диапазоне приблизительно от аминокислотного остатка 255 приблизительно до аминокислотного остатка 276 из SEQ ID NO: 354.

**[0072]** В одном варианте реализации в изобретении предложено выделенное человеческое моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое не связывается с тем же самым эпитопом РСВ-F, что и паливизумаб, при этом эпитоп находится в диапазоне приблизительно от аминокислотного остатка 255 приблизительно до аминокислотного остатка 276 из SEQ ID NO: 354.

**[0073]** Во втором аспекте в изобретении предложены молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие антитела или их фрагменты, которые специфически связываются с РСВ-Ф. Также в изобретение включены рекомбинантные экспрессионные векторы, несущие нуклеиновые кислоты согласно изобретению, и клетки-хозяева, в которые были внесены такие векторы, а также способы получения антител путем культивирования клеток-хозяев в условиях, способствующих выработке антител, и восстановления полученных антител.

**[0074]** В одном варианте реализации в изобретении предложено антитело или его фрагмент, содержащее HCVR, кодируемую нуклеотидной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, 17, 33, 49, 65, 81, 97, 113, 129, 145, 161, 177, 193, 209, 225, 241, 257, 273, 289, 305, 321 и 337 или в значительной степени идентичной последовательностью, имеющей с ними по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% гомологии.

**[0075]** В одном варианте реализации изобретения HCVR кодируется нуклеотидной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 273 и 337.

**[0076]** В одном варианте реализации изобретения антитело или его фрагмент дополнительно содержит LCVR, кодируемую нуклеотидной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 9, 25, 41, 57, 73, 89, 105, 121, 137, 153, 169, 185, 201, 217, 233, 249, 265, 281, 297, 313, 329 и 345 или в значительной степени идентичной последовательностью, имеющей с ними по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% гомологии.

**[0077]** В одном варианте реализации изобретения LCVR кодируется нуклеотидной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 281 и 345.

**[0078]** В одном варианте реализации в изобретении также предложено антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела, содержащее домен HCDR3, кодируемый нуклеотидной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 7, 23, 39, 55, 71, 87, 103, 119, 135, 151, 167, 183, 199, 215, 231, 247, 263, 279, 295, 311, 327 и 343 или в значительной степени сходной с ними последовательностью, обладающей по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательностей; и домен LCDR3, кодируемый нуклеотидной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 15, 31, 47, 63, 79, 95, 111, 127, 143, 159, 175, 191, 207, 223, 239, 255, 271, 287, 303, 319, 335 и 351 или в значительной степени сходной с ними последовательностью, обладающей по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательностей.

**[0079]** В одном варианте реализации в изобретении предложено антитело или его фрагмент, дополнительно содержащее домен HCDR1, кодируемый нуклеотидной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 3, 19, 35, 51, 67, 83, 99, 115, 131, 147, 163, 179, 195, 211, 227, 243, 259, 275, 291, 307, 323 и 339 или в значительной степени сходной с ними последовательностью, обладающей по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательностей; домен HCDR2, кодируемый нуклеотидной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 5, 21, 37, 53, 69, 85, 101, 117, 133, 149, 165, 181, 197, 213, 229, 245, 261, 277, 293, 309, 325 и 341 или в значительной степени сходной с ними последовательностью, обладающей по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательностей; домен LCDR1, кодируемый нуклеотидной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 11, 27, 43, 59, 75, 91, 107, 123, 139, 155, 171, 187, 203, 219, 235, 251, 267, 283, 299, 315, 331 и 347 или в значительной степени сходной с ними последовательностью, обладающей по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательностей; и домен LCDR2, кодируемый нуклеотидной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 13, 29, 45, 61, 77, 93, 109, 125, 141, 157, 173, 189, 205, 221, 237, 253, 269, 285, 301, 317, 333 и 349 или в значительной степени сходной с ними последовательностью, обладающей по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательностей.

**[0080]** В третьем аспекте в изобретении представлено человеческое антитело или его антигенсвязывающий домен, специфическое в отношении PCB-F, содержащее HCVR, кодируемую сегментами нуклеотидной последовательности, полученными из последовательностей V<sub>H</sub>, D<sub>H</sub> и J<sub>H</sub> зародышевой линии, и LCVR, кодируемую сегментами нуклеотидной последовательности, полученными из последовательностей V<sub>K</sub> и J<sub>K</sub> зародышевой линии.

**[0081]** В изобретение включены антитела, имеющие модифицированный профиль гликозилирования. В некоторых применениях может быть целесообразным проведение модификаций для удаления нежелательных участков гликозилирования или, например, удаление фукозного компонента для повышения антитело-зависимой функции клеточной цитотоксичности (АЗКЦ) (смотрите, Shield *et al.* (2002) JBC 277:26733). В других

применениях можно проводить модификацию галактозилирования, чтобы модифицировать комплемент-зависимую цитотоксичность (КЗЦ).

**[0082]** В четвертом аспекте в изобретении предложена фармацевтическая композиция, содержащая по меньшей мере одно выделенное полностью человеческое моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с РСВ-F, и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель. В одном варианте реализации в изобретении предложена фармацевтическая композиция, содержащая два полностью человеческих моноклональных антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые связываются с одним и тем же эпитопом или связываются с двумя разными эпитопами РСВ-F, и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель. Следует понимать, что в фармацевтической композиции можно применять любую комбинацию описанных в данном документе антител для того, чтобы достичь желаемых результатов в группе пациентов, нуждающихся в такой терапии. Например, в композиции можно применять два антитела, которые распознают и/или связывают РСВ-F. В альтернативном варианте в композиции можно применять два антитела, одно из которых распознает и/или связывают РСВ-F, а второе связывается с другим антигеном на РСВ (*например*, РСВ-G). В одном варианте реализации изобретения в композиции можно применять два антитела, одно из которых распознает и/или связывают РСВ-F, а второе связывается с антигеном метапневмовируса. В альтернативном варианте в композиции можно применять два или более антител, одно из которых распознает и/или связывают РСВ-F, одно связывается с антигеном метапневмовируса, а одно связывается с антигеном вируса гриппа или любого другого вируса, который вызывает респираторные заболевания.

**[0083]** В одном варианте реализации изобретения фармацевтическая композиция содержит антитело, которое связывается с РСВ-F и содержит пару аминокислотных последовательностей HCVR/LCVR, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 274/282 и 338/346.

**[0084]** В одном варианте реализации изобретения фармацевтическая композиция содержит антитело, которое связывается с РСВ-F и содержит пару аминокислотных последовательностей HCVR/LCVR, состоящую из SEQ ID NO: 274/282.

**[0085]** В одном варианте реализации изобретения фармацевтическая композиция содержит антитело, которое связывается с РСВ-F и содержит пару аминокислотных последовательностей HCVR/LCVR, состоящую из SEQ ID NO: 338/346.

**[0086]** В одном варианте реализации изобретения фармацевтическая композиция содержит по меньшей мере одно антитело, которое связывает РСВ-F, при этом антитело

содержит три определяющих комплементарность области тяжелой цепи (HCDR1, HCDR2 и HCDR3), которые находятся в пределах любой из аминокислотных последовательностей вариабельной области тяжелой цепи (HCVR), выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 274 и 338; и три определяющих комплементарность области легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3), которые находятся в пределах любой из аминокислотных последовательностей вариабельной области легкой цепи (LCVR), выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 282 и 346.

**[0087]** В одном варианте реализации изобретения антитела согласно изобретению или композиции, содержащие одно или более антител согласно изобретению, можно применять для нейтрализации РСВ из любого штамма РСВ подтипа А или подтипа В.

**[0088]** В одном варианте реализации в изобретении представлена композиция, которая представляет собой комбинацию антитела и антигенсвязывающего фрагмента антитела согласно изобретению и второго терапевтического агента.

**[0089]** Второй терапевтический агент может представлять собой низкомолекулярный лекарственный препарат, белок/полипептид, антитело, молекулу нуклеиновой кислоты, такую как антисмысловая молекула, или миРНК. Второй терапевтический агент может быть получен синтетическим или природным путем.

**[0090]** Второй терапевтический агент может представлять собой любой агент, который целесообразно комбинировать с антителом или его фрагментом согласно изобретению, например, противовирусный агент (например, рибавирин), специфическую в отношении РСВ вакцину или вакцину, специфическую в отношении вируса гриппа, или вакцину, специфическую в отношении метапневмовируса (МПВ), специфическую в отношении антигена РСВ миРНК, специфическую в отношении антигена вируса гриппа миРНК, специфическую в отношении антигена метапневмовируса (МПВ) миРНК, второе антитело, специфическое в отношении антигена РСВ или антигена метапневмовируса (МПВ), или антигена вируса гриппа, анти-IL4R антитело, анти-PCV-G антитело или НПВП. В определенных вариантах реализации изобретения второй терапевтический агент может представлять собой агент, который помогает противодействовать или уменьшает любые возможные побочные явления, связанные с антителом или антигенсвязывающим фрагментом антитела согласно изобретению, в случае, когда могут возникать такие побочные явления.

**[0091]** Также следует понимать, что антитела и фармацевтически приемлемые композиции согласно настоящему изобретению можно применять в комбинированной терапии, что означает, что антитела и фармацевтически приемлемые композиции можно

вводить параллельно с, до или после одного или более других необходимых терапевтических средств или медицинских процедур. Конкретная комбинация видов терапии (терапевтических средств или процедур) для применения в комбинированном режиме должна учитывать совместимость необходимых терапевтических средств и/или процедур и желаемый терапевтический эффект, который должен быть достигнут. Также следует понимать, что применяемые виды терапии могут приводить к желаемому эффекту в случае одного и того же нарушения (например, антитело можно вводить параллельно с другим агентом, применяемым для лечения того же нарушения) или они могут приводить к разным эффектам (например, к контролю любых неблагоприятных эффектов). В контексте данного документа дополнительные терапевтические агенты, которые обычно вводят для лечения или предотвращения конкретного заболевания или патологического состояния, соответствуют заболеванию или патологическому состоянию, лечение которого проводят.

**[0092]** При совместном введении нескольких терапевтических средств дозировки можно корректировать в соответствии с общепринятыми в данной области техники принципами.

**[0093]** В пятом аспекте в изобретении предложен способ предотвращения инфицирования респираторным синцитиальным вирусом нуждающегося в этом пациента или лечения пациента, страдающего от инфицирования РСВ, или облегчения по меньшей мере одного симптома или осложнения, связанного с РСВ-инфекцией, при этом способ включает введение нуждающемуся в этом пациенту одного или более описанных в данном документе антител или их антигенсвязывающих фрагментов или фармацевтической композиции, содержащей одно или более описанных в данном документе антител согласно изобретению или их фрагментов, таким образом, что происходит предотвращение РСВ-инфекции или облегчение, смягчение, снижение тяжести и/или продолжительности по меньшей мере одного симптома или осложнения, связанного с инфекцией.

**[0094]** В родственном варианте реализации в изобретении предложена фармацевтическая композиция, содержащая одно или более антител согласно изобретению, как одних, так и в комбинации со вторым терапевтическим агентом, для применения в предотвращении инфекции, вызванной респираторным синцитиальным вирусом (РСВ), у нуждающегося в этом пациента или для лечения пациента, страдающего от РСВ-инфекции, или для облегчения по меньшей мере одного симптома или осложнения, связанного с инфекцией, при этом происходит предотвращение инфекции или предотвращение, облегчение или

уменьшение тяжести и/или продолжительности по меньшей мере одного симптома или осложнения, связанного с инфекцией.

**[0095]** В одном варианте реализации в изобретении предложена фармацевтическая композиция, содержащая одно или более антител согласно изобретению, как одних, так и в комбинации со вторым терапевтическим агентом, для применения в производстве медикамента для предотвращения инфекции, вызванной респираторным синцитиальным вирусом (РСВ), у нуждающегося в этом пациента или для лечения пациента, страдающего от РСВ-инфекции, или для облегчения по меньшей мере одного симптома или осложнения, связанного с инфекцией, при этом происходит предотвращение инфекции или предотвращение, облегчение или уменьшение тяжести и/или продолжительности по меньшей мере одного симптома или осложнения, связанного с инфекцией.

**[0096]** В одном варианте реализации изобретения пациент, нуждающийся в лечении антителом согласно изобретению или его антигенсвязывающим фрагментом, представляет собой пациента, у которого может развиться более тяжелая форма РСВ-инфекции вследствие наличия первопричинного или предсуществующего патологического состояния. В одном варианте реализации в изобретении предложен способ предотвращения развития РСВ-инфекции у пациента, находящегося в зоне риска, включающий введение пациенту эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которое связывается с белком F РСВ, или фармацевтической композиции, содержащей эффективное количество антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которое связывается с белком F РСВ, таким образом, что происходит предотвращение, облегчение или уменьшение тяжести и/или продолжительности инфекции или предотвращение, облегчение или уменьшение тяжести и/или продолжительности по меньшей мере одного симптома или осложнения, связанного с инфекцией. В одном варианте реализации изобретения введение выделенного человеческого антитела к РСВ-F или его антигенсвязывающего фрагмента приводит к предотвращению у пациента рецидивирующей бронхиальной обструкции. В одном варианте реализации изобретения введение выделенного человеческого антитела к РСВ-F или его антигенсвязывающего фрагмента приводит к предотвращению у ребенка связанной с РСВ астмы. В одном варианте реализации изобретения введение выделенного человеческого антитела к РСВ-F или его антигенсвязывающего фрагмента приводит к предотвращению РСВ-инфекции, вызываемой респираторным синцитиальным вирусом подтипа А или подтипа В.

[0097] В одном варианте реализации изобретения по меньшей мере один симптом или осложнение, связанный с РСВ-инфекцией, который можно лечить при помощи антитела согласно изобретению или его антигенсвязывающего фрагмента, может быть выбран из группы, состоящей из гипоксии, синеватого оттенка кожи вследствие недостатка кислорода, затруднения дыхания (*например*, учащенного дыхания или нехватки дыхания), кашля, непреодолимого кашля («лающего» кашля), высокой температуры, раздувания крыльев носа, заложенности носа, свистящего дыхания, воспаления легких, апноэ, обезвоживания, плохого питания, изменения психического состояния, снижения аппетита или бронхолита.

[0098] В одном варианте реализации изобретения пациент, подверженный риску развития РСВ-инфекции, которому лечение антителами согласно изобретению или композицией, содержащей одно или более антител согласно изобретению, могло бы принести пользу, может быть выбран из группы, состоящей из недоношенного ребенка, доношенного ребенка, который ослаблен вследствие какого-либо другого первопричинного патологического состояния и/или был рожден в пик сезона РСВ, ребенка старше или в возрасте одного года, имеющего или нет первопричинное патологическое состояние (например, врожденный порок сердца, хроническое заболевание легких, муковисцидоз, иммунодефицит, нервно-мышечное нарушение), помещенного в лечебное учреждение или госпитализированного пациента, пожилого человека (возрастом  $\geq 65$  лет), имеющего или нет первопричинное патологическое состояние, такое как застойная сердечная недостаточность и хроническое обструктивное заболевание легких, пациента с ослабленным иммунитетом вследствие первопричинного заболевания или вследствие применения иммуносупрессорных терапевтических средств, пациента, у которого есть какое-либо первопричинное патологическое состояние, которое может предрасположить его к инфицированию РСВ, например, хроническое обструктивное заболевание легких (ХОЗЛ), застойная сердечная недостаточность, муковисцидоз, бронхопульмональная дисплазия, нарушение функции дыхательных путей, хроническое заболевание легких, ракового пациента или перенесшего трансплантацию пациента, который проходит иммуносупрессорную терапию.

[0099] В одном варианте реализации изобретения пациент, являющийся кандидатом для применения терапии антителом согласно изобретению, может страдать от патологического состояния в результате нарушений легочной, сердечнососудистой, нервно-мышечной или иммунной системы. Патологическое состояние может быть выбрано из группы, состоящей из патологии дыхательных путей, хронического

заболевания легких, хронического заболевания сердца, нервно-мышечного заболевания, которое приводит к нарушению управления секрецией из органов дыхания, и иммуносупрессии. Хроническое заболевание легких может представлять собой хроническое обструктивное заболевание легких (ХОЗЛ), муковисцидоз или бронхопульмональную дисплазию. Хроническое заболевание сердца может представлять собой застойную сердечную недостаточность (ЗСН) или врожденный порок сердца. Нервно-мышечное заболевание или патологическое состояние может представлять собой нейродегенеративное заболевание или неспособность управлять и/или избавляться от продуктов секреции из органов дыхания вследствие повреждения или острого нарушения нервной системы, *например*, инсульта или повреждения спинного мозга. Иммуносупрессия может быть следствием тяжелого комбинированного иммунодефицита или тяжелого приобретенного иммунодефицита, или может быть следствием любого другого инфекционного заболевания или ракового заболевания, которое приводит к ослаблению иммунитета, или является следствием лечения иммуносупрессорными лекарственными препаратами или лучевой терапии.

**[00100]** В одном варианте реализации изобретения антитело в профилактических целях вводят (до развития инфекции) пациенту, находящемуся в зоне риска развития РСВ-инфекции или риска развития по меньшей мере одного симптома или осложнения, связанного с РСВ-инфекцией. Пациентам, являющимся кандидатами для применения терапии антителами согласно изобретению, можно вводить композиции, содержащие одно или более антител, любым путем, подходящим для введения, включая, но не ограничиваясь этим, внутривенную инъекцию, внутримышечную инъекцию или подкожную инъекцию.

**[00101]** В одном варианте реализации изобретения антитело в терапевтических целях вводят (после развития инфекции) пациенту для облегчения или снижения тяжести и/или продолжительности по меньшей мере одного симптома, связанного с РСВ-инфекцией.

**[00102]** В одном варианте реализации изобретения антитела согласно изобретению можно вводить пациенту в комбинации с одним или более терапевтическими агентами, применяемыми для лечения РСВ-инфекции. Один или более терапевтические агенты могут быть выбраны из группы, состоящей из противовирусного агента; вакцины, специфической в отношении РСВ, вакцины, специфической в отношении вируса гриппа, или вакцины, специфической в отношении метапневмовируса (МПВ); миРНК, специфической в отношении антигена РСВ или антигена метапневмовируса (МПВ);

второго антитела, специфического в отношении антигена РСВ или антигена метапневмовируса (МПВ); анти-IL4R антитела, антитела, специфического в отношении антигена вируса гриппа, анти-PCV-G антитела или НПВП.

**[00103]** В шестом аспекте в изобретении предложена иммуногенная композиция или вакцина, которая при введении индивиду, предпочтительно человеку, вызывает у такого индивида иммунный ответ на антиген респираторного синцитиального вируса (PCV).

**[00104]** В одном варианте реализации изобретения иммуногенная композиция или вакцина содержит антиген PCV, например, белок, полипептид PCV-F или его иммуногенный фрагмент, или эпитоп, который находится в пределах и/или получен из антигена полипептида PCV-F или его фрагмента, и/или содержит ДНК и/или РНК, которая кодирует и экспрессирует эпитоп из антигена полипептида PCV-F или других полипептидов согласно изобретению.

**[00105]** В одном варианте реализации изобретения иммуногенная композиция или вакцина может содержать белок PCV-F, приведенный в SEQ ID NO: 354. В одном варианте реализации изобретения иммуногенная композиция или вакцина может содержать полипептидный фрагмент PCV-F, содержащий остатки от 161 до 188 из SEQ ID NO: 354. В одном варианте реализации изобретения иммуногенная композиция или вакцина может содержать один или более аминокислотных остатков, которые находятся в пределах SEQ ID NO: 355 и/или SEQ ID NO: 356. В одном варианте реализации изобретения иммуногенная композиция или вакцина может содержать SEQ ID NO: 355 и/или SEQ ID NO: 356.

**[00106]** В родственном аспекте в изобретении предложен способ индукции иммунного ответа у индивида, в частности млекопитающего, предпочтительно человека, путем введения индивиду иммуногенной композиции или вакцины, содержащей белок PCV-F или его иммуногенный фрагмент, или антиген PCV-F или его иммуногенный фрагмент, содержащий один или более эпитопов, которые находятся в пределах антигена PCV-F или его иммуногенного фрагмента, достаточной, чтобы вызвать иммунный ответ антител и/или Т-клеток для защиты индивида от инфицирования, в частности, инфицирования респираторным синцитиальным вирусом (PCV).

**[00107]** В одном варианте реализации изобретения предложены способы применения иммуногенных композиций или вакцин согласно изобретению для индукции иммунного ответа, который приводит к ингибированию или замедлению прогрессирования распространения вируса от клетки к клетке. Также предложены

способы облегчения по меньшей мере одного симптома, связанного с РСВ-инфекцией, путем введения иммуногенной композиции или вакцины, содержащей по меньшей мере один антиген РСВ-F или один или более эпитопов, которые находятся в пределах антигена РСВ-F, которые при введении будут индуцировать у индивида иммунный ответ.

**[00108]** Например, в одном варианте реализации в изобретении предложен способ индуцирования иммунного ответа у индивида, включающий доставку индивиду иммуногенной композиции или вакцины, содержащей антиген РСВ-F (*например*, аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 354) или его иммуногенный фрагмент (*например*, полипептид, содержащий остатки от 161 до 188 из SEQ ID NO: 354), или нуклеотидный вектор, содержащий нуклеотидную последовательность для управления экспрессией такого вирусного полипептида или его фрагмента или варианта *in vivo* для того, чтобы индуцировать иммунный ответ.

**[00109]** В одном варианте реализации изобретения полипептид для применения в иммуногенной композиции или вакцине для индукции иммунного ответа у индивида содержит остатки от 161 до 188 из SEQ ID NO: 354. В одном варианте реализации изобретения полипептид для применения в иммуногенной композиции или вакцине для индукции иммунного ответа у индивида содержит один или более аминокислотных остатков, которые находятся в пределах SEQ ID NO: 355 и/или SEQ ID NO: 356. В одном варианте реализации изобретения полипептид для применения в иммуногенной композиции или вакцине для индукции иммунного ответа у индивида содержит SEQ ID NO: 355 и/или SEQ ID NO: 356. В одном варианте реализации изобретения иммуногенная композиция или вакцина может вызывать ответ антител или ответ Т-клеток, специфический в отношении антигена РСВ-F РСВ, при этом сгенерированные антитела взаимодействуют с серином в позиции 173 из SEQ ID NO: 354 или треонином в позиции 174 из SEQ ID NO: 354 или как с серином в позиции 173 из SEQ ID NO: 354, так и с треонином в позиции 174 из SEQ ID NO: 354.

**[00110]** В определенных вариантах реализации изобретения иммуногенная композиция или вакцина может содержать иммуногенный полипептид и/или полинуклеотид согласно изобретению или их комбинацию вместе с подходящим носителем/вспомогательным веществом, таким как фармацевтически приемлемый носитель/вспомогательное вещество. Иммуногенная композиция или вакцина согласно изобретению также может содержать адъюванты для повышения иммуногенности лекарственной формы.

**[00111]** В определенных вариантах реализации изобретения целесообразно приготовление антигенов РСВ-F или их фрагментов в виде иммуногенных композиций или вакцин, которые содержат иммуногенные, предпочтительно иммунологически эффективные, количества дополнительных антигенов для формирования иммунитета к другим патогенам, предпочтительно вирусам и/или бактериям. Такие дополнительные антигены могут включать антиген вируса гриппа, антиген из метапневмовируса или коронавируса, антиген из *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* или *Bordetella pertussis*. В иммуногенные композиции или вакцины могут быть включены другие антигены РСВ, такие как гликопротеин РСВ-G или его иммуногенные фрагменты, белок HN или его производные.

#### КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ФИГУР

**[00112]** **Фигура 1.** Схематическое изображение белка РСВ-F.

**[00113]** **Фигура 2А и 2В.** Демонстрирует, что H1N3592P3 блокирует попадание вируса внутрь клетки путем ингибирования слияния вируса и клеточных мембран.

## ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

**[00114]** Перед описанием настоящих способов следует принять, что это изобретение не ограничено конкретными описанными способами и экспериментальными условиями, поскольку способы и условия могут изменяться. Также следует понимать, что терминология, используемая в данном документе в целях описания конкретных вариантов реализации изобретения, не является ограничивающей, так как объем настоящего изобретения ограничен только прилагаемой формулой изобретения.

**[00115]** Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в данном документе, имеют то же значение, которое обычно подразумевается специалистом в той области техники, к которой относится это изобретение. При употреблении в данном документе термин «около» в отношении конкретного числового значения означает, что это значение может изменяться относительно указанного значения не более чем на 1%. Например, при употреблении в данном документе термин «около 100» включает в себя 99 и 101, а также все значения между ними (*например, 99,1, 99,2, 99,3, 99,4 и т.д.*).

**[00116]** Несмотря на то, что при практической реализации или тестировании настоящего изобретения можно применять любые способы и материалы, сходные или эквивалентные с теми, которые описаны в данном документе, предпочтительные способы и материалы будут описаны ниже.

**Определения**

**[00117]** «Белок F респираторного синцитиального вируса» также называемый «PCB-F» представляет собой трансмембранный поверхностный белок типа I, который содержит N-терминальный отщепляемый сигнальный пептид и мембранный якорь вблизи C-конца (Collins, P.L. *et al.*, (1984), PNAS (USA) 81:7683-7687). Белок PCB-F синтезируется в виде неактивного 67 кДа предшественника, обозначаемого F0 (Calder, L.J.; *et al.*, *Virology* (2000), 271,122–131. Белок F0 протеолитически активируется в комплексе Гольджи фурин-подобной протеазой на двух участках, что приводит к получению двух дисульфидно связанных полипептидов – F2 и F1 – из N- и C-конца, соответственно. Происходит высвобождение 27-аминокислотного пептида, называемого «per27». На каждой стороне per27 есть фурин-расщепляемые участки (ФРУ) (Collins, P.L.; Mottet, G. (1991), *J.Gen.Virol.*, 72: 3095–3101; Sugrue, R.J , *et al.* (2001), *J..Gen.Virol.*, 82,1375–1386). Субъединица F2 состоит из группы из семи повторов С (HRC), в то время как F1 содержит слитый полипептид (FP), группу из семи повторов А (HRA), домен I, домен II, группу из

семи повторов В (HRB), трансмембранный (TM) и цитоплазматический домен (CP) (Смотрите Sun, Z. *et al. Viruses* (2013), 5:211-225). Белок РСВ-F играет роль в слиянии вирусной частицы с клеточной мембраной и экспрессируется на поверхности инфицированной клетки, таким образом, играя роль в распространении вируса от клетки к клетке и образовании синцития. Аминокислотная последовательность белка РСВ-F представлена в GenBank под номером доступа AAX23994 и также называется в данном документе SEQ ID NO: 354.

**[00118]** Генетически сконструированная конструкция белка РСВ-F приведена в данном документе в виде аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 353.

**[00119]** Употребляемый в данном документе термин «лабораторный штамм» относится к штамму РСВ (подтипа А или В), который прошел широкомасштабное *in vitro* клеточное культивирование. «Лабораторный штамм» может содержать адаптивные мутации, которые могут влиять на его биологические свойства. Употребляемый в данном документе термин «клинический штамм» относится к изоляту РСВ (подтипа А или В), который получен от неинфицированного индивида и который был выделен и выращен в тканевой культуре с небольшим количеством пассажей.

**[00120]** Термин «эффективная доза 99» или «ED<sub>99</sub>» относится к дозировке агента, которая обеспечивает желаемый эффект, состоящий в 99% снижении образования вирусных бляшек по сравнению с изотипическим (отрицательным) контролем. В настоящем изобретении ED<sub>99</sub> относится к дозировке анти-РСВ-F антител, которая приводит к нейтрализации вирусной инфекции (например, снижению 99% вирусной нагрузки) *in vivo*, как описано в Примере 5.

**[00121]** Термин «IC<sub>50</sub>» относится к «концентрации полумаксимального ингибирования», величина которой определяет эффективность ингибирования соединением (например, анти-РСВ-F антителом) биологической или биохимической функции. Этот количественный показатель определяет количество, требуемое в случае конкретного ингибитора для ингибирования заданного биологического процесса наполовину.

**[00122]** «Паливизумаб» также называемый «SYNAGIS®» представляет собой анти-РСВ-F антитело с переменными доменами тяжелой и легкой цепей, имеющими аминокислотные последовательности, приведенные в US7635568 и 5824307 (также приведенные в данном документе в виде SEQ ID NO: 361 для тяжелой цепи антитела и SEQ ID NO: 362 для легкой цепи антитела). Это антитело, которое иммуноспецифически связывается с белком РСВ-F, на сегодняшний день утверждено FDA как средство для

пассивной иммунопрофилактики серьезных РСВ-заболеваний у подверженных высокому риску детей и вводится внутримышечно в рекомендуемой месячной дозировке, составляющей 15 мг/кг массы тела на протяжении сезона РСВ (с ноября по апрель в северном полушарии). SYNAGIS® состоит из 95% человеческих и 5% мышинных последовательностей антитела. Смотрите также Johnson *et al.*, (1997), *J. Infect. Diseases* 176:1215-1224.

**[00123]** «Мотавизумаб», также называемый «NUMAX™», представляет собой РСВ-*F*-специфическое гуманизированное моноклональное антитело с повышенной эффективностью, полученное путем *in vitro* созревания аффинности определяющих комплементарность областей тяжелой и легкой цепей паливизумаба. В качестве справочной информации аминокислотная последовательность антитела NUMAX™ раскрыта в патентной публикации США 2003/0091584 и в патенте США № 6818216, и в Wu *et al.*, (2005) *J. Mol. Bio.* 350(1):126-144, и в Wu, et al. (2007) *J. Mol. Biol.* 368:652-665. Она также приведена в данном документе в виде SEQ ID NO: 359 для тяжелой цепи антитела и SEQ ID NO: 360 для легкой цепи антитела.

**[00124]** Употребляемые в данном документе термины «лечить» и «лечение» относятся к снижению или облегчению прогрессирования, тяжести и/или продолжительности РСВ-инфекции верхних и/или нижних дыхательных путей, среднего отита или связанного с ними симптома респираторного патологического состояния (такого как астма, свистящее дыхание или их комбинация) в результате применения одного или более видов терапии (включая, но не ограничиваясь этим, введение одного или более профилактических или терапевтических агентов). В конкретных вариантах реализации изобретения эти термины относятся к снижению или ингибированию репликации РСВ, ингибированию или снижению распространения РСВ на другие ткани или субъектов (например, распространение в нижние дыхательные пути), ингибированию или снижению инфицирования клетки РСВ или облегчению одного или более симптомов, связанных с РСВ-инфекцией верхних и/или нижних дыхательных путей или средним отитом.

**[00125]** Употребляемые в данном документе термины «предотвращать» и «предотвращение» относятся к предотвращению или ингибированию развития или начала РСВ-инфекции верхних и/или нижних дыхательных путей, среднего отита или связанного с ними симптома респираторного патологического состояния у субъекта, предотвращению или ингибированию прогрессирования РСВ-инфекции верхних дыхательных путей или РСВ-инфекции нижних дыхательных путей, среднего отита или

связанного с ними симптома респираторного патологического состояния в результате применения терапии (например, профилактическим или терапевтическим агентом), предотвращению симптома РСВ-инфекции верхних и/или нижних дыхательных путей, среднего отита или связанного с ними симптома респираторного патологического состояния, или применению комбинации разных видов терапии (например, комбинации профилактических или терапевтических агентов).

**[00126]** Употребляемый в данном документе термин «антитело» относится к молекулам иммуноглобулина, состоящим из четырех полипептидных цепей – двух тяжелых (H) и двух легких (L) цепей, – соединенных дисульфидными связями (*т.е.* «полным молекулам антител»), а также к их мультимерам (*например*, IgM) или антигенсвязывающим фрагментам. Каждая тяжелая цепь состоит из вариабельной области тяжелой цепи («HCVR» или «V<sub>H</sub>») и константной области тяжелой цепи (состоящей из доменов C<sub>H1</sub>, C<sub>H2</sub> и C<sub>H3</sub>). Каждая легкая цепь состоит из вариабельной области легкой цепи («LCVR» или «V<sub>L</sub>») и константной области легкой цепи (C<sub>L</sub>). Области V<sub>H</sub> и V<sub>L</sub> можно дополнительно разделить на области гипервариабельности, называемые определяющими комплементарность областями (CDR), перемежающиеся с более консервативными областями, называемыми каркасными областями (FR). Каждая V<sub>H</sub> и V<sub>L</sub> состоит из трех CDR и четырех FR, выстроенных от аминоконца к карбоксиконцу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. В определенных вариантах реализации изобретения FR антитела (или его антигенсвязывающего фрагмента) могут быть идентичными последовательностям человеческой зародышевой линии или могут быть модифицированы природным или искусственным путем. Консенсусную аминокислотную последовательность можно определить на основании параллельного анализа двух или более CDR.

**[00127]** Также возможно замещение одного или более остатков CDR или исключение одной или более CDR. В научной литературе были описаны антитела, в которых в целях связывания могут быть удалены одна или две CDR. Padlan *et al.* (1995 FASEB J. 9:133-139) проводил анализ областей контакта между антителами и их антигенами на основе опубликованных кристаллических структур и заключил, что только приблизительно от одной пятой до одной третьей остатков CDR в действительности контактируют с антигеном. Padlan также обнаружил много антител, в которых одна или более CDR не содержат аминокислот, контактирующих с антигеном (смотрите также Vajdos *et al.* 2002 J Mol Biol 320:415-428).

**[00128]** Остатки CDR, не контактирующие с антигеном, можно определить на основании предыдущих исследований (например, остатки H60-H65 в CDRH2 часто не нужны), из CDR-областей по Кабату, лежащих за пределами CDR-областей по Хотиа, при помощи молекулярного моделирования и/или эмпирическим путем. В случае, если CDR или ее остаток(ки) исключены, они обычно замещены аминокислотой, занимающей соответствующую позицию в другой человеческой последовательности антитела или консенсусным вариантом этих последовательностей. Позиции для замещения в пределах CDR и аминокислоты, на которые производится замена, также можно выбрать эмпирическим путем. Эмпирические замены могут представлять собой консервативные или неконсервативные замены.

**[00129]** Описанные в данном документе полностью человеческие моноклональные антитела могут содержать одну или более аминокислотных замен, инсерций и/или делеций в каркасных и/или CDR-областях переменных доменов тяжелой и легкой цепей по сравнению с соответствующими последовательностями зародышевой линии. Такие мутации можно легко определить путем сравнения описанных в данном документе аминокислотных последовательностей с последовательностями зародышевой линии, доступными, например, из публичных баз данных по последовательностям антител. Настоящее изобретение включает антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, которые получены из любой из раскрытых в данном документе аминокислотных последовательностей, при этом одна или более аминокислот в пределах одной или более каркасных и/или CDR-областей мутированы до соответствующего(их) остатка(ов) последовательности зародышевой линии, из которой было получено антитело, или до соответствующего(их) остатка(ов) другой последовательности человеческой зародышевой линии, или до консервативной аминокислотной замены соответствующего(их) остатка(ов) зародышевой линии (все такие изменения последовательностей в данном документе называются «мутациями зародышевой линии»). Специалист в данной области техники может легко получить большое количество антител и антигенсвязывающих фрагментов, которые содержат одну или более отдельных мутаций зародышевой линии или их комбинаций, начиная с описанных в данном документе последовательностей переменной области тяжелой и легкой цепей. В некоторых вариантах реализации изобретения все остатки каркасных и/или CDR-областей в пределах доменов  $V_H$  и/ли  $V_L$  мутированы обратно до остатков, находящихся в исходной последовательности зародышевой линии, из которой было получено антитело. В других вариантах реализации изобретения только определенные остатки мутированы обратно до исходной последовательности зародышевой линии, *например*, только мутированные остатки,

находящиеся в пределах первых 8 аминокислот FR1 или в пределах последних 8 аминокислот FR4, или только мутированные остатки, находящиеся в пределах CDR1, CDR2 или CDR3. В других вариантах реализации изобретения один или более остатков каркасной области и/или CDR мутированы до соответствующего(их) остатка(ов) отличной последовательности зародышевой линии (*т.е.* последовательности зародышевой линии, отличной от последовательности зародышевой линии, из которой изначально было получено антитело). Кроме того, антитела согласно настоящему изобретению могут содержать любую комбинацию двух или более мутаций зародышевой линии в каркасных и/или CDR-областях, *например*, когда определенные отдельные остатки мутированы до соответствующего остатка конкретной последовательности зародышевой линии, хотя другие определенные остатки, которые отличаются от исходной последовательности зародышевой линии, сохранены или мутированы до соответствующего остатка отличной последовательности зародышевой линии. После получения антитела и антигенсвязывающие фрагменты, которые содержат одну или более мутаций зародышевой линии, можно легко исследовать на наличие одного или более желаемого свойства, такого как улучшение специфичности связывания, повышение аффинности связывания, улучшение или усиление антагонистических или агонистических биологических свойств (в зависимости от ситуации), снижение иммуногенности и т.д. Антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, полученные таким образом, включены в настоящее изобретение.

**[00130]** Настоящее изобретение также включает полностью моноклональные антитела, содержащие варианты любой из аминокислотных последовательностей HCVR, LCVR и/или CDR, раскрытых в данном документе и содержащих одну или больше консервативных замен. Например, настоящее изобретение включает антитела, имеющие аминокислотные последовательности HCVR, LCVR и/или CDR, *например*, с 10 или менее, 8 или менее, 6 или менее, 4 или менее и т.д. консервативными аминокислотными заменами по сравнению с любой из раскрытых в данном документе аминокислотных последовательностей HCVR, LCVR и/или CDR.

**[00131]** Употребляемый в данном документе термин «человеческое антитело» включает антитела, содержащие переменные и константные области, полученные из последовательностей иммуноглобулинов человеческой зародышевой линии. Человеческие mAb согласно изобретению могут содержать аминокислотные остатки, которые не кодируются последовательностями иммуноглобулинов человеческой зародышевой линии (*например*, мутации, введенные посредством случайного или сайт-специфического

мутагенеза *in vitro* или посредством соматической мутации *in vivo*), например, в CDR и, в частности, в CDR3. При этом употребляемый в данном документе термин «человеческое антитело» не включает mAb, в которых последовательности CDR, полученные из зародышевой линии других видов млекопитающих (например, мышей), были привиты в человеческие FR-последовательности.

**[00132]** Термин «рекомбинантный» в общем случае относится к любому белку, полипептиду или клетке, экспрессирующим представляющий интерес ген, которые были получены методами генетической инженерии. Употребляемый в отношении белка или полипептида термин «рекомбинантный» означает полипептид, полученный посредством экспрессии рекомбинантного полинуклеотида. Белки, применяемые в иммуногенных композициях согласно изобретению, можно выделять из природного источника или получать методами генетической инженерии.

**[00133]** В некоторых вариантах реализации изобретения антитела согласно изобретению могут представлять собой рекомбинантные человеческие антитела. Употребляемый в данном документе термин «рекомбинантное человеческое антитело» включает все человеческие антитела, которые были получены, экспрессированы, созданы или выделены рекомбинантными способами, такие как антитела, экспрессируемые при помощи рекомбинантного экспрессионного вектора, трансфицированного в клетку-хозяина (дополнительно описано ниже), антитела, выделенные из библиотеки рекомбинантных, комбинаторных человеческих антител (дополнительно описано ниже), антитела, выделенные из животных (например, мышей), трансгенных в отношении генов человеческого иммуноглобулина (смотрите, например, Taylor et al. (1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295), или антитела, которые были получены, экспрессированы, созданы или выделены любыми другими способами, которые включают сплайсинг генных последовательностей человеческого иммуноглобулина в другие последовательности ДНК. Такие рекомбинантные человеческие антитела содержат переменные и константные области, полученные из последовательностей иммуноглобулинов человеческой зародышевой линии. При этом, в определенных вариантах реализации изобретения такие рекомбинантные человеческие антитела подвергают *in vitro* мутагенезу (или когда используется трансгенное в отношении последовательностей человеческого Ig животное, *in vivo* соматическому мутагенезу) и, таким образом, аминокислотные последовательности V<sub>H</sub>- и V<sub>L</sub>-областей рекомбинантных антител представляют собой последовательности, которые, хотя и были получены и являются родственными последовательностям V<sub>H</sub> и V<sub>L</sub>

человеческой зародышевой линии, могут не встречаться в природе в пределах набора антител человеческой зародышевой линии *in vivo*.

**[00134]** Термины «специфически связывает» или «специфически связывается с» и им подобные означают, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент образует с антигеном комплекс, который является относительно стабильным в физиологических условиях. Специфическое связывание можно охарактеризовать равновесной константой диссоциации, составляющей по меньшей мере около  $1 \times 10^{-6}$  или менее (*например*, меньшее значение  $K_d$  означает более сильное связывание). Способы определения того, связываются ли две молекулы специфическим образом, хорошо известны в данной области техники и включают, например, равновесный диализ, поверхностный плазмонный резонанс и тому подобное. Согласно описанию данного документе антитела, которые специфически связываются с РСВ-F, выявляли методом поверхностного плазмонного резонанса, *например*, BIACORE™. Кроме того, в контексте данного документа мультиспецифические антитела, которые связываются с белком РСВ-F и одним или более дополнительными антигенами, или биспецифические антитела, которые связываются с двумя разными областями РСВ-F, тем не менее, считаются «специфически связывающими» антителами.

**[00135]** Термин «высокоаффинное» антитело относится к таким mAb, которые обладают аффинностью связывания с РСВ-F, выраженной в виде  $K_d$ , составляющей по меньшей мере  $10^{-9}$  М; более предпочтительно  $10^{-10}$  М, более предпочтительно  $10^{-11}$  М, более предпочтительно  $10^{-12}$  М, и измеренной методом поверхностного плазмонного резонанса, *например*, BIACORE™ или аффинного ELISA-анализа в растворе.

**[00136]** Под терминами «медленная скорость диссоциации», « $K_{дисс}$ » или « $k_d$ » подразумевается антитело, которое диссоциирует от РСВ-F с константой скорости, составляющей  $1 \times 10^{-3} \text{ с}^{-1}$  или менее, предпочтительно  $1 \times 10^{-4} \text{ с}^{-1}$  или менее, согласно данным поверхностного плазмонного резонанса, *например*, BIACORE™.

**[00137]** Употребляемые в данном документе термины «антигенсвязывающая часть» антитела, «антигенсвязывающий фрагмент» антитела и тому подобные включают любой встречающийся в природе, получаемый ферментативным путем, синтетический или генетически сконструированный полипептид или гликопротеин, который специфически связывает антиген с образованием комплекса. Употребляемые в данном документе термины «антигенсвязывающая часть» антитела или «фрагмент антитела» относятся к одному или более фрагментам, которые сохраняют способность связываться с РСВ-F.

**[00138]** В конкретных вариантах реализации изобретения антитело или фрагменты антитела согласно изобретению могут быть конъюгированы с терапевтическим компонентом («иммуноконъюгат»), таким как антибиотик, второе анти-PCB-F антитело, вакцина, анатоксин или любой другой терапевтический компонент, применяемый для лечения PCB-инфекции.

**[00139]** Употребляемый в данном документе термин «выделенное антитело» включает антитело, которое является в значительной степени очищенным от других антител (Ab), имеющих отличную антигенную специфичность (*например*, выделенное антитело, которое специфически связывает PCB-F, или его фрагмент, является в значительной степени очищенным от Ab, которые специфически связывают антигены, отличные от PCB-F).

**[00140]** Употребляемые в данном документе термины «блокирующее антитело» или «нейтрализующее антитело» (или «антитело, которое нейтрализует активность PCB-F») относятся к антителу, связывание которого с PCB-F приводит к ингибированию по меньшей мере одного вида биологической активности PCB-F. Например, антитело согласно изобретению может помогать в блокировании слияния PCB с клеткой-хозяином или предотвращать образование синцития, или предотвращать первичное заболевание, вызываемое PCB. В альтернативном варианте антитело согласно изобретению может демонстрировать способность облегчать по меньшей мере один симптом PCB-инфекции. Такое ингибирование биологической активности PCB-F можно оценить путем определения одного или более индикаторов биологической активности PCB-F одним или более из нескольких стандартных методов *in vitro* анализа (такие как анализ нейтрализации, описанный в данном документе) или *in vivo* анализа, известных в данной области техники (например, животные модели для проверки защиты от PCB после введения одного или более антител, описанных в данном документе).

**[00141]** Употребляемый в данном документе термин «поверхностный плазмонный резонанс» относится к оптическому явлению, которое делает возможным анализ биомолекулярных взаимодействий в режиме реального времени путем выявления изменений концентраций белка в биосенсорной матрице, например, при помощи системы BIACORE™ (Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Sweden and Piscataway, N.J.).

**[00142]** Употребляемый в данном документе термин «K<sub>d</sub>» относится к равновесной константе диссоциации конкретного взаимодействия антитело-антиген.

**[00143]** Термин «эпитоп» относится к антигенной детерминанте, которая взаимодействует со специфическим антигенсвязывающим участком в вариабельной

области молекулы антитела, известным как паратоп. Один антиген может иметь более одного эпитопа. Таким образом, разные антитела могут связываться с разными областями антигена и могут иметь разные биологические эффекты. Термин «эпитоп» также относится к участку антигена, который вызывает ответ В- и/или Т-клеток. Также он относится к области антигена, которая связывается антителом. Эпитопы можно определить как структурные или функциональные. Функциональные эпитопы в общем случае представляют собой подгруппу структурных эпитопов и содержат такие остатки, которые непосредственно влияют на аффинность взаимодействия. Также эпитопы могут быть конформационными, то есть состоящими из нелинейных аминокислот. В определенных вариантах реализации изобретения эпитопы могут включать детерминанты, которые представляют собой химически активные поверхностные группы молекул, таких как аминокислоты, боковые цепи сахаров, фосфорильные группы или сульфонильные группы, и в определенных вариантах реализации изобретения могут иметь специфические трехмерные структурные характеристики и/или специфические зарядовые характеристики.

**[00144]** Термин «значительная степень идентичности» или «в значительной степени идентичный» в отношении нуклеиновой кислоты или ее фрагмента указывает, что при оптимальном выравнивании с другой нуклеиновой кислотой (или ее комплементарной цепью) при помощи соответствующих нуклеотидных инсерций или делеций, наблюдается идентичность нуклеотидной последовательности для по меньшей мере около 90% и более предпочтительно по меньшей мере около 95%, 96%, 97%, 98% или 99% нуклеотидных оснований, при определении при помощи любого хорошо известного алгоритма определения идентичности последовательностей, такого как FASTA, BLAST или GAP, как обсуждается ниже. Молекула нуклеиновой кислоты, имеющая значительную степень идентичности с эталонной молекулой нуклеиновой кислоты, может в некоторых случаях кодировать полипептид, имеющий такую же или в значительной степени сходную аминокислотную последовательность, что и полипептид, кодируемый эталонной молекулой нуклеиновой кислоты.

**[00145]** Термин «значительная степень сходства» или «в значительной степени сходный» применительно к полипептидам означает, что две пептидные последовательности при оптимальном выравнивании, например, при помощи программ GAP или BESTFIT с использованием установленных по умолчанию штрафов за открытие гэпа, обладают по меньшей мере 90% идентичности последовательностей, и даже более предпочтительно по меньшей мере 95%, 98% или 99% идентичности

последовательностей. Предпочтительно, чтобы позиции остатков, которые не являются идентичными, отличались консервативными аминокислотными заменами. «Консервативной аминокислотной заменой» является такая, при которой аминокислотный остаток замещается другим аминокислотным остатком, имеющим боковую цепь (R-группу) со сходными химическими свойствами (например, зарядом или гидрофобностью). В общем случае консервативная аминокислотная замена не будет существенно изменять функциональные свойства белка. В тех случаях, когда две или более аминокислотные последовательности отличаются друг от друга консервативными заменами, процент идентичности или сходства можно увеличивать, чтобы сделать поправку на консервативный характер замены. Методы внесения таких поправок хорошо известны специалистам в данной области техники. (Смотрите, *например*, Pearson (1994) *Methods Mol. Biol.* 24: 307-331). Примеры групп аминокислот, имеющих боковые цепи со сходными химическими свойствами, включают (1) алифатические боковые цепи: глицин, аланин, валин, лейцин и изолейцин; (2) алифатические гидроксильные боковые цепи: серин и треонин; (3) амидсодержащие боковые цепи: аспарагин и глутамин; (4) ароматические боковые цепи: фенилаланин, тирозин и триптофан; (5) основные боковые цепи: лизин, аргинин и гистидин; (6) кислотные боковые цепи: аспартат и глутамат и (7) серосодержащие боковые цепи: цистеин и метионин. Предпочтительными группами консервативных аминокислотных замен являются: валин-лейцин-изолейцин, фенилаланин-тирозин, лизин-аргинин, аланин-валин, глутамат-аспартат, аспарагин-глутамин. В альтернативном варианте консервативное замещение представляет собой любое изменение, соответствующее положительному значению в матрице логарифмического правдоподобия PAM250, описанной в Gonnet *et al.* (1992) *Science* 256: 1443-45. «Умеренно консервативное» замещение представляет собой любое изменение, соответствующее неотрицательному значению в матрице логарифмического правдоподобия PAM250.

**[00146]** Сходство последовательностей для полипептидов, как правило, определяют при помощи программного обеспечения для анализа последовательностей. Программное обеспечение для анализа белка подбирает сходные последовательности, используя степень сходства, присвоенную различным заменам, делециям и другим модификациям, включая консервативные аминокислотные замены. Например, программное обеспечение GCG включает программы, такие как GAP и BESTFIT, которые можно использовать с установленными по умолчанию параметрами для определения гомологичности или идентичности последовательностей между близкородственными полипептидами, такими как гомологичные полипептиды, полученные от разных видов организмов, или между

белком дикого типа и его мутеином. *Смотрите, например, GCG Версия 6.1.* Полипептидные последовательности также можно сравнивать при помощи FASTA с установленными по умолчанию или рекомендуемыми параметрами; программа в GCG Версия 6.1. FASTA (*например, FASTA2 и FASTA3*) проводит выравнивание и определение процента идентичности последовательностей областей с наилучшим перекрытием между запрашиваемой и поисковой последовательностями (Pearson (2000), *выше*). Другим предпочтительным алгоритмом при сравнении последовательности данного изобретения с базой данных, содержащей большое количество последовательностей, полученных из разных организмов, является компьютерная программа BLAST, в частности, BLASTP или TBLASTN с использованием установленных по умолчанию параметров. (*Смотрите, например, Altschul et al. (1990) J. Mol. Biol. 215: 403 410 и (1997) Nucleic Acids Res. 25:3389 402.*)

**[00147]** В конкретных вариантах реализации изобретения антитело или фрагмент антитела для применения в способе согласно изобретению может быть моноспецифическим, биспецифическим или мультиспецифическим. Мультиспецифические антитела могут быть специфическими в отношении разных эпитопов одного полипептида-мишени или могут содержать антигенсвязывающие домены, специфические в отношении эпитопов более чем одного полипептида-мишени. Типовая конструкция биспецифического антитела, которое можно применять в контексте настоящего изобретения, включает использование первого домена иммуноглобулина (Ig C<sub>H3</sub>) и второго домена Ig C<sub>H3</sub>, при этом первый и второй домены Ig C<sub>H3</sub> отличаются друг от друга по меньшей мере одной аминокислотой, а по меньшей мере одно аминокислотное отличие снижает связывание биспецифического антитела с протеином А по сравнению с биспецифическим антителом, в котором отсутствует аминокислотное отличие. В одном варианте реализации изобретения первый домен Ig C<sub>H3</sub> связывает протеин А, а второй домен Ig C<sub>H3</sub> содержит мутацию, которая снижает или устраняет связывание протеина А, такую как модификация Н95R (согласно IMGT-нумерации экзонов; Н435R согласно Европейской нумерации). Второй C<sub>H3</sub> может дополнительно содержать модификацию Y96F (согласно IMGT; Y436F согласно Европейской нумерации). Дополнительные модификации, которые можно обнаружить в пределах второго C<sub>H3</sub>, включают: D16E, L18M, N44S, K52N, V57M и V82I (согласно IMGT; D356E, L358M, N384S, K392N, V397M и V422I согласно Европейской нумерации) в случае IgG1 mAb; N44S, K52N и V82I (согласно IMGT; N384S, K392N и V422I согласно Европейской нумерации) в случае IgG2 mAb; и Q15R, N44S, K52N, V57M, R69K, E79Q и V82I (согласно IMGT; Q355R, N384S, K392N, V397M, R409K, E419Q и V422I согласно Европейской нумерации) в случае IgG4

mAb. Предполагается, что описанные выше вариации конструкции биспецифического антитела входят в объем настоящего изобретения.

**[00148]** Под выражением «терапевтически эффективное количество» подразумевается количество, которое приводит к желаемому эффекту, для достижения которого его вводили. Точное количество зависит от цели лечения и уточняется специалистом в данной области техники при помощи известных методов (смотрите, например, Lloyd (1999) *The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding*).

**[00149]** «Иммуногенная композиция» относится к композиции, содержащей антиген/иммуноген, например, микроорганизм, такой как вирус или бактерия, или его компонент, белок, полипептид, фрагмент белка или полипептида, цельноклеточный инактивированный, субъединичный или ослабленный вирус, или полисахарид, или комбинацию указанных элементов, вводимой для активации гуморальной и/или клеточной иммунных систем реципиента в отношении одного или более антигенов/иммуногенов, присутствующих в иммуногенной композиции. Иммуногенные композиции согласно настоящему изобретению можно применять для лечения человека, восприимчивого к РСВ-инфекции, посредством введения иммуногенных композиций системным путем. Такое введение может включать инъекцию, осуществляемую внутримышечным (в.м.), интрадермальным (и.д.), интраназальным или ингаляционным путем или подкожным (п.к.) путем; применение пластыря или другого устройства для трансдермальной доставки. В одном варианте реализации изобретения иммуногенную композицию можно применять для производства вакцины или для активации поликлональных или моноклональных антител, которые можно применять для пассивной защиты или лечения млекопитающего.

**[00150]** Употребляемые взаимозаменяемо термины «вакцина» или «композиция вакцины» относятся к композиции, содержащей по меньшей мере одну иммуногенную композицию, которая вызывает иммунный ответ у животного.

**[00151]** В одном варианте реализации изобретения представляющий интерес белок содержит антиген. Употребляемые по отношению к молекуле термины «антиген», «иммуноген», «антигенный», «иммуногенный», «антигенно-активный» и «иммуногенно-активный» относятся к любому веществу, которое способно вызывать специфический гуморальный и/или клеточно-опосредованный иммунный ответ. В одном варианте реализации изобретения антиген содержит эпитоп согласно определению выше.

**[00152]** Употребляемое в данном документе выражение «иммунологически защитное количество» относится к количеству антигена, эффективного в отношении

способности вызывать иммуногенный ответ у реципиента, достаточный для предотвращения или облегчения признаков или симптомов заболевания, включая вредное воздействие на здоровье, или его осложнений. Может происходить индукция как гуморального иммунитета, так и клеточно-опосредованного иммунитета. Иммуногенный ответ животного на композицию можно оценить, *например*, непрямым путем посредством определения титров антител, анализа пролиферации лимфоцитов, или прямым путем, отслеживая признаки и симптомы после стимуляции микроорганизмом. Защитный иммунитет, который обеспечивает иммуногенная композиция или вакцина, можно оценить, определяя, *например*, уменьшение оболочки стимулирующих организмов, снижение в клинических признаках, таких как смертность, распространенность, температура и общее физическое состояние, здоровье и активность субъекта. Иммунный ответ может включать, без ограничений, индукцию клеточного и/или гуморального иммунитета. Терапевтически эффективное количество композиции или вакцины может варьироваться в зависимости от конкретно применяемого организма или состояния животного, лечение или вакцинацию которого проводят.

**[00153]** В контексте данного документа «иммунный ответ» или «иммунологический ответ» относится к развитию гуморального иммунного ответа, клеточного иммунного ответа или гуморального и клеточного иммунного ответа на антиген/иммуноген. «Гуморальный иммунный ответ» относится к такому, который по меньшей мере частично опосредуется антителами. «Клеточный иммунный ответ» представляет собой такой, который опосредуется Т-лимфоцитами или другими белыми клетками крови или и теми и другими клетками, и включает выработку цитокинов, хемокинов и подобных молекул, вырабатываемых активированными Т-клетками, белыми клетками крови или и теми и другими клетками. Иммунный ответ можно определить при помощи стандартных методов иммуноанализа и анализа нейтрализации, которые известны в данной области техники. В контексте данного документа «иммуногенность» относится к способности белка или полипептида вызывать иммунный ответ, направленный конкретно против бактерии или вируса, который вызывает определенное заболевание.

### **Общее описание**

**[00154]** Респираторный синцитиальный вирус (РСВ) представляет собой отрицательно-полярный одноцепочечный РНК-вирус, который является основной причиной серьезных инфекций дыхательных путей у новорожденных и детей, при этом первичная инфекция возникает у детей возрастом от 6 недель до 2 лет и, редко, в первые 4

недели жизни во время нозокомиальных эпидемий (Hall *et al.*, 1979, *New Engl. J. Med.* 300:393-396). (Feigen *et al.*, eds., 1987, В: *Textbook of Pediatric Infectious Diseases*, W B Saunders, Philadelphia at pages 1653-1675; *New Vaccine Development, Establishing Priorities*, Vol. 1, 1985, National Academy Press, Washington D.C. на страницах 397-409; Ruuskanen *et al.*, 1993, *Curr. Probl. Pediatr.* 23:50-79; Hall *et al.*, 1979, *New Engl. J. Med.* 300:393-396). Некоторые группы детей находятся в зоне риска развития РСВ-инфекции, включая недоношенных новорожденных детей (Hall *et al.*, 1979, *New Engl. J. Med.* 300:393-396), детей с врожденными пороками верхних дыхательных путей, детей с бронхопальмональной дисплазией (Groothuis *et al.*, 1988, *Pediatrics* 82:199-203), детей с врожденным пороком сердца (MacDonald *et al.*, *New Engl. J. Med.* 307:397-400) и детей с врожденным или приобретенным иммунодефицитом (Ogra *et al.*, 1988, *Pediatr. Infect. Dis. J.* 7:246-249; и Pohl *et al.*, 1992, *J. Infect. Dis.* 165:166-169) и муковисцидозом (Abman *et al.*, 1988, *J. Pediatr.* 113:826-830).

**[00155]** РСВ может также инфицировать взрослых людей. У этих людей РСВ приводит главным образом к заболеваниям верхних дыхательных путей, хотя для пожилых пациентов может существовать повышенный риск развития серьезной инфекции и воспаления легких (Evans, A. S., eds., 1989, *Viral Infections of Humans. Epidemiology and Control*, 3<sup>rd</sup> ed., Plenum Medical Book, New York на страницах 525-544), как и для взрослых людей после курса иммуносупрессивной терапии, в частности, для пациентов, перенесших трансплантацию костного мозга (Hertz *et al.*, 1989, *Medicine* 68:269-281). Другие пациенты, находящиеся в зоне риска, включают пациентов с застойной сердечной недостаточностью и пациентов с хроническим обструктивным заболеванием легких (т.е. ХОЗЛ). Также сообщалось об эпидемиях среди пациентов домов для престарелых и помещенных в специальные лечебные учреждения людей молодого возраста (Falsey, A. R., 1991, *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 12:602-608; и Garvie *et al.*, 1980, *Br. Med. J.* 281:1253-1254).

**[00156]** При том, что методы лечения развившегося РСВ-заболевания ограничены, более тяжелые формы заболевания нижних дыхательных путей часто требуют существенной поддерживающей терапии, включая подачу увлажненного кислорода и проведение искусственной вентиляции легких (Fields *et al.*, eds, 1990, *Fields Virology*, 2<sup>nd</sup> ed., Vol. 1, Raven Press, New York на страницах 1045-1072).

**[00157]** Было показано, что рибавирин, который является единственным лекарственным препаратом, утвержденным для лечения инфекции, эффективен в лечении воспаления легких и бронхиолита, связанных с РСВ-инфекцией, и способен

модифицировать течение тяжелого РСВ-заболевания в случае детей, не страдающих иммунодефицитом (Smith *et al.*, 1991, *New Engl. J. Med.* 325:24-29). Однако применение рибавирина ограничено вследствие опасений, касающихся возможного риска для беременных женщин, которые могут принимать данный лекарственный препарат в виде аэрозоля в условиях стационара. Также его применение ограничено из-за относительно высокой стоимости.

**[00158]** Были выявлены другие пептидные ингибиторы РСВ-инфекции, которые ингибируют рост вируса *in vitro*, но они оказались недейственными в исследованиях *in vivo*, наиболее вероятно, из-за недоступности при пероральном приеме и относительно короткого времени полужизни в циркуляции (Lambert, D.M., *et al.* (1996), *PNAS (USA)* 93:2186-2191; Magro, M. *et al.*, (2010), *J. Virol.* 84:7970-7982; Park, M. *et al.* (2011), *Anal. Biochem.* 409:195-201).

**[00159]** Также были выявлены другие низкомолекулярные ингибиторы РСВ-инфекции, но их исследование было прекращено по различным причинам, некоторые из которых были связаны с токсичными побочными эффектами (Wyde, P.R. *et al.* (1998), *Antiviral Res.* 38:31-42; Nikitenko, A.A. *et al.* (2001), *Bioorg Med Chem Lett* 11:1041-1044; Douglas, J.L., *et al.* (2003), *J. Virol* 77:5054-5064; Bonfanti, J.F. *et al.* (2008), *J. Med Chem* 51:875-896).

**[00160]** Аналогично, несмотря на то, что целесообразным могло бы стать применение вакцины, коммерчески доступной вакцины на сегодняшний день разработано не было. От нескольких кандидатных вакцин отказались, а остальные находятся на стадии разработки (Murphy *et al.*, 1994, *Virus Res.* 32:13-36). Разработка вакцины оказалась проблематичной. В частности, понадобилась бы иммунизация в течение раннего неонатального периода, так как пик возникновения заболеваний нижних дыхательных путей приходится на возраст 2-5 месяцев. При этом известно, что в это время неонатальный иммунный ответ является незрелым. Плюс, новорожденные в это время имеют высокие титры материнских антител к РСВ, которые могут снижать иммуногенность вакцины (Murphy *et al.*, 1988, *J. Virol.* 62:3907-3910; и Murphy *et al.*, 1991, *Vaccine* 9:185-189).

**[00161]** На данный момент единственным утвержденным подходом профилактики РСВ-заболеваний является пассивная иммунизация. Предварительные сведения, предполагающие защитную роль IgG, были получены в ходе исследований, в которых рассматривались материнские антитела у хорьков (Prince, G. A., Ph.D. diss., University of

California, Los Angeles, 1975) и людей (Lambrecht et al, 1976, J. Infect. Dis. 134:211-217; и Glezen *et al.*, 1981, J. Pediatr. 98:708-715).

**[00162]** В Hemming *et al.* (Morell *et al.*, eds., 1986, Clinical Use of Intravenous Immunoglobulins, Academic Press, London на страницах 285-294) рассматривается возможное применение антитела к РСВ в лечении или предотвращении РСВ-инфекции во время исследований, которые включали изучение фармакокинетики внутривенного иммунного глобулина (ВВИГ) у новорожденных, подозреваемых на наличие неонатального сепсиса. Затем та же самая группа исследователей изучала способность гипериммунной сыворотки или иммунного глобулина, обогащенного нейтрализующим РСВ антителом, защищать хлопковых хомяков и приматов от РСВ-инфекции (Prince *et al.*, 1985, Virus Res. 3:193-206; Prince *et al.*, 1990, J. Virol. 64:3091-3092; Hemming *et al.*, 1985, J. Infect. Dis. 152:1083-1087; Prince *et al.*, 1983, Infect. Immun. 42:81-87; и Prince *et al.*, 1985, J. Virol. 55:517-520). Результаты этих исследований дают основание предполагать, что нейтрализующее РСВ антитело при профилактическом применении ингибирует репликацию РСВ в дыхательных путях у хлопковых хомяков. При терапевтическом применении антитела к РСВ снижает репликацию вируса в легких в моделях с хлопковыми хомяками и приматами за исключением человека.

**[00163]** Более поздние исследования были сконцентрированы на роли двух гликопротеинов, обозначаемых F и G, находящихся на поверхности РСВ, в качестве мишеней для нейтрализующих антител из-за роли этих гликопротеинов в вирусном присоединении и слиянии с клеткой-хозяином (Fields *et al.*, 1990, выше; и Murphy *et al.*, 1994, выше). Белок G связывается со специфическим клеточным рецептором, а белок F способствует слиянию вируса с клеткой. Также белок F экспрессируется на поверхности инфицированных клеток и отвечает за последующее слияние с другими клетками, что приводит к образованию синцития. Таким образом, антитела к белку F могут непосредственно нейтрализовать вирус или блокировать слияние вируса с клеткой или предотвращать распространение от клетки к клетке путем предотвращения образования синцития.

**[00164]** Первым гуманизированным антителом, утвержденным для применения в случае педиатрических пациентов для предотвращения вызванных РСВ тяжелых заболеваний нижних дыхательных путей, стал паливизумаб (SYNAGIS®), который иммуноспецифически связывается с белком F и вводится внутримышечно в рекомендуемой месячной дозировке, составляющей 15 мг/кг массы тела, на протяжении сезона РСВ (с ноября по апрель для северного полушария). SYNAGIS® представляет

собой композицию из последовательностей человеческих (95%) и мышинных (5%) антител. (Смотрите Johnson *et al.*, (1997), J. Infect. Diseases 176:1215-1224 и патент США № 5824307).

**[00165]** Хотя SYNAGIS® успешно применяли для предотвращения РСВ-инфекции у педиатрических пациентов, необходимость повторных визитов к врачу для многократного внутримышечного введения доз по 15 мг/кг SYNAGIS® не только создавала неудобства для пациента, но также могла приводить к пропускам некоторых доз. Таким образом, существовала потребность в разработке антител, которые сохраняли бы иммуноспецифичность в отношении антигена РСВ, но при этом были бы более эффективными и имели бы улучшенный фармакокинетический профиль и, таким образом, имели бы улучшенный общий терапевтический профиль. Такое антитело описано в патентной публикации США 2003/0091584 и известно под названием мотавизумаб (NUMAX™). Хотя NUMAX™ обладает улучшенными характеристиками связывания, которые могут преодолеть необходимость в больших дозировках, описанных выше для SYNAGIS®, оно также характеризуется 3-5-кратным увеличением частоты появления и тяжести аллергических реакций по сравнению с SYNAGIS®. Дальнейшая разработка NUMAX™ была прекращена.

**[00166]** Соответственно, до сих пор существует потребность в эффективных видах терапии РСВ-инфекции и, в частности, существует потребность в определении более эффективного антитела для предотвращения и лечения РСВ-инфекции без нежелательных побочных явлений, связанных с описанными выше антителами. Несмотря на то, что описанные в данном документе антитела демонстрируют более низкую аффинность связывания с РСВ-F (*m.e.* антитела согласно настоящему изобретению не связываются настолько сильно с РСВ-F, как паливизумаб), чем та, что была описана для паливизумаба или мотавизумаба, оказалось, что они демонстрируют лучшую нейтрализующую способность и отвечают указанным потребностям.

**[00167]** В определенных вариантах реализации изобретения антитела согласно изобретению получают от мышей, иммунизированных первичным иммуногеном, таким как цельная РСВ-частица, живая, ослабленная или инактивированная, или рекомбинантной формой вируса, или очищенным белком F (Смотрите GenBank, номер доступа AAX23994.1 (SEQ ID NO: 354)), или рекомбинантно полученным белком F (Смотрите SEQ ID NO: 353), с последующей иммунизацией вторым иммуногеном (цельным вирусом или очищенным белком F) или иммуногенно активным фрагментом белка F.

**[00168]** Иммуноген может представлять собой ДНК, кодирующую белок F или его активный фрагмент.

**[00169]** Иммуноген может быть получен из N-терминального или C-терминального домена 67 кДа предшественника (F0) или из любого из двух фрагментов, генерируемых из предшественника фурин-подобной протеазой, в результате чего образуются два дисульфидно связанных полипептида, обозначаемых F2 и F1, соответственно, из N- и C-конца. Фрагмент может быть получен из любой из известных областей белка РСВ-F (Смотрите Sun, Z. *et al.* (2013), *Viruses* 5:211-225).

**[00170]** Полноразмерная аминокислотная последовательность РСВ-F приведена в виде SEQ ID NO: 354 и также приведена в GenBank с номером доступа AAX23994.1.

**[00171]** Генетическая конструкция, содержащая белок F РСВ, приведена в виде SEQ ID NO: 353.

**[00172]** В определенных вариантах реализации изобретения антитела, которые специфически связываются с РСВ-F, можно получить, используя фрагменты вышеописанных областей или пептиды, которые простираются за пределы указанных областей на от около 5 до около 20 аминокислотных остатков с любого или обоих, N- или C-терминальных концов описанных в данном документе областей. В определенных вариантах реализации изобретения для получения РСВ-F-специфических антител можно применять любую комбинацию вышеописанных областей или их фрагментов. В определенных вариантах реализации изобретения одну или более из вышеописанных областей РСВ-F или ее фрагменты можно использовать для получения моноспецифических, биспецифических или мультиспецифических антител.

### **Антигенсвязывающие фрагменты антител**

**[00173]** Если не указано иное, употребляемый в данном документе термин «антитело» следует понимать как такой, который включает молекулы антител, содержащие две тяжелых цепи иммуноглобулина и две легких цепи иммуноглобулина (*m.e.* «полные молекулы антител»), а также их антигенсвязывающие фрагменты. Употребляемые в данном документе термины «антигенсвязывающая часть» антитела, «антигенсвязывающий фрагмент» антитела и тому подобные включают любой встречающийся в природе, получаемый ферментативным путем, синтетический или генетически сконструированный полипептид или гликопротеин, который специфически связывает антиген с образованием комплекса. Употребляемые в данном документе

термины «антигенсвязывающая часть» антитела или «фрагмент антитела» относятся к одному или более фрагментам, которые сохраняют способность специфически связываться с РСВ-F. Фрагмент антитела может включать фрагмент Fab, фрагмент F(ab')<sub>2</sub>, фрагмент Fv, фрагмент dAb, фрагмент, содержащий CDR, или выделенную CDR. Антигенсвязывающие фрагменты антитела можно получить, например, из полных молекул антител при помощи любых подходящих стандартных методов, таких как протеолитическое расщепление или рекомбинантные методы генной инженерии, включающие манипуляции с и экспрессию ДНК, кодирующей переменные и (необязательно) константные домены антитела. Такая ДНК известна и/или общедоступна, *например*, из коммерческих источников, библиотек ДНК (включая, *например*, библиотеки фаговых антител), или ее можно синтезировать. Можно проводить секвенирование ДНК или манипуляции как химические, так и при помощи методов молекулярной биологии, например, для расположения одного или более переменных и/или константных доменов в подходящей конфигурации или для внесения кодонов, создания цистеиновых остатков, модификации, добавления или удаления аминокислоты и т.д.

**[00174]** Неограничивающие примеры антигенсвязывающих фрагментов включают: (i) фрагменты Fab; (ii) фрагменты F(ab')<sub>2</sub>; (iii) фрагменты Fd; (iv) фрагменты Fv; (v) одноцепочечные молекулы Fv (scFv); (vi) фрагменты dAb; и (vii) наименьшие распознающие компоненты, состоящие из аминокислотных остатков, которые имитируют гипервариабельную область антитела (*например*, выделенную определяющую комплементарность область (CDR), такую как пептид CDR3), или пептид FR3-CDR3-FR4 с ограниченной конформационной свободой. Другие сконструированные молекулы, такие как домен-специфические антитела, однодоменные антитела, антитела с удаленными доменами, химерные антитела, антитела с привитыми CDR, диатела, триатела, тетратела, минитела, нанотела (*например*, моновалентные нанотела, бивалентные нанотела и т.д.), иммунофармацевтические средства на основе модульного белка малого размера (SMIP) и акулы переменные домены IgNAR, также включены в употребляемое в данном документе понятие «антигенсвязывающий фрагмент».

**[00175]** Антигенсвязывающий фрагмент антитела, как правило, содержит по меньшей мере один переменный домен. Переменный домен может иметь любой размер или аминокислотный состав и в общем случае содержит по меньшей мере одну CDR, которая граничит или находится в одной рамке с одной или более каркасными последовательностями. В антигенсвязывающих фрагментах, содержащих V<sub>H</sub>-домен, ассоциированный с V<sub>L</sub>-доменом, V<sub>H</sub>- и V<sub>L</sub>-домены могут располагаться по отношению

друг к другу в любом подходящем порядке. Например, переменная область может быть димерной и содержать димеры  $V_H-V_H$ ,  $V_H-V_L$  или  $V_L-V_L$ . В альтернативном варианте антигенсвязывающий фрагмент антитела может содержать мономерный  $V_H$ - или  $V_L$ -домен.

**[00176]** В определенных вариантах реализации изобретения антигенсвязывающий фрагмент антитела может содержать по меньшей мере один переменный домен, ковалентно связанный по меньшей мере с одним константным доменом. Неограничивающие типовые конфигурации переменных и константных доменов, которые могут находиться в пределах антигенсвязывающего домена антитела согласно настоящему изобретению, включают: (i)  $V_H-C_{H1}$ ; (ii)  $V_H-C_{H2}$ ; (iii)  $V_H-C_{H3}$ ; (iv)  $V_H-C_{H1}-C_{H2}$ ; (v)  $V_H-C_{H1}-C_{H2}-C_{H3}$ ; (vi)  $V_H-C_{H2}-C_{H3}$ ; (vii)  $V_H-C_L$ ; (viii)  $V_L-C_{H1}$ ; (ix)  $V_L-C_{H2}$ ; (x)  $V_L-C_{H3}$ ; (xi)  $V_L-C_{H1}-C_{H2}$ ; (xii)  $V_L-C_{H1}-C_{H2}-C_{H3}$ ; (xiii)  $V_L-C_{H2}-C_{H3}$ ; и (xiv)  $V_L-C_L$ . В любой конфигурации переменных и константных доменов, включая любые приведенные выше типовые конфигурации, переменные и константные домены могут быть как непосредственно связаны друг с другом, так и связаны посредством полной или частичной шарнирной или линкерной области. Шарнирная область может состоять из по меньшей мере 2 (например, 5, 10, 15, 20, 40, 60 или более) аминокислот, которые образуют гибкое или полугибкое соединение между смежными переменными и/или константными доменами в единичной полипептидной молекуле. Кроме того, антигенсвязывающий фрагмент антитела согласно настоящему изобретению может содержать гомодимер или гетеродимер (или другой мультимер) из любой из вышеприведенных конфигураций переменного и константного домена, находящихся в нековалентной ассоциации друг с другом, и/или с одним или более мономерным  $V_H$ - или  $V_L$ -доменом (например, посредством дисульфидной(ых) связи(ей)).

**[00177]** Как и в случае полных молекул антител, антигенсвязывающие фрагменты могут быть моноспецифическими или мультиспецифическими (например, биспецифическими). Мультиспецифический антигенсвязывающий фрагмент антитела содержит, как правило, два разных переменных домена, причем каждый переменный домен способен специфически связываться с отдельным антигеном или с отличным эпитопом одного и того же антигена. Любую мультиспецифическую конструкцию антитела, включая раскрытые в данном документе типовые биспецифические конструкции антител, можно адаптировать для применения в контексте антигенсвязывающего фрагмента согласно настоящему изобретению, используя стандартные и общедоступные в данной области техники методы.

## **Получение человеческих антител**

**[00178]** Способы получения человеческих антител в трансгенных мышцах известны в данной области техники. Любые из таких известных способов можно применять в контексте настоящего изобретения для получения человеческих антител, которые специфически связываются с РСВ-F.

**[00179]** При помощи технологии VELOCIMMUNE® (смотрите, например, US 6,596,541, Regeneron Pharmaceuticals, VELOCIMMUNE®) или любого другого известного метода получения моноклональных антител сначала проводят выделение высокоаффинных химерных антител к РСВ-F, имеющих человеческую переменную область и мышиную константную область. Технология VELOCIMMUNE® включает получение трансгенных мышей, обладающих геномом, содержащим человеческие переменные области тяжелой и легкой цепей, функционально связанные с локусами эндогенной мышинной константной области, при этом мышь в ответ на стимуляцию антигеном вырабатывает антитело, содержащее человеческую переменную область и мышиную константную область. ДНК, кодирующую переменные области тяжелой и легкой цепей антитела, выделяют и функционально связывают с ДНК, кодирующей человеческие константные области тяжелой и легкой цепей. Затем ДНК экспрессируют в клетке, способной экспрессировать полностью человеческое антитело.

**[00180]** В общем случае мышей от VELOCIMMUNE® стимулируют представляющим интерес антигеном, а из экспрессирующих антитело мышей выделяют лимфатические клетки (такие как В-клетки). Лимфатические клетки можно сливать с клеточной линией миеломы для получения иммортальных гибридных клеточных линий и проводить исследование и селекцию таких гибридных клеточных линий, чтобы выявить гибридные клеточные линии, которые вырабатывают антитела, специфические в отношении представляющего интерес антигена. ДНК, кодирующую переменные области тяжелой и легкой цепей, можно выделять и связывать с желаемыми изотипическими константными областями тяжелой и легкой цепей. Подобный белок антитела может вырабатываться в клетке, такой как клетка СНО. В альтернативном варианте ДНК, кодирующую антиген-специфические химерные антитела или переменные домены легкой и тяжелой цепей, можно выделять непосредственно из антиген-специфических лимфоцитов.

**[00181]** Сначала выделяют высокоаффинные химерные антитела, имеющие человеческую переменную область и мышиную константную область. Как описано ниже

в экспериментальном разделе, проводят определение характеристик антител и их селекцию на основании желаемых характеристик, включая аффинность, избирательность, эпитоп и т.д. Мышиные константные области замещают желаемыми человеческими константными областями для получения полностью человеческого антитела согласно изобретению, например, IgG1 или IgG4, модифицированного или дикого типа. Хотя выбранная константная область может варьироваться в соответствии с определенным применением, характеристики, отвечающие за высокоаффинное связывание антигена и целевую специфичность, являются свойством вариабельной области.

**[00182]** В определенных вариантах реализации изобретения антитела согласно изобретению обладают аффинностью ( $K_d$ ) в диапазоне от около  $1,0 \times 10^{-7}$  М до около  $1,0 \times 10^{-12}$  М согласно данным по связыванию с антигеном, как иммобилизованным на твердофазном субстрате, так и в жидкой фазе. В определенных вариантах реализации изобретения антитела согласно изобретению обладают аффинностью ( $K_d$ ) в диапазоне от около  $1 \times 10^{-7}$  М до около  $6 \times 10^{-10}$  М согласно данным по связыванию с антигеном, как иммобилизованным на твердофазном субстрате, так и в жидкой фазе. В определенных вариантах реализации изобретения антитела согласно изобретению обладают аффинностью ( $K_d$ ) в диапазоне от около  $1 \times 10^{-7}$  М до около  $9 \times 10^{-10}$  М согласно данным по связыванию с антигеном, как иммобилизованным на твердофазном субстрате, так и в жидкой фазе. Мышиные константные области замещают желаемыми человеческими константными областями для получения полностью человеческого антитела согласно изобретению. Хотя выбранная константная область может варьироваться в соответствии с определенным применением, характеристики, отвечающие за высокоаффинное связывание антигена и целевую специфичность, являются свойством вариабельной области. Неожиданно, определенные антитела согласно настоящему изобретению, хоть и демонстрируют более низкие аффинности по сравнению с мотавизумабом, оказались более эффективными в случае нейтрализации вируса.

### **Биоэквиваленты**

**[00183]** Анти-PCV-F антитела и фрагменты антител согласно настоящему изобретению включают белки, имеющие аминокислотные последовательности, которые отличаются от последовательностей описанных антител, но сохраняют способность связывать PCV-F. Такие вариантные антитела и фрагменты антител содержат одно или более добавлений, делеций или замен аминокислот по сравнению с родительской последовательностью, но проявляют биологическую активность, которая является в

значительной степени эквивалентной биологической активности описанных антител. Аналогично, кодирующие антитела последовательности ДНК согласно настоящему изобретению включают последовательности, которые содержат одно или более нуклеотидных добавлений, делеций или замен по сравнению с раскрытой последовательностью, но которые кодируют антитело или фрагмент антитела, который является в значительной степени биоэквивалентным антителу или фрагменту антитела согласно изобретению.

**[00184]** Два антигенсвязывающих белка или антитела считаются биоэквивалентными, если, например, они являются фармацевтическими эквивалентами или фармацевтическими альтернативами, и не демонстрируют существенной разницы в скорости и степени поглощения при введении их в той же молярной дозе в сходных экспериментальных условиях, как в случае однократной дозы, так и многократной дозы. Некоторые антитела считаются эквивалентными или фармацевтически альтернативными, если они эквивалентны в отношении степени поглощения, но не в отношении скорости поглощения, но могут при этом считаться биоэквивалентными вследствие того, что такие различия в скорости поглощения являются целенаправленными, отражены в мечении и не являются существенными для достижения эффективной концентрации лекарственного препарата в организме, *например*, при долговременном применении, а также считаются незначительными с медицинской точки зрения для конкретного изучаемого лекарственного препарата.

**[00185]** В одном варианте реализации изобретения два антигенсвязывающих белка являются биоэквивалентными, если нет клинически значимых различий в их безопасности, чистоте и эффективности.

**[00186]** В одном варианте реализации изобретения два антигенсвязывающих белка являются биоэквивалентными, если пациент может один или несколько раз чередовать прием стандартного продукта и биологического продукта без ожидаемого увеличения риска развития нежелательных явлений, включая клинически существенные изменения в иммуногенности или уменьшение эффективности, по сравнению с непрерывной терапией без такого чередования.

**[00187]** В одном варианте реализации изобретения два антигенсвязывающих белка биоэквивалентны, если они имеют общий механизм действия или механизмы действия при определенном условии или условиях применения, в той степени, в которой такие механизмы известны.

**[00188]** Биоэквивалентность может быть продемонстрирована *in vivo* и/или *in vitro* способами. Определение биоэквивалентности включают, *например*, (a) *in vivo* анализ человека или других млекопитающих, в котором измеряют концентрацию антитела или его метаболитов в крови, плазме крови, сыворотке или другой биологической жидкости как функцию времени; (b) скореллированный *in vitro* анализ, который является приемлемо предиктивным в отношении данных *in vivo* биодоступности для человека; (c) *in vivo* анализ человека или других млекопитающих, в котором определяют соответствующее немедленное фармакологическое действие антитела (или его мишени) как функцию времени; и (d) клиническое исследование в хорошо контролируемых условиях, в котором устанавливают безопасность, эффективность или биодоступность или биоэквивалентность антитела.

**[00189]** Биоэквивалентные варианты антител согласно изобретению можно сконструировать, *например*, путем проведения различных замен остатков или последовательностей или удаления терминальных или внутренних остатков или последовательностей, не являющихся необходимыми для биологической активности. *Например*, остатки цистеина, которые не являются существенными для биологической активности, можно удалять или замещать другими аминокислотами для предотвращения образования ненужных или неправильных внутримолекулярных дисульфидных мостиков при ренатурации. В других контекстах биоэквивалентные антитела могут включать варианты антител, содержащих аминокислотные изменения, которые модифицируют характеристики гликозилирования антител, *например*, мутации, устраняющие или исключают гликозилирование.

### **Биологические характеристики антител**

**[00190]** В общем случае антитела согласно настоящему изобретению могут действовать путем связывания с РСВ-F и, таким образом, блокировать слияние вирусной мембраны с мембраной клетки-хозяина. Антитела согласно настоящему изобретению могут действовать путем связывания с РСВ-F и, таким образом, блокировать распространение вируса от клетки к клетке и блокировать образование синцития, связанное с инфицированием клеток РСВ.

**[00191]** В определенных вариантах реализации изобретения антитела согласно настоящему изобретению могут действовать путем блокирования или ингибирования слияния РСВ с клеточной мембраной посредством связывания с любой другой областью или фрагментом полноразмерного нативного белка F, аминокислотная

последовательность которого приведена в SEQ ID NO: 354, а также приведена в GenBank под номером доступа AAX23994.1. Антитела также могут связываться с любой областью, которая содержится в SEQ ID NO: 353, или фрагментом, содержащимся в SEQ ID NO: 353.

**[00192]** В одном варианте реализации в изобретении предложено полностью человеческое моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с белком F РСВ подтипа А или В, при этом антитело или его фрагмент обладает одной или более из следующих характеристик: (а) является полностью человеческим моноклональным антителом; (b) демонстрирует  $K_D$  в диапазоне от около  $1 \times 10^{-7}$  М до около  $6 \times 10^{-10}$  М; (с) способно нейтрализовать штаммы респираторного синцитиального вируса подтипа А и подтипа В *in vitro*; (d) демонстрирует способность в значительной степени снижать вирусную нагрузку в животной модели РСВ-инфекции (е) демонстрирует в 1-2 раза большее логарифмическое снижение назальных и/или легочных вирусных титров по сравнению с паливизумабом; (f) демонстрирует эффективную дозу 99 (ED<sub>99</sub>), составляющую около 0,15 мг/кг или менее при подкожном введении в мышинной модели РСВ-инфекции подтипа А, или ED<sub>99</sub>, составляющую около 0,62 мг/кг или менее при введении в случае модели РСВ-инфекции подтипа А с хлопковыми хомяками, или ED<sub>99</sub>, составляющую около 2,5 мг/кг или менее при введении в случае модели РСВ-инфекции подтипа В с хлопковыми хомяками; (g) демонстрирует ED<sub>99</sub>, приблизительно в 2-3 раза меньшую, чем ED<sub>99</sub> для паливизумаба или мотавизумаба; (h) демонстрирует эффективность нейтрализации одного или более лабораторных штаммов РСВ подтипа А, которая приблизительно в 15-17 раз улучшена по сравнению с паливизумабом, или демонстрирует эффективность нейтрализации одного или более клинических штаммов РСВ подтипа А, которая приблизительно в 10-22 раза улучшена по сравнению с паливизумабом; (i) демонстрирует эффективность нейтрализации лабораторного штамма РСВ подтипа В, которая приблизительно в 2-5 раз улучшена по сравнению с паливизумабом; (j) демонстрирует эффективность нейтрализации лабораторного штамма РСВ подтипа А или клинического штамма РСВ, которая приблизительно в 0,5-2 раза улучшена по сравнению с АМ-22; (k) демонстрирует эффективность нейтрализации одного или более лабораторных штаммов РСВ подтипа В, которая приблизительно в 2,5-17 раз улучшена по сравнению с АМ-22; (l) содержит HCVR, имеющую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146, 162, 178, 194, 210, 226, 242, 258, 274, 290, 306, 322 и 338 или в значительной степени сходную с ними последовательность, обладающую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательностей; (m) содержит LCVR, имеющую аминокислотную

последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 138, 154, 170, 186, 202, 218, 234, 250, 266, 282, 298, 314, 330 и 346 или в значительной степени сходную с ними последовательность, обладающую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательностей; (n) содержит домен HCDR3, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 8, 24, 40, 56, 72, 88, 104, 120, 136, 152, 168, 184, 200, 216, 232, 248, 264, 280, 296, 312, 328 и 344 или в значительной степени сходную с ними последовательность, обладающую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательностей, и домен LCDR3, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 16, 32, 48, 64, 80, 96, 112, 128, 144, 160, 176, 192, 208, 224, 240, 256, 272, 288, 304, 320, 336 и 352 или в значительной степени сходную с ними последовательность, обладающую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательностей; (o) содержит домен HCDR1, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 4, 20, 36, 52, 68, 84, 100, 116, 132, 148, 164, 180, 196, 212, 228, 244, 260, 276, 292, 308, 324 и 340 или в значительной степени сходную с ними последовательность, обладающую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательностей; домен HCDR2, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 6, 22, 38, 54, 70, 86, 102, 118, 134, 150, 166, 182, 198, 214, 230, 246, 262, 278, 294, 310, 326 и 342 или в значительной степени сходную с ними последовательность, обладающую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательностей; домен LCDR1, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 12, 28, 44, 60, 76, 92, 108, 124, 140, 156, 172, 188, 204, 220, 236, 252, 268, 284, 300, 316, 332 и 348 или в значительной степени сходную с ними последовательность, обладающую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательностей; и домен LCDR2, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 14, 30, 46, 62, 78, 94, 110, 126, 142, 158, 174, 190, 206, 222, 238, 254, 270, 286, 302, 318, 334 и 350 или в значительной степени сходную с ними последовательность, обладающую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательностей; (p) взаимодействует с аминокислотной

последовательностью, содержащей остатки в диапазоне приблизительно от позиции 161 приблизительно до позиции 188 из SEQ ID NO: 354; (q) взаимодействует с серином в позиции 173 из SEQ ID NO: 354 или треонином в позиции 174 из SEQ ID NO: 354 или как с серином в позиции 173 из SEQ ID NO: 354, так и с треонином в позиции 174 из SEQ ID NO: 354; (r) перекрестно не конкурирует с паливизумабом или мотавизумабом за связывание белка РСВ-F; (s) ингибирует слияние вируса с клеткой.

**[00193]** Определенные анти-PCB-F антитела согласно настоящему изобретению способны связываться с белком F РСВ и нейтрализовать инфекционность обоих подтипов РСВ – А и В – согласно данным *in vitro* анализа. Способность антител согласно изобретению связываться и нейтрализовать инфекционность подтипов РСВ можно определить стандартными методами, известными специалистам в данной области техники, включая анализ связывания или анализ нейтрализации, или *in vivo* защитный анализ, как описано в данном документе.

**[00194]** Неограничивающие типовые методы *in vitro* и *in vivo* анализа для определения связывающей активности и *in vitro* нейтрализации, а также *in vivo* эффективности проиллюстрированы в Примерах 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11 и 12 данного документа. В Примере 3 аффинность связывания и кинетические константы человеческих анти-PCB-F антител определяли методом поверхностного плазмонного резонанса, а измерения проводили при помощи устройства Biacore 4000 или T200. В Примере 4 исследовали эффективность антител методом анализа микронеutralизации РСВ. Пример 5 демонстрирует способность антител согласно изобретению нейтрализовать РСВ-инфекцию *in vivo* в двух разных животных моделях. Примеры 7 и 8 демонстрируют взаимодействие антител согласно изобретению с конкретными участками связывания белка РСВ-F. Примеры 9 и 10 демонстрируют нейтрализующую способность антител в случае нескольких лабораторных и клинических штаммов РСВ подтипов А и В. Пример 11 демонстрирует способность антител согласно изобретению ингибировать слияние вируса с клетками. Пример 12 демонстрирует перекрестное конкурентное связывание различных антител за связывание с РСВ-F.

### **Картирование эпитопов и связанные с ним методы**

**[00195]** Различные известные специалистам в данной области техники методы можно использовать, чтобы определить, «связывается» ли «антитело с одной или более аминокислотами» в пределах полипептида или белка. Типовые методы включают, например, проведение стандартного перекрестного конкурентного анализа, такого как тот,

что описан в *Antibodies*, Harlow and Lane (Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harb., NY). Другие способы включают мутационный анализ с аланиновым сканированием, пептидный блот-анализ (Reineke (2004) *Methods Mol Biol* 248:443-63), анализ расщепления пептидов, кристаллографические исследования и ЯМР-анализ. Кроме того, можно применять такие способы, как исключение эпитопов, экстрагирование эпитопов и химическое модифицирование антигенов (Tomer (2000) *Protein Science* 9: 487-496). Другим способом, который можно использовать для определения аминокислот в пределах полипептида, с которым взаимодействует антитело, является водородно-дейтериевый обмен, регистрируемый при помощи масс-спектрометрии. В общих чертах способ водородно-дейтериевого обмена включает дейтериевое мечение представляющего интерес белка с последующим связыванием антитела с меченым дейтерием белком. Далее, комплекс белок/антитело переносят в воду, а обменные протоны в составе аминокислот, которые защищены комплексом антитела, подвергаются обратному обмену дейтерия на водород при скорости меньшей, чем в случае обменных протонов в составе аминокислот, которые не являются частью области контакта. В результате аминокислоты, которые формируют часть области контакта белок/антитело, могут сохранять дейтерий и, следовательно, иметь большую массу по сравнению с аминокислотами, не включенными в область контакта. После диссоциации антитела белок-мишень подвергают расщеплению протеазами и проводят масс-спектрометрический анализ, выявляя тем самым меченые дейтерием остатки, которые соответствуют определенным аминокислотам, с которыми взаимодействует антитело. Смотрите, например, Ehring (1999) *Analytical Biochemistry* 267(2):252-259; Engen and Smith (2001) *Anal. Chem.* 73:256A-265A.

**[00196]** Термин «эпитоп» относится к участку антигена, который вызывает ответ В-и/или Т-клеток. Эпитопы В-клеток могут быть образованы как смежными аминокислотами, так и несмежными аминокислотами, которые располагаются рядом при сворачивании белка в третичную структуру. Эпитопы, образованные из смежных аминокислот, как правило, сохраняются после воздействия денатурирующих растворителей, в то время как эпитопы, образованные при сворачивании белка в третичную структуру, как правило, разрушаются при обработке денатурирующими растворителями. Как правило, эпитоп содержит по меньшей мере 3, а чаще по меньшей мере 5 или 8-10 аминокислот в уникальной пространственной конформации.

**[00197]** Профилирование на основе модификаций (MAP – от англ. «Modification-Assisted Profiling»), также известное под названием профилирования антител на основе структуры антигенов (ASAP – от англ. «Antigen Structure-based Antibody Profiling»),

представляет собой метод, позволяющий категоризировать большие количества моноклональных антител (mAb) против одного и того же антигена в соответствии со сходством профиля связывания каждого антитела с химически или ферментативно модифицированными поверхностями антигена (US 2004/0101920). Каждая категория соответствует уникальному эпитопу, резко отличающемуся или частично перекрывающемуся с эпитопом, представленным другой категорией. Этот метод позволяет проводить быструю сортировку генетически идентичных антител и, таким образом, чтобы при определении характеристик фокусироваться на генетически отличных антителах. При проведении скрининга гибридомы MAP может способствовать определению редких гибридных клонов, которые вырабатывают mAb, обладающие желаемыми характеристиками. MAP можно применять для сортировки антител согласно изобретению на группы антител, связывающих разные эпитопы.

**[00198]** В определенных вариантах реализации изобретения антитела или антигенсвязывающие фрагменты согласно изобретению взаимодействуют с аминокислотной последовательностью, содержащей аминокислотные остатки в диапазоне приблизительно от позиции 161 приблизительно до позиции 188 из SEQ ID NO: 354. В определенных вариантах реализации изобретения антитела согласно изобретению могут взаимодействовать с аминокислотными остатками, которые простираются за пределы области, определяемой приблизительно 5-10 аминокислотными остатками, или приблизительно 10-15 аминокислотными остатками, или приблизительно 15-20 аминокислотными остатками в направлении аминоконца или карбоксиконца белка PCB-F.

**[00199]** В одном варианте реализации в изобретении предложено выделенное человеческое моноклональное антитело, которое специфически связывается с PCB-F, или его антигенсвязывающий фрагмент, при этом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент взаимодействует по меньшей мере с одной аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 355 и 356.

**[00200]** В одном варианте реализации в изобретении предложено выделенное человеческое моноклональное антитело, которое специфически связывается с PCB-F, или его антигенсвязывающий фрагмент, при этом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент взаимодействует по меньшей мере с одним аминокислотным остатком в пределах остатков от 161 до 188 из SEQ ID NO: 354.

**[00201]** В одном варианте реализации в изобретении предложено выделенное человеческое моноклональное антитело, которое специфически связывается с PCB-F, или его антигенсвязывающий фрагмент, при этом антитело или его антигенсвязывающий

фрагмент взаимодействует по меньшей мере с одним аминокислотным остатком в пределах SEQ ID NO: 355 или SEQ ID NO:356.

**[00202]** В одном варианте реализации в изобретении предложено выделенное человеческое моноклональное антитело, которое специфически связывается с РСВ-F, или его антигенсвязывающий фрагмент, при этом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент взаимодействует с серином в позиции 173 из SEQ ID NO: 354 или треонином в позиции 174 из SEQ ID NO: 354 или как с серином в позиции 173 из SEQ ID NO: 354, так и с треонином в позиции 174 из SEQ ID NO: 354.

**[00203]** В настоящее изобретение включены анти-РСВ-F антитела, которые связываются с тем же самым эпитопом, что и любые типовые антитела, описанные в данном документе в Таблице 1. Аналогично, в настоящее изобретение также включены анти-РСВ-F антитела, которые конкурируют за связывание фрагмента РСВ-F с любым из типовых антител, описанных в данном документе в Таблице 1.

**[00204]** В определенных вариантах реализации изобретения антитела согласно настоящему изобретению перекрестно не конкурируют за связывание РСВ-F с паливизумабом, мотавизумабом или АМ-22.

**[00205]** В определенных вариантах реализации изобретения антитела согласно настоящему изобретению не связываются с тем же самым эпитопом белка РСВ-F, что и паливизумаб или мотавизумаб.

**[00206]** В определенных вариантах реализации изобретения антитела согласно настоящему изобретению не связываются с эпитопом РСВ-F, находящимся в диапазоне от аминокислотного остатка 255 до аминокислотного остатка 276 из SEQ ID NO: 354.

**[00207]** Можно легко определить, связывается ли антитело с тем же самым эпитопом или конкурирует ли за связывание со стандартным анти-РСВ-F антителом, используя стандартные методы, известные в данной области техники. Например, чтобы определить, связывается ли исследуемое антитело с тем же самым эпитопом, что и стандартное антитело к РСВ-F согласно изобретению, стандартному антителу дают возможность связываться с белком или пептидом РСВ-F в насыщающих условиях. Далее оценивают способность исследуемого антитела связываться с молекулой РСВ-F. Если исследуемое антитело способно связываться с РСВ-F после насыщающего связывания стандартным анти-РСВ-F антителом, можно заключить, что исследуемое антитело связывается с другим эпитопом по сравнению со стандартным анти-РСВ-F антителом. С другой стороны, если исследуемое антитело не способно связываться с молекулой РСВ-F

после насыщающего связывания стандартным анти-PCB-F антителом, тогда исследуемое антитело может связываться с тем же самым эпитопом, который связывается стандартным анти-PCB-F антителом согласно изобретению.

**[00208]** Чтобы определить, конкурирует ли антитело за связывание со стандартным анти-PCB-F антителом вышеописанный метод осуществляют в двух ориентациях: в первой ориентации стандартному антителу дают возможность связываться с молекулой PCB-F в насыщающих условиях с последующей оценкой связывания исследуемого антитела с молекулой PCB-F. Во второй ориентации исследуемому антителу дают возможность связываться с молекулой PCB-F в насыщающих условиях с последующей оценкой связывания стандартного антитела с молекулой PCB-F. Если в случае обеих ориентаций только первое (насыщающее) антитело способно связываться с молекулой PCB-F, можно заключить, что исследуемое антитело и стандартное антитело конкурируют за связывание PCB-F. Специалисту в данной области техники понятно, что антитело, которое конкурирует за связывание со стандартным антителом, не обязательно может связываться с идентичным эпитопом, что и стандартное антитело, но может стерически блокировать связывание стандартного антитела путем связывания перекрывающегося или смежного эпитопа.

**[00209]** Два антитела связываются с тем же самым или перекрывающимся эпитопом, если каждое из них конкурентно ингибирует (блокирует) связывание другого с антигеном. Это означает, что 1-, 5-, 10-, 20- или 100-кратный избыток одного антитела ингибирует связывание другого по меньшей мере на 50%, но предпочтительно – на 75%, 90% или даже 99% согласно данным анализа конкурентного связывания (смотрите, *например*, Junghans *et al.*, Cancer Res. 1990 50:1495-1502). В альтернативном варианте два антитела соответствуют одному и тому же эпитопу, если практически все аминокислотные мутации в антигене, которые снижают или устраняют связывание одного антитела, снижают или устраняют связывание другого. Два антитела соответствуют перекрывающимся эпитопам, если некоторые аминокислотные мутации в антигене, которые снижают или устраняют связывание одного антитела, снижают или устраняют связывание другого.

**[00210]** Затем можно проводить дополнительные стандартные эксперименты (*например*, анализ мутаций и связывания пептидов), чтобы подтвердить, что наблюдаемое отсутствие связывания исследуемого антитела имеет место из-за связывания с тем же самым эпитопом, что и стандартное антитело, или, что за отсутствие наблюдаемого связывания отвечает стерическое блокирование (или другое явление). Эксперименты такого рода можно проводить при помощи ELISA, RIA, поверхностного плазмонного

резонанса, проточной цитометрии или любого другого количественного или качественного анализа связывания антител, доступного в данной области техники.

### **Иммуноконъюгаты**

**[00211]** В изобретение включено человеческое моноклональное антитело к РСВ-F, конъюгированное с терапевтическим компонентом («иммуноконъюгат»), таким как агент, способный снижать тяжесть первичного инфицирования РСВ или облегчать по меньшей мере один симптом, связанный с РСВ-инфекцией, включая кашель, высокую температуру, воспаление легких или их тяжесть. Таким агентом может быть второе, отличное антитело к РСВ-F, или вакцина. При выборе типа терапевтического компонента, который можно конъюгировать с анти-РСВ-F антителом, следует учитывать патологическое состояние, лечение которого проводится, и желаемый терапевтический эффект, который должен достигаться. В альтернативном варианте, если желаемым терапевтическим эффектом является лечение осложнений или симптомов, связанных с РСВ-инфекцией, или любого другого патологического состояния, являющегося результатом инфекции, такого как, без ограничений, воспаление легких, целесообразно конъюгировать агент, подходящий для лечения осложнений или симптомов патологического состояния или уменьшать любые побочные явления со стороны антител согласно изобретению. Примеры подходящих агентов для образования иммуноконъюгатов известны в данной области техники, смотрите, например, WO 05/103081.

### **Мультиспецифические антитела**

**[00212]** Антитела согласно настоящему изобретению могут быть моноспецифическими, биспецифическими или мультиспецифическими. Мультиспецифические антитела могут быть специфическими в отношении разных эпитопов одного полипептида-мишени или могут содержать антигенсвязывающие домены, специфические в отношении более чем одного полипептида-мишени. Смотрите, *например*, Tutt *et al.*, 1991, J. Immunol. 147:60-69; Kufer *et al.*, 2004, Trends Biotechnol. 22:238-244. Антитела согласно настоящему изобретению могут быть связанными или коэкспрессироваться с другой функциональной молекулой, *например*, другим пептидом или белком. Например, антитело или его фрагмент может быть функционально связанным (*например*, путем химического сопряжения, генетического слияния, нековалентной ассоциации или каким-либо другим образом) с одним или более другими молекулярными

компонентами, такими как другое антитело или фрагмент антитела, для получения биспецифического или мультиспецифического антитела со второй специфичностью связывания.

**[00213]** Типовая конструкция биспецифического антитела, которое можно применять в контексте настоящего изобретения, включает использование первого домена иммуноглобулина (Ig) C<sub>H3</sub> и второго домена Ig C<sub>H3</sub>, при этом первый и второй домены Ig C<sub>H3</sub> отличаются друг от друга по меньшей мере одной аминокислотой, а по меньшей мере одно аминокислотное отличие снижает связывание биспецифического антитела с протеином А по сравнению с биспецифическим антителом, в котором отсутствует аминокислотное отличие. В одном варианте реализации изобретения первый домен Ig C<sub>H3</sub> связывает протеин А, а второй домен Ig C<sub>H3</sub> содержит мутацию, которая снижает или устраняет связывание протеина А, такую как модификация Н95R (согласно IMGT-нумерации экзонов; Н435R согласно Европейской нумерации). Вторым C<sub>H3</sub> может дополнительно содержать модификацию Y96F (согласно IMGT; Y436F согласно Европейской нумерации). Дополнительные модификации, которые можно обнаружить в пределах второго C<sub>H3</sub>, включают: D16E, L18M, N44S, K52N, V57M и V82I (согласно IMGT; D356E, L358M, N384S, K392N, V397M и V422I согласно Европейской нумерации) в случае антител IgG1; N44S, K52N и V82I (согласно IMGT; N384S, K392N и V422I согласно Европейской нумерации) в случае антител IgG2; и Q15R, N44S, K52N, V57M, R69K, E79Q и V82I (согласно IMGT; Q355R, N384S, K392N, V397M, R409K, E419Q и V422I согласно Европейской нумерации) в случае антител IgG4. Предполагается, что описанные выше вариации конструкции биспецифического антитела входят в объем настоящего изобретения.

### **Терапевтическое применение и лекарственные формы**

**[00214]** В изобретении предложены терапевтические композиции, содержащие анти-PCV-F антитела или их антигенсвязывающие фрагменты согласно настоящему изобретению. Введение терапевтических композиций в соответствии с изобретением осуществляется с применением подходящих носителей, вспомогательных веществ и других агентов, которые включены в лекарственные формы для того, чтобы обеспечить перенос, доставку, переносимость и т.д. Большое число соответствующих лекарственных форм можно найти в фармакологическом справочнике, известном всем химикам-фармацевтам: Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA. Эти лекарственные формы включают, например, порошки, пасты, мази, желе, воски,

масла, липиды, пузырьки, содержащие липиды (катионные или анионные) (такие как LIPOFECTIN™), ДНК-конъюгаты, безводные поглощающие пасты, эмульсии типа «масло в воде» и «вода в масле», эмульсии карбовакс (полиэтиленгликоли с разной молекулярной массой), полутвердые гели и полутвердые смеси, содержащие карбовакс. Смотрите также Powell *et al.* "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA (1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311.

**[00215]** Доза каждого из антител согласно настоящему изобретению может варьироваться в зависимости от возраста и массы субъекта, которому ее вводят, целевого заболевания, патологических состояний, пути введения и тому подобного. Когда антитела согласно настоящему изобретению применяют для лечения РСВ-инфекции у пациента или для лечения одного или более симптомов, связанных с РСВ-инфекцией, таких как кашель или воспаление легких, связанные с наличием у пациента РСВ-инфекции, или для снижения тяжести заболевания, предпочтительно каждое из антител согласно настоящему изобретению вводить внутривенно или подкожно в нормальной единичной дозе, составляющей от около 0,01 до около 30 мг/кг массы тела, более предпочтительно – от около 0,1 до около 20 мг/кг массы тела, или от около 0,1 до около 15 мг/кг массы тела, или от около 0,02 до около 7 мг/кг массы тела, от около 0,03 до около 5 мг/кг массы тела, или от около 0,05 до около 3 мг/кг массы тела, или около 1 мг/кг массы тела, или около 3,0 мг/кг массы тела, или около 10 мг/кг массы тела, или около 20 мг/кг массы тела. При необходимости можно вводить многократные дозы. В зависимости от тяжести патологического состояния можно корректировать частоту и длительность лечения. В определенных вариантах реализации изобретения антитела или их антигенсвязывающие фрагменты согласно изобретению можно вводить в виде начальной дозы, составляющей по меньшей мере от около 0,1 мг до около 800 мг, от около 1 до около 600 мг, от около 5 до около 300 мг, или от около 10 до около 150 мг, около 100 мг, или около 50 мг. В определенных вариантах реализации изобретения за начальной дозой может следовать вторая или ряд последующих доз антител или их антигенсвязывающих фрагментов в количестве, которое может быть приблизительно таким же самым или меньшим, чем в начальной дозе, при этом последующие дозы разделены по меньшей мере 1-3 днями; по меньшей мере одной неделей, по меньшей мере 2 неделями; по меньшей мере 3 неделями; по меньшей мере 4 неделями; по меньшей мере 5 неделями; по меньшей мере 6 неделями; по меньшей мере 7 неделями; по меньшей мере 8 неделями; по меньшей мере 9 неделями; по меньшей мере 10 неделями; по меньшей мере 12 неделями; или по меньшей мере 14 неделями.

**[00216]** Известны различные системы доставки, которые можно применять для введения фармацевтической композиции согласно изобретению, *например*, инкапсуляция в липосомах, микрочастицах, микрокапсулах, рекомбинантные клетки, способные экспрессировать мутантные вирусы, рецептор-опосредованный эндоцитоз (смотрите, *например*, Wu *et al.* (1987) J. Biol. Chem. 262:4429-4432). Способы введения включают, но не ограничиваются этим, интрадермальный, трансдермальный, внутримышечный, внутривенный, подкожный, интраназальный, эпидуральный и пероральный пути. Композицию можно вводить любым удобным путем, например, посредством инфузии или болюсной инъекции, посредством абсорбции через эпителиальные или кожно-слизистые наклейки (*например*, для слизистой оболочки полости рта, слизистой оболочки носа, слизистой оболочки прямой кишки и кишечника и т.д.) и также ее можно вводить вместе с другими биологически активными агентами. Введение может быть системным или местным. Ее можно вводить в виде аэрозольной лекарственной формы (Смотрите US2011/0311515 и US2012/0128669). Все более применимой становится доставка агентов, применяемых для лечения респираторных заболеваний, ингаляционным путем (Смотрите A. J. Bitonti and J. A. Dumont, (2006), Adv. Drug Deliv. Rev, 58:1106-1118). Кроме того, что он является эффективным в лечении местного заболевания легких, такой механизм доставки также может оказаться целесообразным для системной доставки антител (Смотрите Maillet *et al.* (2008), Pharmaceutical Research, Vol. 25, No. 6, 2008).

**[00217]** Фармацевтическую композицию также можно доставлять в пузырьках, в частности, липосомах (смотрите, например, Langer (1990) Science 249:1527-1533).

**[00218]** В определенных ситуациях фармацевтическую композицию можно доставлять при помощи системы контролируемого высвобождения. В одном варианте реализации изобретения можно использовать насос. В другом варианте реализации изобретения можно использовать полимерные материалы. В другом варианте реализации изобретения систему контролируемого высвобождения можно размещать вблизи мишени для введения композиции, при этом требуется только часть системной дозы.

**[00219]** Инъецируемые препараты могут включать дозировочные формы для внутривенных, подкожных, внутрикожных и внутримышечных инъекций, капельные инфузии и т.д. Такие инъецируемые препараты можно приготовить общеизвестными методами. Например, инъецируемые препараты можно приготовить, *например*, путем растворения, суспендирования или эмульсифицирования описанного выше антитела или его соли в стерильной водной среде или масляной среде, которые традиционно

применяются для инъекций. В качестве водных сред для инъекций можно привести, например, физиологический солевой раствор, изотонический раствор, содержащий глюкозу и другие вспомогательные агенты и т.д., которые можно применять в комбинации с соответствующим растворяющим агентом, таким как спирт (*например*, этанол), полиспирт (*например*, пропиленгликоль, полиэтиленгликоль), неионный сурфактант [*например*, полисорбат 80, НСО-50 (полиоксиэтиленовый (50 моль) аддукт гидрогенизованного касторового масла)] и т.д. В качестве масляных сред применяют, *например*, кунжутное масло, соевое масло и т.д., которое можно применять в комбинации с растворяющим агентом, таким как бензилбензоат, бензиловый спирт и т.д. Приготовленной таким образом инъекцией предпочтительно заполняют подходящую ампулу.

**[00220]** Фармацевтическую композицию согласно настоящему изобретению можно вводить подкожно или внутривенно при помощи стандартной иглы и шприца. Кроме того, в случае подкожной доставки для введения фармацевтической композиции согласно настоящему изобретению можно применять приспособление для доставки типа «шприц-ручка». Такое приспособление для доставки типа «шприц-ручка» может быть предназначено для многократного или одноразового использования. В многократных приспособлениях для доставки типа «шприц-ручка», как правило, используется сменный картридж, содержащий фармацевтическую композицию. После того, как вся фармацевтическая композиция из картриджа введена и картридж пуст, пустой картридж можно легко снять и заменить на новый, который содержит фармацевтическую композицию. Затем приспособление для доставки типа «шприц-ручка» можно использовать повторно. В одноразовом приспособлении для доставки типа «шприц-ручка» сменные картриджи не предусмотрены. Чаще одноразовые приспособления для доставки типа «шприц-ручка» поставляются уже с предварительно заполненным фармацевтической композицией резервуаром внутри устройства. После того, как фармацевтическая композиция в резервуаре заканчивается, все устройство утилизируется.

**[00221]** Для подкожного введения фармацевтической композиции согласно настоящему изобретению применяют многочисленные многократные устройства для доставки типа «шприц-ручка» и автоинжекторы. Примеры включают, но не ограничиваются этим, AUTOPEN™ (Owen Mumford, Inc., Woodstock, UK), шприц-ручку DISETRONIC™ (Disetronic Medical Systems, Burghdorf, Switzerland), шприц-ручку HUMALOG MIX 75/25™, шприц-ручку HUMALOG™, шприц-ручку HUMALIN 70/30™ (Eli Lilly and Co., Indianapolis, IN), NOVOPEN™ I, II и III (Novo Nordisk, Copenhagen,

Denmark), NOVOPEN JUNIOR™ (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark), шприц-ручку BD™ (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ), OPTIPEN™, OPTIPEN PRO™, OPTIPEN STARLET™ и OPTICLIK™ (sanofi-aventis, Frankfurt, Germany), если называть только некоторые. Примеры одноразовых устройств для доставки типа «шприц-ручка», применяемых для подкожной доставки фармацевтической композиции согласно настоящему изобретению, включают, но не ограничиваются этим, шприц-ручку SOLOSTAR™ (sanofi-aventis), FLEXPEN™ (Novo Nordisk) и KWIKPEN™ (Eli Lilly), автоинжектор SURECLICK™ (Amgen, Thousands Oaks, CA), PENLET™ (Haselmeier, Stuttgart, Germany), EPIPEN (Dey, L.P.) и шприц-ручку HUMIRA™ (Abbott Labs, Abbott Park, IL), если называть только некоторые.

**[00222]** Описанные выше фармацевтические композиции для перорального или парентерального применения предпочтительно готовят в дозирочных формах в виде единичной дозы, подобранной так, чтобы соответствовать дозе активных ингредиентов. Такие дозирочные формы в виде единичной дозы включают, например, таблетки, пилюли, капсулы, инъекции (ампулы), суппозитории и т.д. Количество вышеуказанного антитела обычно составляет от около 5 до около 500 мг на дозирочную форму в единичной дозе; предпочтительно, особенно в случае инъекции, чтобы содержание вышеуказанного антитела составляло от около 5 до около 100 мг и от около 10 до около 250 мг для других дозирочных форм.

### **Схемы введения**

**[00223]** В соответствии с определенными вариантами реализации настоящего изобретения, многократные дозы антитела к РСВ-F можно вводить субъекту на протяжении определенного времени. Способы в соответствии с этим аспектом изобретения включают последовательное введение субъекту многократных доз антитела к РСВ-F. В контексте данного документа «последовательное введение» означает, что каждую дозу антитела к РСВ-F вводят субъекту в другой момент времени, *например*, в разные дни, разделенные заданным интервалом (*например*, часами, днями, неделями или месяцами). Настоящее изобретение включает способы, которые включают последовательное введение пациенту одной начальной дозы антитела к РСВ-F, за которой следует одна или более вторичных доз антитела к РСВ-F и, необязательно, одна или более третичных доз антитела к РСВ-F.

**[00224]** Термины «начальная доза», «вторичные дозы» и «третичные дозы» относятся к временной последовательности введения антитела к РСВ-F. Таким образом,

«начальная доза» представляет собой дозу, которую вводят в начале схемы лечения (и называется также «базовой дозой»); «вторичные дозы» представляют собой дозы, которые вводят после начальной дозы; а «третичные дозы» представляют собой дозы, которые вводят после вторичных доз. Начальная, вторичная и третичная дозы могут содержать одинаковое количество антитела к РСВ-Ф, но в общем случае могут отличаться друг от друга частотой введения. В определенных вариантах реализации изобретения, однако, количество антитела к РСВ-Ф, содержащееся в начальной, вторичной и/или третичной дозах, отличается от дозы к дозе (*например*, корректируется в сторону увеличения или уменьшения по мере необходимости) в ходе лечения. В определенных вариантах реализации изобретения две или более (*например*, 2, 3, 4 или 5) дозы вводят в начале схемы лечения в качестве «насыщающей дозы» с последующими дозами, которые вводят не так часто (*например*, «поддерживающими дозами»).

**[00225]** В одном типовом варианте реализации настоящего изобретения каждую вторичную и/или третичную дозу вводят через 1-26 (*например*, 1, 1½, 2, 2½, 3, 3½, 4, 4½, 5, 5½, 6, 6½, 7, 7½, 8, 8½, 9, 9½, 10, 10½, 11, 11½, 12, 12½, 13, 13½, 14, 14½, 15, 15½, 16, 16½, 17, 17½, 18, 18½, 19, 19½, 20, 20½, 21, 21½, 22, 22½, 23, 23½, 24, 24½, 25, 25½, 26, 26½ или более) недель после непосредственно предшествующей дозы. Употребляемое в данном документе выражение «непосредственно предшествующая доза» относится к последовательности многократного введения и означает дозу антитела к РСВ-Ф, которую вводят пациенту перед введением следующей дозы в последовательности без промежуточных доз.

**[00226]** Способы в соответствии с этим аспектом изобретения могут включать введение пациенту любого количества вторичных и/или третичных доз антитела к РСВ-Ф. Например, в определенных вариантах реализации изобретения пациенту вводят только одну вторичную дозу. В других вариантах реализации изобретения пациенту вводят две или более (*например*, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или более) вторичных доз. Аналогично, в определенных вариантах реализации изобретения пациенту вводят только одну третичную дозу. В других вариантах реализации изобретения пациенту вводят две или более (*например*, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или более) третичных доз.

**[00227]** В вариантах реализации изобретения, включающих введение многократных вторичных доз, каждую вторичную дозу можно вводить с той же частотой, что и другие вторичные дозы. Например, каждую вторичную дозу можно вводить пациенту через 1-2 недели после непосредственно предшествующей дозы. Аналогично, в вариантах реализации изобретения, включающих введение нескольких третичных доз, каждую

третичную дозу можно вводить с той же частотой, что и другие третичные дозы. Например, каждую третичную дозу можно вводить пациенту через 2-4 недели после непосредственно предшествующей дозы. В альтернативном варианте частота, с которой пациенту вводят вторичные и/или третичные дозы, может изменяться в продолжение курса лечения. Частота введения также может быть скорректирована врачом в ходе лечения в зависимости от нужд конкретного пациента после проведения клинического обследования.

### **Терапевтические применения антител**

**[00228]** Из-за способности антител согласно настоящему изобретению связываться с/взаимодействовать с белком слияния РСВ (РСВ-F) их целесообразно применять для предотвращения слияния вируса с мембраной клетки-хозяина, для предотвращения распространения вируса от клетки к клетке и для ингибирования образования синцития. Таким образом, антитела согласно настоящему изобретению полезны для предотвращения инфицирования субъекта РСВ при профилактическом введении. В альтернативном варианте антитела согласно настоящему изобретению могут быть полезны для облегчения по меньшей мере одного симптома, связанного с инфекцией, такого как кашель, высокая температура, воспаление легких, или для снижения тяжести, продолжительности и/или частоты инфекции. Также предполагается профилактическое применение антител согласно настоящему изобретению в случае пациентов, подвергающихся риску развития или заражения РСВ-инфекцией. Эти пациенты включают недоношенных новорожденных, доношенных новорожденных, родившихся во время сезона РСВ (с поздней осени до ранней весны), пожилых людей (например, людей возрастом 65 лет и старше) или пациентов с ослабленным иммунитетом вследствие болезни или лечения иммуносупрессорными терапевтическими препаратами, или пациентов, имеющих первопричинное патологическое состояние, которое предрасполагает их к РСВ-инфекции (например, пациентов с муковисцидозом, пациентов с застойной сердечной недостаточностью или другими сердечными патологиями, пациентов с патологиями дыхательных путей, пациентов с ХОЗЛ). Предполагается, что антитела согласно настоящему изобретению можно применять сами по себе или в сочетании со вторым агентом или третьим агентом для лечения РСВ-инфекции или для облегчения по меньшей мере одного симптома, связанного с инфекцией, такого как высокая температура, кашель, бронхолит или воспаление легких, связанное или являющееся результатом такой инфекции. Второй и третий агенты можно доставлять одновременно с антителами

согласно изобретению или их можно вводить отдельно, как до, так и после антител согласно изобретению. Второй и третий агенты могут представлять собой вирусные агенты, такие как рибавирин или NSAID, или другие агенты для снижения температуры или боли, второе отличное антитело, которое специфически связывает РСВ-F, агент (например, антитело), который связывается с другим антигеном РСВ, таким как РСВ-G, вакцину против РСВ, миРНК, специфическую в отношении антигена РСВ.

**[00229]** В дополнительном варианте реализации изобретения представленные антитела применяют для приготовления фармацевтической композиции для лечения пациентов, страдающих от РСВ-инфекции. В другом варианте реализации изобретения представленные антитела применяют для приготовления фармацевтической композиции для снижения тяжести первичного инфицирования РСВ или для снижения продолжительности инфекции, или для снижения по меньшей мере одного симптома, связанного с РСВ-инфекцией. В дополнительном варианте реализации изобретения представленные антитела применяют в качестве вспомогательной терапии с любым другим агентом, применяемым для лечения РСВ-инфекции, включая противовирусное средство, токсид, вакцину, второе антитело к РСВ-F или любое другое антитело, специфическое в отношении антигена РСВ, включая антитело к РСВ-G, или любой другой паллиативной терапии, известной специалистам в данной области техники.

### **Комбинированная терапия**

**[00230]** Как отмечалось выше, способы согласно настоящему изобретению, в соответствии с некоторыми вариантами его реализации, включают введение субъекту одного или более дополнительных терапевтических агентов в комбинации с антителом к РСВ-F. Употребляемое в данном документе выражение «в комбинации с» означает, что дополнительные терапевтические агенты вводят до, после или одновременно с фармацевтической композицией, содержащей анти-РСВ-F антитело. Термин «в комбинации с» также включает последовательное или параллельное введение анти-РСВ-F антитела и второго терапевтического агента.

**[00231]** Например, при введении «до» фармацевтической композиции, содержащей анти-РСВ-F антитело, дополнительный терапевтический агент можно вводить приблизительно за 72 часа, приблизительно за 60 часов, приблизительно за 48 часов, приблизительно за 36 часов, приблизительно за 24 часа, приблизительно за 12 часов, приблизительно за 10 часов, приблизительно за 8 часов, приблизительно за 6 часов, приблизительно за 4 часа, приблизительно за 2 часа, приблизительно за 1 час,

приблизительно за 30 минут, приблизительно за 15 минут или приблизительно за 10 минут до введения фармацевтической композиции, содержащей анти-PCB-F антитело. При введении «после» фармацевтической композиции, содержащей анти-PCB-F антитело, дополнительный терапевтический агент можно вводить через около 10 минут, через около 15 минут, через около 30 минут, через около 1 час, через около 2 часа, через около 4 часа, через около 6 часов, через около 8 часов, через около 10 часов, через около 12 часов, через около 24 часа, через около 36 часов, через около 48 часов, через около 60 часов или через около 72 часа после введения фармацевтической композиции, содержащей анти-PCB-F антитела. «Одновременное» введение с фармацевтической композицией, содержащей анти-PCB-F антитело, означает, что дополнительный терапевтический агент вводят субъекту в отдельной дозировочной форме в пределах менее 5 минут (до, после или в то же время) относительно введения фармацевтической композиции, содержащей анти-PCB-F антитело, или вводят субъекту в одной комбинированной дозировочной форме, содержащей как дополнительный терапевтический агент, так и анти-PCB-F антитело.

**[00232]** Комбинированная терапия может включать анти-PCB-F антитело согласно изобретению и любой другой терапевтический агент, который целесообразно комбинировать с антителом согласно изобретению или с биологически активным фрагментом антитела согласно изобретению.

**[00233]** Например, второй и третий терапевтический агент можно применять как вспомогательное средство для снижения вирусной нагрузки в легких, такое как противовирусное средство, например, рибавирин. Как отмечалось выше, антитела также можно применять в сочетании с другими терапевтическими средствами, включая токсид, специфическую в отношении РСВ вакцину, второе антитело, специфическое в отношении РСВ-F, или антитело, специфическое в отношении другого антигена РСВ, такого как РСВ-G.

### **Диагностические применения антител**

**[00234]** Анти-PCB-F антитела согласно настоящему изобретению также можно применять для выявления и/или определения наличия РСВ в образце, *например*, в диагностических целях. Предполагается, что подтверждение инфекции, которая, как считается, вызвана РСВ, можно осуществить путем определения наличия вируса посредством применения одного или более из антител согласно изобретению. Типовые диагностические методы анализа РСВ могут включать, *например*, приведение образца, полученного от пациента, в контакт с анти-PCB-F антителом согласно изобретению, при

этом анти-PCB-F антитело помечено выявляемой меткой или репортерной молекулой или используется в качестве захватывающего лиганда для избирательного выделения вируса, содержащего белок F, из образцов, полученных от пациентов. В альтернативном варианте немеченое анти-PCB-F антитело можно использовать в диагностических применениях в комбинации со вторичным антителом, которое снабжено выявляемой меткой. Выявляемая метка или репортерная молекула могут представлять собой радиоизотоп, такой как  $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{35}\text{S}$  или  $^{125}\text{I}$ ; флуоресцентный или хемилюминесцентный компонент, такой как флуоресцеинизотиоцианат или родамин; или фермент, такой как щелочная фосфатаза,  $\beta$ -галактозидаза, пероксидаза хрена или люцифераза. Отдельные типовые методы анализа, которые можно применять для выявления или определения наличия в образце PCB, содержащего белок F, включают ферментный иммуносорбентный анализ (ELISA), радиоиммуноанализ (RIA) и сортировку флуоресцентно-активированных клеток (FACS).

**[00235]** Образцы, которые можно использовать в диагностических методах анализа PCB в соответствии с настоящим изобретением, включают любой образец ткани или жидкости, полученный от пациента, который содержит выявляемые количества белка PCB-F или его фрагментов в нормальных патологических условиях. В общем случае измеряют уровни PCB-F в конкретном образце, полученном от здорового пациента (*например*, пациента, не страдающего от заболевания или патологического состояния, связанного с наличием PCB-F), чтобы сначала установить базовый или стандартный уровень белка F из PCB. Затем этот базовый уровень PCB-F можно сравнивать с уровнями PCB-F, измеренными для образцов, полученных от индивидов, у которых подозревается наличие PCB-инфекции или симптомов, связанных с такой инфекцией.

### **Вакцины и иммуногенные композиции**

**[00236]** В одном аспекте изобретения предложена иммуногенная композиция или вакцина, которая при введении ее индивиду, предпочтительно человеку, вызывает у такого индивида иммунный ответ на антиген респираторного синцитиального вируса (PCB), например, полипептид PCB-F, при этом композиция может содержать рекомбинантный белок PCB-F или полипептидный фрагмент белка PCB-F, или эпитоп, находящийся в пределах и полученный из антигена полипептида PCB-F или его фрагмента, и/или содержит ДНК и/или РНК, которая кодирует и экспрессирует эпитоп из антигена полипептида PCB-F или других полипептидов согласно изобретению. Иммуногенную композицию или вакцину можно применять терапевтически или профилактически и можно применять, чтобы активировать иммунитет антител и/или

клеточный иммунитет, такой как клеточный иммунитет, обусловленный ЦТЛ или CD4+ Т-клетками.

**[00237]** В одном варианте реализации изобретения иммуногенная композиция или вакцина может содержать белок РСВ-F, приведенный в SEQ ID NO: 354. В одном варианте реализации изобретения иммуногенная композиция или вакцина может содержать полипептидный фрагмент РСВ-F, содержащий остатки от 161 до 188 из SEQ ID NO: 354. В одном варианте реализации изобретения иммуногенная композиция или вакцина может содержать один или более аминокислотных остатков, находящихся в пределах SEQ ID NO: 355 и/или SEQ ID NO: 356. В одном варианте реализации изобретения иммуногенная композиция или вакцина может содержать SEQ ID NO: 355 и/или SEQ ID NO: 356.

**[00238]** В родственном аспекте в изобретении предложен способ индукции иммунного ответа у индивида, в частности млекопитающего, предпочтительно человека, путем введения индивиду иммуногенной композиции или вакцины, содержащей белок РСВ-F или его иммуногенный фрагмент, или антиген РСВ-F или его иммуногенный фрагмент, содержащий один или более эпитопов, находящихся в пределах антигена РСВ-F или его фрагмента, достаточной чтобы вызвать иммунный ответ антител и/или Т-клеток, для защиты индивида от инфицирования, в частности, инфицирования респираторным синцитиальным вирусом (РСВ). Также предложены способы применения иммуногенных композиций или вакцин согласно изобретению для индукции иммунного ответа, что приводит к ингибированию или замедлению прогрессирования распространения вируса от клетки к клетке. Также предложены способы для облегчения по меньшей мере одного симптома, связанного в РСВ-инфекцией, путем введения иммуногенной композиции или вакцины, содержащей по меньшей мере один антиген РСВ-F или один или более эпитопов, находящихся в пределах антигена РСВ-F, которая при введении будет индуцировать у индивида иммунный ответ.

**[00239]** Например, в одном варианте реализации в изобретении предложен способ индукции иммунного ответа у индивида, включающий доставку индивиду иммуногенной композиции или вакцины, содержащей антиген РСВ-F (*например*, аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 354) или его антигенный фрагмент (*например*, полипептид, содержащий остатки от 161 до 188 из SEQ ID NO: 354), или нуклеотидный вектор, содержащий нуклеотидную последовательность для управления экспрессией такого вирусного полипептида или его фрагмента или варианта *in vivo*, чтобы индуцировать иммунный ответ.

**[00240]** В одном варианте реализации изобретения полипептид для применения в иммуногенной композиции или вакцине для индукции иммунного ответа у индивида содержит остатки от 161 до 188 из SEQ ID NO: 354. В одном варианте реализации изобретения полипептид для применения в иммуногенной композиции или вакцине для индукции иммунного ответа у индивида содержит один или более аминокислотных остатков, находящихся в пределах SEQ ID NO: 355 и/или SEQ ID NO: 356. В одном варианте реализации изобретения полипептид для применения в иммуногенной композиции или вакцине для индукции иммунного ответа у индивида содержит SEQ ID NO: 355 и/или SEQ ID NO: 356. В одном варианте реализации изобретения иммуногенная композиция или вакцина может вызывать ответ антител, специфических в отношении антигена РСВ-F РСВ, при этом сгенерированные антитела взаимодействуют с серином в позиции 173 из SEQ ID NO: 354 или треонином в позиции 174 из SEQ ID NO: 354 или как с серином в позиции 173 из SEQ ID NO: 354, так и с треонином в позиции 174 из SEQ ID NO: 354.

**[00241]** В определенных вариантах реализации изобретения целесообразно, чтобы антигены РСВ-F или их фрагменты вносили в составы иммуногенных композиций или вакцин, которые содержат иммуногенные, предпочтительно иммунологически эффективные количества дополнительных антигенов для того, чтобы активировать иммунитет в отношении других патогенов, предпочтительно вирусов и/или бактерий. Такие дополнительные антигены могут включать антиген вируса гриппа, антиген из метапневмовируса или коронавируса, антиген из *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* или *Bordetella pertussis*. В иммуногенные композиции или вакцины могут быть включены другие антигены РСВ, такие как гликопротеин РСВ-G или его иммуногенные фрагменты, белок HN или его производные. В определенных вариантах реализации изобретения антигены вируса гриппа, предназначенные для включения в иммуногенные композиции или вакцины согласно изобретению, могут включать цельный, живой или инактивированный вирус, расщепленный вирус гриппа, выращенный в яйцеклетках или клетках Мадин-Дарби почек собак, или клетки Веро или полные виросомы гриппа, или их очищенные рекомбинантные белки, такие как белки HA, NP, NA или M, или комбинации вышеуказанных элементов.

**[00242]** В определенных вариантах реализации изобретения иммуногенная композиция или содержащая вакцину лекарственная форма может содержать рекомбинантный полипептид и/или полинуклеотид согласно изобретению или их комбинацию вместе с подходящим носителем/вспомогательным веществом, таким как

фармацевтически приемлемый носитель/вспомогательное вещество. Иммуногенную композицию и/или вакцину предпочтительно вводят парентерально, включая, например, подкожное, внутримышечное, внутривенное или интрадермальное введение. Лекарственные формы, подходящие для парентерального введения включают водные и неводные стерильные растворы для инъекций, которые могут содержать антиоксиданты, буферы, бактериостатические соединения и растворы, которые придают лекарственной среде изотоничность с жидкостью организма индивида, предпочтительно кровью; водные и неводные стерильные суспензии, которые могут содержать суспендирующие агенты или загустители. Лекарственные среды могут быть представлены в однодозовых или многодозовых контейнерах, например, запечатанных ампулах и флаконах, и могут храниться в лиофилизированном состоянии, при этом непосредственно перед применением требуется только добавление стерильного жидкого носителя.

**[00243]** Иммуногенная композиция или содержащая вакцину лекарственная форма согласно изобретению может также содержать адъюванты, чтобы усилить иммуногенность лекарственной среды. В настоящее время единственными адъювантами, которые широко применяются на людях, являются квасцы (фосфат алюминия или гидроксид алюминия) и гели на основе фосфата кальция. Полный адъювант Фрейнда и другие адъюванты, применяемые в исследованиях и ветеринарных применениях, обладают токсичностью, которая ограничивает их потенциальное применение в человеческих вакцинах. При этом, в стадии разработки находятся химически определенные препараты, такие как масляные эмульсии и лекарственные формы на основе сурфактантов, *например*, MF59 (микрофлюидизированная стабилизированная детергентом эмульсия типа «масло в воде»), QS21 (очищенный сапонин), AS02 [SBAS2] (эмульсия типа «масло в воде» + MPL + QS-21), Montanide ISA-51 и ISA-720 (стабилизированная эмульсия типа «вода в масле»). Кроме того, в стадии разработки для применения на людях находятся микробные производные (природные и синтетические), *например*, мурамил-дипептид, монофосфорил липид А (*например*, 3 De-O-ацилированный монофосфорил липид А, также известный как 3D-MPL, который производится Ribi Immunochem, Montana), Detox (MPL + каркас клеточной стенки *M. Phlei*), AGP [RC-529] (синтетический ацилированный моносахарид), DCChol (липоидальные иммуностимуляторы, способные самоорганизовываться в липосомы), OM-174 (производное липида А), мотивы CpG (синтетические олигонуклеотиды, содержащие иммуностимулирующие мотивы CpG), модифицированные LT и CT (генетически модифицированные бактериальные токсины для обеспечения нетоксичного воздействия адъюванта) и QS21 – Hplc-очищенная нетоксичная фракция, полученная коры *Quillaja Saponaria Molina*.

**[00244]** Предпочтительная форма 3 De-O-ацилированного монофосфорил липида А раскрыта в Европейском патенте 0 689 454 B1 (SmithKline Beecham Biologicals SA).

**[00245]** Другие дисперсные адьюванты включают, например, вирусомы (однослойные липосомные носители, в которые включены вирусные антигены), AS04 ([SBAS4] Al соль с MPL), ISCOMS (структурный комплекс сапонинов и липидов), полилактид ко-гликолид (ПЛГ).

**[00246]** Другие подходящие адьюванты включают все приемлемые иммуностимулирующие соединения, такие как цитокины, хемокины или колониестимулирующие факторы. Например, они могут включать интерлейкины IL-1, IL-2, IL-4, IL-7, IL-12, гамма-интерферон и hGM-CSF.

**[00247]** Следует понимать, что адьювант и/или иммуностимулирующее соединение, предназначенное для применения, будет зависеть от субъекта, которому вводят вакцину или иммуногенную композицию, способа проведения инъекции и количества планирующихся инъекций.

**[00248]** Хотя изобретение было описано в отношении определенных полипептидов РСВ-F, следует понимать, что в него включены фрагменты полипептидов природного происхождения и сходных полипептидов с добавлениями, делециями или заменами, которые не оказывают существенного влияния на иммуногенные свойства рекомбинантных полипептидов или полинуклеотидов.

## ПРИМЕРЫ

**[00249]** Следующие примеры представлены таким образом, чтобы предоставить специалистам в данной области техники полное изложение и описание того, как создавать и применять способы и композиции согласно изобретению, и не ограничивают объема того, что авторы считают своим изобретением. Были предприняты усилия, чтобы обеспечить точность в отношении используемых чисел (например, количества, температуры и т.д.), но следует учитывать некоторые экспериментальные ошибки и отклонения. Если не указано иное, доли представляют собой массовые доли, молекулярная масса представляет собой среднюю молекулярную массу, температура приведена в градусах Цельсия, а давление равно или близко к атмосферному.

### **Пример 1. Получение человеческих антител к белку РСВ-F**

**[00250]** Для получения антител к белку РСВ-F можно использовать иммуноген, содержащий любой из нижеприведенных элементов. В определенных вариантах реализации изобретения антитела согласно изобретению получают от мышей, иммунизированных первичным иммуногеном, таким как изолят цельного респираторного синцитиального вируса, живого, ослабленного или убитого/инактивированного. Мышам можно вводить одну или более повторных доз, содержащих такой же вирусный изолят, или им можно повторно вводить сам белок РСВ-F. В определенных вариантах реализации изобретения мышей инъецируют живым вирусом, за которым следует повторная инъекция конструкцией, приведенной в виде SEQ ID NO: 353, или выделенным белком РСВ-F, полученным из вирусного изолята или рекомбинантным путем. (Смотрите также GenBank, номер доступа AAX23994.1)

**[00251]** В определенных вариантах реализации изобретения антитела согласно изобретению получают от мышей, иммунизированных первичным иммуногеном, таким как биологически активный РСВ подтипа А или В и/или белком (F) слияния РСВ, или иммуногенным фрагментом белка слияния РСВ (РСВ-F), или ДНК, кодирующей полноразмерный белок или его активный фрагмент. Иммуноген может быть доставлен животному любым путем, включая, но не ограничиваясь этим, внутримышечный, подкожный, внутривенный или интраназальный пути.

**[00252]** В определенных вариантах реализации изобретения цельный вирус или белок РСВ-F или его фрагменты можно использовать для получения моноспецифических, биспецифических или мультиспецифических антител.

**[00253]** Цельный вирус или полноразмерные белки, или их фрагменты, которые применяли в качестве иммуногенов, как указано выше, вводили прямым путем в сочетании с адъювантом для стимуляции иммунного ответа мыши от VELOCIMMUNE<sup>®</sup>, несущей ДНК, кодирующую переменные области тяжелой и легкой каппа-цепи иммуноглобулина. Иммунный ответ антител отслеживали методом иммуноанализа РСВ-F. После достижения желаемого иммунного ответа собирали спленоциты и сливали их с клетками мышинной миеломы, чтобы сохранить их жизнеспособность и сформировать гибридомные клеточные линии. Проводили скрининг и селекцию гибридомных клеточных линий, чтобы определить клеточные линии, которые вырабатывают РСВ-F-специфические антитела. При помощи этой методики и различных вышеописанных иммуногенов получали несколько химерных антител (*m.e.* антител, обладающих человеческими переменными доменами и мышинными константными доменами);

отдельные типовые антитела, полученные таким образом, были обозначены как H1M3621N, H1M3622N, H1M2634N и H1M3627N.

**[00254]** Анти-PCB-F антитела выделяли непосредственно из антиген-положительных В-клеток без слияния с клетками миеломы, как описано в U.S. 2007/0280945A1. При помощи этого метода получали несколько полностью человеческих анти-PCB-F антител (*m.e.* антител, обладающих человеческими переменными доменами и человеческими константными доменами); типовые антитела, полученные таким образом, были обозначены следующим образом: H1H3564P, H1H3565P, H1H3566P, H1H3567P, H1H3581P, H1H3583P, H1H3589P, H1H3591P, H1H3592P, H1H3597P, H1H3598P, H1H3603P, H1H3604P, H1H3605P, H1H3607P, H1H3608P2, H1H3592P2 и H1H3592P3.

**[00255]** Биологические свойства типовых антител, полученных в соответствии с методами данного Примера, подробно описаны в приведенных ниже Примерах.

## **Пример 2. Аминокислотные последовательности переменной области тяжелой и легкой цепей**

**[00256]** В Таблице 1 приведены пары аминокислотных последовательностей переменных областей тяжелой и легкой цепей для выбранных антител, специфических в отношении белка PCB-F, и соответствующие им обозначения антител. Как правило, антитела в данном документе обозначают в соответствии со следующей номенклатурой: приставка Fc (например, «H4H», «H1M», «H2M»), за которой следует числовое обозначение (например, «3117», как показано в Таблице 1), за которым следует суффикс «P» или «N». Таким образом, в соответствии с этой номенклатурой, антитело может быть обозначено, например, как «H1H3117». Приставки H4H, H1M и H2M в используемых в данном документе обозначениях антител указывают на конкретную Fc-область антитела. Например, антитело «H2M» имеет мышиную IgG2 Fc, в то время как антитело «H4H» имеет человеческую IgG4 Fc. Специалисту в данной области техники понятно, что антитело H1M или H2M можно преобразовать в антитело H4H и наоборот, но в любом случае переменные домены (включая CDR), которые обозначены числами, приведенными в Таблице 1, останутся теми же. Антитела, имеющие одинаковые числовые обозначения, но отличающиеся буквой в суффиксе – N, B или P, относятся к антителам, имеющим тяжелые и легкие цепи с идентичными последовательностями CDR, но содержащим вариации последовательностей в областях, выходящих за пределы последовательностей CDR (*m.e.*, в каркасных областях). Таким образом, варианты N, B и P

конкретного антитела имеют идентичные последовательности CDR в пределах переменных областей их тяжелой и легкой цепей, но отличаются друг от друга в каркасных областях.

### Антитела сравнения

**[00257]** В целях сравнения в следующие Примеры были включены контрольные анти-PCB-F антитела. Также в Примерах использовали изотипически сходный отрицательный контроль. Одно контрольное анти-PCB-F антитело обозначено в данном документе как Контроль I и представляет собой гуманизированное анти-PCB-F антитело с последовательностями переменных доменов тяжелой и легкой цепей гуманизированного антитела паливизумаб (SYNAGIS®), описанного в US7635568 и US5824307. Переменные легкие и тяжелые цепи экспрессировали с человеческими каппа и гамма-1 константными областями, соответственно. Одно анти-PCB-F антитело обозначено в данном документе как Контроль II и представляет собой гуманизированный вариант анти-PCB-F антитела паливизумаб с последовательностями переменных доменов тяжелой и легкой цепей гуманизированного антитела мотавизумаб (NUMAX™), описанного в US2003/0091584 и в Wu *et al*, (2007), J. Mol. Biol. 368:652-665. Переменные легкие и тяжелые цепи экспрессировали с человеческими каппа и гамма-1 константными областями, соответственно. Другое анти-PCB-F антитело обозначено как Контроль III (также называемо AM-22) и описано в патенте США № 8568726. Аминокислотная последовательность тяжелой и легкой цепей AM-22 приведена в SEQ ID NO: 357 (для тяжелой цепи антитела) и SEQ ID NO: 358 (для легкой цепи антитела).

Таблица 1

Обозначение антитела	SEQ ID NO:							
	HCV R	HCDR1	HCDR 2	HCDR3	LCVR	LCDR 1	LCDR 2	LCDR3
H1H3564P	2	4	6	8	10	12	14	16
H1H3565P	18	20	22	24	26	28	30	32
H1H3566P	34	36	38	40	42	44	46	48
H1H3567P	50	52	54	56	58	60	62	64

H1H3581P	66	68	70	72	74	76	78	80
H1H3583P	82	84	86	88	90	92	94	96
H1H3589P	98	100	102	104	106	108	110	112
H1H3591P	114	116	118	120	122	124	126	128
H1H3592P	130	132	134	136	138	140	142	144
H1H3597P	146	148	150	152	154	156	158	160
H1H3598P	162	164	166	168	170	172	174	176
H1H3603P	178	180	182	184	186	188	190	192
H1H3604P	194	196	198	200	202	204	206	208
H1H3605P	210	212	214	216	218	220	222	224
H1H3607P	226	228	230	232	234	236	238	240
H1H3608P2	242	244	246	248	250	252	254	256
H1H3592P2	258	260	262	264	266	268	270	272
H1H3592P3	274	276	278	280	282	284	286	288
H1M3621N	290	292	294	296	298	300	302	304
H1M3622N	306	308	310	312	314	316	318	320
H1M2634N	322	324	326	328	330	332	334	336
H1M3627N	338	340	342	344	346	348	350	352

**Пример 3. Аффинность связывания и кинетические константы человеческих моноклональных анти-PCV-F антител, определенные методом поверхностного плазмонного резонанса**

**[00258]** Аффинность связывания и кинетические константы человеческих моноклональных анти-PCV-F антител определяли методом поверхностного плазмонного резонанса при 25°C (Таблицы 2-3). Измерения проводили на приборе Biacore 4000 или T-200. Антитела, экспрессируемые с мышиной Fc (AbPID приставка H1M; H2M) или человеческой IgG1 Fc (AbPID приставка H1H), захватывались на антимышиной-Fc или античеловеческой-Fc сенсорной поверхности (формат Mab-захвата), а растворимый

мономерный (RSV-F.mmh; SEQ ID NO: 353) белок впрыскивали по всей поверхности. Все исследования связывания при помощи Biacore проводили в подвижном буфере HBST (0,01 М ГЭПЭС, pH 7,4, 0,15 М NaCl, 3 мМ ЭДТУ, 0,005% об/об сурфактанта P20). Разные концентрации RSV-F.mmh, приготовленного в подвижном буфере HBST, впрыскивали по всей поверхности захвата моноклональных анти-PCB-F антител со скоростью потока 30 мкл/мин (Biacore 4000) или со скоростью потока 50 мкл/мин (Biacore T-200), а ассоциацию RSV-F.mmh с захваченным моноклональным антителом отслеживали на протяжении 6 мин и 3 мин, соответственно. Диссоциацию RSV-F.mmh от моноклонального антитела в подвижном буфере HBST отслеживали на протяжении 8-10 мин при 25°C. Константы скорости кинетической ассоциации ( $k_a$ ) и диссоциации ( $k_d$ ) определяли путем обработки и аппроксимации данных 1:1 моделью связывания при помощи программного обеспечения для аппроксимации кривых Scrubber 2.0. Равновесные константы диссоциации ( $K_d$ ) для связывания и диссоциативные времена полужизни ( $t_{1/2}$ ) рассчитывали из кинетических констант скорости как:  $K_d$  (М) =  $k_d / k_a$ ; и  $t_{1/2}$  (мин) =  $(\ln 2) / (60 * k_d)$ .

**[00259]** Анти-PCB-F антитела согласно изобретению демонстрировали широкий диапазон аффинностей к RSV-F.mmh. Контроль I, полученный на основании общедоступной последовательности паливизумаба, приведенной в US 7635568, и Контроль II, полученный из общедоступной последовательности мотавизумаба, описанной в Wu *et al*, (2007), (J. Mol. Biol. 368:652-665), демонстрировали приблизительно ~70-кратную разницу (контроль I; 38 нМ по сравнению с контролем II; 0,43 нМ) в аффинности, о которой сообщалось ранее.

**Таблица 2. Аффинность связывания гибридных mAb при 25°C (Biacore)**

Связывание при 25°C / формат Mab-захвата				
AbPID	$k_a$ (1/Мс)	$k_d$ (1/с)	$K_d$ (М)	$t_{1/2}$ (мин)
H1M3621N	2,05E+05	2,08E-04	1,01E-09	56
H1M3622N	3,84E+04	9,13E-05	2,38E-09	127
H1M3624N	1,79E+05	1,83E-04	1,02E-09	63
H1M3627N	2,59E+05	5,23E-04	2,02E-09	22

**Таблица 3. Аффинность связывания mAb, содержащих человеческую Fc, при 25°C (Biacore)**

<b>Связывание при 25°C / формат Mab-захвата</b>				
<b>AbPID</b>	<b>k<sub>a</sub> (1/Mc)</b>	<b>k<sub>d</sub> (1/c)</b>	<b>K<sub>d</sub> (M)</b>	<b>t<sup>1/2</sup> (мин)</b>
H1H3564P	3,10E+03	7,78E-05	2,50E-08	148
H1H3565P	1,93E+04	5,80E-05	3,01E-09	199
H1H3566P	2,04E+04	4,20E-05	2,06E-09	275
H1H3567P	6,05E+04	2,63E-03	4,34E-08	4
H1H3581P	HC	HC	HC	HC
H1H3583P	8,94E+04	3,08E-03	3,44E-08	4
H1H3589P	3,77E+04	9,14E-03	2,43E-07	1
H1H3591P	4,46E+04	1,53E-03	3,42E-08	8
H1H3592P	1,06E+05	4,66E-04	4,39E-09	25
H1H3592P2	9,93E+04	1,46E-03	1,47E-08	8
H1H3592P3	8,86E+04	7,47E-04	8,43E-09	15
H1H3597P	HC	HC	HC	HC
H1H3598P	HC	HC	HC	HC
H1H3603P	3,00E+03	1,23E-04	4,10E-08	94
H1H3604P	3,10E+03	9,27E-05	3,00E-08	125
H1H3605P	2,80E+03	1,68E-04	5,90E-08	69
H1H3607P	4,20E+03	1,48E-04	3,50E-08	78
H1H3608P2	4,85E+03	2,60E-05	5,35E-09	445

Н1Н3627N	2,56E+05	1,49E-04	5,81E-10	78
Контроль I	6,75E+04	2,57E-03	3,81E-08	4
Контроль II	1,89E+05	8,13E-05	4,29E-10	142

НС: В условиях эксперимента связывание не наблюдалось

**Пример 4. Антитела к белку слияния респираторного синцитиального вируса (РСВ-Г) демонстрируют эффективную нейтрализующую способность по отношению к штаммам РСВ подтипа А и подтипа В**

**[00260]** Очищенные антитела исследовали методом анализа микронейтрализации РСВ для определения эффективности. Вкратце,  $10^4$  клеток HEp-2, культивируемых в среде MEM с высоким содержанием глюкозы, дополненной 5% Nuclone ФБС, L-глутамином и антибиотиками, высевали в 96-луночные черные микропланшеты с прозрачным дном и инкубировали на протяжении 16-18 часов ( $37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ ). Далее, различные концентрации антител, начиная с 666 нМ с последующими разведениями 1:5 в среде, инкубировали со штаммом РСВ 1540 (A2) при МИ 0,04 на протяжении 2 часов ( $37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ ). Были включены не содержащие вируса и нерелевантные контрольные образцы.

**[00261]** После инкубации смесь антител:вирус добавляли к клеткам HEp-2 и поддерживали процесс инфицирования на протяжении 3 дней. Степень инфицирования определяли, фиксируя клетки в 2% ПФА и проводя ELISA с козьими анти-РСВ/анти-козьими, конъюгированными с пероксидазой хрена антителами. В лунки добавляли люминесцентные реагенты и регистрировали сигнал при помощи планшет-ридера (Victor X3, Perkin Elmer). Величины люминесценции анализировали при помощи трехпараметрического логистического уравнения для 11-точечной кривой (GraphPad Prism).

**[00262]** Антитела согласно изобретению демонстрировали широкий диапазон нейтрализующих активностей против штамма РСВ A2 (1540) (Таблицы 4-5). Несколько антител демонстрировали более низкие величины  $\text{IC}_{50}$ , чем контроль I, в то время как всего несколько типовых антител Н1Н3627N, Н1Н3591P, Н1Н3592P и Н1Н3592P3 продемонстрировали лучшую нейтрализацию, чем контроль II. Выбранные антитела (Н1Н3627N, Н1Н3592P3) также исследовали в отношении их способности нейтрализовать штаммы РСВ подтипа В (Таблица 6).

[00263] Этот пример демонстрирует эффективность антител согласно данному изобретению в отношении нейтрализации нескольких штаммов РСВ-F двух подтипов *in vitro*, которая превышает эффективность, демонстрируемую ранее стандартными контрольными антителами.

**Таблица 4. Эффективность нейтрализации для выбранных mAb против РСВ A2 (1540)**

AbPID	IC <sub>50</sub> [пМ] для нейтрализации РСВ A2:						
	Испытание 1	Испытание 2	Испытание 3	Испытание 4	Испытание 5	Испытание 6	Испытание 7
H1M362 1N	582	180	-	-	-	-	-
H1M362 2N	320	82	-	-	-	-	-
H1M362 4N	540	270	92	-	-	-	-
H1M362 7N	4	4	5	-	-	10	-
H1H356 4P	>10000	-	-	-	-	-	-
H1H356 5P	>10000	-	-	-	-	-	-
H1H356 6P	>10000	-	-	-	-	-	-
H1H356 7P	-	-	-	257	-	390	-
H1H358 1P	>10000	-	-	-	-	-	-
H1H358 3P	-	-	-	-	50	-	-
H1H358 9P	-	-	-	-	300	-	-
H1H359 1P	-	-	-	6	-	8	6
H1H359 2P	-	-	-	6	-	5	4
H1H359 2P3							10
H1H359 7P	>10000	-	-	-	-	-	-
H1H359 8P	>10000	-	-	-	-	-	-
H1H360	>10000	-	-	-	-	-	-

3P							
H1H360 4P	>10000	-	-	-	-	-	-
H1H360 5P	>10000	-	-	-	-	-	-
H1H360 7P	>10000	-	-	-	-	-	-
H1H360 8P2	>10000	-	-	-	-	-	-
H1H357 0P	>10000	-	-	-	-	-	-
H1H362 7N	-	-	-	-	-	-	3
Control 1	1820	950	290	530	160	500	250
Control 2	50	30	23	20	12	12	12

**Таблица 5. Эффективность нейтрализации для выбранных mAb против РСВ подтипа А**

<b>Нейтрализация подтипа А: IC<sub>50</sub> и кратность улучшения по сравнению с контролем 1</b>				
<b>AbPID</b>	<b>Нейтрал. РСВ-А2 (1540) IC<sub>50</sub> [пМ]</b>	<b>Кратность</b>	<b>Нейтрал. РСВ– длин. IC<sub>50</sub> [пМ]</b>	<b>Кратность</b>
H1H3627N	2,6	138	7,3	73
H1H3592P3	10	36	15	35
Контроль I	360	--	536	--
Контроль II	14	25	65	8,2

**Таблица 6. Эффективность нейтрализации для выбранных mAb против РСВ подтипа В**

Нейтрализация подтипа В: IC <sub>50</sub> и кратность улучшения по сравнению с контролем 1				
AbPID	Нейтрал. РСВ – 1580 IC50 [пМ]	Кратность	Нейтрал. РСВ – 9320 IC50 [пМ]	Кратность
H1H3627N	6,7	55	11	42
H1H3592P3	31	12	100	4,6
Контроль I	375	--	460	--
Контроль II	43	8,7	56	8,2

**Пример 5. Выбранные анти-PCB-F антитела демонстрируют эффективную нейтрализацию РСВ-инфекции *in vivo***

**А. Мышиная модель**

**[00264]** Для исследований *in vivo* нейтрализации РСВ, в которых использовали мышей штамма Balb/c, выбрали типовые антитела H1H3627N и H1H3592P3. Вкратце, Balb/c мышам в возрасте 7 недель (n = 4-5) проводили ПК инъекцию в двух дозировках (0,15 или 0,05 мг/кг), применяя H1H3627N, H1H3592P3, контроль I, контроль II или изотипически сходное антитело. Во всех экспериментах применяли антитело-носитель (1 мг/кг), чтобы минимизировать потерю анти-PCB-F антител.

**[00265]** Через один день после инъекции мышей стимулировали интраназальным путем 50 мкл (10<sup>6</sup> БОЕ) штамма РСВ A2 (1540). Через четыре дня после инфицирования брали образцы сыворотки крови, мышей умерщвляли, а легкие изымали и гомогенизировали в 1 мл ФСБ при помощи гомогенизатора OmniGLH. Легочные гомогенаты центрифугировали для удаления продуктов клеточного распада, а часть супернатанта использовали для определения концентрации анти-PCB-F mAb в легких. Оставшийся супернатант использовали для проведения серийных разведений, которые инкубировали с клетками HEp-2 на протяжении 2 часов, чтобы дать возможность вирусу попасть в клетки. После этого супернатант удаляли, а клетки покрывали 1% метилцеллюлозой. Через шесть дней клетки окрашивали кристаллическим фиолетовым,

подсчитывали бляшки и рассчитывали  $\log_{10}$  снижения вирусной нагрузки по сравнению с изотипическим контролем.

**[00266]** Типовые антитела Н1Н3627N и Н1Н3592P3 оказались более эффективными в снижении вирусной нагрузки *in vivo*, чем контрольное I или контрольное II анти-PCV-F антитела (Таблицы 7a-7e). В частности, при дозировке 0,15 мг/кг антитела Н1Н3627N, Н1Н3592P3 и контрольное антитело II все эффективно снижали степень РСВ-инфекции в легких практически до неопределяемого уровня по сравнению с контролем I (кратность изменения  $\log(10)$  снижения вирусной нагрузки  $\geq 2,10$ ). Определение общего человеческого IgG в легких и сыворотке крови подтвердило, что уровни антител были относительно сопоставимы для всех групп.

**[00267]** При более низкой вводимой дозе была очевидной большая разница в эффективности нейтрализации между тремя антителами по сравнению с контролем I. При 0,05 мг/кг Н1Н3592P3 демонстрировало наибольшее снижение вирусной нагрузки с кратностью изменения в диапазоне от 1,49 до  $> 2,07 \log$  по сравнению с кратностью изменения снижения вирусной нагрузки, составляющей от 1,08 до 1,36  $\log$  для Н1Н3627N и от 0,01 до 0,65  $\log$  для контроля II. Контроль I при этой самой низкой дозировке оказался умеренно эффективным с изменением снижения вирусной нагрузки, составляющим от 0,03 до 1,03  $\log$ .

**[00268]** Результаты свидетельствуют о том, что оба антитела, Н1Н3627N и Н1Н3592P3, являются эффективными нейтрализующими антителами *in vivo*, при этом последнее продемонстрировало тенденцию к более эффективной нейтрализации РСВ-инфекции при более низких дозах.

**[00269]** Эксперимент с определенным диапазоном дозировок проводили, следуя тому же самому протоколу, который описан выше, проводя ПК инъекции 4 разных доз контрольного антитела I (0,6, 0,3, 0,15 и 0,05 мг/кг) и двух доз (0,15 и 0,05 мг/кг) Н1Н3592P3 и контроля II. Снижение вирусной нагрузки в легких рассчитывали в виде процентной доли от изотипического контроля (Эксп. М4, Таблицы 7d-e).

**[00270]** Типовое антитело Н1Н3592P3 оказалось более эффективным в снижении вирусной нагрузки *in vivo* (у мышей), чем контрольное I или контрольное II анти-PCV-F антитела. Кроме того, доза контроля I, необходимая для достижения 99% снижения вирусной загрузки в легких, была в 3-4 раза выше, чем доза Н1Н3592P3.

Таблицы 7(а-е). Снижение вирусной нагрузки РСВ ( $\log(10)$ ) у мышей после введения анти-РСВ-F антител

Таблица 7а

Эксп. М1		Доза: 0,15 мг/кг			Доза: 0,05 мг/кг		
РiD	Мышь в группе	Снижение вирусной нагрузки ( $\log_{10}$ )	mAb [нг/мл] Легкие	mAb [нг/мл] Сыворотка	Снижение вирусной нагрузки ( $\log_{10}$ )	mAb [нг/мл] Легкие	mAb [нг/мл] Сыворотка
H1N3627N	5	>2,10	35 ± 18	1041 ± 212	1,20	7 ± 4	274 ± 38
H1N3592P3	5	>2,10	44 ± 14	1731 ± 770	>2,07	17 ± 4	438 ± 51
Контроль I	5	1,02	33 ± 11	895 ± 132	1,03	9 ± 5	365 ± 111
Контроль II	5	>2,10	82 ± 24	1948 ± 429	0,65	7 ± 4	555 ± 80
Изотип. контр.	5	Нет данных	76 ± 28	2180 ± 197	Нет данных	25 ± 2	1287 ± 120

Таблица 7б

Эксп. М2		Доза: 0,15 мг/кг			Доза: 0,05 мг/кг		
РiD	Мышь в группе	Снижение вирусной нагрузки ( $\log_{10}$ )	mAb [нг/мл] Легкие	mAb [нг/мл] Сыворотка	Снижение вирусной нагрузки ( $\log_{10}$ )	mAb [нг/мл] Легкие	mAb [нг/мл] Сыворотка
H1N3627N	5	>2,51	23 ± 8	724 ±	1,08	3 ± 3	300 ± 35

				148			
H1N3592P 3	5	>2,51	27 ± 5	1261 ± 74	1,49	10 ± 2	333 ± 55
Контроль I	5	0,79	9 ± 2	611 ± 61	0,15	1 ± 1	221 ± 35
Контроль II	5	2,31	13 ± 8	587 ± 36	0,01	1 ± 3	237 ± 22
Изотип. контр.	5	Нет данных	46 ± 12	1389 ± 170	Нет данных	15 ± 4	498 ± 92

Таблица 7с

Эксп. МЗ		Доза: 0,15 мг/кг			Доза: 0,05 мг/кг		
РiD	Мыш ей в групп е	Снижение вирусной нагрузки (log10)	mAb [нг/мл] Легки е	mAb [нг/мл] Сывор отка	Снижение вирусной нагрузки (log10)	mAb [нг/мл] Легки е	mAb [нг/мл] Сыворо тка
H1N3627N	4	2,7	26 ± 6	1143 ± 83	1,36	7 ± 1	394 ± 16
H1N3592P 3	4	>2,83	31 ± 12	947 ± 105	1,66	13 ± 4	371 ± 21
Контроль I	4	1,00	58 ± 14	1426 ± 114	0,03	6 ± 5	442 ± 27
Контроль II	4	2,35	20 ± 6	1152 ± 142	0,54	НПО	373 ± 21
Изотип. контр.	4	Нет данных	41 ± 3	808 ± 52	Нет данных	37 ± 8	326 ± 26

Таблица 7d

Эксп. М4 (ED <sub>99</sub> )		Доза: 0,6 мг/кг		Доза: 0,3 мг/кг	
РiD	Мышей в группе	Снижение вирусной нагрузки (%)	mAb [нг/мл] Сыворотка	Снижение вирусной нагрузки (%)	mAb [нг/мл] Сыворотка
Контроль I	5	>99	8451,9 ± 2562	96,9	3129,7 ± 403

НО: Не определено

Таблица 7e

Эксп. М4 (ED <sub>99</sub> )		Доза: 0,15 мг/кг		Доза: 0,05 мг/кг	
РiD	Мышей в группе	Снижение вирусной нагрузки (%)	mAb [нг/мл] Сыворотка	Снижение вирусной нагрузки (%)	mAb [нг/мл] Сыворотка
H1N3592P3	5	>99	1578,9 ± 256	90,6	524,0 ± 42
Контроль I	5	57,9	1561,2 ± 282	24,2	547,5 ± 59
Контроль II	5	96,7	1566,0 ± 354	48,5	465,7 ± 85
Изотип. контр.	5	Нет данных	1406,0 ± 196	Нет данных	375,3 ± 86

НО: Не определено

### В. Модель с хлопковыми хомяками

[00271] Для исследований *in vivo* нейтрализации РСВ, в которых использовали хлопковых хомяков, выбрали типовые антитела H1N3627N и H1N3592P3. Вкратце, хлопковым хомякам в возрасте 6-8 недель (n=5) проводили ВМ инъекцию в двух дозировках (5 или 0,6 мг/кг), применяя H1N3627N, H1N3592P3, контроль I, контроль II или изотипически сходное антитело.

**[00272]** Через один день после инъекции хомяков стимулировали интраназальным путем 100 мкл ( $10^5$  БОЕ) штамма РСВ А2. Через четыре дня после инфицирования брали образцы сыворотки крови, хомяков умерщвляли, а легкие и назальные ткани изымали для проведения титрования вируса. Легочные гомогенаты центрифугировали для удаления продуктов клеточного распада, а часть супернатанта использовали для определения концентрации анти-РСВ-F mAb в легких. Оставшийся супернатант использовали для проведения серийных разведений, которые инкубировали с клетками HEp-2 на протяжении 2 часов, чтобы дать возможность вирусу попасть в клетки. После этого супернатант удаляли, а клетки покрывали 1% метилцеллюлозой. Через шесть дней клетки окрашивали, подсчитывали бляшки и рассчитывали  $\log_{10}$  снижения вирусной нагрузки по сравнению с изотипическим контролем.

**[00273]** Типовое антитело H1N3592P3 оказалось более эффективным в снижении вирусной нагрузки в легких и носовой полости, чем контроль I, и таким же эффективным как контроль II в случае легких и более эффективным в случае носовой полости. Типовое антитело H1N3627N оказалось более эффективным, чем контроль I, и таким же эффективным как контроль II в случае носовой полости (Таблица 8). В частности, при дозировке 5 мг/кг антитела H1N3627N, H1N3592P3, контроль I и контроль II все эффективно снижали степень РСВ-инфекции в легких практически до неопределяемого уровня по сравнению с контролем (кратность изменения  $\log(10)$  снижения вирусной нагрузки  $\geq 2,33$ ). При этом в носовой полости была очевидной большая разница в эффективности нейтрализации между H1N3627N, H1N3592P3, контролем II по сравнению с контролем I. H1N3592P3 демонстрировало большее снижение вирусной нагрузки (2,65 log) по сравнению с H1N3627N (1,46 log) или контролем II (1,33 log).

**[00274]** При более низкой вводимой дозе в случае легких была очевидной большая разница в эффективности нейтрализации между тремя антителами по сравнению с контролем I. При 0,6 мг/кг H1N3592P3 демонстрировало сходное снижение вирусной нагрузки с контролем (1,5 log), и они оба были более эффективны, чем контроль I (0,624 log). H1N3627N демонстрировало меньшую эффективность по сравнению с тремя другими антителами.

**[00275]** Затем было выбрано типовое анти-РСВ-F антитело H1N3592P3 для исследования его способности нейтрализовать РСВ подтипа В *in vivo* на модели с хлопковыми хомяками. Как и в случае РСВ/А, 6-8-недельным хлопковым хомякам ( $n = 4$ -б/группу/эксперимент) внутримышечно вводили 5 или 0,6 мг/кг H1N3592P3, контроль I или контроль II. На следующий день животных стимулировали  $10^5$  БОЕ РСВ/В штамма

18537. Через четыре дня после стимуляции определяли титры вируса в легких и носовой полости, а также титры антител в сыворотке. Результаты, приведенные в Таблице 9, представляют собой данные, объединенные по двум независимым экспериментам.

**[00276]** Н1Н3592Р3 демонстрировало эффективность в снижении вирусной нагрузки РСВ/В в легких как при высокой, так и при низкой дозах (Таблица 9). При 5,0 мг/кг вирусная нагрузка РСВ/В в легких была снижена в 2,21 log в случае Н1Н3592Р3 по сравнению со снижением, составившим 2,11 log в случае контроля I и 2,18 log в случае контроля II. При 0,6 мг/кг вирусная нагрузка РСВ/В в легких была снижена в 1,29 log в случае Н1Н3592Р3 по сравнению со снижением, составившим 0,75 log в случае контроля I и 0,83 log в случае контроля II.

**[00277]** В общем случае Н1Н3592Р3 демонстрировало превосходство в нейтрализации РСВ подтипа В в легких по сравнению контролем I и II при 0,6 мг/кг. При 5 мг/кг Н1Н3592Р3 демонстрировало сопоставимую с контролем I и контролем II нейтрализующую способность в снижении вирусной нагрузки в легких.

**[00278]** Результаты свидетельствуют о том, что Н1Н3592Р3 является эффективным нейтрализатором штаммов РСВ подтипа А и В *in vivo* в случае хлопковых хомяков, более эффективно нейтрализуя РСВ-инфекцию при высоких дозах в носовой полости и при низких дозах – в легких. Эффективность при более низких дозах указывает на возможность применения режима с более низкими дозами в клинических условиях.

**Таблица 8. Снижение вирусной нагрузки РСВ-А (log (10)) у хлопковых хомяков после введения анти-РСВ-Г антител**

Эксп. R1		Доза: 0,6 мг/кг			Доза: 5,0 мг/кг		
РiD	Хомяков в группе	Снижение вирусной загрузки легкие (log10)	Снижение вирусной нагрузки нос (log10)	mAb [нг/мл] Сыворотка День 4	Снижение вирусной загрузки легкие (log10)	Снижение вирусной нагрузки нос (log10)	mAb [нг/мл] Сыворотка День 4
Н1Н362 7N	5	0,34	0,22	3,43 ± 0,25	2,33	1,46	21,52 ± 5,47

Н1Н359 2Р3	5	1,66	0,19	3,49 ± 0,55	2,56	2,66	46,28 ± 7,69
Контроль I	5	0,62	0,21	3,04 ± 0,29	2,37	1,07	39,95 ± 5,23
Контроль II	5	1,50	0,20	4,26 ± 0,66	2,55	1,33	24,06 ± 2,96
Изотип. контр.	4	Нет данных	Нет данных	3,78 ± 0,99	Нет данных	Нет данных	30,43 ± 6,66

**Таблица 9. Снижение вирусной нагрузки РСВ-В (log (10)) у хлопковых хомячков после введения анти-РСВ-В антител**

Эксп. R2		Доза: 0,6 мг/кг			Доза: 5,0 мг/кг		
РiD	Хомячков в группе	Снижение вирусной нагрузки легкие (log10)	Снижение вирусной нагрузки нос (log10)	mAb [нг/мл] Сыворотка День 4	Снижение вирусной нагрузки легкие (log10)	Снижение вирусной нагрузки нос (log10)	mAb [нг/мл] Сыворотка День 4
Н1Н359 2Р3	10	1,29	0,21	3,89 ± 0,99	2,21	0,86	42,31 ± 13,5
Контроль I	11	0,75	0,15	3,87 ± 0,73	2,11	0,79	35,28 ±11,8
Контроль II	11	0,83	0,10	3,75 ± 0,49	2,18	1,24	27,65 ±7,49
Изотип. контр.	10	Нет данных	Нет данных	3,56 ± 1,17	Нет данных	Нет данных	34,28 ±9,24

### **С. Модель с хлопковыми хомяками - определение ED<sub>99</sub> для типового антитела Н1Н3592Р3**

**[00279]** На хлопковых хомяках проводили исследования с определенным диапазоном дозировок, чтобы определить, при какой дозировке типовое антитело Н1Н3592Р3 будет снижать вирусную нагрузку на >99% (т.е., ED<sub>99</sub>). Хлопковым хомякам профилактически вводили ВМ дозу Н1Н3592Р3 контрольного антитела 1, составляющую 10, 5, 2,5, 1,25 или 0,62 мг/кг. Дополнительно в этом исследовании проводили дозирование изотипическим контрольным антителом при 10 или 0,62 мг/кг, чтобы выделить активные агенты. После обработки антителом проводили интраназальную стимуляцию РСВ подтипа А (штамм РСВ А2) или подтипа В (штамм РСВ В 18537). Через четыре дня после инфицирования брали образцы сыворотки крови, хомяков умерщвляли, а легкие изымали для проведения титрования вируса. Н1Н3592Р3 в дозировке 0,62 мг/кг обеспечивало >99% снижение вирусной нагрузки в легких по сравнению с контролем 1, которому для достижения такого же >99% снижения вирусной нагрузки требовалась доза в 2,5 мг/кг (Таблица 10). Средняя конечная концентрация контроля 1 (27 мкг/мл) при рассчитанной величине ED<sub>99</sub> хорошо коррелировала с опубликованной ранее работой (Scott and Lamb, 1999), что свидетельствует о том, что концентрация паливизумаба в сыворотке крови (т.е., контроля 1), составляющая 30-40 мкг/мл во время РСВ-инфекции, была связана с 99% снижением вирусной нагрузки в легких. Средняя конечная концентрация Н1Н3592Р3 (4,9 мкг/мл) хорошо коррелировала со сниженной в 4 раза доставляемой дозой, которая соответствовала ED<sub>99</sub>. Результаты в случае стимуляции подтипом В были сходными (Таблица 11) в том, что ED<sub>99</sub> для Н1Н3592Р3 достигалась при 2,5 мг/кг, в то время как для контроля 1 требовалась примерно в 4 раза большая доза (10 мг/кг), чтобы получить такое же >99% снижение вирусной нагрузки.

**[00280]** Таким образом, эти исследования подтверждают, что менее частое дозирование Н1Н3592Р3 может обеспечивать такой же уровень защиты, что и установленная на сегодня дозировка паливизумаба.

**Таблица 10. Определение ED<sub>99</sub> для анти-РСВ-Ф антител после стимуляции РСВ подтипа А**

<b>Определение ED<sub>99</sub> с РСВ подтипа А</b>
<b>% снижения вирусной нагрузки</b>

<b>PID</b>	<b>10 мг/кг</b>	<b>5 мг/кг</b>	<b>2,5 мг/кг</b>	<b>1,25 мг/кг</b>	<b>0,62 мг/кг</b>
H1H3592P3	>99	>99	>99	>99	>99
Контроль I	>99	>99	>99	98,9	95,9
Изотип. контр.	Нет данных	Нет данных	Нет данных	Нет данных	Нет данных
<b>Концентрация антитела в сыворотке крови (мкг/мл)</b>					
H1H3592P3	107,2 ±3,4	48,44 ±6,1	20,15 ±1,8	10,55 ±1,5	4,91 ±0,7
Контроль I	89,16 ±6,5	58,07 ±6,3	26,93 ±3,3	12,72 ±2,2	6,65 ±0,5
Изотип. контр.	90,57 ±12,6	--	--	--	5,39 ±0,5

**Таблица 11. Определение ED<sub>99</sub> для анти-PCB-F антител после стимуляции PCB подтипа B**

<b>Определение ED<sub>99</sub> с PCB подтипа B</b>					
<b>% снижения вирусной нагрузки</b>					
<b>PID</b>	<b>10 мг/кг</b>	<b>5 мг/кг</b>	<b>2,5 мг/кг</b>	<b>1,25 мг/кг</b>	<b>0,62 мг/кг</b>
H1H3592P3	>99	>99	>99	98,4	96,7
Контроль I	>99	97,7	98,4	96,3	88,2
Изотип. контр.	Нет данных	Нет данных	Нет данных	Нет данных	Нет данных
<b>Концентрация антитела в сыворотке крови (мкг/мл)</b>					
H1H3592P3	98,04 ±18,4	50,99 ±7,8	27,82 ±4,9	10,49 ±1,7	7 ±0,3
Контроль I	98,89 ±10,9	42,74 ±8,9	26,46 ±3,3	16,06 ±2,2	7,58 ±1,1
Изотип. контр.	99,72 ±17,4	Нет данных	Нет данных	Нет данных	5,38 ±0,5

**Пример 6. Получение биспецифического антитела**

**[00281]** Получали различные биспецифические антитела для применения в практической реализации способов согласно изобретению. Например, получали специфические в отношении РСВ-F антитела в биспецифической конструкции («биспецифики»), в которой переменные области, связывающиеся с разными доменами белка РСВ-F, соединены вместе, чтобы обеспечить двухдоменную специфичность в пределах одной связывающей молекулы. Сконструированные соответствующим образом биспецифики могут усиливать общую эффективность нейтрализации вируса путем повышения как специфичности, так и авидности связывания. Переменные области, обладающие специфичностью в отношении отдельных доменов, спарены на структурном каркасе, что позволяет каждой области одновременно связываться с отдельными эпитопами или с разными областями в пределах одного домена. В одном примере в случае биспецифика переменные области тяжелой цепи ( $V_H$ ) из связывающей молекулы, обладающей специфичностью в отношении одного домена, соединены с переменными областями легкой цепи ( $V_L$ ) из группы связывающих молекул, обладающих специфичностью в отношении второго домена, для определения некогнатных  $V_L$ -партнеров, которые можно спаривать с оригинальной  $V_H$ , не нарушая оригинальную специфичность в отношении этой  $V_H$ . Таким образом, один  $V_L$ -сегмент (*например*,  $V_{L1}$ ) можно комбинировать с двумя разными  $V_H$ -доменами (*например*,  $V_{H1}$  и  $V_{H2}$ ), чтобы получить биспецифик, содержащий два связывающих «плеча» ( $V_{H1}$ -  $V_{L1}$  и  $V_{H2}$ -  $V_{L1}$ ). Применение одного  $V_L$ -сегмента снижает сложность системы и, тем самым, упрощает и повышает эффективность процессов клонирования, экспрессии и очистки, применяемых при получении биспецифика (Смотрите, например, USSN13/022759 и US2010/0331527).

**[00282]** В альтернативном варианте антитела, которые связывают РСВ-F и вторую мишень, такие как, без ограничений, например, второе отличное анти-РСВ-F антитело или токсид, или вакцина, можно приготовить в биспецифической конструкции при помощи описанных в данном документе методов или других известных специалистам в данной области техники методов. Переменные области антитела, связывающиеся с разными областями, можно соединять с переменными областями, которые связываются с соответствующими участками, например, отличного вирусного антигена, чтобы обеспечить для одной связывающей молекулы специфичность в отношении двух антигенов. Сконструированные соответствующим образом биспецифики такого типа выполняют двойную функцию. Например, в случае биспецифического антитела, которое связывает РСВ-F и РСВ-G, оно будет способно лучше нейтрализовать вирус без необходимости введения композиции, содержащей два отдельных антитела. Переменные области, обладающие специфичностью в отношении РСВ-F, комбинируют

с вариабельной областью со специфичностью в отношении РСВ-G и спаривают на структурном каркасе, что позволяет каждой вариабельной области связываться с отдельными антигенами.

**[00283]** Биспецифические связывающие молекулы исследуют в отношении связывания и функционального блокирования антигенов-мишеней, например, РСВ-F и РСВ-G, при помощи любого из описанных выше методов анализа для антител. Например, для оценки биспецифического взаимодействия применяют стандартные методы для определения связывания растворимого белка, такие как Вiasore, ELISA, эксклюзионная хроматография, мультиугловое рассеяние лазерного излучения, прямую сканирующую калориметрию и другие методы. Связывание биспецифических антител с РСВ-F и РСВ-G определяют методом анализа связывания ELISA, в котором синтетические пептиды, представляющие разные антигены, наносят на лунки микротитровальных планшетов и определяют связывание биспецифика, используя вторичное детекторное антитело. Эксперименты для определения связывания также можно проводить, используя метод поверхностного плазмонного резонанса, в котором в режиме реального времени определяют взаимодействие связывания пептида с антителом путем пропускания потока пептида или биспецифика через поверхность сенсора, на которой захвачен, соответственно, биспецифик или пептид. Функциональное *in vitro* блокирование биспецификом РСВ-F и РСВ-G определяют при помощи метода биоанализа, такого как описанный в данном документе анализ нейтрализации, или при помощи исследований *in vivo* защиты на соответствующих животных моделях, таких как описанные в данном документе, или на *in vivo* модели воспаления легких.

### **Пример 7. *In vitro* получение РСВ-ускользающих мутантов для определения эпитопа связывания Н1Н3592Р3**

#### **Получение ускользающих мутантов к Н1Н3592Р3**

**[00284]**  $3 \times 10^5$  Нер-2 клеток/на лунку высевали в 6-луночный планшет на 24 ч. Концентрации Н1Н3592Р3 в диапазоне от 50 мкг/мл до 0,016 мкг/мл смешивали со штаммом РСВ подтипа А 1540 или штаммом РСВ подтипа В 1580 на протяжении 1 ч при 37°C. После совместной инкубации смесь РСВ/антитело добавляли в предварительно засеянные клетки Нер-2 при множественности инфицирования (МИ), составлявшей 10 бляшкообразующих единиц (БОЕ)/клетку. Клетки инкубировали на протяжении 6 дней и ежедневно отслеживали цитопатический эффект при помощи оптической микроскопии. На 6 день собирали содержимое каждой лунки, доводили до начальной концентрации

антитела и применяли для инфицирования свежесезасянных клеток Нер-2. Этот серийный пассаж повторяли до наблюдения очевидного цитопатического эффекта при высоких концентрациях Н1Н3592Р3 (50 мкг/мл), что приблизительно на 2 log превышает IC<sub>50</sub> антитела, предполагая наличие вирусных мутантов. Супернатанты из этих лунок подтверждали по наличию устойчивого вируса при помощи анализа микронеutralизации (описанного ниже), а выделение бляшек проводили в 10 см чашках для тканевого культивирования. 10 отдельных бляшек распределяли по 6-луночным планшетами и повторно исследовали вирус на предмет устойчивости методом микронеutralизации. Затем проводили секвенирование этих вирусных мутантов.

### **Анализ микронеutralизации**

**[00285]** Чтобы подтвердить, что ускользящие мутанты, полученные под давлением Н1Н3592Р3, были устойчивы к neutralизации, проводили анализ микронеutralизации в клетках Нер-2. Вкратце, 10<sup>5</sup> клеток Нер2, культивируемых в среде DMEM 1x, дополненной 5% Nuclone ФБС, L-глутамином и антибиотиками, высевали в 96-луночные черные микропланшеты с прозрачным дном и инкубировали на протяжении 16-18 часов (37°C, 5% CO<sub>2</sub>).

**[00286]** Далее, различные концентрации антител, начиная с 666 нМ, разведенные 1:5 в среде, инкубировали с РСВ дикого типа (подтипа А или В) или ускользящими мутантами обоих подтипов А и В при МИ от 0,04 до 0,4 на протяжении 2 часов (37°C, 5% CO<sub>2</sub>). Были включены контрольные образцы, не содержащие вирус, или контрольные образцы, содержащие вирус, но не содержащие антител. После разведения антитела исследовали в двух параллельных экспериментах. После инкубации смесь антитело/вирус добавляли к клеткам и поддерживали процесс инфицирования на протяжении 3 дней. Степень инфицирования определяли, фиксируя клетки в 2% ПФА и проводя ELISA с козьими анти-РСВ/анти-козьими, конъюгированными с пероксидазой хрена антителами. В лунки добавляли люминесцентные реагенты и регистрировали сигнал при помощи планшет-ридера (Victor X3, Perkin Elmer). Величины люминесценции анализировали при помощи трехпараметрического логистического уравнения для 11-точечной кривой (GraphPad Prism).

### **Результаты**

**[00287]** Получали ускользящие мутанты респираторного синцитиального вируса, чтобы локализовать специфическую область связывания H1N3592P3 с РСВ-F. Вкратце, клетки HEp-2, инфицированные штаммами РСВ 1540 (подтип А) или 1580 (подтип В), подвергали обработке H1N3592P3 в диапазоне от 50 мкг/мл до 0,016 мкг/мл. Через 6 дней содержимое каждой лунки применяли для инфицирования свежесосеянных клеток HEp-2. Этот серийный пассаж повторяли до наблюдения в клетках HEp-2 цитопатического эффекта даже в присутствии самой высокой дозы антитела, что свидетельствует о наличии РСВ-вирусных мутантов, полученных при селекционном давлении. В общем случае выделяли вирусные мутанты из десяти разных бляшек, подтвержденных в отношении нейтрализационной устойчивости в присутствии H1N3592P3, и после этого проводили их секвенирование.

**[00288]** Анализ последовательностей подтвердил, что ускользящие по отношению к H1N3592P3 мутанты были обнаружены на аминокислотных позициях 173 и 174 (S173Y и T174K) РСВ-F (SEQ ID NO: 354), что свидетельствует о том, что эти аминокислоты играют важную роль в связывании антитела и нейтрализации вируса. В предыдущих исследованиях определили, что эпитопы связывания для анти-РСВ контрольного I и контрольного II антител расположены между S255 – N276. Данные этих исследований позволяют определить участок связывания H1N3592P3 на РСВ-F, который играет основную роль в нейтрализации вируса (смотрите Таблицу 12) и отличается от того, который необходим в случае ранее установленных контрольных антител.

**Таблица 12. Эффективность нейтрализации H1N3592P3 и контрольных анти-РСВ антител в случае штаммов РСВ подтипа А и В и родственных ускользящих мутантов**

Вирус	H1N3592P3 (IC50, пМ)	Контроль I (IC50, пМ)	Контроль II (IC50, пМ)
Дт подтип А (РСВ/А)	177	1140	108
РСВ/А S173Y	Устойчивый	1710	170
Дт подтип В (РСВ/В)	290	1900	260
РСВ/В S173T	Устойчивый	1900	177
РСВ/В T174K	Устойчивый	640	108

PCB/B S173T/T174K	Устойчивый	980	218
-------------------	------------	-----	-----

### **Пример 8. Определение эпитопа связывания H1N3592P3 с PCB-F при помощи водородно-дейтериевого обмена и масс-спектрометрии**

**[00289]** Проводили водородно-дейтериевый обмен (H/D обмен) в комбинации с пептическим расщеплением и масс-спектрометрией для определения эпитопа связывания анти-PCB-F антитела H1N3592P3 к рекомбинантному PCB-F. Применяли два формата H/D обмена: способ «прямой-раствор/обратный-гранулы», в котором фрагменты пептида PCB-F, защищенные H1N3592P3 от обратного обмена, сохраняют D<sub>2</sub>O и согласно данным масс-спектрокопии имеют на выходе большие молекулярные массы (соотношения масса/заряд), и контрольный способ «прямой-гранулы/обратный-гранулы», который устанавливает базовые соотношения масса/заряд для всех пептидов PCB-F. Вычитание контрольных соотношений масса/заряд из соотношений масса/заряд, полученных способом «прямой-раствор/обратный-гранулы», позволяет выделить определенные аминокислотные участки, которые демонстрируют ненулевую разницу соотношений масса/заряд, т.е., остаточный D<sub>2</sub>O, который соответствует эпитопу связывания между H1N3592P3 и PCB-F.

#### **Способы**

##### **Формат «прямой-раствор/обратный-гранулы»**

**[00290]** В формате «прямой-раствор/обратный-гранулы» (прямой обмен в растворе, за которым следует обратный обмен на гранулах) белок RSV-F.mmh (SEQ ID NO: 353) дейтерировали на протяжении 5 мин или 10 мин в ФСБ-буфере, приготовленном с D<sub>2</sub>O, а затем связывали с H1N3592P3, ковалентно присоединенным к N-гидроксисукцинимидным (NHS) арагозным гранулам (GE Lifescience) путем 2-минутной инкубации. Комплекс PCB-F / гранулы H1N3592P3 промывали ФСБ-буфером (приготовленным с недейтерированной H<sub>2</sub>O) и инкубировали в ФСБ-буфере на протяжении половины времени прямого обмена. После обратного обмена связанный PCB-F элюировали с гранул при помощи охлажденного до температуры замерзания раствора ТФУ с низким pH. Затем элюированный PCB-F расщепляли иммобилизованным пепсином (Thermo Scientific) на протяжении 5 мин. Полученные в результате пептиды обессаливали при помощи хроматографических микродозаторов ZipTip и без промедления анализировали при

помощи время-пролетной ионизации лазерной десорбцией с использованием матрицы (MALDI-TOF)-время-пролетной (TOF) масс-спектрометрии (MS) UltrafleXtreme.

### **Формат «прямой-гранулы/обратный-гранулы»**

[00291] В формате «прямой-гранулы/обратный-гранулы» (прямой обмен на гранулах, за которым следует обратный обмен на гранулах) RSV-F.mmh (SEQ ID NO: 353) сначала связывали с H1H3592P3 арагозными гранулами, а затем инкубировали на протяжении 5 мин или 10 мин в D<sub>2</sub>O для прямого обмена. Комплекс РСВ-F / гранулы H1H3592P3 промывали ФСБ-буфером (приготовленным с недеионизированной H<sub>2</sub>O) и инкубировали в ФСБ-буфере на протяжении половины времени прямого обмена. После обратного обмена связанный РСВ-F элюировали с гранул при помощи охлажденного до температуры замерзания раствора ТФУ с низким рН. Затем элюированный РСВ-F расщепляли иммобилизованным пепсином (Thermo Scientific) на протяжении 5 мин. Полученные в результате пептиды обессаливали при помощи хроматографических микродозаторов ZipTip и без промедления анализировали при помощи MALDI-TOF-TOF масс-спектрометрии. Рассчитывали центроидные величины или средние соотношения массы к заряду (масса/заряд) всех выявленных пептидов и сравнивали между этим экспериментом и экспериментом «прямой-раствор/обратный-гранулы».

### **Определение пептидов**

[00292] Определение пептидов проводили при помощи жидкостной хроматографии Orbitrap Elite (Thermo Scientific).

### **Результаты**

[00293] В Таблице 13 приведено детальное сравнение разницы соотношений масса/заряд для всех пептидов РСВ-F, выявленных методом MALDI-TOF масс-спектрометрии после H/D обмена и пептического расщепления. Два сегмента, соответствующие аминокислотам 161-171 (EGEVNKKIKSAL, (SEQ ID NO: 355)) и 172-188 (LSTNKAVVSLSNQVSVL, (SEQ ID NO: 356)) из SEQ ID NO: 354, характеризовались разницей центроидных величин выше 0,20 – эталонный наблюдаемый порог, который, как считается, указывает на наличие контакта антитело-белок и, следовательно, на область эпитопа. Также стоит отметить, что сигнал пептида, соответствующий аминокислотам

161-171 не оценивали количественно для 10-минутного эксперимента с прямым обменом из-за низкого уровня сигнала и шума. При этом, величина разницы в 0,88, зарегистрированная для 5-минутного эксперимента с прямым обменом, намного превышает пороговое значение в 0,2 и может быть объяснена существенным изменением скорости Н/D обмена после связывания РСВ-F с Н1Н3592Р3.

**[00294]** Кроме того, пептидный сегмент, соответствующий аминокислотам 172-188, содержит аминокислоты двух ускользящих мутантов РСВ (S173Y и T174K; смотрите пример 7), которые были устойчивы к обработке Н1Н3592Р3, что свидетельствует о том, что эти две аминокислоты играют роль в связывании антитела и нейтрализации вируса. Таким образом, комбинация секвенирования ускользящих мутантов РСВ вместе с Н/D обменом дает основание полагать аминокислоты 161-188 из SEQ ID NO: 354 как определяющие, по меньшей мере частично, участок связывания антитела Н1Н3592Р3 в РСВ-F.

**Таблица 13. Центроидные (масса/заряд) величины для пептически расщепленных пептидов РСВ-F после обратного обмена после дейтерирования в отсутствии (прямой-раствор/обратный-гранулы) и присутствии (прямой-гранулы/обратный-гранулы) Н1Н3592Р3**

Остатки	Эксперимент I			Эксперимент II		
	обмен: 5 мин прям/2,5 мин обр		разниц а	обмен: 10 мин прям/5 мин обр		разниц а
прям-гранулы/ обр-гранулы (масса/заряд)	прям-раствор/ обр-гранулы (масса/заряд)	прям-гранулы/ обр-гранулы (масса/заряд)		прям-гранулы/ обр-гранулы (масса/заряд)	прям-раствор/ обр-гранулы (масса/заряд)	
46-52	791,06	791,10	0,04	791,06	791,15	0,09
48-56	1083,32	1083,37	0,05	1083,32	1083,35	0,03
48-58	1297,42	1297,44	0,02	1297,40	1297,44	0,04
79-92	1665,81	1665,96	0,15	1665,86	1665,89	0,03
94-107	1519,93	1520,00	0,06	1520,01	1520,09	0,07

96-107	1278,64	1278,61	-0,03	1278,61	1278,73	0,12
96-108	1434,61	1434,60	-0,01	1434,50	1434,63	0,13
148-160	1308,97	1309,12	0,16	Нет данных	Нет данных	Нет данных
<b>161-171</b>	<b>1188,72</b>	<b>1189,60</b>	<b>0,88</b>	Нет данных	Нет данных	Нет данных
<b>172-188</b>	<b>1689,44</b>	<b>1691,68</b>	<b>2,24</b>	<b>1689,60</b>	<b>1691,07</b>	<b>1,47</b>
220-230	1390,02	1390,06	0,04	1389,98	1389,93	-0,05
220-232	1632,30	1632,34	0,04	1632,29	1632,37	0,08
223-230	1048,49	1048,54	0,05	1048,44	1048,55	0,11
223-232	1291,16	1291,21	0,05	1291,12	1291,18	0,07
231-236	760,95	760,95	0,00	761,02	760,95	-0,06
233-240	966,29	966,33	0,04	966,20	966,30	0,09
233-249	1780,20	1780,39	0,19	1780,38	1780,38	0,00
261-277	1977,81	1977,91	0,10	1977,92	1977,80	-0,13
261-279	2205,05	2205,12	0,07	2205,10	2205,20	0,10
278-285	958,20	958,34	0,14	958,15	958,29	0,14
278-286	1121,50	1121,57	0,07	1121,54	1121,59	0,05
278-289	1453,19	1453,16	-0,03	1453,14	1453,08	-0,06
280-286	894,20	894,22	0,02	894,29	894,28	-0,02
280-289	1225,75	1225,80	0,05	1225,79	1225,81	0,02
280-290	1312,70	1312,70	-0,01	1312,86	1312,74	-0,13
457-467	1329,73	1329,82	0,09	1329,73	1329,76	0,03
468-477	1180,57	1180,67	0,10	1180,60	1180,42	-0,18
527-545	2132,30	2132,32	0,02	2132,39	2132,38	-0,01
534-545	1318,54	1318,54	0,00	1318,64	1318,50	-0,13

537-545	988,92	988,87	-0,05	988,93	988,84	-0,08
546-557	1528,62	1528,68	0,07	1528,64	1528,64	0,00
Her ID	743,16	743,06	-0,10	743,10	742,99	-0,11
Her ID	844,01	843,98	-0,03	844,03	843,96	-0,07
Her ID	901,26	901,40	0,13	901,36	901,40	0,04
Her ID	943,15	943,19	0,04	943,24	943,20	-0,04
Her ID	1090,41	1090,45	0,04	1090,48	1090,51	0,03
Her ID	1143,51	1143,61	0,10	1143,53	1143,57	0,04
Her ID	1325,52	1325,56	0,04	1325,54	1325,66	0,12
Her ID	1353,69	1353,64	-0,06	1353,77	1353,61	-0,16
Her ID	1550,39	1550,44	0,05	1550,45	1550,40	-0,05
Her ID	2074,49	2074,41	-0,08	2074,52	2074,36	-0,15
Her ID	2257,71	2257,70	-0,01	2257,89	2257,85	-0,04
Her ID	2365,83	2365,72	-0,12	2365,94	2365,87	-0,07
Her ID	2385,18	2385,17	-0,01	2385,23	2385,25	0,02
Her ID	2405,22	2405,09	-0,12	2405,17	2405,15	-0,02
Her ID	2456,18	2456,24	0,07	2456,14	2456,09	-0,05
Her ID	2513,28	2513,26	-0,01	2513,32	2513,19	-0,14

**Пример 9. Антитела к белку слияния респираторного синцитиального вируса (РСВ-Е) демонстрируют эффективную нейтрализующую способность в случае лабораторных штаммов РСВ подтипа А и В**

**[00295]** Н1Н3592Р3 и контрольные антитела I и II исследовали методом микронейтрализации РСВ для определения эффективности. Вкратце,  $10^4$  клеток HEp-2, культивируемых в среде DMEM 1x, дополненной 5% Nuclone ФБС, L-глутамином и антибиотиками, высевали в 96-луночные черные микропланшеты с прозрачным дном и инкубировали на протяжении 16-18 часов ( $37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ ). Далее, различные

концентрации антител, начиная с 666 нМ, с последующими разведениями 1:5 в среде, инкубировали с различными лабораторными штаммами РСВ подтипа А, предоставленными АТСС, при МИ 0,042 на протяжении 2 часов (37°C, 5% CO<sub>2</sub>). Были включены не содержащие вируса и нерелевантные контрольные образцы.

**[00296]** После инкубации смесь антитело:вирус добавляли к клеткам HEp-2 и поддерживали процесс инфицирования на протяжении 3 дней. Степень инфицирования определяли, фиксируя клетки в 2% ПФА и проводя ELISA с козьими анти-РСВ/анти-козьими, конъюгированными с пероксидазой хрена антителами. В лунки добавляли люминесцентные реагенты и регистрировали сигнал при помощи планшет-ридера (Victor X3, Perkin Elmer). Величины люминесценции анализировали при помощи трехпараметрического логистического уравнения для 11-точечной кривой (GraphPad Prism).

**[00297]** Антитела согласно изобретению демонстрировали широкий диапазон нейтрализующих активностей против лабораторных штаммов РСВ (Таблица 14). Антитела Н1Н3592Р3 и АМ22 демонстрировали сходную с контролем II эффективность в случае лабораторных штаммов РСВ подтипа А. По сравнению с контролем I, Н1Н3592Р3 оказалось в 15-17 раз более эффективным (IC<sub>50</sub> 44-140 пМ), в то время как АМ22 оказалось в 9-23 раз более эффективным (IC<sub>50</sub> 86-91 пМ) (Таблица 14). В случае подтипа В антитело Н1Н3592Р3 демонстрировало сходную с контролем II эффективность, которая превышала эффективность АМ22 и контроля I. По сравнению с контролем I, Н1Н3592Р3 оказалось в 2-5 раз более эффективным (IC<sub>50</sub> 33-230 пМ), в то время как АМ22 оказалось в 0,13-2 раза более эффективным (IC<sub>50</sub> 190-2508 пМ).

**[00298]** Этот пример демонстрирует эффективность антител согласно данному изобретению в нейтрализации нескольких лабораторных штаммов РСВ обоих подтипов – А и В – *in vitro*, которая превышает эффективность, демонстрируемую ранее стандартными контрольными антителами.

**Таблица 14**

Подтип/штамм	Н1Н3592Р3 IC <sub>50</sub> (пМ)	Контроль I IC <sub>50</sub> (пМ)	Контроль II IC <sub>50</sub> (пМ)	Контроль III IC <sub>50</sub> (пМ)
A/A2	140	2080	202	91

А/Длин.	44	752	83	86
В/18537	230	1190	187	660
В/1400	33	113	38	190
В/1А2	48	223	40	580
В/9320	151	338	76	2508

**Пример 10. Антитела к белку слияния респираторного синцитиального вируса (РСВ-Ф) демонстрируют эффективную нейтрализующую способность в случае клинических изолятов РСВ подтипа А**

**[00299]** Н1Н3592Р3 и контрольные антитела I, II и III исследовали методом микронейтрализации РСВ для определения эффективности. Вкратце,  $10^4$  клеток HEp-2, культивируемых в среде DMEM 1x, дополненной 5% Nuclone ФБС, L-глутамином и антибиотиками, высевали в 96-луночные черные микропланшеты с прозрачным дном и инкубировали на протяжении 16-18 часов ( $37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ ). Далее, различные концентрации антител, начиная с 666 нМ, с последующими разведениями 1:5 в среде, инкубировали с различными клиническими изолятами РСВ подтипа А, предоставленными Dr. Moore (Emory University), при МИ в диапазоне от 0,015 до 0,128 на протяжении 2 часов ( $37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ ). Были включены не содержащие вируса и нерелевантные контрольные образцы.

**[00300]** После инкубации смесь антитело:вирус добавляли к клеткам HEp-2 и поддерживали процесс инфицирования на протяжении 3 дней. Степень инфицирования определяли, фиксируя клетки в 2% ПФА и проводя ELISA с козьими анти-РСВ/анти-козьими, конъюгированными с пероксидазой хрена антителами. В лунки добавляли люминесцентные реагенты и регистрировали сигнал при помощи планшет-ридера (Victor X3, Perkin Elmer). Величины люминесценции анализировали при помощи трехпараметрического логистического уравнения для 11-точечной кривой (GraphPad Prism).

**[00301]** Антитела согласно изобретению демонстрировали широкий диапазон нейтрализующих активностей против клинических изолятов РСВ (Таблица 15). Антитело Н1Н3592Р3 демонстрировало сходную с контролями II и III эффективность в случае большинства клинических изолятов. По сравнению с контролем I, Н1Н3592Р3 оказалось в 10-22 раз более эффективным ( $\text{IC}_{50}$  34-66 пМ) (Таблица 15).

**[00302]** Этот пример демонстрирует эффективность антител согласно данному изобретению в нейтрализации нескольких клинических изолятов РСВ *in vitro*, которая превышает эффективность, демонстрируемую ранее стандартными контрольными антителами.

**Таблица 15. Антитела к РСВ-F демонстрируют эффективную нейтрализующую способность в случае клинических изолятов РСВ подтипа А**

	МИ	H1N3592P3 IC50 (пМ)	Контроль I IC50 (пМ)	Контроль II IC50 (пМ)	Контроль III IC50 (пМ)	Genbank
A2001/2-20	0,016	43	935	74	72	JX069798.1
A2001/3-12	0,018	66	1259	129	60	JX069799.1
A1997/12-35	0,015	40	478	41	20	JX069800.1
A1998/3-2	0,128	35	344	36	31	JX069801.1
A1998/12-21	0,026	34	580	68	43	JX069802.1
A2000/3-4	0,040	50	899	88	55	JX069803.1

**Пример 11. H1N3592P3 блокирует попадание вируса в клетку путем ингибирования слияния вируса с клеточными мембранами**

**[00303]** Проводили исследование, чтобы определить механизм блокирования антителами согласно изобретению инфекции, вызываемой респираторным синцитиальным вирусом (РСВ). Исследовали одно типовое антитело согласно изобретению – H1N3592P3, чтобы определить, действует ли оно таким образом, чтобы предотвращать/ингибировать слияние РСВ с клетками-хозяевами (Фигура 2А и 2В). Механизм действия контроля I (служащее положительным контролем mAb на основе последовательности паливизумаба) описывался ранее как ингибирование вирусного слияния с клеткой-хозяином (Huang *et al.*, J. of Virol., (2010), Aug. 84(16):8132-40). Так как РСВ-F участвует как в присоединении к клетке посредством взаимодействия с рецептором

хозяина нуклеолином, так и в слиянии вирусной и плазматической мембран, проводили анализ, чтобы определить механизм действия H1N3592P3.

**[00304]** Анализ присоединения (Фигура 2А) проводили путем инкубации РСВ (подтип А, штамм А2) в присутствии H1N3592P3 или служащего положительным контролем антитела (контроль I), а затем инкубируя смесь с клетками HEp-2 при 4°C на протяжении одного часа, чтобы обеспечить возможность связывания вируса с клетками. Несвязанный вирус вымывали, клетки фиксировали, а процентное содержание присоединенного вируса определяли методом ELISA. Гепарин, который блокирует присоединение РСВ, использовали в качестве контроля.

**[00305]** Вирусное слияние выявляли, обеспечивая возможность вирусного присоединения при 4°C, вымывая несвязанный вирус, затем инкубируя с H1N3592P3, положительным контролем I или изотипическим отрицательным контрольным антителом при 4°C и повышая температуру клеток до 37°C, чтобы стимулировать вирусное слияние и попадание в клетки. Наличие вирусной инфекции определяли через 3 дня методом ELISA (Фигура 2В). ОЛЕ: Относительные люминесцентные единицы.

**[00306]** H1N3592P3, как и контроль I, блокирует слияние РСВ, но не присоединение РСВ к клеточной поверхности, в то время как изотипическое (отрицательное) контрольное mAb не оказывало влияние на вирусное слияние (Фигура 2В). Гепарин эффективно блокирует присоединение РСВ к клеткам (Hallack *et al.*, *Virology* (2000), 271(2):264-75), но ни одно антитело не ингибирует присоединение РСВ (Фигура 2А). H1N3592P3 блокировало вирусное слияние в этом формате анализа с IC<sub>50</sub>, составлявшей 230 пМ, в то время как положительное контрольное mAb (контроль I) блокировало вирусное слияние в этом формате анализа с IC<sub>50</sub> 1 нМ (Фигура 2В). Сходные результаты наблюдали для штамма РСВ подтипа В (данные не приведены).

### **Пример 12. Определение перекрестного конкурирования анти-РСВ-F антител за связывание РСВ-F при помощи системы Octet**

**[00307]** Конкурентное связывание для панели анти-РСВ-F mAb определяли при помощи биослойной интерферометрии без применения меток в режиме реального времени на биосенсоре Octet® НТХ (Pall ForteBio Corp.). Весь эксперимент проводили при 25°C в кинетическом буфере HBST (0,01 М ГЭПЭС, рН 7,4, 0,15 М NaCl, 3 мМ ЭДТУ, 0,05% об/об сурфактанта Твин-20, 0,1 мг/мл БСА), встряхивая планшет при скорости 1000 об/мин. Чтобы оценить, могут ли два антитела конкурировать друг с другом за связывание

с соответствующими эпитопами рекомбинантного белка РСВ-F, экспрессируемого с С-терминальной меткой тус-тус-гексагистидин (РСВ-F-mmH), сначала проводили захват около 0,36 нм РСВ-F-mmH на покрытом анти-пента-His антителом биосенсоре Octet (Fortebio Inc, Cat# 18-5079) путем погружения биосенсора на 3 минуты в лунки, содержащие 10 мкг/мл раствора рекомбинантного РСВ-F-mmH. Биосенсоры с захваченным антигеном затем насыщали первым анти-РСВ-F моноклональным антителом (впоследствии названным mAb-1) путем погружения в лунки, содержащие 100-200 мкг/мл раствора mAb-1 на протяжении 10 минут. После этого биосенсоры погружали в лунки, содержащие 100-200 мкг/мл раствора второго анти-РСВ-F моноклонального антитела (впоследствии названного mAb-2) на протяжении 5 минут, чтобы проверить связывание mAb-2 с РСВ-F-mmH, предварительно связанным с mAb-1. Биосенсоры промывали в кинетическом буфере HBST между всеми этапами эксперимента. Ответ связывания в режиме реального времени отслеживали в продолжение эксперимента и записывали максимальную реакцию связывания для всех этапов. Определяли ответ связывания mAb-2 с РСВ-F-mmH, предварительно связанным с mAb-1, и определяли конкурентное/неконкурентное поведение разных анти-РСВ-F моноклональных антител.

## Результаты

**[00308]** Исследования последовательного связывания, проводимые на Octet® НТХ, демонстрируют, что анти-РСВ-F моноклональные антитела не конкурируют друг с другом и способны неконкурентно связываться с РСВ-F-mmH. Как показано в Таблице 16, в темно-серых ячейках с черным шрифтом приведены значения ответа связывания при самоконкурировании. Белые ячейки с черным шрифтом соответствуют отсутствию конкурирования между антителами, что позволяет предположить существование другого эпитопа. Связывание первого анти-РСВ-F моноклонального антитела (mAb-1) с анти-His-захваченным белком РСВ-F-mmH не препятствует связыванию второго анти-РСВ-F моноклонального антитела (mAb-2). Для всех анти-РСВ-F моноклональных антител в этом исследовании наблюдаемый сигнал связывания mAb-2 был сопоставим с тем, который наблюдали в отсутствие mAb-1 (без mAb). Кроме того, наблюдаемое связывание mAb-2 для всех анти-РСВ-F моноклональных антител было независимым в отношении порядка связывания анти-РСВ-F антитела; что позволяет предположить, что все исследуемые анти-РСВ-F моноклональные антитела имеют разные эпитопы связывания.

**Таблица 16. Перекрестное конкурирование между анти-РСВ-F моноклональными антителами.**

				Связывание mAb-2 с пре- комплексом из захваченного РСВ-F-mmH и mAb-1			
mAb-1	Количество захваченного 10 мкг/мл RSV_F.mmh ± Стд. откл. (нм)	Уровень связывания для количества 100-200 мкг/мл mAb-1 (нм)	mAb#	1	2	3	4
Антитело сравнения III (AM-22)	0,36 ± 0,01	0,33 ± 0,01	1	0,01	0,34	0,44	0,00
H1N3592P3	0,36 ± 0,01	0,35 ± 0,01	2	0,26	0,00	0,30	0,00
Антитело сравнения I (Паливизумаб)	0,39 ± 0,01	0,45 ± 0,02	3	0,29	0,23	0,01	-0,01
Без mAb	0,36 ± 0,01	-0,01 ± 0,01	4	0,20	0,17	0,36	0,00

1800-WO Sequence\_Russian.txt

1800-WO ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

<110> Regeneron Pharmaceuticals, Inc.

<120> Человеческие антитела к белку F респираторного синцитиального вируса и способы их применения

<130> 1800A-WO

<140> ТВА

<141>

<150> 61/782,215

<151> 2013-03-14

<150> 61/911,093

<151> 2013-12-03

<160> 364

<170> FastSEQ for windows Версия 4.0

<210> 1

<211> 366

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 1

```

caggTgcagc tggTgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60
tctTgcaagg ctctggagg caccctcagt aataacgctt tcagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagt gttgggaggg ttcaaccsca tctttgatac tgcaaaactac 180
gcgcaaaagt tccagggcag aatcacgatc accctggacg catccacggg cacagtctac 240
atggaactga gcagcctgag atctgaggac acgggcgtgt attactgcgc gggaaactggg 300
gccattttg agttctgggg ccagggaaacc ctggTcaccg tctcctcagc ctccaccaag 360
ggccca 366
    
```

<210> 2

<211> 122

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 2

```

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

<210> 3  
 <211> 24  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 3  
 ggaggcaccs tcagtaataa cgct 24

<210> 4  
 <211> 8  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 4  
 Gly Gly Thr Leu Ser Asn Asn Ala  
 1 5

<210> 5  
 <211> 24  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 5  
 ttcaaccsca tctttgatac tgca 24

<210> 6  
 <211> 8  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 6  
 Phe Asn Pro Ile Phe Asp Thr Ala  
 1 5

<210> 7  
 <211> 27  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 7  
 gcgggaactg gggccattt tgagtcc 27

<210> 8  
 <211> 9  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 8

Ala Gly Thr Gly Ala His Phe Glu Phe  
 1 5

<210> 9  
 <211> 321  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 9  
 gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60  
 atcacttgcc ggacaagtca gagcattagc acctatntaa attggtatca gcagaaacca 120  
 ggaaaagccc ctaagttcct gatctatgct gcatccacct tacaaagtgg ggtcccatca 180  
 aggttcagtg gcagtggatc tcggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240  
 gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agtgtcagtg tcccgtacac ttttggccag 300  
 gggaccaagc tggagatcaa a 321

<210> 10  
 <211> 107  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

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

<210> 11  
 <211> 18  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 11  
 cagagcatta gcacstat

18

<210> 12  
 <211> 6  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 12  
 Gln Ser Ile Ser Thr Tyr  
 1 5

1800-wo Sequence\_Russian.txt

<210> 13  
 <211> 9  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 13  
 gctgcatcc

9

<210> 14  
 <211> 3  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 14  
 Ala Ala Ser  
 1

<210> 15  
 <211> 27  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 15  
 caacagagtg tcagtgcccc gtacact

27

<210> 16  
 <211> 9  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 16  
 Gln Gln Ser Val Ser Val Pro Tyr Thr  
 1 5

<210> 17  
 <211> 366  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 17  
 cagggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtgggtccagc ctgggagggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cgtctggatt caccttcaat agttatggca tgcactgggt ccgccaggct 120  
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtgacattc atatggctctg atggaagtaa taaatattat 180  
 ttagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacactgtat 240  
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtat attactgtgc gagaagtgga 300  
 ctagcctcct attattatta cggtatggac gtctggggcc aagggaccac ggtcacccgtc 360  
 tcctca 366

<210> 18  
 <211> 122

1800-WO Sequence\_Russian.txt

<212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая  
 <400> 18  
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ser Tyr  
 20 25 30  
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Thr Phe Ile Trp Ser Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Leu Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Ser Gly Leu Ala Ser Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp  
 100 105 110  
 Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 19  
 <211> 24  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 19  
 ggattcacct tcaatagtta tggc

24

<210> 20  
 <211> 8  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 20  
 Gly Phe Thr Phe Asn Ser Tyr Gly  
 1 5

<210> 21  
 <211> 24  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 21  
 atatggtctg atggaagtaa тааа

24

<210> 22  
 <211> 8  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

1800-WO Sequence\_Russian.txt

<400> 22

Ile Trp Ser Asp Gly Ser Asn Lys  
1 5

<210> 23

<211> 45

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 23

gсgаgааgтg gасtаgссtс сtаttаttаt tасggтatgg асgtс

45

<210> 24

<211> 15

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 24

Ala Arg Ser Gly Leu Ala Ser Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val  
1 5 10 15

<210> 25

<211> 321

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 25

gасatссagа tgасссagтс tссatсctсс сtgtсtgcаt сtgtaggаgа сagаgtсасс 60  
atсacttgсс gggсaаgtсa gggсattаgа аatgatttag gсtggтatсa gсagааacсa 120  
gggааagссс сtаagсgссt gatсtatggт gсatссagтт tgсaaаgtgg ggtсссgtсa 180  
aggттсagсg gсagтggатс tgggасagаа ttсactсtсa саatсagсag сctgсagссt 240  
gаagattttg ссacttattс сtgtсtасag сataatagтт асссgtggас gттсggссaa 300  
gggассаagg тggаaatсaa а 321

<210> 26

<211> 107

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 26

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 Gly Ile Arg Asn Asp  
20 25 30  
Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile  
35 40 45  
Tyr Gly Ala Ser Ser 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  
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Ser Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Trp  
85 90 95  
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
100 105

1800-wo Sequence\_Russian.txt

<210> 27  
<211> 18  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетическая

<400> 27  
cagggcatta gaaatgat 18

<210> 28  
<211> 6  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетическая

<400> 28  
Gln Gly Ile Arg Asn Asp  
1 5

<210> 29  
<211> 9  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетическая

<400> 29  
ggtgcatcc 9

<210> 30  
<211> 3  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетическая

<400> 30  
Gly Ala Ser  
1

<210> 31  
<211> 27  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетическая

<400> 31  
ctacagcata atagttaccc gtggacg 27

<210> 32  
<211> 9  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетическая

1800-WO Sequence\_Russian.txt

<400> 32  
 Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Trp Thr  
 1 5

<210> 33  
 <211> 366  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 33  
 caggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtgggtccagc ctggggaggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cgtcgggatt caccttcagt agttatggca tgcactgggt ccgccaggct 120  
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtgggtattt ctatgggatg atggaagtaa taaacactat 180  
 gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacattgtat 240  
 ttgcaaatga atagtctgag agccgaggac acggctgtat attactgtgc gagaagtgga 300  
 ctagcctcct attattatta cagtatggac gtctggggcc aagggaccac ggtcaccgct 360  
 tcctca 366

<210> 34  
 <211> 122  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 34  
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Val Phe Leu Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys His Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Ser Gly Leu Ala Ser Tyr Tyr Tyr Tyr Ser Met Asp Val Trp  
 100 105 110  
 Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 35  
 <211> 24  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 35  
 ggattcacct tcagtagtta tggc 24

<210> 36  
 <211> 8  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

1800-wo Sequence\_Russian.txt

<400> 36

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly  
 1 5

<210> 37

<211> 24

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 37

ctatggtatg atggaagtaa тааа

24

<210> 38

<211> 8

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 38

Leu Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys  
 1 5

<210> 39

<211> 45

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 39

gсgаgааgтg gасtagсstс stattattat tacagtatgg асgtс

45

<210> 40

<211> 15

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 40

Ala Arg Ser Gly Leu Ala Ser Tyr Tyr Tyr Tyr Ser Met Asp Val  
 1 5 10 15

<210> 41

<211> 321

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 41

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60  
 atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag cctggatca gcagaaacca 120  
 gggaaagccc ctaagcscct gatctatggt gcatccagtt tacacagtgg ggtcccatca 180  
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct 240  
 gaagattttg caacttattc ctgtctacag cataatagtt acccgtggac gttcggcсаа 300

gggaccaagg tggaaatcaa a

321

<210> 42  
 <211> 107  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 42  
 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 Gly Ile Arg Asn Asp  
 20 25 30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Gly Ala Ser Ser Leu His 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  
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Ser Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Trp  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 43  
 <211> 18  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 43  
 cagggcatta gaaatgat

18

<210> 44  
 <211> 6  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 44  
 Gln Gly Ile Arg Asn Asp  
 1 5

<210> 45  
 <211> 9  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 45  
 ggtgcatcc

9

<210> 46  
 <211> 3  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 46  
Gly Ala Ser  
1

<210> 47  
<211> 27  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетическая

<400> 47  
ctacagcata atagttaccs gtggacg

27

<210> 48  
<211> 9  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетическая

<400> 48  
Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Trp Thr  
1 5

<210> 49  
<211> 354  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетическая

<400> 49  
caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60  
tcctgcaagg ctcttgata caccctcacc ggctattatc tacactgggt gcgacaggcc 120  
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcaacccta ccagtgggtg cacaaactat 180  
gcacagaagt ttcagggcag ggtcacatg accagggaca cgtccatcag tgcagccttc 240  
atggagctga gtaggctgag atctgacgac acggccgtgt atcactgtgc gagagaattt 300  
tggccscacg gtatggacgt ctggggcscaa gggaccacgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 50  
<211> 118  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетическая

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

1800-wo Sequence\_Russian.txt

Ala Arg Glu Phe Trp Pro His Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110  
 Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 51  
 <211> 24  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 51  
 ggatacaccc tcaccggcta ttat 24

<210> 52  
 <211> 8  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 52  
 Gly Tyr Thr Leu Thr Gly Tyr Tyr  
 1 5

<210> 53  
 <211> 24  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 53  
 atcaaccsta ccagtgggtg caca 24

<210> 54  
 <211> 8  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 54  
 Ile Asn Pro Thr Ser Gly Gly Thr  
 1 5

<210> 55  
 <211> 33  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 55  
 gcgagagaat tttggcccca cggatatggac gtc 33

<210> 56  
 <211> 11  
 <212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 56

Ala Arg Glu Phe Trp Pro His Gly Met Asp Val  
1 5 10

<210> 57

<211> 321

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 57

```
gccatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca ggccattaga aatgatttag gctggatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct tcatccagtt tacaaagtgg ggtcccttca 180
aggttcagcg gcagtggatc tggcacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ctgtcttgca gattacaaat acacgtggac gttcggccaa 300
gggaccaagg tggaatcaa a 321
```

<210> 58

<211> 107

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 58

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

<210> 59

<211> 18

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 59

caggccatta gaaatgat

18

<210> 60

<211> 6

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 60

Gln Ala Ile Arg Asn Asp  
1 5

<210> 61

<211> 9

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 61

gcttcatcc

9

<210> 62

<211> 3

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 62

Ala Ser Ser

1

<210> 63

<211> 27

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 63

cttgagatt acaaatacac gtggaccg

27

<210> 64

<211> 9

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 64

Leu Ala Asp Tyr Lys Tyr Thr Trp Thr

1

5

<210> 65

<211> 378

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 65

gagggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtacacc cggggggggtc cctgagactc 60  
tcctgtgaag cctctggatt cacacttagc agccatgtca tgagctgggt ccgccagggt 120  
ccaggcaagg ggctggagtg ggtctcacgt atcagtggtc ctggtggtag tacaagtat 180  
gcggactccg tgcagggccg gttcaccacc tccagagaca actccaagaa caccctgtat 240

1800-wo Sequence\_Russian.txt

ctacaaatga acagcctgat agccgaggac tcggccgcat attactgtgc gaaagggggg 300  
 ggatatagtg gctacgattg ggacttttat tacgggatgg acgtctgggg ccaagggacc 360  
 acggtcaccg tctcctca 378

<210> 66  
 <211> 126  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 66  
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Ser His  
 20 25 30  
 Val Met Ser Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Arg Ile Ser Gly Pro Gly Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Gln Gly Arg Phe Thr Thr Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Ile Ala Glu Asp Ser Ala Ala Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Lys Gly Gly Tyr Ser Gly Tyr Asp Trp Asp Phe Tyr Tyr Gly  
 100 105 110  
 Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115 120 125

<210> 67  
 <211> 24  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 67  
 ggattcacac ttagcagcca tgtc 24

<210> 68  
 <211> 8  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 68  
 Gly Phe Thr Leu Ser Ser His Val  
 1 5

<210> 69  
 <211> 24  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 69  
 atcagtggtc ctggtggtag taca 24

<210> 70  
 <211> 8

1800-WO Sequence\_Russian.txt

<212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 70  
 Ile Ser Gly Pro Gly Gly Ser Thr  
 1 5

<210> 71  
 <211> 57  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 71  
 gcgaaagggg ggggatatag tggctacgat tgggactttt attacgggat ggacgtc 57

<210> 72  
 <211> 19  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 72  
 Ala Lys Gly Gly Gly Tyr Ser Gly Tyr Asp Trp Asp Phe Tyr Tyr Gly  
 1 5 10 15  
 Met Asp Val

<210> 73  
 <211> 321  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 73  
 gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60  
 atcacttgtc gggcgagtc gggatattag agctggtag cctgggatca gcagaaacca 120  
 gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180  
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240  
 gaagattttg caacttacta ttgtcaacag actaacagtt tccctctcac tttcggcgga 300  
 gggacsaag tggatatcaa a 321

<210> 74  
 <211> 107  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 74  
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp  
 20 25 30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45

1800-wo Sequence\_Russian.txt

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

<210> 75  
 <211> 18  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 75  
 cagggtatta gcagctgg 18

<210> 76  
 <211> 6  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 76  
 Gln Gly Ile Ser Ser Trp  
 1 5

<210> 77  
 <211> 9  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 77  
 gctgcatcc 9

<210> 78  
 <211> 3  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 78  
 Ala Ala Ser  
 1

<210> 79  
 <211> 27  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 79  
 caacagacta acagtttccc tctcact 27

1800-wo Sequence\_Russian.txt

<210> 80  
 <211> 9  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 80  
 Gln Gln Thr Asn Ser Phe Pro Leu Thr  
 1 5

<210> 81  
 <211> 366  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 81  
 caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagt ctgggtcctc ggtgaaggtc 60  
 tcctgcaagg ctctggagg caccttcagc agctatgcta tcagctgggt gcgacaggcc 120  
 ccgggacaag ggcttgagt gatgggaggg atcatcccta tctttggtag aggaaattac 180  
 gcacagaagt tccagggcag agtcacgatt accacggacg aatccacgag cacagcctat 240  
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attattgtgc gagagatagc 300  
 agctcgtccc cgaggtacta cggtatggac gtctggggcc acgggaccac ggtcaccgctc 366  
 tcctca 366

<210> 82  
 <211> 122  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 82  
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Ser Gly Ser  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45  
 Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Gly Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60  
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Thr Asp Glu Ser Thr 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  
 Ala Arg Asp Ser Ser Ser Pro Arg Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp  
 100 105 110  
 Gly his Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 83  
 <211> 24  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 83  
 ggaggcacct tcagcagcta tgct

1800-wo Sequence\_Russian.txt

<210> 84  
<211> 8  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетическая

<400> 84  
Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Ala  
1 5

<210> 85  
<211> 24  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетическая

<400> 85  
atcatcccta tctttggtac agga 24

<210> 86  
<211> 8  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетическая

<400> 86  
Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Gly  
1 5

<210> 87  
<211> 45  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетическая

<400> 87  
gcgagagata gcagctcgtc cccgaggtac tacggatgg acgtc 45

<210> 88  
<211> 15  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетическая

<400> 88  
Ala Arg Asp Ser Ser Ser Ser Pro Arg Tyr Tyr Gly Met Asp Val  
1 5 10 15

<210> 89  
<211> 321  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 89

```

gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtca gagggttacc agctacttag cctggtacca acagaaacct 120
ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gtatccaaga gggccactgg catcccagcc 180
aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctagagcct 240
gaagattttg caacttatta ttgtcagcag cgtagcaact ggcctcccac cttcggccaa 300
gggacacgac tggagattaa a                                     321

```

<210> 90

<211> 107

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 90

```

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

```

<210> 91

<211> 18

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 91

caagtggtta ccagctac

18

<210> 92

<211> 6

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 92

```

Gln Ser Val Thr Ser Tyr
 1           5

```

<210> 93

<211> 9

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 93

gatgtatcc

9

<210> 94  
 <211> 3  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 94  
 Asp Val Ser  
 1

<210> 95  
 <211> 27  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 95  
 cagcagcgta gsaactggcc tccsacc

27

<210> 96  
 <211> 9  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 96  
 Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro Thr  
 1 5

<210> 97  
 <211> 375  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 97  
 gaggtgcagc tggtaggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgaag cctctggatt cacctttagt acctattgga tgagttgggt ccgccaggct 120  
 ccaggaagg ggctagagt ggtggccaac ataaaacaag atggaagtgt gaaatacttt 180  
 gtggactctg tgaagggccg attcacgctc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat 240  
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctctgt atcactgtgc gagagagagg 300  
 cacagagggg gctactacgg ctactacgac ggtatggacg tctggggcca agggaccacg 360  
 gtcaccgtct cctca 375

<210> 98  
 <211> 125  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 98  
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr

1800-wo Sequence\_Russian.txt

```

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

```

<210> 99  
 <211> 24  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 99  
 ggattcacct ttagtaccta ttgg

24

<210> 100  
 <211> 8  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 100  
 Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Trp  
 1 5

<210> 101  
 <211> 24  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 101  
 ataaaacaag atggaagtgt gaaa

24

<210> 102  
 <211> 8  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 102  
 Ile Lys Gln Asp Gly Ser Val Lys  
 1 5

<210> 103  
 <211> 54  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

1800-wo Sequence\_Russian.txt

<220>

<223> Синтетическая

<400> 103

gсgаgаgаgа ggcасаgаgg gаgсtасtас ggcтасtасg асggтатgga сgtс 54

<210> 104

<211> 18

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 104

Alа Arg Glu Arg His Arg Gly Ser Tyr Tyr Gly Tyr Tyr Asp Gly Met  
 1 5 10 15  
 Asp Val

<210> 105

<211> 321

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 105

gасatссаgа tgасссagtc tссatсctcc ctgtctgcat ctgtaggаgа саgаgtсacc 60  
 atсacttgcc gggсаagtса ааасattgас atctatttaa attggtatса ggаgаggcca 120  
 gggаааgccc сtаатсtсct gatctatgct gсatссagtt tgсаааgtgg ggtccсatса 180  
 aggttcagtg gсagtggatс tgggасаgаt tсactctса ссатсagtag tctgсаасct 240  
 gааgattttg саacttасtа ctgtсаасаg агttасаааtа ссccgttсac tttсggсggс 300  
 gggaccaagg tggаgatсаа а 321

<210> 106

<211> 107

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 106

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

<210> 107

<211> 18

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая  
 <400> 107  
 caaaacattg acatctat 18  
 <210> 108  
 <211> 6  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая  
 <400> 108  
 Gln Asn Ile Asp Ile Tyr  
 1 5  
 <210> 109  
 <211> 9  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая  
 <400> 109  
 gctgcatcc 9  
 <210> 110  
 <211> 3  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая  
 <400> 110  
 Ala Ala Ser  
 1  
 <210> 111  
 <211> 27  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая  
 <400> 111  
 caacagatt acaatacccc gttcact 27  
 <210> 112  
 <211> 9  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая  
 <400> 112  
 Gln Gln Ser Tyr Asn Thr Pro Phe Thr  
 1 5  
 <210> 113  
 <211> 369

1800-wo Sequence\_Russian.txt

<212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 113  
 gaagtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatgcc tgcactgggt ccggcaaaact 120  
 ccagggaaagg gcctggagtg gatctcaggt attagttgga gtagtggtac catagtctat 180  
 gcagactctg tgaagggccg cttcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat 240  
 ctgcaaatga acagtctgag aggtgaggac acggccttgt atcactgtgc aaaagatggg 300  
 tataggtgga agtcctactc gtacggtttg gacgtctggg gccaaaggac cacggtcacc 360  
 gtctcctca 369

<210> 114  
 <211> 123  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 114  
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr  
 20 25 30  
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Thr Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45  
 Ser Gly Ile Ser Trp Ser Ser Gly Thr Ile Val Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Gly Glu Asp Thr Ala Leu Tyr His Cys  
 85 90 95  
 Ala Lys Asp Gly Tyr Arg Trp Lys Ser Tyr Ser Tyr Gly Leu Asp Val  
 100 105 110  
 Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 115  
 <211> 24  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 115  
 ggattcacct ttgatgatta tgcc 24

<210> 116  
 <211> 8  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 116  
 Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala  
 1 5

<210> 117  
 <211> 24

1800-wo Sequence\_Russian.txt

<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетическая

<400> 117  
attagttgga gtagtggtac cata 24

<210> 118  
<211> 8  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетическая

<400> 118  
Ile Ser Trp Ser Ser Gly Thr Ile  
1 5

<210> 119  
<211> 48  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетическая

<400> 119  
gcaaaagatg ggtataggtg gaagtcctac tcgtacgggtt tggacgtc 48

<210> 120  
<211> 16  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетическая

<400> 120  
Ala Lys Asp Gly Tyr Arg Trp Lys Ser Tyr Ser Tyr Gly Leu Asp Val  
1 5 10 15

<210> 121  
<211> 321  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетическая

<400> 121  
gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctctctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
ctctcctgca ggcccagtca gagtgttatc aataacttag cctggtacca gcagaaacct 120  
ggccaggctc ccagactcct catctttggt gcatacctca gggccactgg tatcccagcc 180  
agattcagtg gcagtgggtc tgggacagag ttactctca ccatcagcag cctgcagtct 240  
gaagatttg cactttatta ctgtcagcag tataataact ggccgctcac cttcggcgga 300  
gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 122  
<211> 107  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 122

```

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

```

<210> 123

<211> 18

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 123

cagagtgtta tcaataac

18

<210> 124

<211> 6

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 124

```

Gln Ser Val Ile Asn Asn
 1           5

```

<210> 125

<211> 9

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 125

ggtgcatcc

9

<210> 126

<211> 3

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 126

```

Gly Ala Ser
 1

```

<210> 127

<211> 27  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 127  
 cagcagtata ataactggcc gctcacc

27

<210> 128  
 <211> 9  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 128  
 Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Leu Thr  
 1 5

<210> 129  
 <211> 369  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 129  
 gaagtgcagc tgggtggagtc tggggggagac ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgtag cctctggatt cacctttgat gattatgcc a tgcactgggt ccggcaagct 120  
 ccagggaaagg gcctggagtg ggtctcaggt gttagttgga gtggtagtac cgtaggctat 180  
 gcggactctg tgaagggccg attcaccgtc tccagagaca acgcccagaa atccctgtat 240  
 ctacaaatga acagtctgag agctgaggac acggccttgt attactgtgt aaaagacgcg 300  
 tataaatgga actactacta ctacggtttg gacgtctggg gccaagggac cacggtcacc 360  
 gtctcctca 369

<210> 130  
 <211> 123  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

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

<210> 131

<211> 24  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность  
  
 <220>  
 <223> Синтетическая  
  
 <400> 131  
 ggattcacct ttgatgatta tgcc 24  
  
 <210> 132  
 <211> 8  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
  
 <220>  
 <223> Синтетическая  
  
 <400> 132  
 Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala  
 1 5  
  
 <210> 133  
 <211> 24  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность  
  
 <220>  
 <223> Синтетическая  
  
 <400> 133  
 gttagttgga gtggtagtac cgta 24  
  
 <210> 134  
 <211> 8  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
  
 <220>  
 <223> Синтетическая  
  
 <400> 134  
 Val Ser Trp Ser Gly Ser Thr Val  
 1 5  
  
 <210> 135  
 <211> 48  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность  
  
 <220>  
 <223> Синтетическая  
  
 <400> 135  
 gtaaaagacg cgtataaatg gaactactac tactacgggtt tggacgtc 48  
  
 <210> 136  
 <211> 16  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
  
 <220>  
 <223> Синтетическая  
  
 <400> 136  
 Val Lys Asp Ala Tyr Lys Trp Asn Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Leu Asp Val  
 Страница 29

1 5 10 15

<210> 137  
 <211> 321  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 137  
 gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcctgca gggccagtc gactattctc agcaacttag cctggtagct acagaaacct 120  
 ggccaggctc ccaggctcct catctatggt gcatccacca gggccactgg tctcccagcc 180  
 aggttcagtg gcagtgggct tgggacagag ttcactctca ccatcagcag cctgcagtct 240  
 gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag tataataact ggcctctcac tttcggcgga 300  
 gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 138  
 <211> 107  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 138  
 Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Thr Ile Leu Ser Asn  
 20 25 30  
 Leu Ala Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Leu Pro Ala Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Leu  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 139  
 <211> 18  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 139  
 caaactattc tcagcaac 18

<210> 140  
 <211> 6  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 140  
 Gln Thr Ile Leu Ser Asn  
 1 5

1800-wo Sequence\_Russian.txt

<210> 141  
 <211> 9  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 141  
 ggtgcatcc 9

<210> 142  
 <211> 3  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 142  
 Gly Ala Ser  
 1

<210> 143  
 <211> 27  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 143  
 cagcagtata ataactggcc tctcact 27

<210> 144  
 <211> 9  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 144  
 Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Leu Thr  
 1 5

<210> 145  
 <211> 369  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 145  
 gaggtgcagc tggtaggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60  
 tcctgtggag cctctggatt cacctttagg gactttgaca tgaattgggt ccgtcaggct 120  
 ccagggaggg ggctggagt ggtctcaggt attggtggtg gtggtggtaa cacatattac 180  
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccata tccagggaca attccaaaaa cacgctgttt 240  
 ctgcaaatga gcagcctgag agccgaggac acggccgttt attactgtgt gaaagatccc 300  
 tatggtgact ataggaacta ctacggtatg gacgtctggg gcccaaggac cacggtcacc 360  
 gtctcctca 369

<210> 146  
 <211> 123  
 <212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 146

```

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

<210> 147

<211> 24

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 147

ggattcacct ttagggactt tgac

24

<210> 148

<211> 8

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 148

```

Gly Phe Thr Phe Arg Asp Phe Asp
 1      5
    
```

<210> 149

<211> 24

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 149

attggtggta gtggtgtaa caca

24

<210> 150

<211> 8

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 150

Ile Gly Gly Ser Gly Gly Asn Thr  
 1 5

<210> 151  
 <211> 48  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 151  
 gtgaaagatc cctatggtga cstataggaac tactacggta tggacgtc

48

<210> 152  
 <211> 16  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 152  
 Val Lys Asp Pro Tyr Gly Asp Tyr Arg Asn Tyr Tyr Gly Met Asp Val  
 1 5 10 15

<210> 153  
 <211> 333  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 153  
 gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60  
 atctcctgca ggtctagtc gagcctccta catagtaatg gatacaacta tttggattgg 120  
 tacctgcaga agccagggca gtctccacaa ctctgatct atttgggttc taatcggggcc 180  
 tccggggctcc ctgacagggt caggggcagt ggatcagaca aggactttac actgaaaatc 240  
 agcagagtgg gggctgagga tgttgggggt tattactgca tgcaagctct acaaaactatc 300  
 accttcggcc aagggacacg actggagatt aaa 333

<210> 154  
 <211> 111  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 154  
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser  
 20 25 30  
 Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
 35 40 45  
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro  
 50 55 60  
 Asp Arg Phe Arg Gly Ser Gly Ser Asp Lys Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
 65 70 75 80  
 Ser Arg Val Gly Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala  
 85 90 95  
 Leu Gln Thr Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys  
 100 105 110

<210> 155  
 <211> 33  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность  
  
 <220>  
 <223> Синтетическая  
  
 <400> 155  
 cagagctcc tacatagtaa tggatasaac tat 33  
  
 <210> 156  
 <211> 11  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
  
 <220>  
 <223> Синтетическая  
  
 <400> 156  
 Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr  
 1 5 10  
  
 <210> 157  
 <211> 9  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность  
  
 <220>  
 <223> Синтетическая  
  
 <400> 157 9  
 ttgggttct  
  
 <210> 158  
 <211> 3  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
  
 <220>  
 <223> Синтетическая  
  
 <400> 158  
 Leu Gly Ser  
 1  
  
 <210> 159  
 <211> 24  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность  
  
 <220>  
 <223> Синтетическая  
  
 <400> 159 24  
 atgcaagctc tacaactat cacc  
  
 <210> 160  
 <211> 8  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
  
 <220>  
 <223> Синтетическая

<400> 160  
Met Gln Ala Leu Gln Thr Ile Thr  
1 5

<210> 161  
<211> 369  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетическая

<400> 161  
gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttgggacagc ctgggggggtc cctgagactc 60  
tcctgtggag cctctggatt catgtttaga aactatgcca tgagttgggt ccgccaggct 120  
ccaggaagg ggctggagt ggtctcaact attcttgata gtggtgataa cacatattac 180  
gcagactccg tgaaggccg gttcaccatc tccagggaca attccaagaa cacactgtat 240  
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccggtt attactgtgc gaaagatccc 300  
tatggtgact acagggacta ctacggtatg gacgtctggg gcccaaggac cacggtcacc 360  
gtctcctca 369

<210> 162  
<211> 123  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетическая

<400> 162  
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Gly Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15  
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Gly Ala Ser Gly Phe Met Phe Arg Asn Tyr  
20 25 30  
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45  
Ser Thr Ile Leu Asp Ser Gly Asp Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
50 55 60  
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
65 70 75 80  
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95  
Ala Lys Asp Pro Tyr Gly Asp Tyr Arg Asp Tyr Tyr Gly Met Asp Val  
100 105 110  
Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
115 120

<210> 163  
<211> 24  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетическая

<400> 163  
ggattcatgt ttagaaacta tgcc

24

<210> 164  
<211> 8  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетическая

1800-wo Sequence\_Russian.txt

<400> 164

Gly Phe Met Phe Arg Asn Tyr Ala  
 1 5

<210> 165

<211> 24

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 165

attccttgata gtggtgataa caca 24

<210> 166

<211> 8

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 166

Ile Leu Asp Ser Gly Asp Asn Thr  
 1 5

<210> 167

<211> 48

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 167

gcgaaagatc cctatggtga ctacagggac tactacggta tggacgtc 48

<210> 168

<211> 16

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 168

Ala Lys Asp Pro Tyr Gly Asp Tyr Arg Asp Tyr Tyr Gly Met Asp Val  
 1 5 10 15

<210> 169

<211> 333

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 169

gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60  
 atctcctgca ggtctagtca gagcctccta catagtaatg gatacaacta tttggattgg 120  
 tacctgcaga agccagggca gtctccgcaa ctctgatct atttgggttc taatcgggcc 180  
 tccggggctc ctgacagggt caggggcagt ggatcaggca aagactttac actgaaaatc 240  
 agcagagtgg aggctgagga tgttgactt tattactgca tgcaagctct acaaatatc 300  
 accttcggcc aagggacacg actggagatt aaa 333

1800-wo Sequence\_Russian.txt

<210> 170  
 <211> 111  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 170  
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser  
 20 25 30  
 Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
 35 40 45  
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro  
 50 55 60  
 Asp Arg Phe Arg Gly Ser Gly Ser Gly Lys Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
 65 70 75 80  
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Leu Tyr Tyr Cys Met Gln Ala  
 85 90 95  
 Leu Gln Thr Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys  
 100 105 110

<210> 171  
 <211> 33  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 171  
 cagagcctcc tacatagtaa tggatacaac tat

33

<210> 172  
 <211> 11  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 172  
 Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr  
 1 5 10

<210> 173  
 <211> 9  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 173  
 ttgggttct

9

<210> 174  
 <211> 3  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

1800-wo Sequence\_Russian.txt

<400> 174  
Leu Gly Ser  
1

<210> 175  
<211> 24  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетическая

<400> 175  
atgcaagctc tacaaaatat cacc 24

<210> 176  
<211> 8  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетическая

<400> 176  
Met Gln Ala Leu Gln Thr Ile Thr  
1 5

<210> 177  
<211> 384  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетическая

<400> 177  
cagggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctgggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60  
acctgcaactg tctctgggtg ctccatcagt ggttactact ggacctggat ccggcagccc 120  
ccagggaagg gactggagtg gattggatat atctattaca gtggggccac caactacaac 180  
ccctccctca agagtcgagt caccatatca ttagacacgt ccaagaacca gttctccctg 240  
aaactgagct ctgtgaccgc tgcggacacg gccgtgtatt attgtgagag agatgggaat 300  
tacgatattt tgactggtta ttataactac cactattacg gcatggacgt ctggggccaa 360  
gggaccacgg tcaccgtctc ctca 384

<210> 178  
<211> 128  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетическая

<400> 178  
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu  
1 5 10 15  
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Gly Tyr  
20 25 30  
Tyr Trp Thr Trp Ile Arg Gln Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
35 40 45  
Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys  
50 55 60  
Ser Arg Val Thr Ile Ser Leu Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu  
65 70 75 80  
Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
85 90 95

1800-wo Sequence\_Russian.txt

Arg Asp Gly Asn Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Tyr Asn Tyr His Tyr  
 100 105 110  
 Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115 120 125

<210> 179  
 <211> 24  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 179  
 ggtggctcca tcagtgggta ctac 24

<210> 180  
 <211> 8  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 180  
 Gly Gly Ser Ile ser Gly Tyr Tyr  
 1 5

<210> 181  
 <211> 21  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 181  
 atctattaca gtggggccac c 21

<210> 182  
 <211> 7  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 182  
 Ile Tyr Tyr Ser Gly Ala Thr  
 1 5

<210> 183  
 <211> 66  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 183  
 gcgagagatg ggaattaccga tattttgact gggtattata actaccacta ttaccggcatg 60  
 gacgtc 66

<210> 184  
 <211> 22

1800-wo Sequence\_Russian.txt

<212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 184  
 Ala Arg Asp Gly Asn Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Tyr Asn Tyr His  
 1 5 10 15  
 Tyr Tyr Gly Met Asp Val  
 20

<210> 185  
 <211> 321  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 185  
 gacatccaga tgaccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60  
 atcacttgtc gggcgagtca ggacattggt aattatntag cctggtttca gcagaaacca 120  
 gggaaagccc ctgagtcscct gatctatgct gcatccattt tacaagtgg ggtcccatca 180  
 aagttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240  
 gaagattttg caacttatta ctgccaacag tataatactt tcccgtggac gttcggccaa 300  
 gggaccaagg tggaatcaa a 321

<210> 186  
 <211> 107  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 186  
 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 Gly Asn Tyr  
 20 25 30  
 Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Glu Ser Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Ala Ala Ser Ile Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Lys Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Thr Phe Pro Trp  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 187  
 <211> 18  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 187  
 caggacattg gtaattat

18

<210> 188  
 <211> 6  
 <212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 188

Gln Asp Ile Gly Asn Tyr  
1 5

<210> 189

<211> 9

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 189

gctgcatcc

9

<210> 190

<211> 3

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 190

Ala Ala Ser  
1

<210> 191

<211> 27

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 191

саасagtata атаctttccc гtggaccg

27

<210> 192

<211> 9

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 192

Gln Gln Tyr Asn Thr Phe Pro Trp Thr  
1 5

<210> 193

<211> 366

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 193

cagggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtcaagc ctggagggtc cctgaggctc 60

1800-wo Sequence\_Russian.txt

tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt gactactaca tgacctggat ccgtcaggct 120  
 ccaggaggagg ggctggagtg ggtttcatac attagtata ctggcagtca cttatactac 180  
 gcagactctg tgaggggccc attcacatc tccagggaca acgccaataa ctcactgtat 240  
 ctgcaaatga acaacctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gcgagatcag 300  
 gatggggaaa tggaactacg tttctttgac tactggggcc agggaaccct ggtcaccgctc 360  
 tcctca 366

<210> 194  
 <211> 122  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 194  
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr  
 20 25 30  
 Tyr Met Thr Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Tyr Ile Ser Asp Thr Gly Ser His Leu Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Arg Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Asp Gln Asp Gly Glu Met Glu Leu Arg Phe Phe Asp Tyr Trp  
 100 105 110  
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 195  
 <211> 24  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 195  
 ggattcacct tcagtgaacta ctac 24

<210> 196  
 <211> 8  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 196  
 Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Tyr  
 1 5

<210> 197  
 <211> 24  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 197  
 attagtata ctggcagtca ctta 24

1800-wo Sequence\_Russian.txt

<210> 198  
 <211> 8  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 198  
 Ile Ser Asp Thr Gly Ser His Leu  
 1 5

<210> 199  
 <211> 45  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 199  
 gcgcgagatc aggatgggga aatggaacta cgtttctttg actac 45

<210> 200  
 <211> 15  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 200  
 Ala Arg Asp Gln Asp Gly Glu Met Glu Leu Arg Phe Phe Asp Tyr  
 1 5 10 15

<210> 201  
 <211> 321  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 201  
 gaaatagtgt tgacgcagtc tccagccact ctgtctttgt ctccagggga aagaggcacc 60  
 ctctctgca gggccagtca gagtattaac aactacttag cctggtagca gcagaaacct 120  
 ggccaggctc ccaggctcct catctttgat gcatccaaca gggccactgg catcccagcc 180  
 aggttcagtg gcagtggttc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag aatagagcct 240  
 gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag cgtaccaact ggccgctcac tttcggcgga 300  
 gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 202  
 <211> 107  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 202  
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Gly Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asn Tyr  
 20 25 30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile

1800-wo Sequence\_Russian.txt

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

<210> 203  
 <211> 18  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 203  
 cagagtatta acaactac

18

<210> 204  
 <211> 6  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 204  
 Gln Ser Ile Asn Asn Tyr  
 1 5

<210> 205  
 <211> 9  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 205  
 gatgcatcc

9

<210> 206  
 <211> 3  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 206  
 Asp Ala Ser  
 1

<210> 207  
 <211> 27  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 207

cagcagcgtgta ccaactggcc gctcact

27

<210> 208  
 <211> 9  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 208  
 Gln Gln Arg Thr Asn Trp Pro Leu Thr  
 1 5

<210> 209  
 <211> 381  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 209  
 caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60  
 acctgactg tctctggggtg cttcatcagt aattactact ggagctggat ccggcagccc 120  
 ccagggaagg gactggagtg gattggatat atctattata gtgggagcac caagtacaac 180  
 ccctccctca agagtcgagt caccatatca gtagacacgt csaagaacca gttctccctg 240  
 aagctgagct ctgtgagcgc tgcggacacg gccgtgtatt actgtgagcag agatgggggtt 300  
 gtagcagcag ctggtcctccc ttaccactac cactacgggtt tggacgtctg gggccaaggg 360  
 accacgggtca ccgtctcctc a 381

<210> 210  
 <211> 127  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

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

<210> 211  
 <211> 24  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 211

ggtggcttca tcagtaatta ctac 24

<210> 212  
 <211> 8  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 212  
 Gly Gly Phe Ile Ser Asn Tyr Tyr  
 1 5

<210> 213  
 <211> 21  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 213  
 atctattata gtgggagcac c 21

<210> 214  
 <211> 7  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 214  
 Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr  
 1 5

<210> 215  
 <211> 63  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 215  
 gcgagagatg gggttgtagc agcagctggt cccsstacc actaccаста cggtttgгac 60  
 gtc 63

<210> 216  
 <211> 21  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 216  
 Ala Arg Asp Gly Val Val Ala Ala Ala Gly Pro Pro Tyr His Tyr His  
 1 5 10 15  
 Tyr Gly Leu Asp Val  
 20

<210> 217  
 <211> 339

1800-wo Sequence\_Russian.txt

<212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 217  
 gacatcgtga tgaccsagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggсga gagggccacc 60  
 atcaactgca agtccagcca gaatctttta tacacctcca gcaataagaa ctccttagct 120  
 tggtagcagc agaaaccagg acagcctcct gagctgctca tttactgggc atctaccсgg 180  
 gaatccgggg tcсctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cattctcacc 240  
 atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcagcaata ttatagtagt 300  
 ccgtggacgt tcggccaagg gaccaagggtg gaaatcaaa 339

<210> 218  
 <211> 113  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 218  
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Asn Leu Leu Tyr Thr  
 20 25 30  
 Ser Ser Asn Lys Asn Ser Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln  
 35 40 45  
 Pro Pro Glu Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val  
 50 55 60  
 Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ile Leu Thr  
 65 70 75 80  
 Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln  
 85 90 95  
 Tyr Tyr Ser Ser Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile  
 100 105 110  
 Lys

<210> 219  
 <211> 36  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 219  
 cagaatcttt tatacacctc cagcaataag aactcc 36

<210> 220  
 <211> 12  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 220  
 Gln Asn Leu Leu Tyr Thr Ser Ser Asn Lys Asn Ser  
 1 5 10

<210> 221  
 <211> 9  
 <212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 221

tgggcatct

9

<210> 222

<211> 3

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 222

Trp Ala Ser

1

<210> 223

<211> 27

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 223

cagcaatatt atagtagtcc gtggacg

27

<210> 224

<211> 9

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 224

Gln Gln Tyr Tyr Ser Ser Pro Trp Thr

1

5

<210> 225

<211> 372

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 225

caggtgcagc	tggtggagtc	tgggggaggc	ttggtcaagc	ctggagggtc	cctgagactc	60
tcctgtgcag	cctctggatt	caccttcagt	gactactaca	tgacctggat	ccgccagggt	120
ccagggaaag	gactggagtg	ggtttcatat	atcagtagta	ctgggaataa	cagatattac	180
ggagactctg	tgaagggccg	attcgccatc	tcaagggaca	acgccaagaa	cttactgttt	240
ctgcaaatga	acagcctgaa	agccgaggac	acggccgttt	attactgtgc	aagagagaat	300
aattggaatc	cttacttctt	ctactatggg	atggacgtct	ggggccaagg	gaccacggtc	360
accgtctcct	ca					372

<210> 226

<211> 124

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 226

```

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

```

<210> 227

<211> 24

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 227

ggattcacct tcagtgacta ctac

24

<210> 228

<211> 8

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 228

```

Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Tyr
 1          5

```

<210> 229

<211> 24

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 229

atcagtagta ctggaataa caaa

24

<210> 230

<211> 8

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 230

```

Ile Ser Ser Thr Gly Asn Asn Arg
 1          5

```

1800-wo Sequence\_Russian.txt

<210> 231  
 <211> 51  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 231  
 gcaagagaga ataattggaа tccttacttc ttctactatg gtatggacgt с 51

<210> 232  
 <211> 17  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 232  
 Ala Arg Glu Asn Asn Trp Asn Pro Tyr Phe Phe Tyr Tyr Gly Met Asp  
 1 5 10 15  
 Val

<210> 233  
 <211> 321  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 233  
 gacatccaga tgaccsagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60  
 atcacttgtc gggcgagtca gggatttagc atctggtag cctggatca gcagaaacca 120  
 gggaaagccc ctaaactcct gatctctgct gcgtccactt tgcaaagtgg ggtcccatca 180  
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240  
 gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tcccgttgac gttcggccaa 300  
 gggaccaagp tggaaatcaa а 321

<210> 234  
 <211> 107  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 234  
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ile Trp  
 20 25 30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Ser Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Leu  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 235  
 <211> 18  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность  
  
 <220>  
 <223> Синтетическая  
  
 <400> 235  
 cagggtatta gcatctgg 18  
  
 <210> 236  
 <211> 6  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
  
 <220>  
 <223> Синтетическая  
  
 <400> 236  
 Gln Gly Ile Ser Ile Trp  
 1 5  
  
 <210> 237  
 <211> 9  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность  
  
 <220>  
 <223> Синтетическая  
  
 <400> 237  
 gctgctcc 9  
  
 <210> 238  
 <211> 3  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
  
 <220>  
 <223> Синтетическая  
  
 <400> 238  
 Ala Ala Ser  
 1  
  
 <210> 239  
 <211> 27  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность  
  
 <220>  
 <223> Синтетическая  
  
 <400> 239  
 caacaggsta acagtttccc gttgacg 27  
  
 <210> 240  
 <211> 9  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
  
 <220>  
 <223> Синтетическая  
  
 <400> 240

Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Leu Thr  
 1 5

<210> 241  
 <211> 351  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 241  
 caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtgggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120  
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatattatg aaggaagtaa tgattactat 180  
 gtagactccg tgaagggccg attcacatc tccagagaca attccaaaaa cacgctatat 240  
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagaagggac 300  
 tggaaactcct ttgactattg gggccagggc accctgggtca ccgtctcctc a 351

<210> 242  
 <211> 117  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 242  
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ala Val Ile Tyr Tyr Glu Gly Ser Asn Asp Tyr Tyr Val Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Arg Asp Trp Asn Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 100 105 110  
 Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 243  
 <211> 24  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 243  
 ggattcacct tcagtagcta tggc 24

<210> 244  
 <211> 8  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 244  
 Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly

1

5

<210> 245  
 <211> 24  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 245  
 atatattatg aaggaagtaa tgat 24

<210> 246  
 <211> 8  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 246  
 I I e T y r T y r G l u G l y S e r A s n A s p  
 1 5

<210> 247  
 <211> 30  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 247  
 g c g a g a a g g g a c t g g a a c t c c t t t g a c t a t 30

<210> 248  
 <211> 10  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 248  
 A l a A r g A r g A s p T r p A s n S e r P h e A s p T y r  
 1 5 10

<210> 249  
 <211> 336  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 249  
 g a t a t t g t g a t g a c t c a g t c t c c a c t c t c c c t g g a g a g c c g g c c t c c 60  
 a t c t c c t g c a g g t c c a g t c a g a a c c t c c t a a t a g a a a t g g a t t c a a c t a t t t g g a t t g g 120  
 t a t t t g c a g a g c c a g g g c a g t c t c c a c a g c t c t g a t c t a t t t g g g t t c t a a t c g g g c c 180  
 t c c g g g g t c c t g a c a g g t t c a g t g g c a g t g g a t c a g g c a c a g a t t t t a c a c t g a a a a t c 240  
 a g c a g a g t g g a g g t t g a g g a t g t t g g g g t t a t t a t t g c a t g c a a g c t a t a c a a a c t c c g 300  
 t a c a c t t t t g g c c a g g g g a c c a a g c t g g a g a t c a a a 336

<210> 250

1800-w0 Sequence\_Russian.txt

<211> 112  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая  
 <400> 250  
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Asn Leu Leu Asn Arg  
 20 25 30  
 Asn Gly Phe Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
 35 40 45  
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro  
 50 55 60  
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
 65 70 75 80  
 Ser Arg Val Glu Val Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala  
 85 90 95  
 Ile Gln Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
 100 105 110

<210> 251  
 <211> 33  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 251  
 caaacctcc taaatagaaa tggattcaac tat

33

<210> 252  
 <211> 11  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 252  
 Gln Asn Leu Leu Asn Arg Asn Gly Phe Asn Tyr  
 1 5 10

<210> 253  
 <211> 9  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 253  
 ttgggttct

9

<210> 254  
 <211> 3  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 254

Leu Gly Ser  
1

<210> 255  
<211> 27  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетическая

<400> 255  
atgcaagcta tacaactcc gtacast

27

<210> 256  
<211> 9  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетическая

<400> 256  
Met Gln Ala Ile Gln Thr Pro Tyr Thr  
1 5

<210> 257  
<211> 369  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетическая

<400> 257  
gaagtgcagc tgggtggagtc tggggggagac ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60  
tcctgtgtag cctctggatt cacctttgat gattatgcc a tgcactgggt ccggcaagct 120  
ccaggaagg gcctggagtg ggtctcaggt gttagttgga gtggtagtac cgtaggctat 180  
gctgactctg tgaagggccg attcacctgc tccagagaca acgcccagaa atccctgtat 240  
ctacaaatga acagtctgag agctgaggac acggccttgt attactgtgt aaaagacgcg 300  
tataaataca actactacta ctacggtttg gacgtctggt gccaaaggac cacggtcacc 360  
gtctcctca 369

<210> 258  
<211> 123  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетическая

<400> 258  
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Gln Pro Gly Arg  
1 5 10 15  
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr  
20 25 30  
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45  
Ser Gly Val Ser Trp Ser Gly Ser Thr Val Gly Tyr Ala Asp Ser Val  
50 55 60  
Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ala Gln Lys Ser Leu Tyr  
65 70 75 80  
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys  
85 90 95  
Val Lys Asp Ala Tyr Lys Tyr Asn Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Leu Asp Val  
100 105 110

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

<210> 259  
 <211> 24  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 259  
 ggattcacct ttgatgatta tgcc 24

<210> 260  
 <211> 8  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 260  
 Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala  
 1 5

<210> 261  
 <211> 24  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 261  
 gttagtggga gtggtagtagc cgta 24

<210> 262  
 <211> 8  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 262  
 Val Ser Trp Ser Gly Ser Thr Val  
 1 5

<210> 263  
 <211> 48  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 263  
 gtaaaagacg cgtataaata caactactac tactacgggtt tggacgtc 48

<210> 264  
 <211> 16  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

1800-wo Sequence\_Russian.txt

<220>

<223> Синтетическая

<400> 264

Val Lys Asp Ala Tyr Lys Tyr Asn Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Leu Asp Val  
 1 5 10 15

<210> 265

<211> 321

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 265

gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcctgca gggccagtca gactattctc agcaacttag cctggtagct acagaaacct 120  
 ggccaggctc ccaggctcct catctatggt gcatccacca gggccactgg tctcccagcc 180  
 aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagag ttcactctca ccatcagcag cctgcagtct 240  
 gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag tataataact ggcctctcac tttcggcgga 300  
 gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 266

<211> 107

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 266

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

<210> 267

<211> 18

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 267

cagactattc tcagcaac

18

<210> 268

<211> 6

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

&lt;400&gt; 268

Gln Thr Ile Leu Ser Asn  
1 5

&lt;210&gt; 269

&lt;211&gt; 9

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Синтетическая

&lt;400&gt; 269

ggtgcatcc

9

&lt;210&gt; 270

&lt;211&gt; 3

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Синтетическая

&lt;400&gt; 270

Gly Ala Ser

1

&lt;210&gt; 271

&lt;211&gt; 27

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Синтетическая

&lt;400&gt; 271

cagcagtata ataactggcc tctcact

27

&lt;210&gt; 272

&lt;211&gt; 9

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Синтетическая

&lt;400&gt; 272

Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Leu Thr

1

5

&lt;210&gt; 273

&lt;211&gt; 369

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Синтетическая

&lt;400&gt; 273

gaagtgcagc	tggtggagtc	tgggggagac	ttggtacagc	ctggcaggtc	cctgagactc	60
tcctgtgtag	ccctctggatt	cacctttgat	gattatgcca	tgcaactgggt	ccggcaagct	120
ccagggaagg	gcctggagtg	ggtctcaggt	gtagttgga	gtggtagtac	cgtaggctat	180
gcggactctg	tgaagggccg	attcaccgtc	tccagagaca	acgcccagaa	atccctgtat	240
ctacaaatga	acagtctgag	agctgaggac	acggccttgt	attactgtgt	aaaagacgcg	300
tataaattca	actactacta	ctacggtttg	gacgtctggg	gccaagggac	cacggtcacc	360

gtctcctca

<210> 274  
 <211> 123  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 274  
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Gln Pro Gly Arg  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr  
 20 25 30  
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Gly Val Ser Trp Ser Gly Ser Thr Val Gly Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ala Gln Lys Ser Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Val Lys Asp Ala Tyr Lys Phe Asn Tyr Tyr Tyr Gly Leu Asp Val  
 100 105 110  
 Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 275  
 <211> 24  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 275  
 ggattcacct ttgatgatta tgcc

24

<210> 276  
 <211> 8  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 276  
 Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala  
 1 5

<210> 277  
 <211> 24  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 277  
 gttagttgga gtggtagtagc cgta

24

<210> 278  
 <211> 8  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 278

Val Ser Trp Ser Gly Ser Thr Val  
1 5

<210> 279

<211> 48

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 279

gtaaaagacg cgtataaatt caactactac tactacgggtt tggacgtc 48

<210> 280

<211> 16

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 280

Val Lys Asp Ala Tyr Lys Phe Asn Tyr Tyr Tyr Gly Leu Asp Val  
1 5 10 15

<210> 281

<211> 321

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 281

gaaatagtga tgacgcatgc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga aagagccacc 60  
ctctcctgca gggccagtca gactattctc agcaacttag cctggtagct acagaaacct 120  
ggccaggctc ccaggctcct catctatggt gcatccacca gggccactgg tctcccagcc 180  
aggttcagtg gcagtggttc tgggacagag ttcactctca ccatcagcag cctgcagtct 240  
gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag tataataact ggcctctcac tttcggcgga 300  
gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 282

<211> 107

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 282

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



<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 288

Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Leu Thr  
1 5

<210> 289

<211> 369

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 289

```
caggcagc tggagcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaggatc 60
tcctgtaagg cttctggcga caccttcacc ggctactata taaactgggt gcgccaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcaatacta acagtgggtg cacatacttt 180
tcacagaaat ttcaggctcag ggtcatcctg accagggaca cgtccatcaa cacagcctac 240
atggagttga gcaggctgag atctgacgac acggccgttt attactgtgc gagaatgttt 300
tacgatattt tgactaattc tgatattttt gatatttggg gcccaagggac aatggtcacc 360
gtctcttca                                     369
```

<210> 290

<211> 123

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 290

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

<210> 291

<211> 24

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 291

ggcgacacst tcaccggcta ctat

24

<210> 292

<211> 8

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 292

Gly Asp Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr  
1 5

<210> 293

<211> 24

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 293

atcaatacta acagtgggtgg caca

24

<210> 294

<211> 8

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 294

Ile Asn Thr Asn Ser Gly Gly Thr  
1 5

<210> 295

<211> 48

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 295

gcgagaatgt tttacgatat tttgactaat tctgatattt ttgatatt

48

<210> 296

<211> 16

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 296

Ala Arg Met Phe Tyr Asp Ile Leu Thr Asn Ser Asp Ile Phe Asp Ile  
1 5 10 15

<210> 297

<211> 321

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 297

gacatccaga tgaccscagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cacagtcacc 60

1800-wo Sequence\_Russian.txt

atcacttgcc gggcaagtca ggacataaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca 120  
 gggaaagccc ctaagtgcct gatctatggt gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180  
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct 240  
 gaagattttg caacttatta ctgtctacaa cataaaaatt acatgtacac ttttggccag 300  
 gggaccaagt tggagatcaa a 321

<210> 298  
 <211> 107  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 298  
 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 Arg Asn Asp  
 20 25 30  
 Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Cys Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Gly Ala Ser Ser 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  
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Lys Asn Tyr Met Tyr  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 299  
 <211> 18  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 299 caggacataa gaaatgat 18

<210> 300  
 <211> 6  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 300  
 Gln Asp Ile Arg Asn Asp  
 1 5

<210> 301  
 <211> 9  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 301 ggtgcatcc 9

<210> 302  
 <211> 3

1800-WO Sequence\_Russian.txt

<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетическая

<400> 302  
Gly Ala Ser  
1

<210> 303  
<211> 27  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетическая

<400> 303  
ctacaacata aaaattacat gtacact

27

<210> 304  
<211> 9  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетическая

<400> 304  
Leu Gln His Lys Asn Tyr Met Tyr Thr  
1 5

<210> 305  
<211> 345  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетическая

<400> 305  
caggtgcagc tacagcagtg gggcgcagga ctgttgaagc cttcggagac cctgtccctc 60  
acctgcgctg tctatggtag gtcacctcagt gattactact ggagctggat ccgccagccc 120  
ccaggaagg ggctggagt gattgggaa atcaatcata gtggagacac caactacgac 180  
ccgtccctca agagtcgact caccatctca gttagacacgt ccaagaacca gttctccctg 240  
aagctgaact ctgtgaccgc cgcggacacg gctgtgtatt actgtgagag cctgtatttc 300  
aatttttgga tgtggggtcg aggagccctg gtcaccgtct cctca 345

<210> 306  
<211> 115  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетическая

<400> 306  
Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu  
1 5 10 15  
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Leu Ser Asp Tyr  
20 25 30  
Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
35 40 45  
Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Asp Pro Ser Leu Lys  
50 55 60

1800-wo Sequence\_Russian.txt

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

<210> 307  
 <211> 24  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 307  
 ggtgggtccc tcagtgatta ctac 24

<210> 308  
 <211> 8  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 308  
 Gly Gly Ser Leu Ser Asp Tyr Tyr  
 1 5

<210> 309  
 <211> 21  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 309  
 atcaatcata gtggagacac c 21

<210> 310  
 <211> 7  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 310  
 Ile Asn His Ser Gly Asp Thr  
 1 5

<210> 311  
 <211> 27  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 311  
 gcgagcctgt atttcaatth ttggatg 27

1800-wo Sequence\_Russian.txt

<210> 312  
 <211> 9  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 312  
 Ala Ser Leu Tyr Phe Asn Phe Trp Met  
 1 5

<210> 313  
 <211> 336  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 313  
 gatattgtga tgaccagac tccactctcc tcacctgtca ttcttggaca gccggcctcc 60  
 atctcctgca ggtctagtca aagcctcgta tacagtgatg gaaacaccta cttgagttgg 120  
 cttcagcaga gccaggcca gcctccaaga ctcctaattt ataagatttc taaccgggtc 180  
 tctgggggtcc cagacagatt cagtggcagt gggacagga cagatttcac actgaaaatc 240  
 agcaggggtg aagctgagga tgtcgaatt tattactgca tgcaaaactac acaatttccg 300  
 ctcaatttcg gcggagggac caaggtggag atcaaa 336

<210> 314  
 <211> 112  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 314  
 Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Ser Pro Val Ile Leu Gly  
 1 5 10 15  
 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Tyr Ser  
 20 25 30  
 Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Ser Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro  
 35 40 45  
 Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Ile Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro  
 50 55 60  
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
 65 70 75 80  
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Ile Tyr Tyr Cys Met Gln Thr  
 85 90 95  
 Thr Gln Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105 110

<210> 315  
 <211> 33  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 315  
 caaagcctcg tatacagtga tggaaacacc tac

33

<210> 316  
 <211> 11

<212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Синтетическая  
 <400> 316  
 Gln Ser Leu Val Tyr Ser Asp Gly Asn Thr Tyr  
 1 5 10

<210> 317  
 <211> 9  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 317  
 aagatttct

9

<210> 318  
 <211> 3  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 318  
 Lys Ile Ser  
 1

<210> 319  
 <211> 27  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 319  
 atgcaaaacta cacaatttcc gctcact

27

<210> 320  
 <211> 9  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 320  
 Met Gln Thr Thr Gln Phe Pro Leu Thr  
 1 5

<210> 321  
 <211> 369  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 321

1800-wo Sequence\_Russian.txt

```

caggtgcagt tggagcaatc tggggctgag gtgaagaagc ctgggacctc agtgaggatc 60
tcctgcaagg ctcttggcga catcttcacc ggctactata tgaactgggt gcgccaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcaatacta acagtgggtg cacatacttt 180
tcacagagat ttcagggcag ggtcacctcg accagggaca cgtccatcag aacagcctac 240
atggagtga gcaggctgag atctgacgac acggccgttt attactgtgc gagaatgttt 300
tacgatattt tgactggttc tgatgttttt gatatttggg gcccaaggac aatggtcacc 360
gtctcttca 369

```

<210> 322  
 <211> 123  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 322  
 Gln Val Gln Leu Glu Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Thr  
 1 5 10 15  
 Ser Val Arg Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Asp Ile Phe Thr Gly Tyr  
 20 25 30  
 Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45  
 Gly Trp Ile Asn Thr Asn Ser Gly Gly Thr Tyr Phe Ser Gln Arg Phe  
 50 55 60  
 Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Arg Asp Thr Ser Ile Arg Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80  
 Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Met Phe Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Ser Asp Val Phe Asp Ile  
 100 105 110  
 Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 323  
 <211> 24  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 323  
 ggcgacatct tcaccggcta cstat 24

<210> 324  
 <211> 8  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 324  
 Gly Asp Ile Phe Thr Gly tyr tyr  
 1 5

<210> 325  
 <211> 24  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 325

atcaatacta acagtgggtgg caca 24

<210> 326  
 <211> 8  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 326  
 Ile Asn Thr Asn Ser Gly Gly Thr  
 1 5

<210> 327  
 <211> 48  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 327  
 gcgagaatgt tttacgatat tttgactggg tctgatgttt ttgatatt 48

<210> 328  
 <211> 16  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 328  
 Ala Arg Met Phe Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Ser Asp Val Phe Asp Ile  
 1 5 10 15

<210> 329  
 <211> 321  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 329  
 gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctggtggaga cagagtcacc 60  
 atcacttgcc gggcaagtca ggacataaga aatgatttag gctggatca ccagaaacca 120  
 gggaaagccc ctaagtgcct gatctatggg gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatct 180  
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct 240  
 gaagattttg caacttatta ctgtctaca cataaaaatt acatgtacac ttttggccag 300  
 gggaccaagt tggagatcaa a 321

<210> 330  
 <211> 107  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 330  
 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 Arg Asn Asp  
 20 25 30

1800-wo Sequence\_Russian.txt

Leu Gly Trp Tyr His Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Cys Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Gly Ala Ser Ser 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  
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Lys Asn Tyr Met Tyr  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 331  
 <211> 18  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 331  
 caggacataa gaaatgat

18

<210> 332  
 <211> 6  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 332  
 Gln Asp Ile Arg Asn Asp  
 1 5

<210> 333  
 <211> 9  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 333  
 ggtgcatcc

9

<210> 334  
 <211> 3  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 334  
 Gly Ala Ser  
 1

<210> 335  
 <211> 27  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 335  
 ctacaacata aaaattacat gtacact 27

<210> 336  
 <211> 9  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 336  
 Leu Gln His Lys Asn Tyr Met Tyr Thr  
 1 5

<210> 337  
 <211> 384  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 337  
 gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggagggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctctggatt caccatcagc aattatgaaa tgaactgggt ccgtcaggct 120  
 ccaggaagg ggctggagtg ggtttcatac attagtacta gtggtattac catatactac 180  
 gcagactctg tgcagggccg attcaccatc tccagagaca atgccaagaa ctcactgtat 240  
 ctgcaattga acagcctgag agccgaggac acggctgttt attactgtgc gcggggatat 300  
 tgtacaaatg gtgtatgcta tccccattac tactactccg atatggacgt ctggggccaa 360  
 gggaccacgg tcaccgtctc ctca 384

<210> 338  
 <211> 128  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 338  
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Ile Ser Asn Tyr  
 20 25 30  
 Glu Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Tyr Ile Ser Thr Ser Gly Ile Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Gln Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Gly Tyr Cys Thr Asn Gly Val Cys Tyr Pro His Tyr Tyr Tyr  
 100 105 110  
 Ser Asp Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115 120 125

<210> 339  
 <211> 24  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 339  
ggattcacca tcagtaatta tgaа 24

<210> 340  
<211> 8  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетическая

<400> 340  
Gly Phe Thr Ile Ser Asn Tyr Glu  
1 5

<210> 341  
<211> 24  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетическая

<400> 341  
attagtacta gtggtattac cata 24

<210> 342  
<211> 8  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетическая

<400> 342  
Ile Ser Thr Ser Gly Ile Thr Ile  
1 5

<210> 343  
<211> 63  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетическая

<400> 343  
gсgсggggat attgtасааа tggтgтatgc tatccccatt actactactc cगतatggac 60  
gtc 63

<210> 344  
<211> 21  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетическая

<400> 344  
Ala Arg Gly Tyr Cys Thr Asn Gly Val Cys Tyr Pro His Tyr Tyr Tyr  
1 5 10 15  
Ser Asp Met Asp Val  
20

<210> 345

1800-WO Sequence\_Russian.txt

<211> 321  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 345  
 gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagactcacc 60  
 atcacttgcc gggcaagtca gaccattagc acctatitaa attggtttca gcagaaagta 120  
 gggaatgcc ctaaactcct gatctattct acatccagtt tgcaaagtgg ggtcccagca 180  
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240  
 gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta gtcctccgac gttcggccaa 300  
 gggaccaagg tggaatcaa a 321

<210> 346  
 <211> 107  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 346  
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15  
 Asp Arg Leu Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Thr Ile Ser Thr Tyr  
 20 25 30  
 Leu Asn Trp Phe Gln Gln Lys Val Gly Asn Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Ser Thr Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Ser Pro Pro  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 347  
 <211> 18  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 347  
 cagaccatta gcacstat 18

<210> 348  
 <211> 6  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая

<400> 348  
 Gln Thr Ile Ser Thr Tyr  
 1 5

<210> 349  
 <211> 9  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Синтетическая

&lt;400&gt; 349

tctacatcc

9

&lt;210&gt; 350

&lt;211&gt; 3

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Синтетическая

&lt;400&gt; 350

Ser Thr Ser

1

&lt;210&gt; 351

&lt;211&gt; 27

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Синтетическая

&lt;400&gt; 351

саасаgagtt асаgtagtcc тссgасg

27

&lt;210&gt; 352

&lt;211&gt; 9

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Синтетическая

&lt;400&gt; 352

Gln Gln Ser Tyr Ser Ser Pro Pro Thr

1

5

&lt;210&gt; 353

&lt;211&gt; 560

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Синтетическая

&lt;400&gt; 353

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

Glu Leu Pro Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Thr Lys Lys Thr

1800-wo Sequence\_Russian.txt

115  
 Asn Val Thr Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu  
 120  
 130 Thr Leu Ser Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu  
 135  
 Leu Gly Val Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Ile Ala Val Ser Lys Val  
 145  
 Leu His Leu Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser  
 150  
 Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr  
 165  
 Ser Lys Val Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro  
 180  
 Ile Val Asn Lys Gln Ser Cys Arg Ile Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile  
 195  
 Glu Phe Gln Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe  
 210  
 225 Ser Val Asn Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr  
 230  
 Asn Ser Glu Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp  
 245  
 Gln Lys Lys Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser  
 260  
 Tyr Ser Ile Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val  
 275  
 Gln Leu Pro Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His  
 290  
 305 Thr Ser Pro Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys  
 310  
 Leu Thr Arg Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val  
 325  
 Ser Phe Phe Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val  
 340  
 Phe Cys Asp Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Asn Leu  
 355  
 370 Cys Asn Val Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr  
 385  
 Ser Lys Thr Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile  
 405  
 Val Ser Cys Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg  
 420  
 Gly Ile Ile Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys  
 435  
 Gly Val Asp Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys  
 450  
 Gln Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe  
 465  
 Tyr Asp Pro Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser  
 485  
 Gln Val Asn Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser  
 500  
 Asp Glu Leu Leu His His Val Asn Ala Gly Lys Ser Thr Thr Asn Ile  
 515  
 Met Ile Thr Thr Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Gly Gly  
 530  
 Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu His His His His His  
 545  
 550  
 555  
 560

<210> 354

<211> 574

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая

<400> 354

Met Glu Leu Pro Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Ala  
 1 5 10 15

## 1800-wo Sequence\_Russian.txt

Ala	Val	Thr	Phe	Cys	Phe	Ala	Ser	Ser	Gln	Asn	Ile	Thr	Glu	Glu	Phe
			20					25					30		
Tyr	Gln	Ser	Thr	Cys	Ser	Ala	Val	Ser	Lys	Gly	Tyr	Leu	Ser	Ala	Leu
		35					40					45			
Arg	Thr	Gly	Trp	Tyr	Thr	Ser	Val	Ile	Thr	Ile	Glu	Leu	Ser	Asn	Ile
		50				55					60				
Lys	Glu	Asn	Lys	Cys	Asn	Gly	Thr	Asp	Ala	Lys	Val	Lys	Leu	Ile	Asn
65					70					75					80
Gln	Glu	Leu	Asp	Lys	Tyr	Lys	Asn	Ala	Val	Thr	Glu	Leu	Gln	Leu	Leu
				85					90					95	
Met	Gln	Ser	Thr	Thr	Ala	Ala	Asn	Asn	Arg	Ala	Arg	Arg	Glu	Leu	Pro
			100					105					110		
Arg	Phe	Met	Asn	Tyr	Thr	Leu	Asn	Asn	Thr	Lys	Lys	Thr	Asn	Val	Thr
		115					120					125			
Leu	Ser	Lys	Lys	Arg	Lys	Arg	Arg	Phe	Leu	Gly	Phe	Leu	Leu	Gly	Val
	130					135					140				
Gly	Ser	Ala	Ile	Ala	Ser	Gly	Ile	Ala	Val	Ser	Lys	Val	Leu	His	Leu
145					150					155					160
Glu	Gly	Glu	Val	Asn	Lys	Ile	Lys	Ser	Ala	Leu	Leu	Ser	Thr	Asn	Lys
				165					170					175	
Ala	Val	Val	Ser	Leu	Ser	Asn	Gly	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Ser	Lys	Val
			180					185					190		
Leu	Asp	Leu	Lys	Asn	Tyr	Ile	Asp	Lys	Gln	Leu	Leu	Pro	Ile	Val	Asn
		195					200					205			
Lys	Gln	Ser	Cys	Arg	Ile	Ser	Asn	Ile	Glu	Thr	Val	Ile	Glu	Phe	Gln
	210					215					220				
Gln	Lys	Asn	Asn	Arg	Leu	Leu	Glu	Ile	Thr	Arg	Glu	Phe	Ser	Val	Asn
225					230					235					240
Ala	Gly	Val	Thr	Thr	Pro	Val	Ser	Thr	Tyr	Met	Leu	Thr	Asn	Ser	Glu
				245					250					255	
Leu	Leu	Ser	Leu	Ile	Asn	Asp	Met	Pro	Ile	Thr	Asn	Asp	Gln	Lys	Lys
			260				265						270		
Leu	Met	Ser	Asn	Asn	Val	Gln	Ile	Val	Arg	Gln	Gln	Ser	Tyr	Ser	Ile
		275					280					285			
Met	Ser	Ile	Ile	Lys	Glu	Glu	Val	Leu	Ala	Tyr	Val	Val	Gln	Leu	Pro
	290					295					300				
Leu	Tyr	Gly	Val	Ile	Asp	Thr	Pro	Cys	Trp	Lys	Leu	His	Thr	Ser	Pro
305					310					315					320
Leu	Cys	Thr	Thr	Asn	Thr	Lys	Glu	Gly	Ser	Asn	Ile	Cys	Leu	Thr	Arg
				325					330					335	
Thr	Asp	Arg	Gly	Trp	Tyr	Cys	Asp	Asn	Ala	Gly	Ser	Val	Ser	Phe	Phe
			340					345					350		
Pro	Gln	Ala	Glu	Thr	Cys	Lys	Val	Gln	Ser	Asn	Arg	Val	Phe	Cys	Asp
		355					360					365			
Thr	Met	Asn	Ser	Leu	Thr	Leu	Pro	Ser	Glu	Val	Asn	Leu	Cys	Asn	Val
		370				375					380				
Asp	Ile	Phe	Asn	Pro	Lys	Tyr	Asp	Cys	Lys	Ile	Met	Thr	Ser	Lys	Thr
385					390					395					400
Asp	Val	Ser	Ser	Ser	Val	Ile	Thr	Ser	Leu	Gly	Ala	Ile	Val	Ser	Cys
				405					410					415	
Tyr	Gly	Lys	Thr	Lys	Cys	Thr	Ala	Ser	Asn	Lys	Asn	Arg	Gly	Ile	Ile
				420					425				430		
Lys	Thr	Phe	Ser	Asn	Gly	Cys	Asp	Tyr	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Val	Asp
		435					440					445			
Thr	Val	Ser	Val	Gly	Asn	Thr	Leu	Tyr	Tyr	Val	Asn	Lys	Gln	Glu	Gly
	450					455					460				
Lys	Ser	Leu	Tyr	Val	Lys	Gly	Glu	Pro	Ile	Ile	Asn	Phe	Tyr	Asp	Pro
465					470					475					480
Leu	Val	Phe	Pro	Ser	Asp	Glu	Phe	Asp	Ala	Ser	Ile	Ser	Gln	Val	Asn
				485					490					495	
Glu	Lys	Ile	Asn	Gln	Ser	Leu	Ala	Phe	Ile	Arg	Lys	Ser	Asp	Glu	Leu
			500					505					510		
Leu	His	His	Val	Asn	Ala	Gly	Lys	Ser	Thr	Thr	Asn	Ile	Met	Ile	Thr
		515					520					525			
Thr	Ile	Ile	Ile	Val	Ile	Ile	Val	Ile	Leu	Leu	Ser	Leu	Ile	Ala	Val
	530					535					540				
Gly	Leu	Leu	Leu	Tyr	Cys	Lys	Ala	Arg	Ser	Thr	Pro	Val	Thr	Leu	Ser
545					550					555					560

1800-wo Sequence\_Russian.txt

Lys Asp Gln Leu Ser Gly Ile Asn Asn Ile Ala Phe Ser Asn  
565 570

<210> 355  
<211> 11  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетическая

<400> 355  
Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu  
1 5 10

<210> 356  
<211> 17  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетическая

<400> 356  
Leu Ser Thr Asn Lys Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val  
1 5 10 15  
Leu

<210> 357  
<211> 454  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетическая  
AM22 HC

<400> 357  
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
1 5 10 15  
Thr Val Lys Val Ser Cys Lys Ile Ser Gly His Thr Leu Ile Lys Leu  
20 25 30  
Ser Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met  
35 40 45  
Gly Gly Tyr Glu Gly Glu Val Asp Glu Ile Phe Tyr Ala Gln Lys Phe  
50 55 60  
Gln His Arg Leu Thr Val Ile Ala Asp Thr Ala Thr Asp Thr Val Tyr  
65 70 75 80  
Met Glu Leu Gly Arg Leu Thr Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys  
85 90 95  
Gly Thr Leu Gly Val Thr Val Thr Glu Ala Gly Leu Gly Ile Asp Asp  
100 105 110  
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys  
115 120 125  
Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly  
130 135 140  
Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro  
145 150 155 160  
Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr  
165 170 175  
Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val  
180 185 190  
Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn  
195 200 205

1800-wo Sequence\_Russian.txt

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

<210> 358  
 <211> 215  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая  
 AM22 LC

<400> 358  
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ile Val Ser Arg Asn  
 20 25 30  
 His Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45  
 Ile Phe Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Val Arg Phe Ser  
 50 55 60  
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Gly Leu Ala  
 65 70 75 80  
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Leu Ser Ser Asp Ser Ser Ile  
 85 90 95  
 Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Phe Lys Arg Thr Val Ala  
 100 105 110  
 Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser  
 115 120 125  
 Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu  
 130 135 140  
 Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser  
 145 150 155 160  
 Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu  
 165 170 175  
 Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val  
 180 185 190

1800-wo Sequence\_Russian.txt

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys  
 195 200 205  
 Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210 215

<210> 359  
 <211> 450  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая  
 Мотавизумаб НС

<400> 359  
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln  
 1 5 10 15  
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala  
 20 25 30  
 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu  
 35 40 45  
 Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser  
 50 55 60  
 Leu Lys Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val  
 65 70 75 80  
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr  
 85 90 95  
 Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Phe Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln  
 100 105 110  
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val  
 115 120 125  
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala  
 130 135 140  
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser  
 145 150 155 160  
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val  
 165 170 175  
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro  
 180 185 190  
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys  
 195 200 205  
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp  
 210 215 220  
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly  
 225 230 235 240  
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile  
 245 250 255  
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu  
 260 265 270  
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His  
 275 280 285  
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg  
 290 295 300  
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys  
 305 310 315 320  
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu  
 325 330 335  
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr  
 340 345 350  
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu  
 355 360 365  
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp  
 370 375 380  
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val  
 385 390 395 400  
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp  
 405 410 415

1800-wo Sequence\_Russian.txt

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His  
 420 425 430  
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro  
 435 440 445  
 Gly Lys  
 450

<210> 360  
 <211> 213  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая  
 Мотавизумаб LC

<400> 360  
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met  
 20 25 30  
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr  
 35 40 45  
 Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser  
 50 55 60  
 Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp  
 65 70 75 80  
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr  
 85 90 95  
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro  
 100 105 110  
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr  
 115 120 125  
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys  
 130 135 140  
 Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu  
 145 150 155 160  
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser  
 165 170 175  
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala  
 180 185 190  
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe  
 195 200 205  
 Asn Arg Gly Glu Cys  
 210

<210> 361  
 <211> 450  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетическая  
 Паливизумаб HC

<400> 361  
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln  
 1 5 10 15  
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser  
 20 25 30  
 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu  
 35 40 45  
 Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser  
 50 55 60  
 Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val  
 65 70 75 80

1800-wo Sequence\_Russian.txt

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

<210> 362

<211> 213

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая  
Паливизумаб LC

<400> 362

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

## 1800-wo Sequence\_Russian.txt

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

&lt;210&gt; 363

&lt;211&gt; 453

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Синтетическая

&lt;400&gt; 363

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Gln Pro Gly Arg  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr  
 20 25 30  
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Gly Val Ser Trp Ser Gly Ser Thr Val Gly Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ala Gln Lys Ser Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Val Lys Asp Ala Tyr Lys Phe Asn Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Leu Asp Val  
 100 105 110  
 Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly  
 115 120 125  
 Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly  
 130 135 140  
 Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val  
 145 150 155 160  
 Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe  
 165 170 175  
 Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val  
 180 185 190  
 Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val  
 195 200 205  
 Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys  
 210 215 220  
 Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu  
 225 230 235 240  
 Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr  
 245 250 255  
 Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val  
 260 265 270  
 Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val  
 275 280 285  
 Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser

## 1800-WO Sequence\_Russian.txt

290  
 Thr Tyr Arg Val Val Ser 295 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu  
 305 310 315 320  
 Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala  
 325 330 335  
 Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro  
 340 345 350  
 Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln  
 355 360 365  
 Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala  
 370 375 380  
 Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr  
 385 390 395 400  
 Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu  
 405 410 415  
 Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser  
 420 425 430  
 Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser  
 435 440 445  
 Leu Ser Pro Gly Lys  
 450

&lt;210&gt; 364

&lt;211&gt; 214

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Синтетическая

&lt;400&gt; 364

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Thr Ile Leu Ser Asn  
 20 25 30  
 Leu Ala Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Leu Pro Ala Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Leu  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala  
 100 105 110  
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly  
 115 120 125  
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala  
 130 135 140  
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln  
 145 150 155 160  
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser  
 165 170 175  
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr  
 180 185 190  
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser  
 195 200 205  
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210

**ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ**

1. Выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с белком F респираторного синцитиального вируса (PCV-F), при этом антитело обладает одной или более из следующих характеристик:
  - (a) представляет собой полностью человеческое моноклональное антитело;
  - (b) взаимодействует с аминокислотной последовательностью, содержащей аминокислотные остатки в диапазоне приблизительно от позиции 161 приблизительно до позиции 188 из SEQ ID NO: 354;
  - (c) взаимодействует с серином в позиции 173 из SEQ ID NO: 354 или треонином в позиции 174 из SEQ ID NO: 354 или как с серином в позиции 173 из SEQ ID NO: 354, так и с треонином в позиции 174 из SEQ ID NO: 354;
  - (d) способно нейтрализовать штаммы респираторного синцитиального вируса подтипа А и подтипа В *in vitro*;
  - (e) демонстрирует способность существенно снижать назальную и/или легочную вирусную нагрузку *in vivo* в животной модели РСВ-инфекции; или
  - (f) ингибирует слияние вируса с клеткой.
2. Выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с белком F респираторного синцитиального вируса (PCV-F), при этом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент взаимодействует с аминокислотной последовательностью, содержащей аминокислотные остатки в диапазоне приблизительно от позиции 161 приблизительно до позиции 188 из SEQ ID NO: 354.
3. Выделенное антитело по п. 2, отличающееся тем, что антитело представляет собой полностью человеческое моноклональное антитело, которое нейтрализует штаммы респираторного синцитиального вируса подтипа А и/или подтипа В *in vitro* и *in vivo*.
4. Выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-3, отличающееся тем, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент демонстрирует способность существенно снижать легочную вирусную нагрузку в мышинной модели РСВ-инфекции при применении в дозировке в диапазоне от около 0,05 мг/кг до около 0,15 мг/кг.
5. Выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-4, отличающееся тем, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент демонстрирует в 1-2 раза большее логарифмическое снижение назальных и/или легочных вирусных

титров по сравнению с паливизумабом в модели РСВ-инфекции с хлопковыми хомяками при применении в дозировке в диапазоне от около 0,62 мг/кг до около 5,0 мг/кг.

6. Выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-5, отличающееся тем, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент демонстрирует ED<sub>99</sub>, составляющую около 0,15 мг/кг или менее при применении в мышинной модели РСВ-инфекции подтипа А.

7. Выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-6, отличающееся тем, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент демонстрирует ED<sub>99</sub>, составляющую около 0,62 мг/кг или менее при применении в модели РСВ-инфекции подтипа А с хлопковыми хомяками.

8. Выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-7, отличающееся тем, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент демонстрирует ED<sub>99</sub>, составляющую около 2,5 мг/кг или менее при применении в модели РСВ-инфекции подтипа В с хлопковыми хомяками.

9. Выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-8, отличающееся тем, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент демонстрирует ED<sub>99</sub>, приблизительно в 2-3 раза ниже, чем ED<sub>99</sub> для паливизумаба или мотавизумаба.

10. Выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-9, отличающееся тем, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент демонстрирует эффективность нейтрализации одного или более лабораторных штаммов РСВ подтипа А, которая приблизительно в 15-17 раз улучшена по сравнению с паливизумабом, или демонстрирует эффективность нейтрализации одного или более клинических штаммов РСВ подтипа А, которая приблизительно в 10-22 раза улучшена по сравнению с паливизумабом.

11. Выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-10, отличающееся тем, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент демонстрирует эффективность нейтрализации одного или более лабораторных штаммов РСВ подтипа В, которая приблизительно в 2-5 раз улучшена по сравнению с паливизумабом.

12. Выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-11, отличающееся тем, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент демонстрирует эффективность нейтрализации одного или более лабораторных штаммов РСВ подтипа А или клинических штаммов РСВ подтипа А, которая приблизительно в

0,5-2 раза улучшена по сравнению с АМ-22.

13. Выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-12, отличающееся тем, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент демонстрирует эффективность нейтрализации одного или более лабораторных штаммов РСВ подтипа В, которая приблизительно в 2,5-17 раз улучшена по сравнению с АМ-22.
14. Выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-13, отличающееся тем, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент специфически связывается с РСВ-F с  $K_D$  в диапазоне от  $1,0 \times 10^{-7}$  М до  $6,0 \times 10^{-10}$  М, определенную методом поверхностного плазмонного резонанса.
15. Выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-14, отличающееся тем, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи (HCVR), имеющую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146, 162, 178, 194, 210, 226, 242, 258, 274, 290, 306, 322 и 338.
16. Выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-15, отличающееся тем, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область легкой цепи (LCVR), имеющую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 138, 154, 170, 186, 202, 218, 234, 250, 266, 282, 298, 314, 330 и 346.
17. Выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-16, содержащее пару аминокислотных последовательностей HCVR/LCVR, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: SEQ ID NO: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154, 162/170, 178/186, 194/202, 210/218, 226/234, 242/250, 258/266, 274/282, 290/298, 306/314, 322/330 и 338/346.
18. Выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 17, содержащее пару аминокислотных последовательностей HCVR/LCVR, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 274/282 и 338/346.
19. Выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с РСВ-F, при этом антитело содержит три CDR тяжелой цепи (HCDR1, HCDR2 и HCDR3), которые находятся в пределах аминокислотной последовательности переменной области тяжелой цепи (HCVR), выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146, 162, 178, 194, 210, 226, 242, 258, 274, 290, 306, 322 и 338; и содержит три CDR легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и

LCDR3), которые находятся в пределах аминокислотной последовательности варибельной области легкой цепи (LCVR), выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 138, 154, 170, 186, 202, 218, 234, 250, 266, 282, 298, 314, 330 и 346.

20. Выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывается с РСВ-Ф, содержащее:

(a) домен HCDR3, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 8, 24, 40, 56, 72, 88, 104, 120, 136, 152, 168, 184, 200, 216, 232, 248, 264, 280, 296, 312, 328 и 344; и

(b) домен LCDR3, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 16, 32, 48, 64, 80, 96, 112, 128, 144, 160, 176, 192, 208, 224, 240, 256, 272, 288, 304, 320, 336 и 352.

21. Выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 20, дополнительно содержащее:

(c) домен HCDR1, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 4, 20, 36, 52, 68, 84, 100, 116, 132, 148, 164, 180, 196, 212, 228, 244, 260, 276, 292, 308, 324 и 340;

(d) домен HCDR2, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 6, 22, 38, 54, 70, 86, 102, 118, 134, 150, 166, 182, 198, 214, 230, 246, 262, 278, 294, 310, 326 и 342;

(e) домен LCDR1, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 12, 28, 44, 60, 76, 92, 108, 124, 140, 156, 172, 188, 204, 220, 236, 252, 268, 284, 300, 316, 332 и 348; и

(f) домен LCDR2, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 14, 30, 46, 62, 78, 94, 110, 126, 142, 158, 174, 190, 206, 222, 238, 254, 270, 286, 302, 318, 334 и 350.

22. Выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое конкурирует за специфическое связывание с РСВ-Ф с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, содержащим пары последовательностей тяжелой и легкой цепей, выбранные из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58,

66/74, 82/90, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154, 162/170, 178/186, 194/202, 210/218, 226/234, 242/250, 258/266, 274/282, 290/298, 306/314, 322/330 и 338/346.

23. Выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с тем же самым эпитопом РСВ-F, который распознается антителом, содержащим пары последовательностей тяжелой и легкой цепей, выбранные из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154, 162/170, 178/186, 194/202, 210/218, 226/234, 242/250, 258/266, 274/282, 290/298, 306/314, 322/330 и 338/346.

24. Выделенное антитело по любому из пп. 1-23 или его антигенсвязывающий фрагмент, отличающееся тем, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент взаимодействует по меньшей мере с одной аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 355 и 356.

25. Выделенное антитело по любому из пп. 1-23 или его антигенсвязывающий фрагмент, отличающееся тем, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент взаимодействует по меньшей мере с одним остатком в пределах остатков от 161 до 188 из SEQ ID NO: 354.

26. Выделенное антитело по любому из пп. 1-23 или его антигенсвязывающий фрагмент, отличающееся тем, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент взаимодействует по меньшей мере с одним остатком в пределах SEQ ID NO: 355 или SEQ ID NO:356.

27. Выделенное антитело по любому из пп. 1-23 или его антигенсвязывающий фрагмент, отличающееся тем, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент взаимодействует с серином в позиции 173 из SEQ ID NO: 354 или треонином в позиции 174 из SEQ ID NO: 354 или как с серином в позиции 173 из SEQ ID NO: 354, так и с треонином в позиции 174 из SEQ ID NO: 354.

28. Выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по пп. 2 или 3, отличающееся тем, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит три

CDR тяжелой цепи (HCDR1, HCDR2 и HCDR3), которые находятся в пределах аминокислотной последовательности вариабельной области тяжелой цепи (HCVR) из SEQ ID NO: 274; и три CDR легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3), которые находятся в пределах аминокислотной последовательности вариабельной области легкой цепи (LCVR) из SEQ ID NO: 282.

29. Выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 28, содержащее:

(a) домен HCDR1, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 276;

(b) домен HCDR2, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 278;

(c) домен HCDR3, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 280;

(d) домен LCDR1, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 284;

(e) домен LCDR2, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 286; и

(f) домен LCDR3, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 288.

30. Выделенное антитело по пп. 28 или 29 или его антигенсвязывающий фрагмент, отличающееся тем, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент взаимодействует по меньшей мере с одной аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 355 и 356.

31. Выделенное антитело по пп. 28 или 29 или его антигенсвязывающий фрагмент, отличающееся тем, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент взаимодействует по меньшей мере с одним аминокислотным остатком в пределах остатков от 161 до 188 из SEQ ID NO: 354.

32. Выделенное антитело по пп. 28 или 29 или его антигенсвязывающий фрагмент, отличающееся тем, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент взаимодействует по меньшей мере с одним аминокислотным остатком в пределах SEQ ID NO: 355 или SEQ

ID NO:356.

33. Выделенное антитело по пп. 28 или 29 или его антигенсвязывающий фрагмент, отличающееся тем, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент взаимодействует с серином в позиции 173 из SEQ ID NO: 354 или треонином в позиции 174 из SEQ ID NO: 354 или как с серином в позиции 173 из SEQ ID NO: 354, так и с треонином в позиции 174 из SEQ ID NO: 354.
34. Выделенное антитело по любому из пп. 1-21, отличающееся тем, что антитело перекрестно не конкурирует с паливизумабом или АМ-22 за связывание РСВ-Е.
35. Выделенное антитело по любому из пп. 1-21 или 28-34, отличающееся тем, что антитело не связывается с эпитопом РСВ-Е в диапазоне от аминокислотного остатка 255 до аминокислотного остатка 276 из SEQ ID NO: 354.
36. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-35.
37. Экспрессионный вектор, содержащий молекулу нуклеиновой кислоты по п. 36.
38. Клетка-хозяин, содержащая экспрессионный вектор по п. 37.
39. Способ предотвращения или лечения инфекции, вызванной респираторным синцитиальным вирусом (РСВ), или по меньшей мере одного симптома, связанного с РСВ-инфекцией, включающий введение нуждающемуся в этом пациенту антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп. 1-35, или композиции, содержащей антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-35, при этом происходит предотвращение РСВ-инфекции или облегчение или снижение количества или тяжести по меньшей мере одного симптома, связанного с инфекцией.
40. Способ по п. 39, отличающийся тем, что введение приводит к предотвращению у пациента рецидивирующей бронхиальной обструкции.
41. Способ по п. 39, отличающийся тем, что введение приводит к предотвращению у ребенка связанной с РСВ астмы.
42. Способ по п. 39, отличающийся тем, что РСВ-инфекция вызвана респираторным

синцитиальным вирусом подтипа А или подтипа В.

43. Способ по п. 39, отличающийся тем, что нуждающийся в лечении пациент представляет собой пациента с высоким риском развития РСВ-инфекции или пациента, у которого может развиться более тяжелая форма РСВ-инфекции вследствие наличия первопричинного или предрасполагающего патологического состояния.

44. Способ по п. 43, отличающийся тем, что пациентом является недоношенный ребенок, доношенный ребенок, ребенок в возрасте одного года или старше, имеющий или не имеющий первопричинное патологическое состояние (*например*, врожденный порок сердца, хроническое заболевание легких, муковисцидоз, иммунодефицит, нервно-мышечное заболевание), помещенный в лечебное учреждение или госпитализированный пациент или пожилой человек (возрастом более 65 лет), имеющий или не имеющий первопричинное патологическое состояние, такое как застойная сердечная недостаточность или хроническое обструктивное заболевание легких.

45. Способ по пп. 43 или 44, отличающийся тем, что пациент страдает от патологического состояния в результате нарушения легочной, сердечнососудистой, нервно-мышечной или иммунной системы.

46. Способ по п. 45, отличающийся тем, что патологическое состояние выбрано из группы, состоящей из патологии дыхательных путей, хронического заболевания легких, хронического заболевания сердца, нервно-мышечного заболевания, которое приводит к нарушению управления секрецией из органов дыхания и иммуносупрессии.

47. Способ по п. 46, отличающийся тем, что хроническое заболевание легких представляет собой хроническое обструктивное заболевание легких (ХОЗЛ), муковисцидоз или бронхопульмональную дисплазию.

48. Способ по п. 46, отличающийся тем, что хроническое заболевание сердца представляет собой застойную сердечную недостаточность (ЗСН) или врожденный порок сердца.

49. Способ по п. 46, отличающийся тем, что иммуносупрессия является результатом тяжелого комбинированного иммунодефицита или тяжелого приобретенного иммунодефицита или является результатом любого другого инфекционного заболевания или ракового состояния, которое приводит к иммуносупрессии, или является результатом лечения иммуносупрессорными лекарственными препаратами или лучевой терапии.

50. Способ по п. 39, отличающийся тем, что по меньшей мере один симптом выбран из группы, состоящей из высокой температуры, заложенности носа, кашля, снижения

аппетита, гипоксии, затруднения дыхания (учащенного дыхания или нехватки дыхания), свистящего дыхания, апноэ, обезвоживания, плохого питания и изменения психического состояния.

51. Способ по п. 39, отличающийся тем, что пациенту, нуждающемуся в лечении, вводят антитело или его антигенсвязывающий фрагмент профилактически или терапевтически.

52. Способ по п. 39, отличающийся тем, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят путем, выбранным из группы, состоящей из внутривенного, внутримышечного и подкожного пути.

53. Способ по п. 39, отличающийся тем, что пациенту вводят антитело или его антигенсвязывающий фрагмент в комбинации со вторым терапевтическим агентом.

54. Способ по п. 53, отличающийся тем, что второй терапевтический агент выбран из группы, состоящей из противовирусного агента; вакцины, специфической в отношении РСВ, вакцины, специфической в отношении вируса гриппа, или вакцины, специфической в отношении метапневмовируса (МПВ); миРНК, специфической в отношении антигена РСВ или антигена метапневмовируса (МПВ); второго антитела, специфического в отношении антигена РСВ или антигена метапневмовируса (МПВ); анти-IL4R антитела, антитела, специфического в отношении антигена вируса гриппа, анти-РСВ-G антитела или НПВП.

55. Фармацевтическая композиция, содержащая одно или более выделенных антител или их антигенсвязывающих фрагментов по любому из пп. 1-35 и фармацевтически приемлемый носитель.

56. Фармацевтическая композиция по п. 55 для применения в предотвращении инфекции, вызванной респираторным синцитиальным вирусом (РСВ), у нуждающегося в этом пациента или для лечения пациента, страдающего от РСВ-инфекции, или для облегчения по меньшей мере одного симптома или осложнения, связанного с инфекцией, при этом происходит предотвращение инфекции или предотвращение, облегчение или уменьшение тяжести и/или продолжительности по меньшей мере одного симптома или осложнения, связанного с инфекцией.

57. Применение фармацевтической композиции по п. 55 в производстве медикамента для предотвращения инфекции, вызванной респираторным синцитиальным вирусом (РСВ), у нуждающегося в этом пациента или для лечения пациента, страдающего от РСВ-инфекции, или для облегчения по меньшей мере одного симптома или осложнения,

связанного с инфекцией, при этом происходит предотвращение инфекции или предотвращение, облегчение или уменьшение тяжести и/или продолжительности по меньшей мере одного симптома или осложнения, связанного с инфекцией.

58. Применение по пп. 56 или 57, отличающееся тем, что нуждающийся в лечении пациент представляет собой пациента с высоким риском развития РСВ-инфекции или пациента, у которого может развиться более тяжелая форма РСВ-инфекции вследствие наличия первопричинного или предсуществующего патологического состояния.

59. Применение по любому из пп. 56-58, отличающееся тем, что нуждающийся в лечении пациент представляет собой недоношенного ребенка, доношенного ребенка, ребенка в возрасте одного года или старше, имеющего или не имеющего первопричинное патологическое состояние (*например*, врожденный порок сердца, хроническое заболевание легких, муковисцидоз, иммунодефицит, нервно-мышечное заболевание), помещенного в лечебное учреждение или госпитализированного пациента или пожилого человека (возрастом более 65 лет), имеющего или не имеющего первопричинное патологическое состояние, такое как застойная сердечная недостаточность или хроническое обструктивное заболевание легких.

60. Применение по п. 59, отличающееся тем, что пациент страдает от патологического состояния в результате нарушения легочной, сердечнососудистой, нервно-мышечной или иммунной системы.

61. Применение по п. 60, отличающееся тем, что патологическое состояние выбрано из группы, состоящей из патологии дыхательных путей, хронического заболевания легких, хронического заболевания сердца, нервно-мышечного заболевания, которое приводит к нарушению управления секрецией из органов дыхания и иммуносупрессии.

62. Применение по п. 61, отличающееся тем, что хроническое заболевание легких представляет собой хроническое обструктивное заболевание легких (ХОЗЛ), муковисцидоз или бронхопульмональную дисплазию.

63. Применение по п. 61, отличающееся тем, что хроническое заболевание сердца представляет собой застойную сердечную недостаточности (ЗСН) или врожденный порок сердца.

64. Применение по п. 61, отличающееся тем, что иммуносупрессия является результатом тяжелого комбинированного иммунодефицита или тяжелого приобретенного иммунодефицита или является результатом любого другого инфекционного заболевания или ракового состояния, которое приводит к иммуносупрессии, или является результатом

лечения иммуносупрессорными лекарственными препаратами или лучевой терапии.

65. Применение по пп. 56 или 57, отличающееся тем, что по меньшей мере один симптом выбран из группы, состоящей из высокой температуры, заложенности носа, кашля, снижения аппетита, гипоксии, затруднения дыхания (учащенного дыхания или нехватки дыхания), свистящего дыхания, апноэ, обезвоживания, плохого питания и изменения психического состояния.

66. Применение по пп. 56 или 57, отличающееся тем, что пациенту, нуждающемуся в лечении, вводят антитело или его антигенсвязывающий фрагмент профилактически или терапевтически.

67. Применение по пп. 56 или 57, отличающееся тем, что композицию вводят путем, выбранным из группы, состоящей из внутривенного, внутримышечного и подкожного пути.

68. Применение по пп. 56 или 57, отличающееся тем, что пациенту вводят композицию в комбинации со вторым терапевтическим агентом.

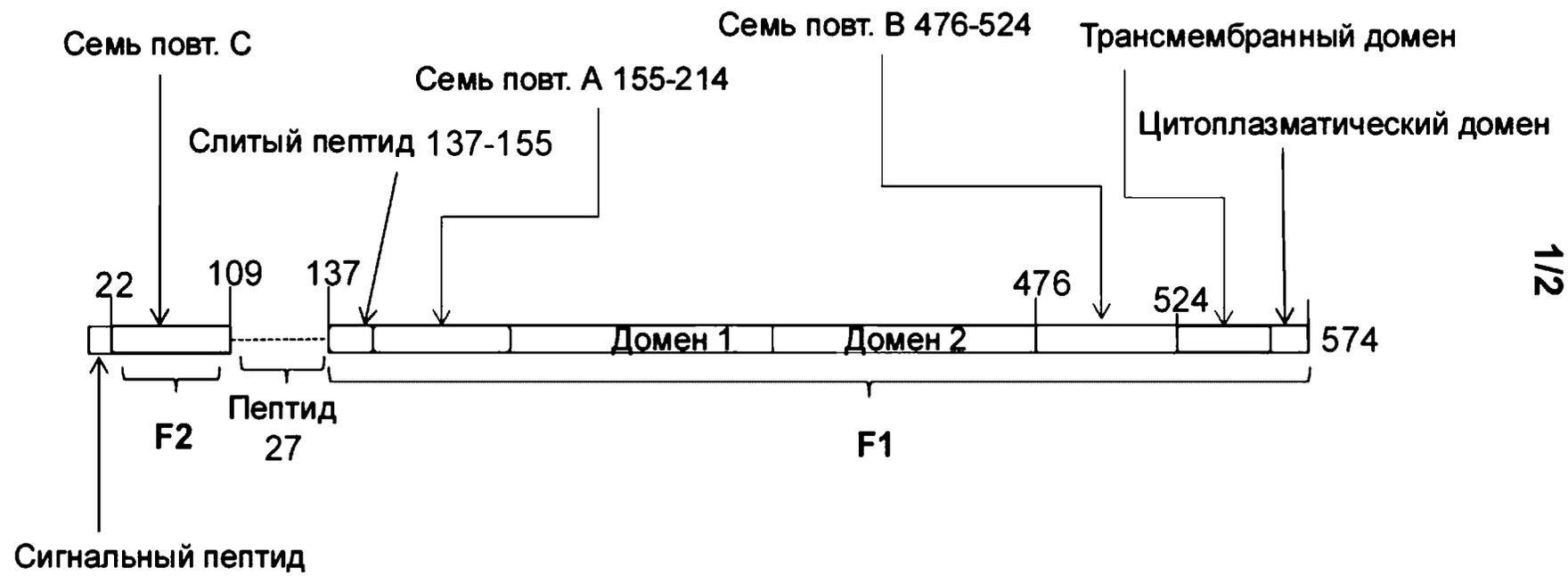
69. Применение по п. 68, отличающееся тем, что второй терапевтический агент выбран из группы, состоящей из противовирусного агента; вакцины, специфической в отношении РСВ, вакцины, специфической в отношении вируса гриппа, или вакцины, специфической в отношении метапневмовируса (МПВ); миРНК, специфической в отношении антигена РСВ или антигена метапневмовируса (МПВ); второго антитела, специфического в отношении антигена РСВ или антигена метапневмовируса (МПВ); анти-IL4R антитела, антитела, специфического в отношении антигена вируса гриппа, анти-РСВ-G антитела или НПВП.

70. Иммуногенная композиция, содержащая аминокислотную последовательность в диапазоне приблизительно от позиции 161 приблизительно до позиции 188 из SEQ ID NO: 354 и фармацевтически приемлемый носитель.

71. Иммуногенная композиция, содержащая аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 355 и/или SEQ ID NO: 356 и фармацевтически приемлемый носитель.

72. Иммуногенная композиция по п. 70 или 71, дополнительно содержащая адъювант.

По доверенности

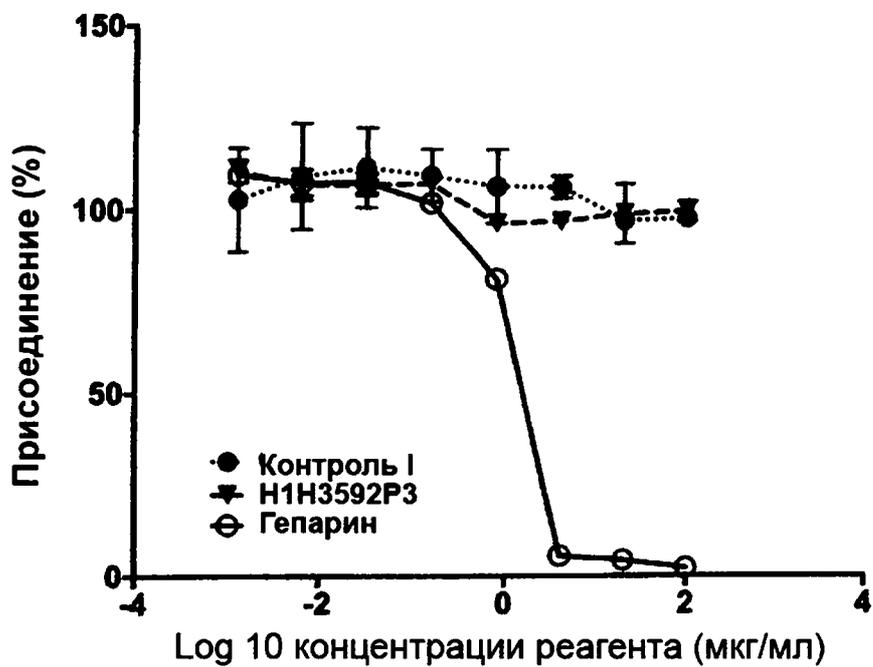


1/2

Фигура 1

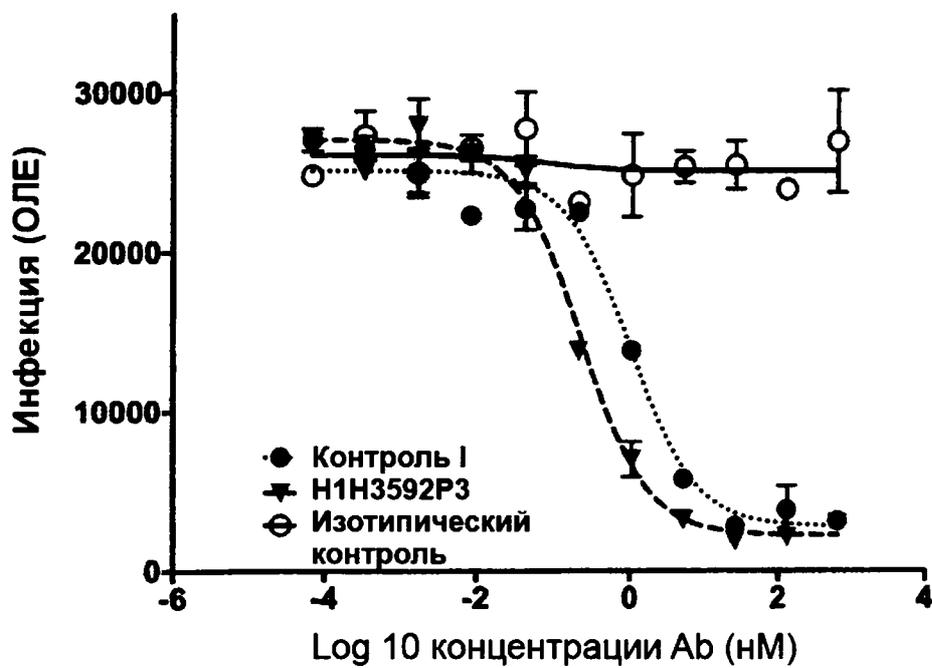
A

## Присоединение



B

## Слияние



Фигура 2