



(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2018.06.29

(21) Номер заявки
201171383

(22) Дата подачи заявки
2010.05.06

(51) Int. Cl. **C07K 16/10** (2006.01)
A61K 39/42 (2006.01)

(54) ЧЕЛОВЕЧЕСКИЕ СВЯЗЫВАЮЩИЕ МОЛЕКУЛЫ, ОБЛАДАЮЩИЕ СПОСОБНОСТЬЮ НЕЙТРАЛИЗОВАТЬ ВИРУС ГРИППА H3N2, И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

(31) 09159947.2; 61/215,890; 10151155.8

(32) 2009.05.11; 2009.05.11; 2010.01.20

(33) EP; US; EP

(43) 2012.05.30

(86) PCT/EP2010/056217

(87) WO 2010/130636 2010.11.18

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ЯНССЕН ВЭКСИНС ЭНД
ПРЕВЕНШН Б.В. (NL)**

(72) Изобретатель:
**Тросби Марк, Фризен Роберт Хайнц
Эдвард, Квакс Теодорус Хендрикус
Якобус, Йонгенелен Манди Антония
Катарина (NL)**

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

(56) WO-A-2008028946
WO-A-2009053604
WO-A-2009036157
YOSHIDA REIKO et al.: "Cross-protective potential of a novel monoclonal antibody directed against antigenic site B of the hemagglutinin of influenza A viruses". PLOS PATHOGENS, Mar 2009, vol. 5, no. 3, March 2009 (2009-03), page E1000350, XP002541080, ISSN: 1553-7374, the whole document

STROPKOVSKÁ A. et al.: "Broadly cross-reactive monoclonal antibodies against HA2 glycopeptide of influenza A virus hemagglutinin of H3 subtype reduce replication of influenza A viruses of human and avian origin". ACTA VIROLOGICA, 2009, vol. 53, no. 1,

March 2009 (2009-03), pages 15-20, XP009121270, ISSN: 0001-723X, cited in the application, page 19; figure 4

GOCNIK M. et al.: "Antibodies specific to the HA2 glycopolyptide of influenza A virus haemagglutinin with fusion-inhibition activity contribute to the protection of mice against lethal infection", JOURNAL OF GENERAL VIROLOGY, vol. 88, no. Part 3, March 2007 (2007-03), pages 951-955, XP002541081, ISSN: 0022-1317, the whole document

THROSBY MARK et al.: "Heterosubtypic neutralizing monoclonal antibodies cross-protective against H5N1 and H1N1 recovered from human IgM+ memory B cells". PLOS ONE, 2008, vol. 3, no. 12, 2008, page E3942, XP002541082, ISSN: 1932-6203, the whole document

KASHYAP ARUN K. et al.: "Combinatorial antibody libraries from survivors of the Turkish H5N1 avian influenza outbreak reveal virus neutralization strategies", PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE, Washington, DC, US, vol. 105, no. 16, 22 April 2008 (2008-04-22), pages 5986-5991, XP002488075, ISSN: 0027-8424, the whole document

LIU SHUO et al.: "Panorama phylogenetic diversity and distribution of Type A influenza virus". PLOS ONE 2009, vol. 4, no. 3, 27 March 2009 (2009-03-27), page E5022, XP002541083, ISSN: 1932-6203, table 1

WO-A-2008110937

WO-A-2009035420

SUI JIANHUA et al.: "Structural and functional bases for broad-spectrum neutralization of avian and human influenza A viruses". NATURE STRUCTURAL AND MOLECULAR BIOLOGY, NATURE PUBLISHING GROUP, US, [Online], vol. 16, no. 3, 1 March 2009 (2009-03-01), pages 265-273, XP002538005, ISSN: 1545-9993, Retrieved from the Internet:URL:10.1038/NSMB.1566> [retrieved on 2009-02-22], page 268 - page 269; figure 5

WO-A-2009079259

(57) Изобретение относится к связывающим молекулам, таким как человеческие моноклональные антитела, которые связываются с вирусом гриппа, содержащим HA подтипа H3, таким как H3N2, и обладают нейтрализующей активностью широкого ряда, направленной против таких вирусов гриппа. Изобретение также относится к молекулам нуклеиновой кислоты, кодирующим антитела, к их последовательностям, к композициям, содержащим указанные антитела, и к способам идентификации или получения таких антител. Указанные антитела могут быть использованы для диагностики, профилактики и/или лечения инфекции, вызываемой вирусом гриппа подтипа H3N2. В предпочтительном варианте изобретения указанные антитела обеспечивают перекрестную защиту против инфекций, вызываемых вирусами различных подтипов, в результате чего могут быть

осуществлены профилактика и/или лечение инфекций, вызываемых вирусами гриппа подтипов H3, H7 и/или H10.

029939 B1

029939 B1

Область, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к медицине. В частности, настоящее изобретение относится к человеческим связывающим молекулам, обладающим способностью нейтрализовывать вирусы гриппа А различных подтипов, включая нейтрализующие связывающие молекулы против вирусов гриппа, содержащих НА подтипа Н3, таких как вирус гриппа Н3Н2. Более конкретно, настоящее изобретение относится к диагностике, профилактике и/или лечению инфекций, вызываемых вирусом гриппа, содержащих НА подтипа Н3, в частности вирусов гриппа Н3Н2.

Предшествующий уровень техники

Вирусы гриппа представляют собой РНК-содержащие ортомиксовирусы, которые подразделяются на три типа: А, В и С. Вирусы гриппа типов В и С являются в основном патогенными для человека, а вирусы гриппа А поражают птиц и млекопитающих широкого ряда, включая человека, лошадей, морских млекопитающих, свиней, хорьков и кур. У большинства животных вирусы гриппа А вызывают слабовыраженные локализованные инфекции дыхательных путей и кишечного тракта. Однако существуют и высокопатогенные подтипы вируса А, такие как H5N1, которые вызывают системные инфекции у домашней птицы, и смертность от этих инфекций может достигать 100%. Некоторые подтипы вирусов гриппа А могут также вызывать тяжелые заболевания у человека.

Вирусы гриппа А могут быть подразделены на подтипы на основе аллельных вариантов в антигенных областях двух генов, кодирующих поверхностные гликопротеины, а именно гемагглютинин (НА) и нейраминидазу (NA), которые необходимы для связывания вируса с клеткой и его высвобождения из клетки. Другими основными вирусными белками являются нуклеопротеин, нуклеокапсидный структурный белок, мембранные белки (M1 и M2), полимеразы (PA, PB и PB2) и неструктурные белки (NS1 и NS2). В настоящее время известны шестнадцать подтипов антигенных вариантов НА (H1-H16) и девять подтипов антигенных вариантов NA (N1-N9) вируса гриппа А. Подтипы вируса гриппа могут быть также классифицированы по их филогенетическим группам.

Филогенетический анализ (Fouchier et al., 2005) показал, что НА могут быть подразделены на две основные группы (Aig, 1981): *inter alia*, филогенетическую группу 1, включающую вирусы, содержащие НА подтипов H1, H2, H5 и H9, и *inter alia*, филогенетическую группу 2, включающую вирусы, содержащие НА подтипов H3, H4 и H7 (фиг. 1).

У людей обнаруживались лишь некоторые подтипы вируса гриппа А (т.е. H1N1, H1N2 и H3N2), но у птиц были идентифицированы все комбинации из 16 подтипов НА и 9 подтипов NA. Животные, инфицированные вирусом гриппа А, часто служат резервуаром для вирусов гриппа, и было обнаружено, что вирусы некоторых подтипов, такие как высокопатогенный штамм H5N1 вируса гриппа А, пересекают видовой барьер и передаются человеку.

Известно, что грипп является одним из наиболее распространенных заболеваний у человека, и каждый год во всем мире регистрируется от 3 до 5 млн тяжелых случаев этого заболевания и от 250000 до 500000 случаев летального исхода. Вирус гриппа быстро распространяется при сезонных эпидемиях, которые охватывают 5-15% населения и приводят к большим экономическим потерям, связанным с расходами на лечение и с потерей производительности труда (по данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ)). Случаи госпитализации и смертности затрагивают, главным образом, группы высокого риска (пожилых людей и людей с хроническими заболеваниями).

Ежегодные эпидемии гриппа возникают при изменении антигенных свойств вирусных поверхностных белков НА и NA. Механизм изменения антигенных свойств имеет двойственную природу, т.е. эти изменения происходят в результате антигенной изменчивости, вызываемой геной реаранжировкой между вирусами человека и животного после двойного инфицирования клеток-хозяев, что может приводить к пандемии и в результате антигенной изменчивости, вызываемой небольшими модификациями белков НА и NA на поверхности вируса, что может приводить к возникновению эпидемий гриппа. Появление модифицированных вирусных штаммов под действием этих двух механизмов является причиной вспышек эпидемии гриппа. За последнее столетие вирусы гриппа А три раза подвергались значительным генетическим изменениям, главным образом, в их НА-компоненте, что приводило к глобальным пандемиям и к большим потерям, связанным с высокой заболеваемостью и смертностью. Самой известной пандемией был грипп "испанка", вызванный вирусом гриппа H1N1, которым была поражена большая часть населения всего мира, и известно, что от этого заболевания в 1918-1919 годах умерло по меньшей мере 40 млн человек. Позже возникли пандемии, вызванные двумя другими вирусами гриппа А, а именно пандемия 1957 года ("азиатского гриппа", вызванная вирусом гриппа H2N2) и пандемия 1968 года ("гонконгского гриппа", вызванная вирусом гриппа H3N2), и эти пандемии привели к высокой заболеваемости и смертности людей во всем мире. В отличие от текущих сезонных эпидемий гриппа эти пандемии также привели к тяжелым потерям среди более молодого здорового населения.

Современные методы борьбы с ежегодными эпидемиями гриппа включают ежегодную вакцинацию, предпочтительно вакцинацию, обеспечивающую гетеротипическую перекрестную защиту. Однако, как указывалось выше, вирусы гриппа, циркулирующие в кровотоке человека, подвергаются перманентным антигенным изменениям, которые требуют ежегодного проведения адаптации известных вакцин против гриппа, которые обеспечивали бы по возможности наиболее близкую совместимость между

штаммами вакцин против гриппа и штаммами вируса гриппа, циркулирующего в кровотоке.

Несмотря на то что ежегодная вакцинация против гриппа является наилучшим методом профилактики гриппа, однако для профилактики и лечения гриппа эффективными могут также оказаться и противовирусные лекарственные средства, такие как оселтамивир (Tamiflu®). Однако число штаммов вируса гриппа, приобретающих резистентность к такому средству, как оселтамивир, постоянно возрастает.

Альтернативным методом является разработка профилактических или терапевтических средств на основе антител, способных нейтрализовать различные вирусы гриппа, вызывающие сезонные инфекции. Главной мишенью нейтрализующих антител, обеспечивающих защиту против инфекций, вызываемых вирусом гриппа, является глобулярная головная часть (часть HA1) вирусного белка HA, которая содержит сайт связывания с рецептором и которая постоянно подвергается генетической эволюции в результате аминокислотных замен в антигенсвязывающих сайтах (антигенная изменчивость). Недавно были идентифицированы перекрестно нейтрализующие антитела, распознающие более консервативную область - "стебель" HA вирусов гриппа А, принадлежащих к филогенетической группе 1 (например, H1 и H5) (см., например, WO 2008/028946). Однако идентификация антител, нейтрализующих один или несколько подтипов вируса гриппа А, принадлежащих к филогенетической группе 2, таких как H3-содержащие вирусы, оказалась безуспешной и охватывала лишь узкий интервал нейтрализующих антител, обладающих низкой активностью.

Были описаны антитела, которые специфически распознают штаммы вирусов гриппа H3N2. Так, например, человеческое моноклональное антитело C28, способное связываться с несколькими штаммами вируса гриппа H3N2, было описано в 1968-1980 гг. Ostberg и Pursch (1983). Wang и сотрудниками (2010) было описано мышьеантитело, нейтрализующее вирусы H3, включая несколько десятков этих вирусов, однако нигде не было указано, что это антитело может нейтрализовать какие-либо другие вирусы, не принадлежащие к подтипу H3.

Перекрестно реагирующие мышьиные анти-HA2 антитела, распознающие вирусы HA подтипа H3, а также подтипа H4 и H7 и обладающие способностью снижать уровень репликации H3- и H4-содержащих вирусов гриппа *in vitro*, описаны Stropkova и сотрудниками (2009). Было продемонстрировано, что доступность эпитопов HA2 для этих антител в нативном вирусе является низкой и что такие антитела лучше реагируют с HA после его расщепления трипсином и после обработки при pH 5 (Vareckova et al., 2003a), а это позволяет объяснить тот факт, что ингибирование репликации вируса *in vitro* (Vareckova et al., 2003b), а также активность этих антител *in vivo* являются относительно низкими (Gocnik et al., 2007).

В заявке WO 2009/115972 было описано человеческое моноклональное антитело Fab28, которое распознает эпитоп в области "стебля" HA и обладает нейтрализующей активностью против H1N1, а также, но в меньшей степени, против H3N2.

Если принять во внимание тяжесть респираторных заболеваний, вызываемых некоторыми вирусами гриппа А, и всегда существующую опасность возникновения пандемии, а также большой экономический ущерб, который наносят сезонные эпидемии, то необходимость в разработке эффективных средств для профилактики и лечения инфекций, вызываемых вирусами гриппа А различных подтипов, становится совершенно очевидной. Таким образом, необходимо получить связывающие молекулы, предпочтительно нейтрализующие человеческие связывающие молекулы широкого спектра, которые обладали бы способностью нейтрализовать вирусы гриппа подтипов, ответственных за сезонные инфекции, включая вирусы гриппа, содержащие HA подтипа H3, предпочтительно H3N2, и которые не обладали бы или почти не обладали бы недостатками, присущими известным антителам.

Настоящее изобретение относится к указанным связывающим молекулам, которые могут быть использованы в медицине, в частности для диагностики, профилактики и/или лечения инфекций, вызываемых вирусом гриппа, содержащим HA подтипа H3, предпочтительно инфекций, вызываемых вирусом H3N2. Некоторые связывающие молекулы согласно изобретению являются уникальными по широте спектра их нейтрализующей активности, направленной на ингибирование вируса подтипа H3. Таким образом, некоторые из идентифицированных в настоящем документе связывающих молекул обладают способностью нейтрализовать несколько штаммов, включая по меньшей мере один или несколько из недавно обнаруженных штаммов подтипа H3N2, и могут быть использованы в качестве универсального профилактического и/или терапевтического средства для лечения сезонных инфекций, вызываемых вирусами гриппа, независимо от того, являются ли или не являются эти вирусы гриппа патогенным штаммом H3N2. По меньшей мере, некоторые из указанных связывающих молекул обладают способностью предотвращать *in vitro* расщепление трипсином молекулы-предшественника HA, а именно молекулы HA0. Кроме того, по меньшей мере, некоторые связывающие молекулы согласно изобретению обладают способностью предотвращать конформационные изменения белка HA, который, очевидно, участвует в слиянии мембраны вируса гриппа и эндосомной мембраны инфицированных клеток. Кроме того, по меньшей мере, некоторые связывающие молекулы согласно изобретению являются уникальными в том смысле, что они обладают способностью к перекрестной нейтрализации вирусов гриппа по меньшей мере одного другого подтипа, включая вирусы гриппа, содержащие HA подтипа H7 и/или H10, поэтому они могут быть использованы в качестве универсального профилактического, диагностического и/или терапевтического средства для лечения инфекций, вызываемых вирусами гриппа, независимо от того, явля-

ются ли или не являются эти вирусы гриппа штаммом патогенного подтипа.

Описание графического материала

На фиг. 1 показано филогенетическое дерево аминокислотных последовательностей для различных подтипов вирусов. Показано разделение подтипов на группы. Кладотип Н1, включающий *inter alia* подтипы Н1, и кладотип Н9, включающий подтипы Н9, образуют филогенетическую группу 1, а кладотип Н7, включающий *inter alia* подтипы Н7, и кладотип Н3, включающий *inter alia* подтипы Н3, образуют филогенетическую группу 2.

На фиг. 2 представлена гистограмма, иллюстрирующая связывание IgG1 с экспрессируемым на поверхности гНА Н3, как было определено с помощью FACS-анализа: после обработки трипсином (столбцы, заштрихованные косыми полосами); в забуференной среде, pH 4,9 (белые столбцы) и в DTT (столбцы, заштрихованные перекрещивающимися полосами), где результаты выражены как процент связывания по отношению к необработанным гНА (сплошные зачерненные столбцы).

На фиг. 3 показаны результаты *in vitro* анализа на восприимчивость к протеазе. Образцы подвергали электрофорезу в 4-12% бис-трис-геле в 1× буфере MOPS. Полосы белка визуализировали путем окрашивания коллоидным синим.

На фиг. 4 схематически представлены различные конформации белка НА в процессе инфицирования.

На фиг. 5 представлена гистограмма, иллюстрирующая связывание mAb против Н3 с НА-экспрессирующими клетками после обработки различными способами, как было определено с помощью FACS-анализа: после обработки трипсином (столбцы, заштрихованные косыми полосами); в забуференной среде, pH 4,9 (белые столбцы) и в DTT (столбцы, заштрихованные перекрещивающимися полосами), где результаты выражены как процент связывания по отношению к необработанным гНА (сплошные зачерненные столбцы).

На фиг. 6 представлен результат эксперимента, проводимого, как описано в примере 11, в целях определения времени инкубирования НА с трипсином до расщепления НА типа Н3.

На фиг. 7 представлены результаты расщепления трипсином образцов НА типа Н3, предварительно инкубированных с mAb, как описано в примере 11.

На фиг. 8 представлена гистограмма, на которой показано, что CR8043 ингибирует pH-индуцированное конформационное изменение в НА типа Н3.

На фиг. 9 показано, что CR8020 и CR8041 также обладают способностью блокировать pH-индуцированное конформационное изменение НА:

- A. mAb добавляли перед расщеплением трипсином;
- B. mAb добавляли после расщепления трипсином;
- C. mAb добавляли после проведения всех обработок.

На фиг. 10 представлены кривые вероятности выживания по Каплану-Мейеру. Антитело вводили внутривенно за 1 день до провокационного заражения с использованием дозы от 30 до 1 мг/кг. Контрольное Ab было введено в концентрации 30 мг/кг (серый) с последующим заражением летальными дозами на день 0 с $LD_{50}=25$ А/НК/1/68-МА20 (Н3N2). CR8020 (А) тестировали в отдельном исследовании исходя из данных для CR8041 (В) и CR8043 (С), которые были оценены в эксперименте 1. Поэтому та же самая группа, которой вводили контрольное антитело, была использована для В и С.

На фиг. 11 показано изменение средней массы тела (%) по отношению к массе на день 0. Антитело вводили внутривенно за 1 день до провокационного заражения с использованием дозы от 30 до 1 мг/кг. Контрольное Ab было введено в концентрации 30 мг/кг (серый) с последующим заражением летальными дозами на день 0 с $LD_{50}=25$ А/НК/1/68-МА20 (Н3N2). Столбцы представляют собой 95% доверительный интервал (ДИ) среднего. Если мышь погибала/подвергалась эвтаназии во время катамнестического исследования, то использовали последнее измерение массы тела. CR8020 (А) тестировали в отдельном исследовании исходя из данных для CR8041 (В) и CR8043 (С), которые были оценены в эксперименте 1. Поэтому та же самая группа, которой вводили контрольное антитело, была использована для В и С.

На фиг. 12 показана медианная оценка. Антитело вводили внутривенно за 1 день до провокационного заражения в дозах от 30 до 1 мг/кг. Контрольное Ab было введено в концентрации 30 мг/кг (серый) с последующим введением провокационных летальных доз на день 0 с $LD_{50}=25$ А/НК/1/68-МА20 (Н3N2). Столбцы представляют собой интерквартильные интервалы. CR8020 (А) тестировали в отдельном исследовании исходя из данных CR8041 (В) и CR8043 (С), которые получали в эксперименте 1. Поэтому ту же самую группу, которой вводили контрольное антитело, использовали для В и С. При этом присваивали следующие баллы клинических оценок: 0 = отсутствие клинических признаков; 1 = жесткая шерсть; 2 = жесткая шерсть, слабая реактивность, пассивность во время переноски; 3 = жесткая шерсть, сворачивание в клубок, затрудненное дыхание, пассивность во время переноски; 4 = жесткая шерсть, сворачивание в клубок, затрудненное дыхание, животное не переворачивается на брюшко, когда его кладут на спинку. Мышей с клинической оценкой 4 подвергали эвтаназии в тот же день.

На фиг. 13 проиллюстрирована терапевтическая эффективность mAb CR8020 у мышей с моделью провокационного летального заражения вирусом гриппа А/НК/1/68-МА20 (Н3N2). Одну дозу mAb CR8020 (15 мг/кг) вводили внутривенно либо за 1 день до заражения, либо на дни 1, 2, 3, 4, 5 или 6 после

заражения мышей 129X1/SvJ (n=10 на группу). Контрольное mAb (15 мг/кг) вводили на день 1 после контрольного заражения. Мышей подвергали контрольному заражению на день 0 с LD₅₀=25 A/CH/1/68-MA20 (H3N2) и наблюдали в течение 21 дня. Панель А: кривые вероятности выживания по Каплану-Мейеру. Панель В: изменение средней массы тела (%) по сравнению с массой на день 0. Столбцы представляют собой 95% доверительный интервал (ДИ) среднего. Если мышь погибала/подвергалась эвтаназии во время катарального исследования, то использовали последнее измерение массы тела проводили. Панель С: медианная клиническая оценка. Столбцы представляют собой интерквартильные интервалы. 0 = отсутствие клинических признаков; 1 = жесткая шерсть; 2 = жесткая шерсть, слабая реактивность, пассивность во время переноски; 3 = жесткая шерсть, сворачивание в клубок, затрудненное дыхание, пассивность во время переноски; 4 = жесткая шерсть, сворачивание в клубок, затрудненное дыхание, животное не переворачивается на брюшко, когда его кладут на спинку. Мышей с клинической оценкой 4 подвергали эвтаназии в тот же день.

На фиг. 14 проиллюстрирована профилактическая эффективность mAb CR8020 у мышей с моделью адаптированного для мышей провокационного заражения вирусом гриппа A/CH/NL/621557/03 (H7N7). Панель А: кривые вероятности выживания по Каплану-Мейеру. Панель В: изменение средней массы тела (%) по сравнению с массой на день 0. Столбцы представляют собой 95% доверительный интервал (ДИ) среднего. Если мышь погибала/подвергалась эвтаназии во время катарального исследования, то использовали последнее измерение массы тела. Панель С: медианная клиническая оценка. Столбцы представляют собой интерквартильные интервалы. 0 = отсутствие клинических признаков; 1 = жесткая шерсть; 2 = жесткая шерсть, слабая реактивность, пассивность во время переноски; 3 = жесткая шерсть, сворачивание в клубок, затрудненное дыхание, пассивность во время переноски; 4 = жесткая шерсть, сворачивание в клубок, затрудненное дыхание, животное не переворачивается на брюшко, когда его кладут на спинку. Мышей с клинической оценкой 4 подвергали эвтаназии в тот же день.

На фиг. 15 проиллюстрирована профилактическая эффективность mAb CR8020, CR8041 и CR8043 у мышей с моделью адаптированного для мышей летального заражения вирусом гриппа A/CH/NL/621557/03 (H7N7). Самкам мышей Balb/c (n=8/группу) внутривенно вводили mAb за 1 день до заражения в дозах в интервале от 10 до 1 мг/кг (CR8020) или от 30 до 1 мг/кг (CR8041 и CR8043). Контрольное mAb вводили на день -1 в концентрации 30 мг/кг (серый). На день 0 провокационную летальную дозу вводили путем интраназальной инокуляции LD₅₀=25 адаптированного для мышей A/CH/NL/621557/03 (H7N7), а затем мышей наблюдали в течение 21 дня. Панель А: кривые вероятности выживания по Каплану-Мейеру. Панель В: изменение средней массы тела (%) по сравнению с массой на день 0. Столбцы представляют собой 95% доверительный интервал (ДИ) среднего. Если мышь погибала/подвергалась эвтаназии во время катарального исследования, то использовали последнее измерение массы тела. Панель С: медианная клиническая оценка. Столбцы представляют собой интерквартильные интервалы. 0 = отсутствие клинических признаков; 1 = жесткая шерсть; 2 = жесткая шерсть, слабая реактивность, пассивность во время переноски; 3 = жесткая шерсть, сворачивание в клубок, затрудненное дыхание, пассивность во время переноски; 4 = жесткая шерсть, сворачивание в клубок, затрудненное дыхание, животное не переворачивается на брюшко, когда его кладут на спинку. Мышей с клинической оценкой 4 подвергали эвтаназии в тот же день.

На фиг. 16 проиллюстрирована терапевтическая эффективность mAb CR8020 у мышей с моделью адаптированного для мышей летального провокационного заражения вирусом гриппа A/CH/NL/621557/03 (H7N7). Самкам мышей Balb/c (n=8 на группу) внутривенно вводили одну дозу mAb CR8020 (15 мг/кг) либо за 1 день до провокационного заражения, либо на дни 1, 2, 3, 4, 5 или 6 после провокационного заражения (n=8 на группу). Контрольное mAb (15 мг/кг) вводили на день 1 после контрольного заражения. Мышей подвергали контрольному заражению на день 0 LD₅₀=25 адаптированного для мышей A/CH/NL/621557/03 (H7N7) и наблюдали в течение 21 дня. Панель А: кривые вероятности выживания по Каплану-Мейеру. Панель В: изменение средней массы тела (%) по сравнению с массой на день 0. Столбцы представляют собой 95% доверительный интервал (ДИ) среднего. Если мышь погибала/подвергалась эвтаназии во время катарального исследования, то использовали последнее измерение массы тела. Панель С: медианная клиническая оценка. Столбцы представляют собой интерквартильные интервалы. 0 = отсутствие клинических признаков; 1 = жесткая шерсть; 2 = жесткая шерсть, слабая реактивность, пассивность во время переноски; 3 = жесткая шерсть, сворачивание в клубок, затрудненное дыхание, пассивность во время переноски; 4 = жесткая шерсть, сворачивание в клубок, затрудненное дыхание, животное не переворачивается на брюшко, когда его кладут на спинку. Мышей с клинической оценкой 4 подвергали эвтаназии в тот же день.

Описание изобретения

Ниже приводится определение терминов, используемых в описании.

Используемые в настоящем описании термины "включенный" или "включающий" обычно сопровождаются словами "без ограничений".

Термин "связывающая молекула" означает интактный иммуноглобулин и включает моноклональные антитела, такие как химерные, гуманизированные или человеческие моноклональные антитела, или антигенсвязывающий и/или вариабельный домен, содержащий фрагмент иммуноглобулина, который конкурирует с интактным иммуноглобулином за специфическое связывание с партнером по связыванию с иммуноглобулином, например НЗ. Антигенсвязывающий фрагмент, независимо от его структуры, связывается с тем же самым антигеном, который распознается интактным иммуноглобулином. Антигенсвязывающий фрагмент может содержать пептид или полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, состоящую по меньшей мере из 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 125, 150, 175, 200 или 250 смежных аминокислотных остатков аминокислотной последовательности связывающей молекулы.

Термин "связывающая молекула" включает иммуноглобулины всех классов и подклассов, известных специалистам. Связывающие молекулы, в зависимости от аминокислотной последовательности константного домена их тяжелой цепи, могут быть подразделены на пять основных классов интактных антител: IgA, IgD, IgE, IgG и IgM, а некоторые из них могут быть также подразделены на подклассы (изоотипы), например IgA1, IgA2, IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4.

Антигенсвязывающими фрагментами являются, *inter alia*, Fab, F(ab)', F(ab')₂, Fv, dAb, Fd, фрагменты гипервариабельной области (определяющей комплементарность области, CDR), одноцепочечные антитела (scFv), двухвалентные одноцепочечные антитела, одноцепочечные антифаговые антитела, диантитела, триантитела, тетраантитела, (поли)пептиды, содержащие по меньшей мере один фрагмент иммуноглобулина, который является достаточным для сообщения данному (поли)пептиду способности к специфическому связыванию с антигеном, и т.п. Вышеуказанные фрагменты могут быть получены путем синтеза, путем ферментативного или химического расщепления интактных иммуноглобулинов либо они могут быть генетически сконструированы методами рекомбинантных ДНК. Методы получения хорошо известны специалистам и описаны, например, в публикации "Antibodies: A Laboratory Manual Edited by E. Harlow and D., Lane (1988), Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York", которая вводится в настоящее описание посредством ссылки. Связывающая молекула или ее антигенсвязывающий фрагмент могут иметь один или несколько сайтов связывания. Если имеется более чем один сайт связывания, то такие сайты связывания могут быть идентичны друг другу либо они могут отличаться друг от друга.

Связывающая молекула может быть "оголенной" или неконъюгированной связывающей молекулой, однако она может быть также частью иммуноконъюгата. Термин "оголенная или неконъюгированная связывающая молекула" означает связывающую молекулу, которая не является конъюгированной, функционально присоединенной или как-либо иначе физически или функционально ассоциированной с эффекторной молекулой или меткой, такой как *inter alia*, токсическое вещество, радиоактивное вещество, липосома или фермент. Следует отметить, что термин "оголенные или неконъюгированные связывающие молекулы" не исключает связывающие молекулы, которые были стабилизированы, полимеризованы, гуманизированы или модифицированы каким-либо другим методом, но не путем присоединения эффекторной молекулы или метки. В соответствии с этим этот термин охватывает все посттрансляционно модифицированные оголенные и неконъюгированные связывающие молекулы, включая молекулы, которые имеют модификации, внесенные в природную клеточную культуру, продуцирующую связывающую молекулу; и в рекомбинантные клетки, продуцирующие связывающую молекулу; и которые могут быть внесены вручную человеком после получения этих связывающих молекул. Совершенно очевидно, что термин "оголенная или неконъюгированная связывающая молекула" не исключает связывающие молекулы, способные образовывать функциональные ассоциации с эффекторными клетками и/или с молекулами после их введения в организм, поскольку некоторые такие взаимодействия необходимы для сообщения биологического эффекта. Поэтому молекула с отсутствием ассоциированной эффекторной группы или метки входит в определение "оголенной или неконъюгированной связывающей молекулы", полученной *in vitro*, но не *in vivo*.

Термин "биологический образец" охватывает образцы различных типов, включая кровь, и другие жидкие образцы биологического происхождения, образцы твердых тканей, такие как образцы, взятые с помощью биопсии или образцы тканевой культуры, или клетки, полученные из этих культур, и их потомство. Этот термин также включает образцы, которые были модифицированы любым способом после их доставки, например, путем обработки реагентами, солиubilизации или обогащения некоторыми компонентами, такими как белки или полинуклеотиды. Этот термин охватывает клинические образцы различных типов, выделенные из организмов любых видов, а также включает клеточные культуры, клеточные супернатанты и клеточные лизаты.

Термин "гипервариабельные области" ("определяющие комплементарность области" (CDR)) означает последовательности, которые присутствуют в вариабельных областях связывающих молекул, таких

как иммуноглобулины, и обычно составляют большую часть антигенсвязывающего сайта, который по своей форме и распределению заряда является комплементарным эпитопу, распознаваемому на антигене. CDR-области могут быть специфичными к линейным эпитопам, эпитопам прерывистого типа или конформационным эпитопам белков или их фрагментов и присутствуют на белке в его нативной конформации или в некоторых случаях присутствуют на белках, которые были денатурированы, например, путем солиubilизации в SDS. Эпитопы также могут состоять из посттрансляционных модификаций белков.

Термин "делеция" означает изменение в любой аминокислотной или нуклеотидной последовательности, в которой по сравнению с эталонной, а в большинстве случаев природной молекулой отсутствуют один или несколько аминокислотных или нуклеотидных остатков соответственно.

Термин "последовательность нуклеиновой кислоты, регулирующая экспрессию" означает полинуклеотидные последовательности, необходимые для осуществления экспрессии и/или влияющие на экспрессию функционально присоединенной кодирующей последовательности в конкретном организме-хозяине. Последовательности нуклеиновой кислоты, регулирующие экспрессию, такие как *inter alia*, соответствующие последовательности инициации транскрипции, последовательности терминации транскрипции, промоторные последовательности, энхансерные последовательности; последовательности-репрессоры или активаторы; сигналы эффективного процессинга РНК, такие как сигналы сплайсинга и полиаденилирования; последовательности, стабилизирующие цитоплазматическую мРНК; последовательности, повышающие эффективность трансляции (например, сайты связывания с рибосомой); последовательности, повышающие стабильность белка, и при необходимости, последовательности, усиливающие секрецию белка, могут представлять собой любую последовательность нуклеиновой кислоты, обладающую активностью в выбранном организме-хозяине, и могут состоять из генов, кодирующих белки, которые являются либо гомологичными, либо гетерологичными белкам организма-хозяина. Идентификацию и применение последовательностей, регулирующих экспрессию, осуществляют рутинными методами, известными специалистам.

Термин "функциональный вариант" означает связывающую молекулу, содержащую нуклеотидную и/или аминокислотную последовательность, которые имеют модификацию одного или нескольких нуклеотидов или одной или нескольких аминокислот по сравнению с нуклеотидной и/или аминокислотной последовательностями эталонной связывающей молекулы и которые обладают способностью конкурировать с эталонной связывающей молекулой за связывание с партнером по связыванию, например H3N2. Другими словами, модификации в аминокислотной и/или нуклеотидной последовательности эталонной связывающей молекулы не оказывают значительного влияния на связывающие свойства или не изменяют эти свойства связывающей молекулы, кодируемой нуклеотидной последовательностью, или содержащей аминокислотную последовательность, т.е. такая связывающая молекула еще обладает способностью распознавать мишень и связываться с этой мишенью. Этот функциональный вариант может иметь консервативные модификации, внесенные в последовательность, включая нуклеотидные и аминокислотные замены, добавления и делеции. Эти модификации могут быть введены стандартными методами, известными специалистам, такими как сайт-направленный мутагенез и неспецифический ПЦР-опосредуемый мутагенез, и такими модификациями могут быть природные, а также неприродные нуклеотиды и аминокислоты.

Консервативными аминокислотными заменами являются замены, при которых аминокислотный остаток заменен аминокислотным остатком, имеющим аналогичные структурные или химические свойства. Семейства аминокислотных остатков, имеющих аналогичные боковые цепи, известны специалистам. Такие семейства включают аминокислоты с основными боковыми цепями (например, лизин, аргинин, гистидин), с кислотными боковыми цепями (например, аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота), с незаряженными полярными боковыми цепями (например, аспарагин, глутамин, серин, треонин, тирозин, цистеин, триптофан), с неполярными боковыми цепями (например, глицин, аланин, валин, лейцин, изолейцин, пролин, фенилаланин, метионин), с бета-разветвленными боковыми цепями (например, треонин, валин, изолейцин) и с ароматическими боковыми цепями (например, тирозин, фенилаланин, триптофан). Следует отметить, что специалистам известны и другие классификации семейств аминокислотных остатков, отличающиеся от остатков, перечисленных выше. Кроме того, вариант может иметь неконсервативные аминокислотные замены, например замену аминокислоты аминокислотным остатком, имеющим отличающиеся структурные или химические свойства. Аналогичные небольшие модификации могут также включать делеции или инсерции аминокислот либо то и другое. Руководство по определению аминокислотных остатков, которые могут быть заменены, встроены или делетированы без потери иммунологической активности, можно найти в компьютерных программах, хорошо известных специалистам. Мутацией в нуклеотидной последовательности может быть одна мутация, сделанная в определенном локусе (точковая мутация), такая как транзиция или трансверсия, или, альтернативно, в одном локусе могут быть встроены, делетированы или заменены множество нуклеотидов. Кроме того, одна или несколько альтераций могут быть сделаны в любом числе локусов в нуклеотидной последовательности. Эти мутации могут быть внесены любым подходящим методом, известным специалистам.

Термин "подтип вируса гриппа" означает варианты вируса гриппа А, отличающиеся тем, что они содержат различные комбинации белков вирусной поверхности, таких как гемагглютинин (H) и нейра-

минидаза (N). В соответствии с настоящим изобретением подтипы вируса гриппа могут обозначаться буквой H, например "вирус гриппа, содержащий HA подтипа H3", или "грипп H3", либо комбинацией букв H и N, например "вирус гриппа подтипа H3N2" или "H3N2".

Термин "подтип" включает, в частности, все отдельные штаммы в каждом подтипе, которые обычно образуются в результате мутаций и имеют отличающиеся патогенные профили. Такие штаммы могут также называться различными "изолятами" подтипа вируса. В соответствии с этим термины "штаммы" и "изоляты" могут быть взаимозаменяемыми. Современная номенклатура штаммов или изолятов человеческого вируса гриппа включает географическое местоположение, где он был обнаружен впервые, номер штамма и год его выделения, обычно с описанием антигенных свойств HA и NA, приводимых в скобках, например A/Москва/10/00 (H3N2). Номенклатура нечеловеческих штаммов также включает хозяина, от которого этот штамм происходит.

Подтипы вируса гриппа могут быть также классифицированы по их филогенетическим группам. Филогенетический анализ (Fouchier et al., 2005) продемонстрировал разделение HA на две основные группы (Air, 1981): *inter alia*, филогенетическая группа 1, в которую входят подтипы H1, H2, H5 и H9, и *inter alia*, филогенетическая группа 2, в которую входят подтипы H3, H4 и H7 (фиг. 1).

Термин "нейтрализующий" относится к связывающим молекулам согласно изобретению, которые ингибируют репликативное инфицирование клетки-мишени вирусом гриппа, независимо от механизма достижения такой нейтрализации. Так, например, нейтрализация может быть достигнута путем ингибирования связывания или адгезии данного вируса на клеточной поверхности либо путем ингибирования слияния вирусной и клеточной мембран после присоединения вируса к клетке-мишени и т.п.

Термины "перекрестно нейтрализующий" или "перекрестная нейтрализация" относятся к связывающим молекулам согласно изобретению и означают способность связывающих молекул согласно изобретению нейтрализовать вирусы гриппа A различных подтипов, таких как, например, вирусы гриппа, содержащие HA подтипа H3, H7 и/или H10.

Термин "хозяин" означает организм или клетку, в которую был введен вектор, такой как клонирующий вектор или экспрессионный вектор. Организм или клетка могут быть прокариотическими или эукариотическими. Предпочтительными хозяевами являются выделенные клетки-хозяева, например клетки-хозяева в культуре. Термин "клетки-хозяева" означает лишь то, что эти клетки были модифицированы для (сверх)экспрессии связывающих молекул согласно изобретению, и включает В-клетки, которые по своей природе экспрессируют эти связывающие молекулы, и клетки, которые были модифицированы для сверхэкспрессии связывающей молекулы посредством иммортализации, амплификации, повышения уровня экспрессии и т.п. Следует отметить, что термин "хозяин" означает не только конкретный организм или конкретную клетку индивидуума, но также и потомство такого организма или такой клетки. Поскольку некоторые модификации могут присутствовать в последующих поколениях, что обусловлено либо мутацией, либо воздействием окружающей среды, то такое потомство, фактически, не может быть идентично организму или клетке родителя, но при этом такое потомство все же входит в объем используемого здесь термина "хозяин".

Термин "человеческая", если он употребляется при описании определенных здесь связывающих молекул, относится к молекулам, которые либо были выделены непосредственно у человека, либо были получены на основе человеческой последовательности. Если связывающая молекула происходит от человеческой последовательности или была получена на основе человеческой последовательности, а затем была модифицирована, то в описании настоящего изобретения такая молекула рассматривается как человеческая. Другими словами, термин "человеческая", если он употребляется по отношению к связывающим молекулам, относится к связывающим молекулам, имеющим переменные и константные области, происходящие от последовательностей иммуноглобулина человеческой зародышевой линии, или полученным на основе переменных или константных областей, присутствующих у человека или в человеческих лимфоцитах и модифицированных в определенной форме. Таким образом, человеческие связывающие молекулы могут включать аминокислотные остатки, не кодируемые последовательностями иммуноглобулина человеческой зародышевой линии, и могут иметь замены и/или делеции (например, мутации, введенные, например, посредством неспецифического или сайт-специфического мутагенеза *in vitro* или посредством соматической мутации *in vivo*). Термин "полученный на основе" означает ситуацию, при которой последовательность нуклеиновой кислоты может представлять собой точную копию матрицы, или ее аналог с небольшими мутациями, например, образующимися в результате проведения ПЦР с вероятностью ошибки, или синтетически сконструированную матрицу с точными соответствиями или с небольшими модификациями. Полусинтетические молекулы, полученные на основе человеческих последовательностей, также рассматриваются здесь как человеческие.

Термин "инсерция", также известный как термин "добавление", означает изменение в аминокислотной или нуклеотидной последовательности, которое приводит к добавлению одного или нескольких аминокислотных или нуклеотидных остатков соответственно, по сравнению с родительской последовательностью.

Термин "выделенный", если он употребляется по отношению к определенным здесь связывающим молекулам, относится к связывающим молекулам, которые, по существу, не содержат других белков или

полипептидов, в частности других связывающих молекул, обладающих отличающимися специфичностями к антигену, а также, по существу, не содержат других клеточных материалов и/или химических веществ. Так, например, связывающие молекулы, если они были продуцированы рекомбинантным методом, предпочтительно, по существу, не содержат компонентов клеточной среды, а если они были продуцированы методом химического синтеза, предпочтительно, по существу, не содержат химических предшественников или других химических молекул, т.е. они должны быть отделены от химических предшественников или других химических веществ, участвующих в синтезе белка. Термин "выделенный", если он употребляется по отношению к молекулам нуклеиновой кислоты, кодирующим определенные здесь связывающие молекулы, относится к молекулам нуклеиновой кислоты, в которых нуклеотидные последовательности, кодирующие связывающие молекулы, не содержат других нуклеотидных последовательностей, в частности нуклеотидных последовательностей, кодирующих связывающие молекулы, которые связываются с партнерами по связыванию, не являющимися H5N1. Кроме того, термин "выделенный" относится к молекулам нуклеиновой кислоты, которые, по существу, отделены от других клеточных компонентов, обычно присутствующих вместе с нативной молекулой нуклеиновой кислоты в природном хозяине, например рибосом, полимераз или геномных последовательностей, с которыми они ассоциируются в природе. Кроме того, "выделенные" молекулы нуклеиновой кислоты, такие как молекулы кДНК, могут, по существу, не содержать других клеточных элементов или компонентов культуральной среды в том случае, если такие молекулы были продуцированы рекомбинантными методами, либо они могут, по существу, не содержать химических предшественников или других химических веществ в том случае, если они были продуцированы методами химического синтеза.

Термин "моноклональное антитело" означает препарат молекул антитела с одной специфичностью. Моноклональное антитело обладает одной специфичностью связывания с одним конкретным эпитопом и аффинностью к этому эпитопу. В соответствии с этим термин "человеческое моноклональное антитело" означает антитело, обладающее одной специфичностью связывания и имеющее переменные и константные области, происходящие от последовательностей иммуноглобулина человеческой зародышевой линии, или полученные на основе такой последовательности, или происходящие от полностью синтетических последовательностей. Метод получения моноклонального антитела не имеет решающего значения для специфичности связывания.

Термин "природный", если он относится к определенному объекту, означает, что такой объект может присутствовать в природе. Так, например, полипептидная или полинуклеотидная последовательность считается природной, если она присутствует в организме, и может быть выделена из природного источника, который не был специально модифицирован человеком в лаборатории.

Термин "молекула нуклеиновой кислоты", используемый в настоящем изобретении, означает полимерную форму нуклеотидов и включает смысловые и антисмысловые цепи РНК, кДНК, геномной ДНК и их синтетические формы и смешанные полимеры. Термин "нуклеотид" означает рибонуклеотид, дезоксирибонуклеотид или модифицированную форму нуклеотида любого типа. Этот термин также включает одноцепочечную и двухцепочечную форму ДНК. Кроме того, полинуклеотид может включать любой природный и модифицированный нуклеотид, связанный с другим природным и модифицированным нуклеотидом посредством природной и/или неприродной нуклеотидной связи, или оба эти нуклеотида. Молекулы нуклеиновой кислоты могут быть химически или биохимически модифицированными либо они могут содержать неприродные или дериватизированные нуклеотидные основания, хорошо известные специалистам. Такими модификациями являются, например, метчение, метилирование, замена одного или нескольких природных нуклеотидов их аналогом, межнуклеотидные модификации, такие как незаряженные связи (например, метилфосфонаты, фосфотриэфиры, фосфорамидаты, карбаматы и т.п.), заряженные связи (например, фосфориоаты, фосфодитиоаты и т.п.), боковые группы (например, полипептиды), интеркалирующие агенты (например, акридин, псорален и т.п.), хелатообразующие молекулы, алкилирующие агенты и модифицированные связи (например, альфа-аномерные нуклеиновые кислоты и т.п.). Вышеуказанный термин также включает любую топологическую конформацию, включая одноцепочечную, двухцепочечную, частично дуплексную, триплексную, шпилечную или кольцевую конформацию и конформацию в виде висячего замка. Этот термин также включает синтетические молекулы, имитирующие способность полинуклеотидов связываться с указанной последовательностью посредством водородных связей и посредством других химических взаимодействий. Такие молекулы известны специалистам, и ими являются, например, молекулы, в главном остове которых фосфатные связи заменены пептидными связями. Термин "последовательность нуклеиновой кислоты" охватывает ее комплемент, если это не оговорено особо. Таким образом, молекула нуклеиновой кислоты, имеющая конкретную последовательность, должна включать ее комплементарную цепь вместе с комплементарной ей последовательностью.

Комплементарная цепь может быть также использована, например, в антисмысловой терапии, в зондах для гибридизации и в ПЦР-праймерах.

Термин "функционально присоединенный" относится к двум или более элементам последовательности нуклеиновой кислоты, которые обычно физически связаны и находятся в функциональной взаимосвязи друг с другом. Так, например, промотор считается функционально присоединенным к кодирующей

последовательности, если он способен инициировать или регулировать транскрипцию или экспрессию кодирующей последовательности, и в этом случае говорят, что кодирующая последовательность находится "под контролем промотора".

Термин "фармацевтически приемлемый наполнитель" означает любое инертное вещество, которое используется в комбинации с активной молекулой, такой как лекарственное средство, агент или связывающая молекула, для получения препарата в виде приемлемой или подходящей лекарственной формы. "Фармацевтически приемлемый наполнитель" представляет собой наполнитель, который не является токсичным для реципиентов в используемых дозах и концентрациях, и является совместимым с другими ингредиентами препарата, содержащего лекарственное средство, агент или связывающую молекулу. Фармацевтически приемлемые наполнители широко применяются специалистами в данной области.

Термин "специфическое связывание", используемый здесь по отношению к взаимодействию связывающей молекулы, например антитела с его партнером по связыванию, например с антигеном, означает, что такое взаимодействие зависит от присутствия конкретной структуры, например антигенной детерминанты или эпитопа на партнере по связыванию. Другими словами, антитело преимущественно связывается со своим партнером по связыванию или распознает такого партнера, даже если указанный партнер по связыванию присутствует в смеси с другими молекулами или организмами. Связывание может опосредоваться ковалентными или нековалентными взаимодействиями или их комбинациями. Другими словами, термин "специфическое связывание" означает иммуноспецифическое связывание с определенной антигенной детерминантой или с определенным эпитопом, но не с другими антигенными детерминантами или эпитопами. Связывающая молекула, которая иммуноспецифически связывается с антигеном, может связываться с другими пептидами или полипептидами с более низкой аффинностью, как было определено, например, с помощью радиоиммуноанализов (РИА), твердофазных иммуноферментных анализов (ELISA), BIACORE или других анализов, известных специалистам. Связывающие молекулы или их фрагменты, которые иммуноспецифически связываются с антигеном, могут перекрестно реагировать с родственными антигенами, несущими тот же самый эпитоп. Предпочтительно связывающие молекулы или фрагменты, которые иммуноспецифически связываются с антигеном, не должны перекрестно реагировать с другими антигенами.

Термин "замена" означает замену одной или нескольких аминокислот или одного или нескольких нуклеотидов другими аминокислотами или нуклеотидами соответственно.

Термин "терапевтически эффективное количество" означает количество определенной здесь связывающей молекулы, которое является эффективным для профилактики, ослабления симптомов и/или лечения состояния, вызываемого инфицированием вирусом гриппа подтипа Н3. Термин "ослабление симптомов" может означать снижение визуально заметных или ощущаемых симптомов заболевания, вирусемии или любых других измеримых манифестаций инфицирования вирусом гриппа.

Термин "лечение" означает терапевтическое лечение, а также профилактические или превентивные меры, необходимые для лечения заболевания, или прекращения его развития, или, по меньшей мере, замедления его прогрессирования. Индивидуумами, нуждающимися в лечении заболевания, являются индивидуумы, уже страдающие заболеванием, вызываемым инфицированием вирусом гриппа, содержащим НА подтипа Н3, а также индивидуумы, нуждающиеся в предупреждении заболевания, вызываемого инфицированием вирусом гриппа, содержащим НА подтипа Н3. Индивидуумы, частично или полностью выздоровевшие от гриппа, вызванного вирусом гриппа Н3, также могут нуждаться в лечении. Термин "предупреждение" охватывает ингибирование или уменьшение распространения вируса гриппа, содержащего НА подтипа Н3, или ингибирование или замедление проявления, развития или прогрессирования одного или нескольких симптомов, ассоциированных с инфекцией, вызываемой вирусом гриппа Н3.

Термин "вектор" означает молекулу нуклеиновой кислоты, в которую может быть встроена вторая молекула нуклеиновой кислоты для ее введения хозяину, у которого она должна реплицироваться, а в некоторых случаях экспрессироваться. Другими словами, вектор обладает способностью переносить молекулу нуклеиновой кислоты, с которой он связан. Термин "вектор" также включает клонирующие и экспрессионные векторы. Векторами являются, но не ограничиваются ими, плазмиды, космиды, бактериальные искусственные хромосомы (ВАС) и дрожжевые искусственные хромосомы (УАС) и векторы, происходящие от вирусов бактериофагов, растений или животных (включая человека). Векторы содержат ориджин репликации, распознаваемый предполагаемым хозяином, а в случае экспрессионных векторов - промотор и другие регуляторные области, распознаваемые хозяином. Вектор, содержащий вторую молекулу нуклеиновой кислоты, вводят в клетки путем трансформации, трансфекции или путем использования механизмов проникновения вирусов в клетку. Некоторые векторы способны автономно реплицироваться у хозяина, в который они были введены (например, векторы, имеющие бактериальный ориджин репликации, могут реплицироваться в бактериях). Другие векторы могут интегрироваться в геном хозяина после их введения данному хозяину с последующей их репликацией в геноме данного хозяина.

Описание сущности изобретения

Настоящее изобретение относится к человеческим связывающим молекулам, обладающим способностью специфически связываться со штаммами вируса гриппа, содержащими НА подтипа Н3, включая Н3Н2, и нейтрализующей активностью, направленной против таких вирусов гриппа. В одном из вариантов изобретения связывающие молекулы согласно изобретению являются уникальными в том смысле, что они обладают способностью нейтрализовать несколько штаммов, включая по меньшей мере один или несколько недавно обнаруженных штаммов, а предпочтительно все известные штаммы вируса гриппа подтипа Н3, т.е. наиболее распространенного высокоактивного вируса, принадлежащего к подтипу, вызывающему эпидемии у людей. В одном из вариантов изобретения связывающие молекулы связываются с консервативным эпитопом в "стеблевой" области белка НА подтипа Н3. В одном из вариантов изобретения связывающие молекулы обладают активностью, направленной на ингибирование гемагглютининизации. В одном из вариантов изобретения связывающие молекулы обладают способностью предотвращать *in vitro* расщепление молекулы-предшественника НА типа НА0. В одном из вариантов изобретения связывающие молекулы согласно изобретению обладают способностью предотвращать конформационные изменения белка НА, необходимого для слияния мембраны вируса гриппа с эндосомной мембраной инфицированной клетки.

Настоящее изобретение также относится к связывающим молекулам, которые связываются с эпитопом в белке гемагглютинине, который является общим для подтипов вируса гриппа в филогенетической группе 2, к которой принадлежат подтипы Н3, а поэтому настоящее изобретение относится к связывающим молекулам, которые перекрестно реагируют со всеми подтипами вируса гриппа Н3, Н7 и/или Н10 и с другими подтипами вируса гриппа, содержащими белок НА с этими конкретными эпитопами, предпочтительно со всеми подтипами филогенетической группы 2. Таким образом, некоторые связывающие молекулы согласно изобретению являются уникальными в том смысле, что они обладают перекрестно нейтрализующей активностью, направленной против одного или нескольких вирусов гриппа А других подтипов, таких как вирусы гриппа, содержащие НА подтипа Н7 и/или Н10. Предпочтительно связывающие молекулы согласно изобретению обладают способностью перекрестно нейтрализовать вирусы гриппа всех подтипов филогенетической группы 2, включая подтипы Н3, Н7 и Н10, а поэтому они могут быть использованы в качестве универсального профилактического, диагностического и/или терапевтического средства для лечения заболеваний, вызываемых вирусами гриппа, принадлежащими к филогенетической группе 2, даже независимо от того, принадлежит ли этиологический фактор вируса гриппа определенного подтипа к этой филогенетической группе или нет.

Было высказано предположение, что связывающие молекулы согласно изобретению связываются с ранее неизвестными консервативными эпитопами, которые не подвергаются антигенной изменчивости или антигенному дрейфу, или имеют гораздо меньшую тенденцию к такой изменчивости или к такому дрейфу. Следовательно, также рассматривается возможность применения связывающих молекул согласно изобретению для идентификации и/или характеристики этих эпитопов. Настоящее изобретение также относится к молекулам нуклеиновой кислоты, кодирующим, по меньшей мере, связывающую область человеческих связывающих молекул. Настоящее изобретение также относится к применению человеческих связывающих молекул согласно изобретению в целях профилактики и/или лечения индивидуума, который страдает заболеванием, вызываемым инфицированием вирусом гриппа Н3, таким как вирус гриппа Н3Н2, или у которого имеется риск развития такого заболевания. Кроме того, настоящее изобретение относится к применению человеческих связывающих молекул согласно изобретению в целях диагностики/детектирования такого инфицирования вирусом гриппа.

Подробное описание изобретения

В своем первом аспекте настоящее изобретение относится к связывающим молекулам, обладающим способностью специфически связываться с вирусом гриппа А, в частности с вирусом гриппа А, содержащим НА подтипа Н3, а в частности Н3Н2, и обладающим нейтрализующей активностью, направленной против таких вирусов. Предпочтительными связывающими молекулами являются человеческие связывающие молекулы. В одном из вариантов изобретения связывающие молекулы согласно изобретению обладают способностью специфически связываться с несколькими штаммами вируса гриппа Н3Н2, предпочтительно с двумя или более различными штаммами Н3Н2, более предпочтительно с тремя или более, еще более предпочтительно с четырьмя или более, а наиболее предпочтительно с пятью или более различными штаммами Н3Н2, и/или обладают нейтрализующей активностью, направленной против указанных штаммов. Такие штаммы могут быть выделены у человека или у животных, не являющихся человеком, таких как птицы. В одном из вариантов изобретения связывающие молекулы связываются по меньшей мере с одним или более из недавно обнаруженных штаммов Н3Н2, выбранных из группы, состоящей из штаммов: А/Висконсин/67/2005, А/Хиросима/52/2005, А/Панама/2007/99 и А/Иоганесбург/33/94, и нейтрализуют по меньшей мере один или более из указанных штаммов. В другом варианте изобретения связывающие молекулы также связываются со штаммом Н3Н2, а именно А/Гонконг/1/68, и нейтрализуют этот штамм. Наиболее предпочтительно связывающие молекулы связываются со всеми штаммами вируса гриппа Н3Н2, которые были обнаружены за период времени с 1968 по 2005 гг., и обладают нейтрализующей активностью, направленной против этих штаммов. Предпочти-

тельно связывающие молекулы обладают нейтрализующей активностью, направленной против, по меньшей мере, всех природных изолятов вируса гриппа H3N2, известных до 20 января 2010 г.

Связывающие молекулы согласно изобретению могут обладать способностью специфически связываться с субъединицей HA0, HA1 и/или HA2 белка HA. Они могут обладать способностью специфически связываться с линейными или структурными и/или конформационными эпитопами на субъединице HA0, HA1 и/или HA2 белка HA. Молекула HA может быть выделена из вирусов либо она может быть рекомбинантно продуцирована и выделена, но необязательно, перед ее применением. Альтернативно, HA может экспрессироваться на поверхности клеток. Предпочтительно связывающие молекулы согласно изобретению связываются с эпитопом, содержащим одну или несколько аминокислот в положениях 19, 25, 27, 33 и 34 полипептида HA2 белка HA типа H3. В одном из вариантов изобретения связывающие молекулы связываются с указанным эпитопом на HA2, если аминокислотой в положении 19 является аспарагиновая кислота (D), аминокислотой в положении 25 является глутамин (Q), аминокислотой в положении 27 является глицин (G), аминокислотой в положении 33 является глицин (G) и/или аминокислотой в положении 34 является глутамин (нумерация остатков HA2 начинается с положения 1 сразу после аргининового остатка, который составляет сайт расщепления между HA1 и HA2). В одном из вариантов изобретения связывающие молекулы не связываются с указанным эпитопом на HA2, если одна или несколько из указанных аминокислот были заменены.

В другом своем аспекте настоящее изобретение относится к связывающим молекулам, которые обладают способностью, по меньшей мере, *in vitro* предотвращать расщепление трипсином молекулы-предшественника HA типа H3, такой как молекула HA0 в HA1 и HA2.

В другом своем аспекте настоящее изобретение относится к связывающим молекулам, обладающим способностью предотвращать конформационные изменения белка HA типа H3, необходимого для слияния мембраны вируса гриппа с эндосомной мембраной инфицированной клетки, по меньшей мере, *in vitro*.

В другом аспекте изобретения связывающие молекулы обладают некоторыми или всеми вышеперечисленными свойствами, т.е. перекрестно нейтрализующей активностью, способностью связываться с консервативным эпитопом в "стеблевой" области белка HA2, ингибировать расщепление HA0 трипсином *in vitro* и/или ингибировать конформационные изменения.

В одном из вариантов изобретения связывающие молекулы согласно изобретению обладают всеми или некоторыми вышеперечисленными свойствами, но при этом не обладают способностью связываться с вирусом гриппа А, содержащим HA подтипа H1, таким как H1N1, и/или нейтрализовать этот вирус.

Связывающие молекулы согласно изобретению могут обладать способностью специфически связываться, например, с вирусом гриппа H3N2, который является жизнеспособным, "живым" и/или инфекционным или присутствует в инактивированной/аттенюированной форме. Методы инактивации/аттенюирования вируса, например вируса гриппа H3N2, хорошо известны специалистам, и такими методами являются, но не ограничиваются ими, обработка формалином, β -пропиолактоном (BPL) и метиолатом и/или облучение ультрафиолетом.

Связывающие молекулы согласно изобретению могут также обладать способностью специфически связываться с одним или несколькими фрагментами вирусов гриппа, такими как, *inter alia*, препарат одного или нескольких белков и/или (поли)пептидов, происходящих от вируса подтипа H3N2, или одного или нескольких рекомбинантно продуцированных белков и/или полипептидов H3N2. При проведении методов лечения и/или профилактики инфицирования вирусом H3N2 связывающие молекулы предпочтительно обладают способностью специфически связываться с доступными поверхностными белками H3N2, такими как поверхностные гликопротеины, гемагглютинин (HA), которые необходимы для присоединения вируса и его высвобождения в клетки.

Нуклеотидная последовательность и/или аминокислотная последовательность белков различных штаммов H3N2 может быть взята из базы данных GenBank, базы данных последовательностей вирусов гриппа NCBI, базы данных последовательностей вирусов гриппа ISD, базы данных EMBL и/или из других баз данных. Специалист в данной области может легко найти такие последовательности в соответствующих базах данных.

В другом варианте изобретения связывающие молекулы согласно изобретению обладают способностью специфически связываться с фрагментом вышеупомянутых белков и/или полипептидов, где указанный фрагмент содержит, по меньшей мере, эпитоп, распознаваемый связывающими молекулами согласно изобретению. Термин "эпитоп" означает молекулу, способную связываться со связывающей молекулой согласно изобретению с аффинностью, которая является достаточно высокой для образования детектируемого комплекса "антигенсвязывающая молекула".

Связывающие молекулы согласно изобретению могут обладать, а могут и не обладать способностью специфически связываться с внеклеточной частью HA (также называемой здесь растворимым HA (sHA)).

Связывающими молекулами согласно изобретению могут быть интактные молекулы иммуноглобулина, такие как поликлональные или моноклональные антитела, либо связывающими молекулами могут быть антигенсвязывающие фрагменты, включая, но не ограничиваясь ими, Fab, F(ab'), F(ab')₂, Fv, dAb,

Fd, фрагменты гипервариабельной области (определяющей комплементарность области, CDR), одноцепочечные антитела (scFv), двухвалентные одноцепочечные антитела, одноцепочечные антифаговые антитела, диантитела, триантитела, тетраантитела и (поли)пептиды, содержащие, по меньшей мере, фрагмент иммуноглобулина, который является достаточным для сообщения данной молекуле или ее фрагменту способности к антигенспецифическому связыванию со штаммами вируса гриппа H3N2. В предпочтительном варианте изобретения связывающими молекулами согласно изобретению являются человеческие моноклональные антитела.

Связывающие молекулы согласно изобретению могут быть использованы в неизолированной или в изолированной форме. Кроме того, связывающие молекулы согласно изобретению могут быть использованы отдельно или в смеси, содержащей по меньшей мере одну связывающую молекулу (или ее вариант или фрагмент) согласно изобретению. Другими словами, связывающие молекулы могут быть использованы в комбинации, например, в виде фармацевтической композиции, содержащей две или более связывающие молекулы согласно изобретению, а также их вариантов или фрагментов. Так, например, связывающие молекулы, обладающие различными, но комплементарными активностями, могут быть объединены для проведения одного курса лечения в целях достижения желаемого профилактического, терапевтического или диагностического эффекта, и, альтернативно, связывающие молекулы, обладающие идентичными активностями, могут быть объединены для проведения одного курса лечения в целях достижения желаемого профилактического, терапевтического или диагностического эффекта. Указанная смесь может содержать, но необязательно, по меньшей мере один другой терапевтический агент.

Предпочтительный терапевтический агент, такой как, например, ингибиторы M2 (например, амантидин, римантадин) и/или ингибиторы нейраминидазы (например, занамивир, оселтамивир), может быть использован для профилактики и/или лечения инфекций, вызываемых вирусом гриппа H3N2.

Обычно связывающие молекулы согласно изобретению могут связываться со своими партнерами по связыванию, т.е. с вирусом гриппа H3N2 или его фрагментами, где константа аффинности такого связывания (величина K_d) составляет менее чем $0,2 \times 10^{-4}$, $1,0 \times 10^{-5}$, $1,0 \times 10^{-6}$, $1,0 \times 10^{-7}$ М, предпочтительно менее чем $1,0 \times 10^{-8}$ М, более предпочтительно менее чем $1,0 \times 10^{-9}$ М, еще более предпочтительно менее чем $1,0 \times 10^{-10}$ М, еще более предпочтительно менее чем $1,0 \times 10^{-11}$ М, в частности менее чем $1,0 \times 10^{-12}$ М. Константы аффинности могут варьироваться в зависимости от изоформ антител. Так, например, аффинность связывания с изоформой IgM составляет по меньшей мере примерно $1,0 \times 10^{-7}$ М. Так, например, константа аффинности может быть измерена, например, методом поверхностного плазмонного резонанса, например, с использованием системы BIACORE (Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Sweden).

Обычно связывающие молекулы согласно изобретению обладают нейтрализующей активностью, составляющей 10 мкг/мл или менее, предпочтительно 5 мкг/мл или менее, более предпочтительно 2 мкг/мл или менее, еще более предпочтительно 1 мкг/мл или менее, как было определено в анализе *in vitro* на нейтрализацию вируса (VNA), описанном в примере 6.

Связывающие молекулы согласно изобретению могут связываться с вирусом гриппа H3N2 или его фрагментом в растворимой форме, например в образце или в суспензии, либо они могут связываться с вирусом гриппа H3N2 или с его фрагментом в форме, связанной с носителем или с субстратом или присоединенной к носителю или субстрату, например к микротитрационным планшетам, мембранам и сферам и т.п. Носители или субстраты могут быть изготовлены из стекла, пластика (например, полистирола), полисахаридов, нейлона, нитроцеллюлозы или тефлона и т.п. Поверхность таких носителей может быть твердой или пористой и может иметь любую подходящую форму. Кроме того, связывающие молекулы могут связываться с вирусом гриппа H3N2 в очищенной/изолированной форме или в неочищенной/неизолированной форме.

Связывающие молекулы согласно изобретению обладают нейтрализующей активностью. Нейтрализующая активность может быть, например, измерена методом, описанным в настоящем документе. Альтернативные анализы, позволяющие измерить уровень нейтрализующей активности, описаны, например, в "Руководстве ВОЗ по диагностике гриппа у животных и контролю за их заболеваемостью", Женева: Всемирная организация здравоохранения 2005, версия 2002.5).

Настоящее изобретение относится к выделенной человеческой связывающей молекуле, способной распознавать эпитоп и связываться с этим эпитопом в белке гемагглютинине вируса гриппа (HA) и отличающейся тем, что она обладает нейтрализующей активностью, направленной против вируса гриппа А, содержащего HA подтипа H3. Примером подтипа вируса гриппа, содержащего HA подтипа H3, является H3N2. Особенно предпочтительными являются связывающие молекулы, нейтрализующие вирус гриппа подтипа H3N2. В одном из вариантов изобретения связывающие молекулы нейтрализуют по меньшей мере один или несколько недавно обнаруженных штаммов H3N2. В одном из вариантов изобретения связывающие молекулы связываются по меньшей мере с одним или несколькими штаммами H3N2, выбранными из группы, состоящей из штаммов А/Висконсин/67/2005, А/Хиросима/52/2005, А/Панама/2007/99 и А/Иоганесбург/33/94, и нейтрализуют по меньшей мере один или более из указанных штаммов. В другом варианте изобретения связывающие молекулы также связываются со штаммом H3N2, а именно А/Гонконг/1/68, и нейтрализуют этот штамм. Наиболее предпочтительно связывающие молекулы связы-

ваются со всеми штаммами вируса гриппа H3N2, которые были обнаружены за период времени с 1968 по 2005 гг., предпочтительно со всеми известными штаммами вируса гриппа указанного подтипа, и обладают нейтрализующей активностью, направленной против этих штаммов.

В другом варианте изобретения связывающие молекулы согласно изобретению также обладают нейтрализующей активностью, направленной против вирусов гриппа других подтипов А, предпочтительно, по меньшей мере, вирусов гриппа, содержащих НА подтипа Н7, таких как штамм А/кряква/Нидерланды/12/2000, и/или подтипа Н10, такого как штамм А/курица/Германия/Н/49. Таким образом, было показано, что некоторые из этих связывающих молекул согласно изобретению обладают способностью перекрестно нейтрализовать вирусы гриппа этих подтипов. Настоящее изобретение также относится к связывающим молекулам, которые связываются с эпитопом в белке гемагглютинаина, который является общим и консервативным для подтипов вируса гриппа, поэтому настоящее изобретение относится к связывающим молекулам, которые перекрестно реагируют со всеми подтипами вируса гриппа Н3, Н7 и/или Н10 и с другими подтипами вируса гриппа, содержащими белок НА, включающий эти конкретные эпитопы, предпочтительно со всеми подтипами вируса гриппа филогенетической группы 2. Перекрестно нейтрализующие связывающие молекулы предпочтительно связываются с несколькими штаммами подтипов Н3, Н7 и/или Н10 и нейтрализуют эти штаммы. В одном из вариантов изобретения эти перекрестно нейтрализующие связывающие молекулы связываются по меньшей мере с одним или несколькими недавно обнаруженными штаммами H3N2, выбранными из группы, состоящей из штаммов: А/Висконсин/67/2005, А/Хиросима/52/2005, А/Иоханесбург/33/94 и А/Панама/2007/99, и нейтрализуют по меньшей мере один или несколько из указанных штаммов. В другом варианте изобретения связывающие молекулы также связываются со штаммом H3N2, а именно А/Гонконг/1/68, и нейтрализуют этот штамм. Наиболее предпочтительно связывающие молекулы связываются со всеми штаммами вируса гриппа H3N2, которые были обнаружены за период времени с 1968 по 2005 гг., предпочтительно со всеми известными штаммами, такими как H3N2, а еще более предпочтительно со всеми штаммами, которые также будут обнаружены в будущем, и нейтрализуют эти штаммы. В другом варианте изобретения связывающие молекулы нейтрализуют в основном все изоляты указанных других подтипов вируса гриппа.

В одном из вариантов изобретения связывающие молекулы связываются с вирусами гриппа всех подтипов, принадлежащих к филогенетической группе 2, и нейтрализуют все эти штаммы.

Специалист в данной области, исходя из настоящего описания, может самостоятельно определить, способно ли антитело перекрестно реагировать с белками НА от вирусов различных подтипов, а также определить, может ли такое антитело нейтрализовать вирусы гриппа различных подтипов *in vivo*.

Вирусы гриппа инфицируют клетки посредством связывания с остатками сиаловой кислоты на поверхности клеток-мишеней, а после переноса их в эндосомы - посредством слияния клеточных мембран с эндосомными мембранами и высвобождения комплекса "геном-транскриптаза" в клетку. Процесс связывания с рецептором и слияния мембран опосредуется гликопротеином НА. НА вируса гриппа А имеет две структурно отличающиеся области, т.е. глобулярную головную область, которая содержит сайт связывания с рецептором, ответственный за присоединение вируса к клетке-мишени и участвующий в гемагглютинации НА, и область "стебля", которая содержит гибридный пептид, необходимый для слияния мембраны вирусной оболочки с эндосомной мембраной клетки. Белок НА представляет собой тример, в котором каждый мономер состоит из двух связанных дисульфидными связями гликополипептидов, НА1 и НА2, которые продуцируются в процессе инфицирования в результате протеолитического расщепления предшественника (НА0). Расщепление необходимо для сообщения данному вирусу инфекционности, поскольку она требуется для инициации слияния НА с мембраной, что приводит к конформационному изменению. Активация примированной молекулы происходит при низком pH в эндосомах, т.е. при pH 5-6, и для ее осуществления требуются значительные изменения структуры НА. 3-мерная структура нерасщепленного НА перед слиянием (I), расщепленного НА перед слиянием (II), и конформационного НА после слияния (III) схематически представлены на фиг. 4. Каждая стадия примирования и активации НА, необходимая для осуществления процесса слияния с мембраной, является другой мишенью для ингибирования, например, моноклональными антителами.

В одном из вариантов изобретения связывающие молекулы, по меньшей мере, способны предотвращать расщепление молекулы-предшественника НА типа НА0 в анализе *in vitro*, например в анализе, описанном ниже в примерах. Как объяснялось выше, расщепление молекулы-предшественника НА типа НА0 с образованием НА1 и НА2 под действием протеаз хозяина необходимо для активации инфекционности вируса. Таким образом, предотвращение расщепления молекулы-предшественника НА типа НА0 под действием связывающих молекул согласно изобретению может предупреждать инфицирование вирусом гриппа.

В одном из вариантов изобретения связывающие молекулы связываются с эпитопом, содержащим аминокислоту в положениях 19, 25, 27, 33 и/или 34 полипептида НА2 белка НА типа Н3. В одном из вариантов изобретения связывающие молекулы связываются с указанным эпитопом на НА2, если аминокислотой в положении 19 является аспарагиновая кислота (D), аминокислотой в положении 25 является глутамин (Q), аминокислотой в положении 27 является глицин (G), аминокислотой в положении 33 является глицин (G) и/или аминокислотой в положении 34 является глутамин. Предпочтительно связываю-

щие молекулы не связываются с указанным эпитопом на HA2, если одна или несколько из указанных аминокислот были заменены. Нумерация аминокислот представлена для последовательности гемагглютинина, взятой из базы данных Uniprot № Q91MA7 (SEQ ID NO: 193). В базе данных Q91MA7 дана полноразмерная последовательность незрелого HA, происходящего от штамма A/Гонконг/1/1968. Последовательность HA2 начинается с положения G346 нерасщепленного незрелого белка HA. В последовательности, пронумерованной выше, G346 представляет собой G1 в последовательности HA2.

Предпочтительной связывающей молекулой согласно изобретению является молекула, выбранная из группы, состоящей из:

- a) связывающей молекулы, включающей область CDR1 тяжелой цепи SEQ ID NO: 81, область CDR2 тяжелой цепи SEQ ID NO: 82 и область CDR3 тяжелой цепи SEQ ID NO: 83;
- b) связывающей молекулы, включающей область CDR1 тяжелой цепи SEQ ID NO: 87, область CDR2 тяжелой цепи SEQ ID NO: 88 и область CDR3 тяжелой цепи SEQ ID NO: 89;
- c) связывающей молекулы, включающей область CDR1 тяжелой цепи SEQ ID NO: 103, область CDR2 тяжелой цепи SEQ ID NO: 104 и область CDR3 тяжелой цепи SEQ ID NO: 105;
- d) связывающей молекулы, включающей область CDR1 тяжелой цепи SEQ ID NO: 109, область CDR2 тяжелой цепи SEQ ID NO: 110 и область CDR3 тяжелой цепи SEQ ID NO: 111;
- e) связывающей молекулы, включающей область CDR1 тяжелой цепи SEQ ID NO: 115, область CDR2 тяжелой цепи SEQ ID NO: 116 и область CDR3 тяжелой цепи SEQ ID NO: 117;
- f) связывающей молекулы, включающей область CDR1 тяжелой цепи SEQ ID NO: 121, область CDR2 тяжелой цепи SEQ ID NO: 122, и область CDR3 тяжелой цепи SEQ ID NO: 123;
- g) связывающей молекулы, включающей область CDR1 тяжелой цепи SEQ ID NO: 126, область CDR2 тяжелой цепи SEQ ID NO: 127, и область CDR3 тяжелой цепи SEQ ID NO: 128;
- h) связывающей молекулы, включающей область CDR1 тяжелой цепи SEQ ID NO: 132, область CDR2 тяжелой цепи SEQ ID NO: 133 и область CDR3 тяжелой цепи SEQ ID NO: 134;
- i) связывающей молекулы, включающей область CDR1 тяжелой цепи SEQ ID NO: 138, область CDR2 тяжелой цепи SEQ ID NO: 139 и область CDR3 тяжелой цепи SEQ ID NO: 140;
- j) связывающей молекулы, включающей область CDR1 тяжелой цепи SEQ ID NO: 144, область CDR2 тяжелой цепи SEQ ID NO: 145 и область CDR3 тяжелой цепи SEQ ID NO: 146;
- k) связывающей молекулы, включающей область CDR1 тяжелой цепи SEQ ID NO: 150, область CDR2 тяжелой цепи SEQ ID NO: 151 и область CDR3 тяжелой цепи SEQ ID NO: 152;
- l) связывающей молекулы, включающей область CDR1 тяжелой цепи SEQ ID NO: 156, область CDR2 тяжелой цепи SEQ ID NO: 157 и область CDR3 тяжелой цепи SEQ ID NO: 158;
- m) связывающей молекулы, включающей область CDR1 тяжелой цепи SEQ ID NO: 162, область CDR2 тяжелой цепи SEQ ID NO: 163 и область CDR3 тяжелой цепи SEQ ID NO: 164;
- n) связывающей молекулы, включающей область CDR1 тяжелой цепи SEQ ID NO: 168, область CDR2 тяжелой цепи SEQ ID NO: 169 и область CDR3 тяжелой цепи SEQ ID NO: 170;
- o) связывающей молекулы, включающей область CDR1 тяжелой цепи SEQ ID NO: 173, область CDR2 тяжелой цепи SEQ ID NO: 174 и область CDR3 тяжелой цепи SEQ ID NO: 175;
- p) связывающей молекулы, включающей область CDR1 тяжелой цепи SEQ ID NO: 179, область CDR2 тяжелой цепи SEQ ID NO: 180 и область CDR3 тяжелой цепи SEQ ID NO: 181.

В предпочтительном варианте изобретения связывающая молекула согласно изобретению может быть использована в качестве лекарственного средства, предпочтительно для диагностики, терапии и/или профилактики инфекции, вызываемой вирусом гриппа. Предпочтительным вирусом гриппа, который вызывает инфицирование и который может быть обработан связывающими молекулами согласно изобретению, является вирус гриппа подтипа H3N2. Настоящее изобретение также относится к фармацевтической композиции, содержащей связывающую молекулу согласно изобретению и фармацевтически приемлемый наполнитель.

В еще одном своем варианте настоящее изобретение относится к применению связывающей молекулы согласно изобретению для приготовления лекарственного средства для диагностики, профилактики и/или лечения инфекции, вызываемой вирусом гриппа. Такие инфекции могут наблюдаться у небольшого числа людей, но они могут распространяться по всему миру при сезонных эпидемиях или, что еще хуже, они могут приводить к глобальным пандемиям с риском заражения миллионов людей. Настоящее изобретение относится к связывающим молекулам, которые могут нейтрализовать инфекцию, вызываемую штаммами вируса гриппа и приводящую к сезонным эпидемиям, а, возможно, также и к пандемиям. Важно отметить, что предупреждение и лечение инфекций, вызываемых вирусами гриппа различных подтипов, могут быть теперь осуществлены с использованием связывающих молекул согласно изобретению, поскольку было обнаружено, что связывающие молекулы согласно изобретению обладают способностью перекрестно нейтрализовать вирусы гриппа различных подтипов, принадлежащих к филогенетической группе 2, включая подтипы H3, H7 и H10.

CDR-области связывающих молекул согласно изобретению представлены в табл. 1. CDR-области описаны Кэбатом (Kabat) и сотрудниками (1991) в публикации "Sequences of Proteins of Immunological Interest". В одном из вариантов изобретения связывающие молекулы могут содержать одну, две, три, четыре, пять или все шесть областей CDR, описанных в настоящем документе. Предпочтительно связывающая молекула согласно изобретению содержит по меньшей мере две описанные здесь CDR.

В другом варианте изобретения связывающие молекулы согласно изобретению содержат переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 74 и SEQ ID NO: 78.

В другом варианте изобретения связывающие молекулы согласно изобретению содержат переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 76 и SEQ ID NO: 80.

Другие аспекты изобретения включают функциональные варианты связывающих молекул, определенные в настоящем описании. Молекулы рассматриваются как функциональные варианты связывающей молекулы согласно изобретению, если они обладают способностью конкурировать с "родительскими" или "эталонными" связывающими молекулами за специфическое связывание с вирусом гриппа H3N2 или с его фрагментом. Другими словами, указанные функциональные варианты еще обладают способностью связываться с тем же самым или с перекрывающимся эпитопом вируса гриппа H3N2 или с его фрагментом. Для удобства, используемые в настоящем описании термины "родительский" и "эталонный" употребляются как синонимы, а это означает, что информация об эталонной или родительской молекуле или о самой физической молекуле может быть взята за основу для внесения модификаций. Предпочтительно указанные функциональные варианты обладают способностью конкурировать за специфическое связывание по меньшей мере с двумя (или более) различными штаммами вируса гриппа H3N2 или их фрагментами, которые специфически связаны с эталонными связывающими молекулами. Кроме того, эти молекулы рассматриваются как функциональные варианты связывающей молекулы согласно изобретению, если они обладают нейтрализующей активностью, направленной против вируса гриппа H3N2, а предпочтительно против по меньшей мере двух (или более) штаммов вируса гриппа H3N2, который нейтрализуется благодаря нейтрализующей активности родительской связывающей молекулы. Функциональными вариантами являются, но не ограничиваются ими, производные, которые имеют в основном аналогичные первичные структурные последовательности, включая производные, которые имеют модификации в Fc-рецепторе или в других областях, обладающих эффекторными функциями, и/или которые содержат, например, *in vitro* или *in vivo* модификации, т.е. химические и/или биохимические модификации, отсутствующие в родительской связывающей молекуле. Такими модификациями являются, *inter alia*, ацетилирование, ацилирование, ковалентное связывание нуклеотида или нуклеотидного производного, ковалентное связывание липида или липидного производного, перекрестное связывание, образование дисульфидных связей, гликозилирование, гидроксילирование, метилирование, окисление, пегилирование, протеолитический процессинг, фосфорилирование и т.п.

Альтернативно, функциональные варианты могут представлять собой связывающие молекулы, описанные в настоящем изобретении и содержащие аминокислотную последовательность, имеющую замены, инсерции, делеции одной или нескольких аминокислот или их комбинации по сравнению с аминокислотными последовательностями родительских связывающих молекул. Кроме того, функциональные варианты могут иметь усечения аминокислотной последовательности на аминоконце или на карбоксиконце или на обоих концах. Функциональные варианты согласно изобретению могут иметь одинаковые или различные либо более высокие или более низкие аффинности связывания по сравнению с аффинностью связывания родительской связывающей молекулы, но при этом они все могут обладать способностью связываться с вирусом гриппа H3N2 или с его фрагментом. Так, например, функциональные варианты согласно изобретению могут иметь более высокую или более низкую аффинность связывания с вирусом гриппа H3N2 или с его фрагментом по сравнению с аффинностью связывания с родительскими связывающими молекулами. Предпочтительно, аминокислотные последовательности переменных областей, включая, но не ограничиваясь ими, каркасные области, гипервариабельные области, в частности области CDR3, являются модифицированными. Обычно переменные области легкой цепи и тяжелой цепи включают три гипервариабельные области, содержащие три CDR, и более консервативные области, так называемые каркасные области (FR). Гипервариабельные области включают аминокислотные остатки от CDR и аминокислотные остатки от гипервариабельных петель. Функциональные варианты, входящие в объем настоящего изобретения, имеют аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере примерно на 50-99%, предпочтительно по меньшей мере примерно на 60-99%, более предпочтительно по меньшей мере примерно на 70-99%, еще более предпочтительно по меньшей мере примерно на

80-99%, наиболее предпочтительно по меньшей мере примерно на 90-99%, в частности по меньшей мере примерно на 95-99%, а более конкретно, по меньшей мере примерно на 97-99% гомологична аминокислотной последовательности родительских связывающих молекул, описанных в настоящем изобретении. Для оптимального выравнивания аминокислотных последовательностей в целях их сравнения и определения аналогичных или идентичных аминокислотных остатков специалист в данной области может использовать компьютерные алгоритмы, такие как *inter alia*, Gap или Bestfit. Функциональные варианты могут быть получены путем модификации родительских связывающих молекул или их частей общими методами молекулярной биологии, известными специалистам, включая, но не ограничиваясь ими, ПЦР с вероятностью ошибки, олигонуклеотид-направленный мутагенез, сайт-направленный мутагенез и перестановка тяжелой и/или легкой цепей. В одном из вариантов изобретения функциональные варианты согласно изобретению обладают нейтрализующей активностью, направленной против вируса гриппа H3N2. Нейтрализующая активность указанных вариантов может быть идентична либо она может быть выше или ниже нейтрализующей активности родительских связывающих молекул. В дальнейшем, при употреблении термина "(человеческая) связывающая молекула" подразумевается, что этот термин также охватывает функциональные варианты (человеческой) связывающей молекулы.

В еще одном своем аспекте настоящее изобретение включает иммуноконъюгаты, т.е. молекулы, содержащие по меньшей мере одну связывающую молекулу, определенную в настоящем изобретении, а также по меньшей мере одну метку, такую как *inter alia* детектируемая молекула/детектируемый агент. В настоящем изобретении также рассматриваются смеси иммуноконъюгатов согласно изобретению или смеси по меньшей мере одного из иммуноконъюгатов согласно изобретению и другой молекулы, такой как терапевтическое средство или другая связывающая молекула или другой иммуноконъюгат. В другом варианте изобретения, иммуноконъюгаты согласно изобретению могут включать более чем одну метку. Такие метки могут быть одинаковыми или могут отличаться друг от друга и могут быть нековалентно связаны/конъюгированы со связывающими молекулами. Такая(ие) метка(метки) может(могут) быть также связана(ы)/конъюгирована(ы) непосредственно с человеческими связывающими молекулами посредством ковалентного связывания. Альтернативно, метка(и) может(могут) быть связана(ы)/конъюгирована(ы) со связывающими молекулами посредством одного или нескольких линкерных соединений. Методы конъюгирования меток со связывающими молекулами хорошо известны специалистам.

Метки иммуноконъюгатов согласно изобретению могут представлять собой терапевтические средства, однако они также могут представлять собой детектируемые вещества/агенты. Метками, подходящими для их использования в терапии и/или в целях профилактики развития заболевания, могут быть токсины или их функциональные части, антибиотики, ферменты и другие связывающие молекулы, которые могут усиливать фагоцитоз или иммунную стимуляцию. Иммуноконъюгаты, содержащие детектируемый агент, могут быть использованы в диагностике, например, для того, чтобы определить, инфицирован ли данный индивидуум штаммом вируса гриппа H3N2 или нет, или для мониторинга развития или прогрессирования инфекции, вызываемой вирусом гриппа H3N2, как части процедуры клинического тестирования, например, для определения эффективности данного курса лечения. Однако они могут быть также использованы для детектирования другими способами и/или в аналитических, и/или в диагностических целях. Детектируемыми веществами/агентами являются, но не ограничиваются ими, ферменты, простетические группы, флуоресцентные вещества, люминесцентные вещества, биолюминесцентные вещества, радиоактивные вещества, позитрон-излучающие металлы и ионы нерадиоактивных парамагнитных металлов. Метки, используемые для мечения связывающих молекул в целях детектирования, и/или в аналитических целях, и/или в целях диагностики, зависят от конкретных методов детектирования/анализа/диагностики и/или от таких применяемых методов, как, например, *inter alia*, иммуногистохимическое окрашивание образцов (ткани), детектирование с помощью проточной цитометрии, детектирование методом сканирующей лазерной цитометрии, флуоресцентные иммуноанализы, твердофазные иммуноферментные анализы (ELISA), радиоиммуноанализы (РИА), биоанализы (например, анализы на фагоцитоз), вестерн-блот-анализы и т.п. Подходящие метки, используемые в методах детектирования/анализа/диагностики и/или в известных методах, хорошо известны специалистам в данной области.

Кроме того, человеческие связывающие молекулы или иммуноконъюгаты согласно изобретению могут быть также присоединены к твердым носителям, которые являются особенно подходящими для проведения иммуноанализов *in vitro* или для очистки вируса гриппа H3N2 или его фрагмента. Такие твердые носители могут быть пористыми или непористыми, плоскими или неплоскими. Связывающие молекулы согласно изобретению могут быть присоединены к последовательностям-маркерам, таким как пептид, для облегчения очистки. Примерами являются, но не ограничиваются ими, гексагистиридиновая метка, гемагглютининовая метка (HA), тус-метка или flag-метка. Альтернативно, антитело может быть конъюгировано со "вторым" антителом с образованием гетероконъюгата антитела. В другом аспекте изобретения, связывающие молекулы согласно изобретению могут быть конъюгированы/связаны с одним или несколькими антигенами. Предпочтительно такими антигенами являются антигены, распознаваемые иммунной системой индивидуума, которому вводят конъюгат "связывающая молекула - антиген". Антигены могут быть идентичными, но могут также отличаться друг от друга. Методы конъюгиро-

вания, применяемые для присоединения антигенов и связывающих молекул, хорошо известны специалистам, и такими методами являются, но не ограничиваются ими, применение перекрестно связывающих агентов. Связывающие молекулы согласно изобретению будут связываться с вирусом гриппа H3N2, а антигены, присоединенные к связывающим молекулам, будут инициировать мощную Т-клеточную атаку на

конъюгат, что в конечном счете будет приводить к деструкции вируса гриппа H3N2.

После продуцирования иммуноконъюгатов химическим методом путем прямого или опосредованного конъюгирования, например посредством линкера, иммуноконъюгаты могут быть получены в виде гибридных белков, содержащих связывающие молекулы согласно изобретению и подходящую метку. Гибридные белки могут быть получены методами, известными специалистам, например рекомбинантными методами путем конструирования молекул нуклеиновой кислоты, содержащих нуклеотидные последовательности, кодирующие связывающие молекулы в одной рамке считывания с нуклеотидными последовательностями, кодирующими подходящую(ие) метку(и), и последующей экспрессии молекул нуклеиновой кислоты.

В другом своем аспекте настоящее изобретение относится к молекуле нуклеиновой кислоты, кодирующей, по меньшей мере, связывающую молекулу, функциональный вариант или иммуноконъюгат согласно изобретению. Такие молекулы нуклеиновой кислоты могут быть использованы в качестве промежуточных соединений для клонирования, например в способе созревания аффинности, описанном выше. В предпочтительном варианте изобретения молекулы нуклеиновой кислоты являются выделенными или очищенными.

Для специалиста в данной области очевидно, что функциональные варианты этих молекул нуклеиновой кислоты также составляют часть настоящего изобретения. Функциональными вариантами являются последовательности нуклеиновой кислоты, которые могут быть транслированы непосредственно со стандартного генетического кода с образованием аминокислотной последовательности, идентичной последовательности, транслируемой из родительских молекул нуклеиновой кислоты.

Предпочтительно молекулы нуклеиновой кислоты кодируют связывающие молекулы, содержащие CDR-области, описанные выше. В другом варианте изобретения молекулы нуклеиновой кислоты кодируют связывающие молекулы, содержащие две, три, четыре, пять или даже все шесть CDR-областей связывающих молекул согласно изобретению.

В другом варианте изобретения молекулы нуклеиновой кислоты кодируют связывающие молекулы, содержащие тяжелую цепь, включающую вариabельные последовательности тяжелой цепи, описанные выше. В другом варианте изобретения молекулы нуклеиновой кислоты кодируют связывающие молекулы, содержащие легкую цепь, включающую вариabельные последовательности легкой цепи, описанные выше. Нуклеотидные последовательности и аминокислотные последовательности вариabельных областей тяжелой и легкой цепей связывающих молекул согласно изобретению приводятся ниже.

В другом своем аспекте настоящее изобретение относится к векторам, т.е. к конструкциям нуклеиновой кислоты, содержащим одну или несколько молекул нуклеиновой кислоты согласно изобретению. Векторы могут происходить от плазмид, таких как, *inter alia*, F, R1, RP1, Co1, pBR322, TOL, Ti и т.п.; от космид; от фагов, таких как лямбда, лямбдоид, M13, Mu, P1, P22, Q β , T-even, T-odd, T2, T4, T7 и т.п.; и от растительных вирусов. Векторы могут быть использованы для клонирования и/или для экспрессии связывающих молекул согласно изобретению, и даже для генотерапии. Векторы, содержащие одну или несколько молекул нуклеиновой кислоты согласно изобретению, функционально присоединенной к одной или нескольким молекулам нуклеиновой кислоты, регулирующим экспрессию, также входят в объем настоящего изобретения. Выбор вектора зависит от применяемых рекомбинантных способов и хозяина. Введение векторов в клетки-хозяева может быть осуществлено, *inter alia*, путем трансфекции фосфатом кальция, инфицирования вирусом, трансфекции, опосредуемой DEAE-декстраном, трансфекции липофектаминоом или электропорации. Векторы могут реплицироваться автономно либо они могут реплицироваться вместе с хромосомой, в которую они были интегрированы. Предпочтительно векторы содержат один или несколько селективных маркеров. Выбор маркеров может зависеть от выбранных клеток-хозяев, хотя, как хорошо известно специалистам, они не имеют решающего значения для осуществления настоящего изобретения. Маркерами являются, но не ограничиваются ими, канамицин, неомицин, пурамицин, гигромицин, зеоцин, ген тимидинкиназы, происходящий от вируса простого герпеса (HSV-TK), и мышинный ген дигидрофолат-редуктазы (*dhfr*). В объем настоящего изобретения также входят векторы, содержащие одну или несколько молекул нуклеиновой кислоты, кодирующих человеческие связывающие молекулы, описанные выше, и функционально присоединенных к одной или нескольким молекулам нуклеиновой кислоты, кодирующим белки или пептиды, которые могут быть использованы для выделения человеческих связывающих молекул. Такими белками или пептидами являются, но не ограничиваются ими, глутатион-S-трансфераза; белок, связывающийся с мальтозой; полигистидин, связывающийся с металлом; белок, флуоресцирующий в зеленом диапазоне спектра, люцифераза и β -галактозидаза.

Другим объектом настоящего изобретения являются хозяева, содержащие одну или несколько копий вышеупомянутых векторов. Предпочтительными хозяевами являются клетки-хозяева. Клетками-

хозяевами являются, но не ограничиваются ими, клетки млекопитающих, растений, насекомых, грибов или бактерий. Бактериальными клетками являются, но не ограничиваются ими, клетки грамположительных бактерий или грамотрицательных бактерий, таких как бактерии нескольких видов, принадлежащих к роду *Escherichia*, такому как *E.coli* и *Pseudomonas*. Из клеток, принадлежащих к группе грибов, предпочтительно использовать дрожжевые клетки. Экспрессия в дрожжах может быть достигнута с использованием дрожжевых штаммов, таких как, *inter alia*, *Pichia pastoris*, *Saccharomyces cerevisiae* и *Hansenula polymorpha*. Кроме того, в качестве клеток-хозяев могут быть использованы клетки насекомых, такие как клетки *Drosophila* и Sf9. Помимо указанных клеток, клетками-хозяевами могут быть растительные клетки, такие как *inter alia*, клетки сельскохозяйственных культур, клетки деревьев лесных пород, клетки злаковых растений, используемых в качестве пищевых продуктов или для получения сырья, клетки лекарственных растений, клетки декоративных растений или клетки цветочных луковиц. Трансформированные (трансгенные) растения или клетки растений получают известными методами, например путем *Agrobacterium*-опосредуемого переноса генов; трансформации листовых дисков; трансформации протопластов посредством переноса ДНК, индуцированного полиэтиленгликолем; электропорации; обработки ультразвуком; микроинъекции или биобаллистического переноса генов. Кроме того, подходящей экспрессионной системой может быть бакуловирусная система. В настоящем изобретении предпочтительными экспрессионными системами являются системы клеток млекопитающих, таких как клетки яичника китайского хомячка (CHO), клетки COS, клетки ВНК, клетки NSO или клетки меланомы Бауэса. В клетках млекопитающих экспрессируются белки, содержащие посттрансляционные модификации, которые в основном аналогичны природным молекулам млекопитающих. Поскольку настоящее изобретение относится к молекулам, которые могут быть введены человеку, то особенно предпочтительной является полностью человеческая экспрессионная система. Кроме того, еще более предпочтительными клетками-хозяевами являются человеческие клетки. Примерами человеческих клеток являются, *inter alia*, клетки HeLa, 911, AT1080, A549, 293 и HEK293T. В предпочтительных вариантах изобретения человеческие клетки-продуценты содержат, по меньшей мере, функциональную часть последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующую аденовирусную область E1 в экспрессионном формате. В еще более предпочтительных вариантах изобретения указанные клетки-хозяева происходят от человеческой сетчатки и иммортализованы нуклеиновыми кислотами, содержащими аденовирусные последовательности E1, такие как клетки 911 или клеточная линия, депонированная в Европейской коллекции клеточных культур (ECACC), CAMR, Salisbury, Wiltshire SP4 OJG, Great Britain, 29 февраля 1996 г. под регистрационным номером 96022940 и имеющаяся в продаже под торговым знаком PER.C6® (PER.C6 - зарегистрированный торговый знак Crucell Holland B.V.). В настоящей заявке "клетки PER.C6" представляют собой клетки, депонированные под регистрационным номером 96022940, или их предки, предшествующие или последующие пересевы, а также клетки, происходящие от предков депонированных клеток и любые их производные. Производство рекомбинантных белков в клетках-хозяевах может быть осуществлено методами, хорошо известными специалистам. Применение клеток, имеющихся в продаже под зарегистрированным торговым знаком PER.C6®, в качестве основы для продуцирования представляющих интерес белков, рассматривается в заявке WO 00/63403, описание которой во всей своей полноте вводится в настоящий документ посредством ссылки.

Связывающие молекулы могут быть получены различными методами. Способ продуцирования связывающей молекулы согласно изобретению составляет дополнительную часть настоящего изобретения. Данный способ включает стадии а) культивирования хозяина согласно изобретению в условиях, благоприятствующих экспрессии связывающей молекулы, и б) необязательного выделения экспрессированной связывающей молекулы. Экспрессированные связывающие молекулы могут быть выделены из бесклеточного экстракта, но предпочтительно их выделяют из культуральной среды. Вышеупомянутый способ продуцирования может быть также использован для получения функциональных вариантов связывающих молекул и/или иммуноконъюгатов согласно изобретению. Методы выделения белков, таких как связывающие молекулы, из бесклеточных экстрактов или культуральной среды хорошо известны специалистам в данной области. Связывающие молекулы, функциональные варианты и/или иммуноконъюгаты, которые могут быть получены вышеописанным методом, также являются частью настоящего изобретения.

Альтернативно, после экспрессии в хозяевах, таких как клетки-хозяева, связывающие молекулы и иммуноконъюгаты согласно изобретению могут быть продуцированы путем синтеза с помощью стандартных пептидных синтезаторов или с помощью бесклеточных систем трансляции с использованием нуклеиновой кислоты РНК, происходящей от молекул ДНК согласно изобретению. Связывающие молекулы и иммуноконъюгаты, которые могут быть получены вышеописанными методами синтеза или с использованием бесклеточных систем трансляции, также являются частью настоящего изобретения.

В еще одном варианте изобретения связывающие молекулы согласно изобретению могут быть выделены у трансгенных животных, животных, не являющихся человеком; у млекопитающих, таких как, *inter alia*, кролики, козы или коровы, и могут, например, секретироваться в молоко указанных животных.

В другом альтернативном варианте изобретения связывающие молекулы согласно изобретению,

предпочтительно человеческие связывающие молекулы, специфически связывающиеся с вирусом гриппа H3N2 или с его фрагментом, могут быть выделены у трансгенных млекопитающих, не являющихся человеком, таких как, например, трансгенные мыши или кролики, у которых экспрессируются гены человеческого иммуноглобулина.

Предпочтительно трансгенные млекопитающие, не являющиеся человеком, имеют геном, включающий человеческий трансген тяжелой цепи и человеческий трансген легкой цепи, кодирующие все человеческие связывающие молекулы, описанные выше, или их часть. Трансгенные млекопитающие, не являющиеся человеком, могут быть иммунизованы очищенным или обогащенным препаратом вируса гриппа H3N2 или его фрагмента. Протоколы для иммунизации животных, не являющихся человеком, хорошо известны специалистам. См. руководства: "Using Antibodies: A Laboratory Manual, Edited by E. Harlow, D. Lane (1998), Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York and Current Protocols in Immunology, Edited by J.E. Coligan, A.M. Kruisbeek, D.H. Margulies, E.M. Shevach, W. Strober (2001), John Wiley & Sons Inc., New York, описание которых вводится в настоящий документ посредством ссылки. Протоколы по иммунизации часто включают множественные иммунизации с использованием или без использования адъювантов, таких как полный адъювант Фрейнда и неполный адъювант Фрейнда, но иммунизации могут быть также осуществлены с использованием "оголенной" ДНК. В другом варианте изобретения человеческие связывающие молекулы могут быть продуцированы В-клетками, плазматическими клетками и/или клетками памяти, полученными от трансгенных животных. В еще одном варианте изобретения человеческие связывающие молекулы могут быть продуцированы гибридомами, которые были продуцированы путем слияния В-клеток, полученных от вышеописанных трансгенных животных, не являющихся человеком, с иммортализованными клетками. В-клетки, плазматические клетки и гибридомы, которые могут быть получены от вышеописанных трансгенных млекопитающих, не являющихся человеком, и человеческие связывающие молекулы, которые могут быть получены от вышеописанных трансгенных млекопитающих, не являющихся человеком, В-клеток, плазматических клеток и/или клеток памяти, и гибридом, также являются частью настоящего изобретения.

В другом своем аспекте настоящее изобретение относится к способу идентификации связывающей молекулы, такой как человеческая связывающая молекула, например человеческое моноклональное антитело или его фрагмент, специфически связывающиеся с вирусом гриппа H3N2, или молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующей такие связывающие молекулы, где указанный способ включает стадии (а) контактирования группы связывающих молекул, присутствующих на поверхности реплицируемых генных упаковок, с вирусом гриппа H3N2 или его фрагментом в условиях, благоприятствующих связыванию, (b) отбора по меньшей мере один раз на реплицируемую генную упаковку, связывающуюся с вирусом гриппа H3N2 или его фрагментом, (c) выделения и отделения реплицируемой генной упаковки, связывающейся с вирусом гриппа H3N2 или его фрагментом, от реплицируемых генных упаковок, которые не связываются с вирусом гриппа H3N2 или его фрагментом. Используемая здесь реплицируемая генная упаковка может быть прокариотической или эукариотической и включает клетки, споры, дрожжи, бактерии, вирусы, (бактерио)фаг, рибосомы и полисомы. Предпочтительной реплицируемой генной упаковкой является фаг. Связывающие молекулы, такие как, например, одноцепочечные Fv, представляющие на реплицируемой генной упаковке, т.е. их присоединяют к группе или молекуле, локализованной на внешней поверхности реплицируемой генной упаковки. Реплицируемая генная упаковка представляет собой скринируемую единицу, содержащую скринируемую связывающую молекулу, присоединенную к молекуле нуклеиновой кислоты, кодирующей связывающую молекулу. Молекула нуклеиновой кислоты должна реплицироваться *in vivo* (например, в виде вектора) или *in vitro* (например, с помощью ПЦР, посредством транскрипции и трансляции). Репликация *in vivo* может осуществляться автономно (для клеток), с помощью факторов хозяина (для вируса) или с помощью хозяина и вируса-помощника (для фагамиды). Реплицируемые генные упаковки, представляющие набор связывающих молекул, получают путем введения молекул нуклеиновой кислоты, кодирующих представляемые экзогенные связывающие молекулы, в геномы реплицируемых генных упаковок, с образованием гибридных белков, содержащих эндогенные белки, которые обычно экспрессируются с внешней поверхности реплицируемых генных упаковок. Экспрессия гибридных белков, их транспорт на внешнюю поверхность и их сборка позволяют осуществлять представление экзогенных связывающих молекул на внешней поверхности реплицируемых генных упаковок.

В способах согласно изобретению стадия(и) отбора может(могут) быть осуществлена(ы) с использованием вирусов гриппа H3N2, которые еще являются "живыми", инфекционными или инактивированными. Инактивация вируса гриппа H3N2 может быть осуществлена методами инактивации вирусов, хорошо известными специалистам, такими как, *inter alia*, обработка формалином, β -пропиолактоном (BPL) и метиолатом и/или облучение ультрафиолетом. Методы тестирования, в том случае если вирус гриппа H3N2 является еще "живым", инфекционным и/или жизнеспособным или частично или полностью инактивированным, хорошо известны специалистам. Вирус гриппа H3N2, используемый в вышеуказанном способе, необязательно должен быть получен в очищенной форме, например, он может присутствовать в сыворотке и/или в крови инфицированного индивидуума. Используемый вирус гриппа H3N2 может быть также выделен из клеточной культуры в соответствующей среде.

В одном из вариантов изобретения вирус гриппа H3N2, если его подвергают контактированию с реплицируемыми генными упаковками, получают в виде суспензии. Альтернативно, в случае контактирования они могут быть также связаны с носителем. В одном из вариантов изобретения может быть проведен первый и последующие отборы на один штамм вируса гриппа H3N2. Альтернативно, могут быть проведены первый и последующие раунды отбора на другие штаммы вируса гриппа H3N2. Альтернативно, стадия(и) отбора может(могут) быть осуществлена(ы) в присутствии фрагмента вируса гриппа H3N2, такого как, например, препараты клеточных мембран, рекомбинантные белки или полипептиды H3N2, гибридные белки, содержащие белки или полипептиды H3N2; клетки, экспрессирующие рекомбинантные белки или полипептиды H3N2, и т.п. Внеклеточные части этих белков или полипептидов могут быть также использованы в качестве материалов для отбора. Фрагменты вируса гриппа H3N2 могут быть иммобилизованы на подходящем носителе перед его применением либо они могут быть использованы в виде суспензии. В одном из вариантов изобретения отбор может быть осуществлен на различные фрагменты вируса гриппа H3N2 или фрагменты других штаммов вируса гриппа H3N2. Подходящие комбинации для отбора хорошо известны специалистам. Отбор может быть осуществлен с помощью ELISA или FACS.

В другом своем аспекте настоящее изобретение относится к способу получения связывающей молекулы, специфически связывающейся со штаммом вируса гриппа H3N2 или его фрагментом, или молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующей такую связывающую молекулу, где указанный способ включает стадии а) осуществления описанного выше способа идентификации связывающих молекул и б) выделения из очищенной реплицируемой генной упаковки указанной связывающей молекулы и/или молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующей такую связывающую молекулу. Набор связывающих молекул на поверхности реплицируемых генных упаковок может представлять собой набор scFv или Fab. После получения или идентификации новых scFv или Fab с применением вышеупомянутого способа идентификации связывающих молекул или молекул нуклеиновой кислоты, кодирующих эти связывающие молекулы, ДНК, кодирующие scFv или Fab, могут быть выделены из бактерий или фагов и объединены с применением стандартных методов молекулярной биологии, с получением конструкций, кодирующих scFv, двухвалентные scFv, Fab или полностью человеческие иммуноглобулины с нужной специфичностью (например, IgG, IgA или IgM). Эти конструкции могут быть перенесены в подходящие клеточные линии, и в конечном счете могут быть продуцированы полностью человеческие моноклональные антитела (см. Huls et al., 1999; Boel et al., 2000).

Как было упомянуто выше, предпочтительной реплицируемой генной упаковкой является фаг. Методы фагового дисплея, применяемые для идентификации и получения (человеческих) связывающих молекул, например (человеческих) моноклональных антител, в настоящее время хорошо известны специалистам. Описание этих методов можно найти в патенте США 5696108; в публикациях Burton & Barbas, 1994; de Kruijff et al., 1995b и Phage Display: A Laboratory Manual. Edited by C.F. Barbas, D.R. Burton, J.K. Scott and G.J. Silverman (2001), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York. Все указанные публикации во всей своей полноте вводятся в настоящее описание посредством ссылки. Для конструирования библиотек фагового дисплея наборы генов варибельной области тяжелой и легкой цепей человеческого моноклонального антитела экспрессируют на поверхности бактериофага, предпочтительно нитчатого бактериофага, на поверхности частиц, например, в формате одноцепочечных Fv (scFv) или Fab (см. Kruijff et al., 1995b). Большие библиотеки фагов, экспрессирующих фрагменты антител, обычно содержат более чем $1,0 \times 10^9$ антител с соответствующей специфичностью и могут быть собраны из V-областей иммуноглобулинов, экспрессируемых в В-лимфоцитах иммунизированных или неиммунизированных индивидуумов. В конкретном варианте изобретения фаговую библиотеку связывающих молекул, предпочтительно фаговую библиотеку scFv, получают из РНК, выделенной из клеток, полученных от индивидуума, которому была введена вакцина против вируса гриппа; от индивидуума, которому недавно была введена вакцина против неродственного патогена; от индивидуума, который недавно был инфицирован вирусом H3N2, или от здорового индивидуума. РНК может быть выделена, *inter alia*, из костного мозга или периферической крови, предпочтительно из лимфоцитов периферической крови, или из выделенных В-клеток или даже субпопуляций В-клеток, таких как В-клетки памяти, идентифицированные как CD24⁺/CD27⁺-В-клетки. Таким индивидуумом может быть животное, предпочтительно человек. В предпочтительном варианте изобретения указанные библиотеки могут быть собраны из V-областей иммуноглобулина, экспрессируемых IgM-содержащими В-клетками памяти идентифицированными как IgM⁺/CD24⁺/CD27⁺-клетки.

Альтернативно, библиотеки фагового дисплея могут быть сконструированы из варибельных областей иммуноглобулина, которые частично собирают *in vitro* для внесения дополнительного разнообразия антител в данную библиотеку (полусинтетические библиотеки). Так, например, собранные *in vitro* варибельные области содержат фрагменты синтетически продуцированных, рандомизированных или частично рандомизированных ДНК, присутствующие в указанных областях молекул, которые имеют важное значение для специфичности антитела, например, в CDR-областях. Фаговые антитела, обладающие специфичностью к вирусу гриппа H3N2, могут быть выбраны из библиотеки путем обработки вируса или его фрагмента фаговой библиотекой для связывания фагов, экспрессирующих фрагменты антите-

ла, обладающие специфичностью к данному вирусу или его фрагменту. Несвязанные фаги удаляют путем промывки, а связанные фаги элюируют для инфицирования бактерий *E.coli* и последующего размножения вируса. Для достаточного обогащения фагами, специфически связывающимися с вирусом или его фрагментом, необходимо провести несколько раундов отбора и размножения. Если это необходимо, то перед обработкой фаговой библиотеки вирусом или его фрагментом эта фаговая библиотека может быть сначала нормирована путем ее обработки материалом, не являющимся мишенью, таким как вирусы или его фрагменты, происходящие от другого штамма, т.е. штамма, не являющегося штаммом вируса гриппа H3N2. Такие нормирующие вирусы или их фрагменты могут быть связаны с твердой фазой либо они могут присутствовать в суспензии. Фаги могут быть также отобраны на связывание с комплексными антигенами, такими как сложные смеси белков или (поли)пептидов H3N2, в которые может быть добавлен, но необязательно, другой материал. Для отбора могут быть также использованы клетки-хозяева, экспрессирующие один или несколько белков или (поли)пептидов вируса гриппа H3N2. Метод фагового дисплея, осуществляемый с использованием этих клеток-хозяев, может быть расширен и усовершенствован путем исключения нерелевантных связывающих веществ в процессе скрининга посредством добавления избыточного количества клеток-хозяев, не содержащих молекул-мишеней или содержащих молекулы, которые не являются мишенями, и которые аналогичны, но не идентичны мишени, что значительно увеличивает шанс обнаружения релевантных связывающих молекул. Очевидно, что такое исключение может быть осуществлено до, во время или после скрининга с использованием вируса или его фрагмента. Этот метод называется MABSTRACT®-методом (MABSTRACT® представляет собой зарегистрированный торговый знак Crucell Holland B.V., см. также патент США № 6265150, который вводится в настоящее описание посредством ссылки).

В другом своем аспекте настоящее изобретение относится к способу получения связывающей молекулы, которая может обладать нейтрализующей активностью, направленной против вируса гриппа H3N2, где указанный способ включает стадии (а) осуществления процедуры получения связывающей молекулы, специфически связывающейся с вирусом гриппа H3N2 или его фрагментом, или молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующей такую связывающую молекулу, описанную выше, и (b) подтверждения того факта, обладает ли выделенная связывающая молекула нейтрализующей активностью, направленной против вируса, предпочтительно по меньшей мере против одного или нескольких штаммов вируса гриппа H3N2, выбранных из группы, состоящей из штаммов: А/Гонконг/1/68, А/Иоганесбург/33/94, А/Панама/2007/99, А/Висконсин/67/2005 и А/Хиросима/52/2005, еще более предпочтительно против всех штаммов H3N2, в частности всех известных штаммов H3N2 и штаммов H3N2, которые будут обнаружены в будущем. Анализы, проводимые для того чтобы подтвердить, обладает ли связывающая молекула нейтрализующей активностью, хорошо известны специалистам (см. WHO Manual on Animal Influenza Diagnosis and Surveillance, Geneva: World Health Organisation, 2005 version 2002.5).

В другом своем аспекте настоящее изобретение относится к человеческой связывающей молекуле, обладающей нейтрализующей активностью, направленной против, по меньшей мере, вируса гриппа А, содержащего НА подтипа Н3, где указанная молекула может быть получена одним из способов, описанных выше.

В еще одном своем аспекте настоящее изобретение относится к композициям, включающим, по меньшей мере, связывающую молекулу, предпочтительно человеческое моноклональное антитело согласно изобретению, по меньшей мере, его функциональный вариант, по меньшей мере, иммуноконъюгат согласно изобретению и/или их комбинации. Кроме того, указанные композиции могут содержать, *inter alia*, стабилизирующие молекулы, такие как альбумин или полиэтиленгликоль, или их соли. Предпочтительно используемыми солями являются соли, которые сохраняют нужную биологическую активность связывающих молекул и не вызывают каких-либо нежелательных токсических эффектов. При необходимости, человеческие связывающие молекулы согласно изобретению могут быть заключены в материал или нанесены на материал, защищающий их от действия кислот или других природных или не природных факторов, которые могут инактивировать связывающие молекулы.

В другом своем аспекте настоящее изобретение относится к композициям, содержащим, по меньшей мере, молекулу нуклеиновой кислоты, определенную в настоящем изобретении. Такие композиции могут содержать водные растворы, такие как водные растворы, содержащие соли (например, NaCl или соли, описанные выше), детергенты (например, SDS) и/или другие подходящие компоненты.

Кроме того, настоящее изобретение относится к фармацевтическим композициям, содержащим, по меньшей мере, связывающую молекулу, такую как человеческое моноклональное антитело согласно изобретению (его функциональный фрагмент или вариант), по меньшей мере, иммуноконъюгат согласно изобретению, по меньшей мере, композицию согласно изобретению и/или их комбинации. Фармацевтическая композиция согласно изобретению также содержит по меньшей мере один фармацевтически приемлемый наполнитель. Фармацевтически приемлемые наполнители хорошо известны специалистам. Фармацевтическая композиция согласно изобретению может также содержать по меньшей мере одно другое терапевтическое средство. Подходящие средства также хорошо известны специалистам.

В предпочтительном варианте изобретения фармацевтическая композиция согласно изобретению содержит по меньшей мере одну дополнительную связывающую молекулу, т.е. фармацевтическая ком-

позиция может представлять собой "коктейль" или смесь связывающих молекул. Такая фармацевтическая композиция может содержать по меньшей мере две связывающие молекулы согласно изобретению или по меньшей мере одну связывающую молекулу согласно изобретению и по меньшей мере одну другую молекулу, связывающуюся с вирусом гриппа и/или нейтрализующую этот вирус. В другом варианте изобретения дополнительная связывающая молекула может быть приготовлена для одновременного, раздельного или последовательного введения.

В одном из вариантов изобретения фармацевтические композиции могут содержать две или более связывающие молекулы, обладающие нейтрализующей активностью против вируса гриппа А, содержащего НА подтипа Н3, такого как Н3Н2. В одном из вариантов изобретения связывающие молекулы обладают синергической нейтрализующей активностью, если они используются в комбинации. Другими словами, такие композиции могут содержать по меньшей мере две связывающие молекулы, обладающие нейтрализующей активностью, где указанные связывающие молекулы отличаются тем, что они могут действовать синергически при нейтрализации вируса гриппа Н3Н2. Термин "синергический" означает, что связывающие молекулы, используемые в комбинации друг с другом, дают комбинированный эффект, превышающий аддитивный эффект, достигаемый при использовании этих молекул по отдельности. Такие синергически действующие связывающие молекулы могут связываться с различными структурами на одном и том же или на различных фрагментах вируса гриппа Н3Н2. Синергию выражают посредством комбинаторного индекса. Описание комбинаторного индекса (CI) дано Chou и Talalay (1984). Композиции могут, например, содержать одну связывающую молекулу, обладающую нейтрализующей активностью и одну молекулу, специфически связывающуюся с Н3Н2, но не обладающую нейтрализующей активностью. Такие молекулы, которые специфически связываются с Н3Н2, и которые обладают и не обладают нейтрализующей активностью, могут также действовать синергически в отношении нейтрализации вируса гриппа Н3Н2.

В одном из вариантов изобретения фармацевтическая композиция может содержать по меньшей мере две связывающие молекулы, нейтрализующие вирус гриппа, где по меньшей мере одна связывающая молекула обладает способностью нейтрализовать вирус гриппа одного или нескольких подтипов, принадлежащих к филогенетической группе 1, и где по меньшей мере одна связывающая молекула обладает способностью нейтрализовать вирус гриппа одного или нескольких подтипов, принадлежащих к филогенетической группе 2.

В одном из вариантов изобретения фармацевтическая композиция может содержать по меньшей мере одну связывающую молекулу согласно изобретению и по меньшей мере одну другую связывающую молекулу, нейтрализующую вирус гриппа.

В другом варианте изобретения указанная другая связывающая молекула, нейтрализующая вирус гриппа, предпочтительно обладает способностью связываться с вирусом гриппа другого подтипа и нейтрализовать этот вирус, предпочтительно вирус гриппа, содержащий НА подтипа Н1, такой как Н1Н1, и/или НА подтипа Н5, такой как Н5Н1, где указанные связывающие молекулы описаны в WO 2008/028946. Еще более предпочтительно, чтобы указанная другая связывающая молекула представляла собой перекрестно нейтрализующую связывающую молекулу, направленную против вируса гриппа всех подтипов, принадлежащих к филогенетической группе 1, включая подтипы Н1, Н2, Н5, Н9. В предпочтительном варианте изобретения другой связывающей молекулой является связывающая молекула, идентифицированная как CR6261 в WO 2008/028946, где указанная связывающая молекула включает вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислоты 1-121 аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 186 или ее функционального варианта, и/или вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислоты 1-112 SEQ ID NO: 188. В другом варианте изобретения связывающая молекула включает тяжелую и легкую цепи, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 186 и SEQ ID NO: 188 соответственно. Таким образом, предпочтительно, чтобы связывающие молекулы в фармацевтической композиции обладали способностью реагировать с вирусами гриппа различных подтипов. Связывающие молекулы должны обладать высокой аффинностью и должны иметь широкий спектр специфичности. Предпочтительно, чтобы обе связывающие молекулы представляли собой перекрестно нейтрализующие молекулы, т.е. предпочтительно, чтобы каждая из этих молекул нейтрализовала вирусы гриппа различных подтипов. Кроме того, предпочтительно, чтобы они нейтрализовали как можно больше штаммов вирусов гриппа каждого из различных подтипов.

Фармацевтическая композиция согласно изобретению может также содержать по меньшей мере одно другое терапевтическое, профилактическое и/или диагностическое средство.

Предпочтительно, фармацевтическая композиция содержит по меньшей мере одно другое профилактическое и/или терапевтическое средство. Предпочтительно, чтобы указанные другие терапевтические и/или профилактические средства можно было использовать для профилактики и/или лечения инфекции, вызываемой вирусом гриппа Н3Н2, и/или состояния, ассоциированного с такой инфекцией. Терапевтическими и/или профилактическими средствами являются, но не ограничиваются ими, противовирусные средства. Таким средствами могут быть связывающие молекулы, небольшие молекулы, органические или неорганические соединения, ферменты, полинуклеотидные последовательности, противовирусные пептиды и т.п. Другими средствами, используемыми в настоящее время для лечения пациентов,

инфицированных вирусом гриппа H3N2, являются ингибиторы M2 (например, амантидин, римантадин) и/или ингибиторы нейраминидазы (например, занамивир, оселтамивир). Эти средства могут быть использованы в комбинации со связывающими молекулами согласно изобретению. Термин "в комбинации" означает одновременное введение указанных средств в виде отдельных препаратов или в виде одного комбинированного препарата или последовательное введение этих средств в виде отдельных препаратов в любом порядке. Средства, которые могут быть использованы для профилактики и/или лечения инфекции, вызываемой вирусом гриппа H3N2, и/или состояния, ассоциированного с такой инфекцией, и которые в настоящее время проходят экспериментальную стадию испытаний, могут быть также использованы в качестве других терапевтических и/или профилактических средств согласно изобретению.

Связывающие молекулы или фармацевтические композиции согласно изобретению, перед их введением человеку, могут быть протестированы на экспериментальных животных с моделью заболевания. Такими животными с моделью заболевания являются, но не ограничиваются ими, мыши, хорьки и обезьяны.

Обычно фармацевтические композиции должны быть стерильными и стабильными в условиях их приготовления и хранения. Связывающие молекулы, иммуноконъюгаты, молекулы нуклеиновой кислоты или композиции согласно изобретению могут быть приготовлены в виде порошка для последующего разведения в подходящем фармацевтически приемлемом наполнителе до или в процессе их доставки. В случае стерильных порошков, используемых для приготовления стерильных растворов для инъекций, предпочтительными методами приготовления являются вакуумная сушка и сушка вымораживанием (лиофилизация), в результате которой может быть получен порошок, состоящий из активного ингредиента и любого дополнительного нужного ингредиента, происходящего от раствора, предварительно отфильтрованного в стерильных условиях.

Альтернативно, связывающие молекулы, иммуноконъюгаты, молекулы нуклеиновой кислоты или композиции согласно изобретению могут быть приготовлены в растворе и в подходящем фармацевтически приемлемом наполнителе, который может быть добавлен и/или смешан до или во время их доставки с получением унифицированной лекарственной формы для инъекций.

Предпочтительно фармацевтически приемлемый наполнитель, используемый в настоящем изобретении, является подходящим для получения высококонцентрированного лекарственного средства, может сохранять присущую ему текучесть или, если это необходимо, он может замедлять абсорбцию.

Выбор оптимального способа введения фармацевтических композиций зависит от ряда факторов, включая физико-химические свойства активных молекул, присутствующих в композициях, тяжесть клинического состояния и взаимосвязь концентрации активных молекул в плазме с желаемым терапевтическим эффектом. Так, например, при необходимости, связывающие молекулы согласно изобретению могут быть получены вместе с носителями, которые защищают их от быстрого высвобождения, где указанные молекулы приготавливаются в виде препарата пролонгированного высвобождения, включая имплантаты, чрескожные пластыри и микроинкапсулированные системы доставки. Могут быть использованы биологически разлагаемые и биологически совместимые полимеры, *inter alia*, такие как этиленвинилацетат, полиангидриды, полигликолевая кислота, коллаген, полиортоэфиры и полимолочная кислота. Кроме того, может оказаться необходимым покрытие связывающих молекул материалом или соединением, предупреждающим инактивацию человеческих связывающих молекул, или совместное введение таких молекул с указанным материалом или соединением. Так, например, связывающие молекулы могут быть введены индивидууму в соответствующем носителе, например в липосомах или в разбавителе.

Способы введения могут быть разделены на две основные категории, такие как пероральное и парентеральное введение. Предпочтительными способами введения являются внутривенное введение или введение путем ингаляции.

Пероральные лекарственные формы могут быть приготовлены, *inter alia*, в виде таблеток, лекарственных конфеток, пастилок, водных или масляных суспензий, диспергируемых порошков или гранул, эмульсий, жестких капсул, мягких желатиновых капсул, сиропов или эликсиров, пилюль, драже, жидкостей, гелей или взвесей. Эти препараты могут содержать фармацевтически приемлемые наполнители, включая, но не ограничиваясь ими, инертные разбавители, гранулирующие и дезинтегрирующие агенты, связывающие агенты, замасливатели, консерванты, красители, отдушки или подсластители, растительные или минеральные масла, смачивающие агенты и загустители.

Фармацевтические композиции согласно изобретению могут быть также приготовлены для парентерального введения. Препараты для парентерального введения могут быть приготовлены *inter alia* в форме водных или безводных изотонических стерильных нетоксичных растворов или суспензий для инъекций или инфузий. Растворы или суспензии могут содержать агенты, которые являются нетоксичными для реципиентов в используемых дозах и концентрациях, такие как 1,3-бутандиол, раствор Рингера, раствор Хэнкса, изотонический раствор хлорида натрия, масла, жирные кислоты, местные анестетики, консерванты, буферы, агенты, повышающие вязкость или растворимость, водорастворимые антиоксиданты, растворимые в масле антиоксиданты и агенты, образующие хелатные комплексы с металлом.

В другом аспекте изобретения связывающие молекулы, такие как человеческие моноклональные антитела (их функциональные фрагменты и варианты), иммуноконъюгаты, композиции или фармацевти-

ческие композиции согласно изобретению, могут быть использованы в качестве лекарственного средства. Поэтому способ диагностики, лечения и/или профилактики инфекции, вызываемой вирусом гриппа H3N2, проводимый с использованием связывающих молекул, иммуноконъюгатов, композиций или фармацевтических композиций согласно изобретению, составляет другую часть настоящего изобретения. Вышеупомянутые молекулы могут быть использованы *inter alia* для диагностики, профилактики, лечения или комбинированного лечения инфекции, вызываемой вирусом гриппа H3N2. Такие молекулы могут быть использованы для лечения пациентов, инфицированных вирусом гриппа H3N2, но еще не прошедших курс лечения, и пациентов, прошедших курс лечения или проходящих курс лечения инфекции, вызываемой вирусом гриппа H3N2.

Вышеупомянутые молекулы или композиции могут быть использованы в комбинации с другими молекулами, обычно используемыми для диагностики, профилактики и/или лечения. Эти молекулы могут быть использованы *in vitro*, *ex vivo* или *in vivo*. Так, например, связывающие молекулы, такие как человеческие моноклональные антитела (или их функциональные варианты), иммуноконъюгаты, композиции или фармацевтические композиции согласно изобретению, могут быть введены вместе с вакциной против вируса гриппа H3N2 (если это возможно). Альтернативно, вакцина может быть также введена до или после введения молекул согласно изобретению. Вместо вакцины могут быть использованы противовирусные агенты, которые также могут быть введены в комбинации со связывающими молекулами согласно изобретению. Подходящие противовирусные агенты указаны выше.

Указанные молекулы обычно приготавливают в виде композиций или фармацевтических композиций согласно изобретению, в которых эти молекулы присутствуют в терапевтически или диагностически эффективном количестве. Альтернативно, они могут быть приготовлены и введены отдельно. Так, например, другие молекулы, такие как противовирусные средства, могут быть введены системно, а связывающие молекулы согласно изобретению могут быть введены внутривенно.

Лечение может быть проведено для групп пациентов, восприимчивых к инфицированию вирусом H3N2. Такие группы пациентов являются, но не ограничиваются ими, например, пожилые люди (например, ≥ 50 лет, ≥ 60 лет, предпочтительно ≥ 65 лет), дети (например, ≤ 5 лет, ≤ 1 года), госпитализированные пациенты и пациенты, которые прошли курс лечения противовирусным соединением, но у которых наблюдался неадекватный противовирусный ответ.

Схемы введения доз могут быть скорректированы для достижения оптимального желаемого ответа (например, терапевтического ответа). Подходящий интервал доз может составлять, например, 0,1-100 мг/кг массы тела, предпочтительно 1-50 мг/кг массы тела, еще более предпочтительно 0,5-15 мг/кг массы тела. Кроме того, например, может быть введена разовая ударная доза, может быть введено несколько дробных доз в течение определенного периода времени либо доза может быть пропорционально уменьшена или увеличена в зависимости от срочности терапевтической ситуации. Молекулы и композиции согласно изобретению предпочтительно являются стерильными. Методы стерилизации таких молекул и композиций хорошо известны специалистам. Другие молекулы, используемые для диагностики, профилактики и/или лечения, могут быть введены по схеме введения, аналогичной схеме, предложенной для введения связывающих молекул согласно изобретению. Если указанные другие молекулы вводят по отдельности, то они могут быть введены пациенту до (например, за 2, 5, 10, 15, 30, 45, 60 мин, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24 ч, 2, 3, 4, 5, 7 дней, 2, 4 или 6 недель), во время или после (например, через 2, 5, 10, 15, 30, 45, 60 мин, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24 ч, 2, 3, 4, 5, 7 дней, 2, 4 или 6 недель) введения одной или нескольких человеческих связывающих молекул или фармацевтических композиций согласно изобретению. Точную схему введения доз обычно корректируют в процессе клинических испытаний для каждого конкретного пациента.

Человеческие связывающие молекулы и фармацевтические композиции, содержащие такие человеческие связывающие молекулы, являются особенно подходящими, а в большинстве случаев предпочтительными для введения человеку в виде терапевтических средств *in vivo*, поскольку иммунный ответ у реципиента, вырабатываемый на вводимое антитело, в основном ниже, чем ответ, наблюдаемый при введении моноклональной мышшиной, химерной или гуманизированной связывающей молекулы.

В другом своем аспекте настоящее изобретение относится к применению связывающих молекул, таких как нейтрализующие человеческие моноклональные антитела (их функциональные фрагменты и варианты), иммуноконъюгаты, молекулы нуклеиновой кислоты, композиции или фармацевтические композиции согласно изобретению, в целях приготовления лекарственного препарата для диагностики, профилактики, лечения или комбинированного лечения инфекции, вызываемой вирусом гриппа H3N2.

Кроме того, наборы, содержащие, по меньшей мере, связывающую молекулу, такую как нейтрализующее человеческое моноклональное антитело (его функциональные фрагменты и варианты), по меньшей мере, иммуноконъюгат, по меньшей мере, молекулу нуклеиновой кислоты, по меньшей мере, композицию, по меньшей мере, фармацевтическую композицию, по меньшей мере, вектор, по меньшей мере, хозяина согласно изобретению или их комбинации, также составляют часть настоящего изобретения. Вышеописанные компоненты набора согласно изобретению могут быть упакованы, но необязательно, в подходящие контейнеры, а на этикетке может быть указано, что они используются для диагностики, профилактики и/или лечения указанных состояний. Вышеупомянутые компоненты могут храниться в

упаковке на один прием или в упаковке для многократного приема доз, в виде водного, предпочтительно стерильного раствора или лиофилизованного, предпочтительно стерильного препарата для разведения. Контейнеры могут быть изготовлены из различных материалов, таких как стекло или пластик, и могут иметь стерильное отверстие для доступа (например, упаковка может представлять собой пакет с раствором для внутривенного введения или сосуд с крышкой, протыкаемой иглой для подкожных инъекций). Набор может также включать несколько упаковок, содержащих фармацевтически приемлемый буфер. Набор может также включать и другие материалы, необходимые с точки зрения промышленного производства и потребителя, включая другие буферы, разбавители, фильтры, иглы, шприцы, культуральную среду для одного или нескольких подходящих хозяев, а возможно даже по меньшей мере одно терапевтическое, профилактическое или диагностическое средство. Наборы могут также содержать инструкции, специально включенные в коммерчески доступные упаковки терапевтических, профилактических или диагностических продуктов, где в указанных инструкциях имеется информация, например, о показаниях, применении, дозах, способе приготовления, способе введения и противопоказаниях, и/или предупреждение относительно применения таких терапевтических, профилактических или диагностических продуктов.

Связывающие молекулы согласно изобретению могут быть также преимущественно использованы в качестве диагностического средства в способе *in vitro* детектирования вируса гриппа определенного подтипа, принадлежащего к филогенетической группе 2. Настоящее изобретение также относится к способу детектирования вируса гриппа определенного подтипа, принадлежащего к филогенетической группе 2, в образце, где указанный способ включает стадии (а) контактирования образца с диагностически эффективным количеством связывающей молекулы (ее функциональных фрагментов и вариантов) или иммуноконъюгата согласно изобретению и (b) определения специфического связывания связывающей молекулы или иммуноконъюгата с молекулой, присутствующей в образце. Этот образец может представлять собой биологический образец, включая, но не ограничиваясь ими, кровь, сыворотку, кал, мокроту, назофарингеальные аспираты, бронхиальные лаважи, мочу, ткань или другой биологический материал, взятый от (потенциально) инфицированных индивидуумов; или небиологический образец, такой как вода, напиток и т.п. Указанным (потенциально) инфицированным индивидуумом может быть человек, а также животное, которые, как подозревается, являются носителями вируса гриппа, принадлежащего к подтипу филогенетической группы 2, где указанный пациент может быть обследован на присутствие у него вируса с использованием человеческих связывающих молекул или иммуноконъюгатов согласно изобретению. Образец может быть сначала модифицирован для его адаптации к способу детектирования. Модификация означает, *inter alia*, обработку образца, который, как подозревается, содержит и/или действительно содержит вирус, где указанную обработку проводят так, чтобы вирус разлагался на антигенные компоненты, такие как белки, (поли)пептиды или другие антигенные фрагменты. Предпочтительно человеческие связывающие молекулы или иммуноконъюгаты согласно изобретению подвергают контактированию с образцом в условиях, благоприятствующих образованию иммунологического комплекса, содержащего человеческие связывающие молекулы и вирус или его антигенные компоненты, которые могут присутствовать в образце. Образование иммунологического комплекса, если он присутствует, на что указывает присутствие вируса в образце, затем детектируют и измеряют подходящими методами. Такими методами являются, *inter alia*, иммуноанализы на гомогенное и гетерогенное связывание, такие как радиоиммуноанализы (РИА), ELISA, иммунофлуоресцентные анализы, иммуногистохимические анализы, FACS, BIACORE и вестерн-блот-анализы.

Предпочтительными аналитическими методами, в частности методами крупномасштабного клинического скрининга сыворотки пациента, крови и продуктов, выделенных из крови пациента, являются ELISA и вестерн-блот-анализы. Особенно предпочтительными являются ELISA-тесты. Связывающие молекулы или иммуноконъюгаты согласно изобретению, используемые в качестве реагентов в этих анализах, соответствующим образом связывают с внутренней поверхностью лунок микротитрационного планшета. Связывающие молекулы или иммуноконъюгаты согласно изобретению могут быть непосредственно связаны с лункой микротитрационного планшета. Однако максимальный уровень связывания связывающих молекул или иммуноконъюгатов согласно изобретению с лунками может быть достигнут путем предварительной обработки лунок полилизинном перед добавлением связывающих молекул или иммуноконъюгатов согласно изобретению. Кроме того, связывающие молекулы или иммуноконъюгаты согласно изобретению могут быть ковалентно связаны с лунками известными методами. Обычно связывающие молекулы или иммуноконъюгаты, применяемые для покрытия, используются в количестве 0,01-100 мкг/мл, хотя такое количество может быть увеличено или снижено. Затем образцы добавляют в лунки, покрытые связывающими молекулами или иммуноконъюгатами согласно изобретению.

Кроме того, связывающие молекулы согласно изобретению могут быть использованы для идентификации специфически связывающихся структур вируса гриппа H3N2. Связывающими структурами могут быть эпитопы, присутствующие на белках и/или полипептидах. Такие молекулы могут быть линейными, а также структурными и/или конформационными. В одном из вариантов изобретения связывающие структуры могут быть проанализированы с помощью анализа PEPSCAN (см. *inter alia*, WO 84/03564, WO 93/09872, Sloodstra et al., 1996). Альтернативно, рандомизированная пептидная библиотека, содер-

жащая пептиды, происходящие от белка вируса гриппа H3N2, может быть скринирована на пептиды, обладающие способностью связываться со связывающими молекулами согласно изобретению. Связывающие структуры/пептиды/эпитопы могут быть использованы в качестве вакцин и препаратов для диагностики инфицирования вирусом гриппа H3N2. В случае если со связывающими молекулами связаны фрагменты, не являющиеся белками и/или полипептидами, то такие связывающие структуры могут быть идентифицированы с помощью масс-спектрометрии, высокоэффективной жидкостной хроматографии и ядерного магнитного резонанса.

В другом своем аспекте настоящее изобретение относится к способу скрининга связывающей молекулы (или ее функционального фрагмента или варианта) на специфическое связывание с таким же эпитопом вируса гриппа H3N2, как и эпитоп, связанный с человеческой связывающей молекулой согласно изобретению, где указанный способ включает стадии (а) контактирования скринируемой связывающей молекулы, связывающей молекулы согласно изобретению и вируса гриппа H3N2 или его фрагмента, (b) определения способности скринируемой связывающей молекулы конкурировать со связывающей молекулой согласно изобретению за специфическое связывание с вирусом гриппа H3N2 или его фрагментом. В другой стадии может быть определена способность скринируемых связывающих молекул, обладающих нейтрализующей активностью, конкурировать за специфическое связывание с вирусом гриппа H3N2 или его фрагментом. Связывающая молекула, обладающая способностью конкурировать со связывающей молекулой согласно изобретению за специфическое связывание с вирусом гриппа H3N2 или его фрагментом, составляет другую часть настоящего изобретения. В вышеописанном методе скрининга под "специфическим связыванием с тем же самым эпитопом" также подразумевается специфическое связывание в основном или по существу с таким же эпитопом, как и эпитоп, связанный со связывающей молекулой согласно изобретению. Способность блокировать вирус гриппа H3N2 или способность конкурировать со связывающими молекулами согласно изобретению за связывание с вирусом гриппа H3N2 также указывает на то, что скринируемая связывающая молекула связывается с эпитопом или с сайтом связывания на вирусе гриппа H3N2, структурно перекрывающимся с сайтом связывания на вирусе гриппа H3N2, где указанный сайт иммуноспецифически распознается связывающими молекулами согласно изобретению. Альтернативно, это может указывать на то, что скринируемая связывающая молекула связывается с эпитопом или с сайтом связывания, которые расположены достаточно близко от сайта связывания, иммуноспецифически распознаваемого связывающими молекулами согласно изобретению, что будет приводить к стерическому или к какому-либо другому ингибированию связывания связывающих молекул согласно изобретению с вирусом гриппа H3N2.

В общих чертах конкурентное ингибирование измеряют с помощью анализа, в котором антигенную композицию, т.е. композицию, содержащую вирус гриппа H3N2 или его фрагмент, смешивают с эталонными связывающими молекулами, т.е. со связывающими молекулами согласно изобретению, и эти связывающие молекулы подвергают скринингу. Обычно связывающие молекулы, подвергаемые скринингу, присутствуют в избыточном количестве. Такие простые исследования по конкурентному связыванию обычно осуществляют в соответствии с протоколом на основе ELISA и вестерн-блот-анализа. С использованием "вторых" антител определенного вида или изотипа можно детектировать только связанные эталонные связывающие молекулы, уровень связывания которых будет снижаться благодаря присутствию скринируемой связывающей молекулы, которая распознает в основном тот же самый эпитоп. При проведении исследования по конкурентному связыванию связывающей молекулы с эталонной связывающей молекулой и любой скринируемой связывающей молекулой (независимо от ее вида или изотипа), указанная эталонная связывающая молекула может быть сначала помечена детектируемой меткой, такой как, например, биотин, ферментативная, радиоактивная или любая другая метка, которая может быть затем идентифицирована. Связывающими молекулами, идентифицируемыми с помощью анализов по конкурентному связыванию ("конкурентно-связывающие молекулы" или "перекрестно реагирующие связывающие молекулы"), являются, но не ограничиваются ими, антитела, фрагменты антител и другие связывающие агенты, которые связываются с эпитопом или сайтом связывания, связанными с эталонной связывающей молекулой, т.е. связывающей молекулой согласно изобретению, а также антитела, фрагменты антител и другие связывающие агенты, которые связываются с эпитопом или сайтом связывания, расположенным достаточно близко от эпитопа, связанного с эталонной связывающей молекулой, используемой для осуществления конкурентного связывания между скринируемыми связывающими молекулами и эталонной связывающей молекулой. Предпочтительно конкурентно связывающие молекулы согласно изобретению, если они присутствуют в избыточном количестве, ингибируют специфическое связывание эталонной связывающей молекулы с выбранными молекулами-мишенями по меньшей мере на 10%, предпочтительно по меньшей мере на 25%, более предпочтительно по меньшей мере на 50%, а наиболее предпочтительно по меньшей мере на 75-90% или даже более. Идентификация одной или нескольких конкурентно связывающих молекул, которые связываются примерно с таким же, а также в основном или по существу с таким же эпитопом или с тем же самым эпитопом, с которым связываются связывающие молекулы согласно изобретению, представляет собой прямой способ. Поскольку идентификацию конкурентно связывающих молекул осуществляют по сравнению с эталонной связывающей молекулой, т.е. связывающей молекулой согласно изобретению, то очевидно, что для идентификации

конкурентно связывающей молекулы, которая связывается с таким же или, в основном, с тем же самым эпитопом, с которым связывается эталонная связывающая молекула, фактически, совсем не требуется определения эпитопа, с которым связывается эталонная связывающая молекула и конкурентно связывающая молекула. Настоящее изобретение также проиллюстрировано на нижеследующих примерах и на прилагаемом графическом материале. Эти примеры никоим образом не должны рассматриваться как ограничение объема изобретения.

Примеры

Пример 1.

Конструирование библиотек фагового дисплея scFv с использованием РНК, экстрагированной из В-клеток памяти.

Периферическую кровь брали у здоровых доноров путем венопункции и собирали в пробирки с образцами антител против коагулирующих факторов в ЭДТА. Библиотеки фагового дисплея scFv получали, как описано в заявке WO 2008/028946, которая вводится в настоящее описание посредством ссылки. В-клетки памяти (CD24⁺/CD27⁺) отделяли от "необученных" В-клеток (CD24⁺/CD27⁻) и Т-клеток памяти (CD24⁻/CD27⁺), а в следующей стадии В-клетки памяти, продуцирующие IgM (IgM⁺), отделяли от В-клеток памяти, используемых в качестве переключателей (IgM⁻), и экспрессировали IgM. РНК выделяли из IgM-экспрессирующих В-клеток памяти и получали кДНК.

Метод ПЦР-амплификации в два раунда проводили с использованием наборов праймеров, представленных в табл. 1 и 2, для выделения областей VH и VL иммуноглобулинов из соответствующего репертуара антител донора.

В результате проведения первого раунда амплификации на соответствующей кДНК с использованием наборов праймеров, указанных в табл. 1, получали продукты 7, 6 и 9 для областей VH, V_κ и V_λ соответственно, состоящие примерно из 650 пар оснований. Для амплификации VH-области в IgM, экспрессированном В-клетками памяти, использовали константный праймер OCM в комбинации с OH1-OH7. Первый раунд амплификации в термоячейке проводили по следующей программе: 2 мин при 96°C (стадия денатурации), 30 циклов, 30 с при 96°C/30 с при 55°C/60 с при 72°C, 10 мин при 72°C (конечное удлинение) и выдерживание при 4°C (замораживание). Эти продукты загружали на 1% агарозный гель и выделяли из этого геля на колонках для гель-экстракции (Qiagen), а затем элюировали в 50 мкл 1 mM Трис-НСl, pH 8,0. 10% продуктов первого раунда (5 мкл) подвергали второму раунду амплификации с использованием праймеров, указанных в табл. 2. Эти праймеры удлиняли с использованием рестрикционных сайтов, что позволяло проводить направленное клонирование соответствующих областей VL и VH в вектор фагового дисплея PDV-C06. Второй раунд амплификации проводили по следующей ПЦР-программе: 2 мин при 96°C (стадия денатурации), 30 циклов, 30 с при 96°C/30 с при 60°C/60 с при 72°C, 10 мин при 72°C (конечное удлинение) и выдерживание при 4°C (замораживание). Продукты второго раунда (приблизительно 350 пар оснований) сначала объединяли в соответствии с природной встречаемостью J-сегментов, обнаруживаемых в продуктах гена иммуноглобулина, в результате чего получали пулы 7, 6 и 9 для соответствующих варибельных областей VH, V_κ и V_λ (см. табл. 3 и 4). Для достижения нормализованного распределения последовательностей иммуноглобулина в иммунной библиотеке, пулы легких цепей 6 V_κ и 9 V_λ смешивали в процентных отношениях, указанных в табл. 3. Этот единственный конечный пул VL (3 мкг) гидролизуют в течение ночи рестриктирующими ферментами S_{ai}I и N_otI, а затем загружали на 1,5% агарозный гель (приблизительно 350 пар оснований) с использованием колонок Qiagen для гель-экстракции и выделяли с этих колонок, после чего лигировали в S_{ai}I-N_otI-гидролизированный вектор PDV-C06 (приблизительно 5000 пар оснований) в следующем порядке: 10 мкл вектора PDV-C06 (50 нг/мкл), 7 мкл VL-вставки (10 нг/мкл), 5 мкл 10× лигирующего буфера (NEB), 2,5 мкл ДНК-лигазы T4 (400 ед/мкл) (NEB), 25,5 мкл сверхчистой воды (отношение вектор-вставка составляло 1:2). Лигирование осуществляли в течение ночи в водяной бане при 16°C. Затем объем увеличивали в два раза путем добавления воды, экстрагировали равным объемом фенола-хлороформа-изоамилового спирта (75:24:1) (Invitrogen), а затем хлороформом (Merck), и осаждали 1 мкл красителя Pellet Paint (Novogen), 10 мкл ацетата натрия (3 M, pH 5,0) и 100 мкл изопропанола в течение 2 ч при -20°C. После этого полученный образец центрифугировали при 20000×g в течение 30 мин при 4°C. Полученный осадок промывали 70% этанолом и центрифугировали в течение 10 мин при 20000×g при комнатной температуре. Этанол удаляли в вакууме и осадок сушили воздухом в течение нескольких минут, а затем растворяли в 50 мкл буфера, содержащего 10 mM Трис-НСl, pH 8,0. 1 мкл смеси для лигирования использовали для трансформации 40 мкл электрокомпетентных клеток TG-I (Stratagene) в охлажденной 0,1 см-кювете для электропорации (Biorad) с использованием устройства Genepulser II (Biorad), установленного на 1,7 кВ, 200 Ом, 25 мкФ (постоянная времени приблизительно 4,5 мс). Сразу после подачи импульса бактерии вымывали из кюветы струей 1000 мкл среды SOC (Invitrogen), содержащей 5% (мас./об.) глюкозы (Sigma) при 37°C и переносили в 15-миллилитровую круглодонную пробирку для культивирования. Еще 500 мкл SOC/глюкозы использовали для вымывания остаточных бактерий из кюветы и добавляли в пробирку для культивирования. Бактерии выделяли путем культивирования в течение ровно 1 ч при 37°C, в шейкерном инкубаторе при 220 об/мин. Перенесенные бактерии высевали на

большие квадратные 240 мм-чашки Петри (NUNC), содержащие 200 мл агара 2TY (16 г/л бакто-триптона, 10 г/л бакто-дрожжевого экстракта, 5 г/л NaCl, 15 г/л агара, pH 7,0), в которые было добавлено 50 мкг/мл ампициллина и 5% (мас./об.) глюкозы (Sigma). 1:1000-разведение высевали на 15 см-чашки Петри, содержащие ту же самую среду, для подсчета клеток. Эту процедуру трансформации последовательно повторяли 20 раз, и всю библиотеку высевали на все 30ь больших квадратных чашек Петри, а затем культивировали в течение ночи в печи для культивирования при 37°C. Обычно в соответствии с вышеописанным протоколом получали примерно 1×10^7 к.о.е. Промежуточную библиотеку VL легкой цепи собирали из чашек путем осторожного соскабливания бактерий в 10 мл среды 2TY на чашку. Клеточную массу бактерий определяли путем измерения OD₆₀₀, и два раза OD₅₀₀, использовали для получения препарата плазмидной ДНК Maxi на двух колонках P500 Maxiprep (Qiagen) в соответствии с инструкциями производителей.

Аналогично вариабельным областям VL, продукты VH-JH второго раунда сначала смешивали друг с другом, и получали нормальное распределение J-сегментов (см. табл. 4), в результате чего собирали 7 субпулов VH, обозначенных PH1-PH7. Эти пулы смешивали для достижения нормализованного распределения последовательностей с использованием процентных отношений, представленных в табл. 4, в результате чего получали одну фракцию VH, которую гидролизировали рестриктивными ферментами SfiI и XhoI, а затем лигировали в SfiI-XhoI-гидролизованную промежуточную библиотеку PDV-VL, полученную, как описано выше. При этом процедуры лигирования, метод очистки, последующая трансформация TG1 и сбор бактерий проводили точно так же, как это было описано для промежуточной библиотеки VL (см. выше). Конечную библиотеку (приблизительно 5×10^6 к.о.е.) оценивали на частоту встречаемости вставки с помощью ПЦР колоний с использованием набора праймеров, фланкирующих встроенные области VH-VL. Более чем 95% колоний имели соответствующую длину вставки (см. табл. 5). ПЦР-продукты колоний использовали для последующего анализа последовательности ДНК в целях подтверждения вариабельности последовательностей и вычисления процента колоний, имеющих полноразмерную OPC. Это значение обычно превышало 70% (см. табл. 5). Также анализировали частоту встречаемости мутаций V-генов. Из 50 последовательностей 47 (94%) не имели конфигурацию зародышевой линии, что указывало на прохождение процесса созревания, и соответствовали фенотипу В-клеток памяти, используемых в качестве источника РНК для получения библиотеки. И, наконец, библиотеку сохраняли и амплифицировали с использованием хелперных фагов СТ (см. WO 02/103012), а затем использовали для отбора фаговых антител методами пэннинга, описанными ниже.

Пример 2.

Отбор фагов, несущих одноцепочечные Fv-фрагменты против вируса гриппа А подтипов H3 и H7 и против вируса гриппа В.

Фрагменты антител отбирали с использованием библиотек фагового дисплея антител, сконструированных в основном, как описано выше, и с применением общей технологии фагового дисплея и технологии MABSTRACT®, в основном описанной в патенте США № 6265150 и в заявке WO 98/15833 (которые вводятся в настоящее описание посредством ссылки). Кроме того, указанные методы и хелперные фаги, описанные в заявке WO 02/103012 (которая вводится в настоящее описание посредством ссылки), были использованы в настоящем изобретении.

Был проведен отбор на рекомбинантный гемагглютинин (HA) вируса гриппа А подтипа H3 (А/Висконсин/67/2005) и H7 (А/Нидерланды/219/2003) или вируса гриппа В (В/Огайо/01/2005). Антигены HA разводили в PBS (5,0 мкг/мл), добавляли в пробирки MaxiSorp™ Nunc-Immuno (Nunc) и инкубировали в течение ночи при 4°C на вращающемся шейкере. Пробирки для иммунологических реакций опустошали и три раза промывали в блокирующем буфере (2% обезжиренное сухое молоко (ELK) в PBS). Затем пробирки для иммунологических реакций полностью заполняли блокирующим буфером и инкубировали в течение 1-2 ч при комнатной температуре. Аликвоты библиотеки фагового дисплея (500-1000 мкл, $0,5 \times 10^{13}$ - 1×10^{13} к.о.е., амплифицированные с использованием хелперного фага СТ (см. WO 02/103012)) блокировали в блокирующем буфере, в который было добавлено 10% фетальной бычьей сыворотки, не подвергнутой термоинактивации, и 2% мышинной сыворотки в течение 1-2 ч при комнатной температуре. В указанные пробирки для иммунологических реакций добавляли блокированную фаговую библиотеку, инкубировали в течение 2 ч при комнатной температуре и промывали промывочным буфером (0,05% (об./об.) твина-20 в PBS) для удаления несвязанных фагов. Связанные фаги элюировали с соответствующего антигена путем инкубирования с 1 мл 100 мМ триэтиламина (TEA) в течение 10 мин при комнатной температуре. Затем элюированные фаги смешивали с 0,5 мл 1 М трис-HCl, pH 7,5, для нейтрализации pH. Эту смесь использовали для инфицирования 5 мл культуры E.coli XL1-Blue, которую выращивали при 37°C до оптической плотности OD_{600 нм}, равной приблизительно 0,3. Фаги оставляли на 30 мин при 37°C для инфицирования бактерий XL1-Blue. Затем смесь центрифугировали в течение 10 мин при 3000×g при комнатной температуре и бактериальный осадок ресуспендировали в 0,5 мл 2-триптоновой среды с дрожжевым экстрактом (2TY). Полученную бактериальную суспензию распределяли по двум агаровым чашкам с 2TY, в которые были добавлены тетрациклин, ампициллин и глюкоза. После инкубирования чашек в течение ночи при 37°C колонии соскабливали с чашек и использовали для

получения обогащенной фаговой библиотеки, в основном, как описано De Kruif et al. (1995a) и в заявке WO 02/103012. Вкратце, соскобленные бактерии использовали для инокуляции среды 2TY, содержащей ампициллин, тетрациклин и глюкозу, и выращивали при 37°C до оптической плотности OD_{600 нм}, равной приблизительно 0,3. После этого добавляли хелперные фаги СТ и оставляли для инфицирования бактерий, после чего среду заменяли средой 2TY, содержащей ампициллин, тетрациклин и канамицин. Инкубирование осуществляли в течение ночи при 30°C. На следующий день бактерии удаляли из среды 2TY путем центрифугирования, после чего фаги, содержащиеся в среде, осаждали с использованием полиэтиленгликоля (ПЭГ) 6000/NaCl. И, наконец, фаги растворяли в 2 мл PBS, содержащего 1% альбумин бычьей сыворотки (BSA), стерилизовали на фильтре и использовали в следующем раунде отбора. Второй раунд отбора осуществляли либо на HA того же подтипа, либо на HA другого подтипа.

Два последовательных раунда отбора осуществляли перед выделением отдельных одноцепочечных фаговых антител. После проведения второго раунда отбора, отдельные колонии E.coli использовали для получения моноклональных фаговых антител. В основном отдельные колонии культивировали в 96-луночном планшете до достижения логарифмической фазы роста и инфицировали хелперными фагами VCS-M13, после чего культуру оставляли на ночь для продуцирования фаговых антител. Супернатанты, содержащие антифаговые антитела, использовали непосредственно в ELISA для связывания с антигенами HA. Альтернативно, фаговые антитела подвергали ПЭГ/NaCl-преципитации и стерилизовали на фильтре для проведения ELISA-анализа и анализа методом проточной цитометрии.

Пример 3.

Идентификация HA-специфических одноцепочечных фаговых антител.

Отобранные супернатанты, содержащие одноцепочечные фаговые антитела, которые получали путем вышеописанного скрининга, были идентифицированы с помощью ELISA на их специфичность, т.е. на связывание с различными антигенами HA. Для этой цели экспрессируемые бакуловирусами рекомбинантные штаммы HA-вируса H3 (А/Висконсин/67/2005), H7 (А/Нидерланды/219/2003) и В (В/Огайо/01/2005) (Protein Sciences, СТ, USA) наносили на ELISA-планшеты Maxisorp™. После нанесения покрытия эти планшеты три раза промывали PBS, содержащим 0,1% об./об. твина-20 и блокировали в PBS, содержащем 3% BSA или 2% ELK, в течение 1 ч при комнатной температуре. Отобранные одноцепочечные фаговые антитела инкубировали в течение 1 ч в том же объеме PBS, содержащем 4% ELK, и получали блокированные фаговые антитела. Планшеты опустошали, три раза промывали PBS/0,1% твином-20 и в лунки добавляли блокированные одноцепочечные фаговые антитела. Затем инкубировали в течение 1 ч и планшеты промывали PBS/0,1% твином-20, после чего связанные фаговые антитела детектировали (путем измерения OD_{492 нм}) с использованием анти-M13 антитела, конъюгированного с пероксидазой. В качестве контроля одновременно проводили процедуру без одноцепочечного фагового антитела и в присутствии неродственного одноцепочечного фагового антитела, используемого в качестве негативного контроля. После отбора на различные антигены HA с использованием IgM-экспрессирующих библиотек В-клеток памяти было получено 6 уникальных одноцепочечных фаговых антител, специфичных к рекомбинантным HA типа H3 и HA типа H7 (SC08-001, SC08-003, SC08-006, SC08-014, SC08-017 и SC08-018). Кроме того, были выделены 2 уникальных одноцепочечных фаговых антитела, специфичных к рекомбинантному HA типа H3 (SC08-015 и SC08-016) и 5 уникальных одноцепочечных фаговых антител, специфичных к рекомбинантному HA типа H7 (SC08-007, SC08-009, SC08-010, SC08-011 и SC08-013), см. табл. 6.

Альтернативно, ПЭГ/NaCl-осажденные и стерилизованные на фильтре фаговые антитела использовали для подтверждения связывания и специфичности с помощью ELISA. Для этой цели экспрессированные в бакуловирусе рекомбинантные штаммы HA-вируса гриппа А типа H1 (А/Новая Каледония/20/1999), H3 (А/Висконсин/67/2005), H5 (А/Вьетнам/1203/2004), H7 (А/Нидерланды/219/2003) и HA-вируса гриппа В (В/Огайо/01/2005, В/Малайзия/2506/2004, В/Цзилинь/219/2003) (Protein Sciences, СТ, USA) наносили на ELISA-планшеты Maxisorp™. После нанесения покрытия эти планшеты три раза промывали PBS, содержащим 0,1% об./об. твина-20, и блокировали в PBS, содержащем 3% BSA или 2% ELK, в течение 1 ч при комнатной температуре. Отобранные одноцепочечные фаговые антитела инкубировали в течение 1 ч в равном объеме PBS, содержащем 4% ELK, и получали блокированные фаговые антитела. Планшеты опустошали, три раза промывали PBS/0,1% твином-20 и в лунки добавляли блокированные одноцепочечные фаговые антитела. Затем инкубировали в течение 1 ч и планшеты промывали PBS/0,1% твином-20, после чего связанные фаговые антитела детектировали (путем измерения OD_{492 нм}) с использованием анти-M13 антитела, конъюгированного с пероксидазой. В качестве контроля одновременно проводили процедуру без одноцепочечного фагового антитела и в присутствии одноцепочечного фагового антитела, используемого в качестве негативного контроля. После отбора на различные антигены HA с использованием IgM-экспрессирующих библиотек В-клеток памяти было получено 2 уникальных одноцепочечных фаговых антитела, специфичных к рекомбинантным HA типа H1, H3 и H7 (SC08-001 и SC08-014). Кроме того, были выделены 6 уникальных одноцепочечных фаговых антител, специфичных к рекомбинантному HA типа H3 (SC08-003, SC08-006, SC08-015, SC08-016, SC08-017 и SC08-018) и 5 уникальных одноцепочечных фаговых антител, специфичных к рекомбинантному HA типа

H7 (SC08-007, SC08-009, SC08-010, SC08-011 и SC08-013), см. табл. 7.

Альтернативно, ПЭГ/NaCl-осажденные и стерилизованные на фильтре фаговые антитела использовали для подтверждения связывания и специфичности с помощью FACS-анализа. Для этой цели полно-размерные рекомбинантные штаммы HA-вируса гриппа А подтипа H1 (А/Новая Каледония/20/1999), H3 (А/Висконсин/67/2005), H5 (TV), H7 (А/Нидерланды/219/2003) и HA-вируса гриппа В (В/Огайо/01/2005) экспрессировали на поверхности клеток PER.C6. Клетки инкубировали с одноцепочечными фаговыми антителами в течение 1 ч, а затем подвергали трехстадийной промывке PBS+0,1% BSA. Связанные фаги детектировали с использованием ФИТЦ-конъюгированного анти-M13 антитела. После отбора на различные антигены HA с использованием IgM-экспрессирующих библиотек В-клеток памяти выделяли одноцепочечное фаговое антитело, специфичное к HA-вирусам гриппа А подтипов H1, H3 и H7 (SC08-001). Кроме того, были выделены 6 уникальных одноцепочечных фаговых антител, специфичных к HA типа H3 (SC08-003, SC08-006, SC08-015, SC08-016, SC08-017 и SC08-018) и 4 уникальных одноцепочечных фаговых антитела, специфичных к HA типа H7 (SC08-007, SC08-010, SC08-011 и SC08-013), см. табл. 8. Из них шесть фаговых антител (SC08-001, SC08-003, SC08-015, SC08-016, SC08-017, SC08-018) использовали для конструирования полностью человеческих иммуноглобулинов в целях последующей их характеристики (см. пример 5).

Пример 4.

Отбор и идентификация иммортализованных В-клеточных клонов, специфичных к HA вируса гриппа А (H3N2).

Помимо фагового дисплея, связывающие молекулы согласно изобретению могут быть также выделены другими методами, например, с использованием иммортализованных В-клеток, описанных, например, в WO 2007067046. Иммортализованные IgM-экспрессирующие клетки памяти (CD19⁺/CD27⁺, IgD⁺), взятые у вакцинированных доноров, окрашивали APC-меченным HA типа H3 и одиночные клетки отбирали путем культивирования методом лимитирующего разведения. После выделения и размножения клеток супернатанты отсортированных клеток с HA типа H3 анализировали с помощью твердофазного ELISA на иммунологическую реактивность с H1, H3 и H7.

Затем мишень-специфические В-клетки охарактеризовывали на связывающую активность и нейтрализацию. В-клетки клонировали путем лимитирующего разведения с получением одиночных клонов. Клоны высевали в планшеты для культивирования и клетки культивировали в течение 14 дней. Супернатанты клонов скринировали на продуцирование моноклональных анти-HA антител, которые связываются с HA-трансфицированными клетками 293, экспрессирующими HA подтипов H1, H3, H5 и H7. В качестве контроля на неспецифическое или фоновое окрашивание использовали нетрансфицированные клетки 293.

Для того чтобы определить, могут ли отобранные супернатанты В-клеточных клонов, содержащие антитела IgM или IgG, полученные путем вышеописанного скрининга, блокировать инфицирование вирусом гриппа А (H3N2), осуществляли *in vitro* анализ на нейтрализацию вируса (VNA). VNA осуществляли на клетках MDCK (ATCC CCL-34). Клетки MDCK культивировали в среде для культивирования клеток MDCK (в среде MEM, в которую были добавлены антибиотики, 20 mM HEPES и 0,15% (мас./об.) бикарбоната натрия (полная среда MEM) и которая содержала 10% (об./об.) фетальной бычьей сыворотки). Штамм H3N2 (А/Висконсин/67/2005), который был использован в указанном анализе, разводили до титра $5,7 \times 10^3$ TCID₅₀/мл (50% инфекционная доза тканевой культуры на мл) и этот титр вычисляли методом Spearman и Karber. Препараты IgG или IgM подвергали 2-кратному серийному разведению (1:2-1:64) в полной среде MEM в лунках в четырех дубликатах. 25 мкл соответствующего разведения IgG смешивали с 25 мкл вирусной суспензии (100 TCID₅₀/25 мкл) и инкубировали в течение 1 ч при 37°C. Затем суспензию в четырех дубликатах переносили в 96-луночные планшеты, содержащие конфлюэнтные культуры MDCK в 50 мкл полной среды MEM. Перед использованием клетки MDCK высевали при плотности 3×10^4 клеток на лунку в среде для культивирования клеток MDCK, а затем выращивали до достижения клетками конфлюэнтности, промывали 300-350 мкл PBS, pH 7,4 и, наконец, в каждую лунку добавляли 50 мкл полной среды MEM. Инокулированные клетки культивировали в течение 3-4 дней при 37°C и проводили ежедневный мониторинг цитопатогенного эффекта (CPE). CPE сравнивали с позитивным контролем.

Было обнаружено, что из 187 протестированных супернатантов IgG, используемых в этом анализе, 43 супернатанта обладали способностью нейтрализовать штамм H3N2 (А/Висконсин/67/2005). Из этих супернатантов 14 супернатантов были использованы для конструирования человеческих иммуноглобулинов IgG, описанных в примере 5.

Пример 5.

Конструирование полностью человеческих молекул иммуноглобулина (человеческих моноклональных антител) из отобранных одноцепочечных Fv и В-клеточных клонов.

Из отобранных специфических клонов одноцепочечных фаговых антител (scFv) получали плазмидную ДНК, а затем определяли нуклеотидные и аминокислотные последовательности стандартными методами. Вариабельные области тяжелой и легкой цепей scFv непосредственно клонировали путем гидро-

лиза рестриктирующими ферментами для экспрессии в IgG-экспрессирующих векторах pIg-C911- $\text{HC}\gamma\text{1}$ (см. SEQ ID NO: 189), pIg-C909- $\text{C}\kappa\text{1}$ (см. SEQ ID NO: 190) или pIg-C910- $\text{C}\lambda$ (см. SEQ ID NO: 191). Варибельные области тяжелой цепи и легкой цепи В-клеточных клонов подвергали ПЦР-амплификации и непосредственно клонировали путем гидролиза рестриктирующими ферментами для экспрессии в IgG-экспрессирующих векторах pIg-C911- $\text{HC}\gamma\text{1}$ (см. SEQ ID NO: 190), pIg-C909- $\text{C}\kappa\text{1}$ (см. SEQ ID NO: 191) или pIg-C910- $\text{C}\lambda$ (см. SEQ ID NO: 192). Затем определяли идентичность генов VH и VL scFv (см. Tomlinson IM et al., V-BASE Sequence Directory. Cambridge United Kingdom: MRC Centre for Protein Engineering (1997)) (см. табл. 9).

Нуклеотидные последовательности для всех конструкций подтверждали стандартными методами, известными специалистам. Полученные экспрессионные конструкции, кодирующие человеческие тяжелые и легкие цепи IgG1, были временно экспрессированы в комбинации с Т-клетками 293, и были получены супернатанты, содержащие человеческие антитела IgG1, которые были продуцированы стандартным методом очистки. Человеческие антитела IgG1 титровали в концентрациях в интервалах 10-0,003 мкг/мл против антигена H3, H7 или В (данные не приводятся). В качестве контрольного антитела использовали неродственное антитело.

Аминокислотная последовательность CDR тяжелой и легкой цепей отобранных молекул иммуноглобулина представлена в табл. 9. Нуклеотидная последовательность и аминокислотная последовательность варибельных областей тяжелой и легкой цепей представлены ниже. Иммуноглобулины, содержащие константную область тяжелой и легкой цепей CR6261, представлены ниже.

Пример 6.

In vitro нейтрализация вируса гриппа посредством связывания IgG с H3N2 (анализ на нейтрализацию вируса).

Для того чтобы определить, могут ли отобранные IgG блокировать инфицирование вирусом гриппа А (H3N2), осуществляли *in vitro* анализ на нейтрализацию вируса (VNA). VNA осуществляли на клетках MDCK (ATCC CCL-34). Клетки MDCK культивировали в среде для культивирования клеток MDCK (в среде MEM, в которую были добавлены антибиотики, 20 mM HEPES и 0,15% (мас./об.) бикарбоната натрия (полная среда MEM), и которая содержала 10% (об./об.) фетальной бычьей сыворотки). Штамм H3N2 (А/Висконсин/67/2005), который был использован в указанном анализе, разводили до титра $5,7 \times 10^3$ TCID₅₀/мл (50% инфекционная доза тканевой культуры на мл) и этот титр вычисляли методом Spearman и Karber. Препараты IgG (200 мкг/мл) подвергали 2-кратному серийному разведению (1:2-1:512) в полной среде MEM в лунках в четырех дубликатах. 25 мкл соответствующего разведения IgG смешивали с 25 мкл вирусной суспензии (100 TCID₅₀/25 мкл) и инкубировали в течение 1 ч при 37°C. Затем суспензию в четырех дубликатах переносили в 96-луночные планшеты, содержащие конфлюэнтные культуры MDCK в 50 мкл полной среды MEM. Перед использованием клетки MDCK высевали при плотности 3×10^4 клеток/лунку в среде для культивирования клеток MDCK, а затем клетки выращивали до достижения ими конфлюэнтности, промывали 300-350 мкл PBS, pH 7,4 и, наконец, в каждую лунку добавляли 50 мкл полной среды MEM. Инокулированные клетки культивировали в течение 3-4 дней при 37°C и проводили ежедневный мониторинг цитопатогенного эффекта (CPE). CPE сравнивали с позитивным контролем.

Человеческие антитела против HA типа H3 и/или антитела против HA типа H7, описанные в примере 5, подвергали вышеописанному VNA. Из этих антител все антитела, за исключением CR8040, CR8052 и CR8069, нейтрализовали штамм H3N2, А/Висконсин/67/2005. Концентрации (в мкг/мл), при которых эти антитела защищали культуры MDCK от CPE, представлены в табл. 11.

Пример 7.

Перекрестно связывающая активность анти-H3N2 IgG.

H3N2-нейтрализующие антитела IgG, описанные выше, идентифицировали в ELISA на специфичность связывания, т.е. на связывание с различными антигенами HA. Для этой цели экспрессированные в бакуловирусе рекомбинантные штаммы HA-вируса типа H1 (А/Новая Каледония/20/1999), H3 (А/Висконсин/67/2005, А/Нью-Йорк/55/2004, А/Вайоминг/3/2003) и H7 (А/Нидерланды/219/2003) (Protein Sciences, CT, USA) наносили на ELISA-планшеты Maxisorp™. После нанесения покрытия эти планшеты три раза промывали PBS, содержащим 0,1% об./об. твина-20, и блокировали в PBS, содержащем 3% BSA или 2% ELK, в течение 1 ч при комнатной температуре. Планшеты опустошали, три раза промывали PBS/0,1% твином-20 и в лунки добавляли антитела IgG. Затем инкубировали в течение 1 ч и планшеты промывали PBS/0,1% твином-20, после чего связанные антитела детектировали (путем измерения OD_{492 нм}) с использованием антитела против человеческих IgG, конъюгированного с пероксидазой. В качестве контроля использовали неродственное IgG CR4098.

Из отобранных H3N2-нейтрализующих антител антитело CR8001 обнаруживало гетеросубтипичное перекрестное связывание со всеми протестированными рекомбинантными HA, а антитела CR8020, CR8021, CR8041, CR8043 и CR8057 обнаруживали гетеросубтипичное перекрестное связывание со всеми тремя протестированными HA типа H3, а также HA типа H7. Антитела CR8003, CR8015, CR8016, CR8017, CR8018, CR8038, CR8039, CR8040, CR8049, CR8050, CR8052 и CR8069 обнаруживали перекре-

стное связывание со всеми тремя протестированными НА типа НЗ. Одно антитело, CR8 019, обнаруживало связывание только с двумя НА типа НЗ, см. табл. 12.

Кроме того, отобранные НЗН2-нейтрализующие антитела использовали для тестирования гетеросубтипического связывания с помощью FACS-анализа. Для этой цели полноразмерные рекомбинантные штаммы НА-вируса гриппа А подтипа Н1 (А/Новая Каледония/20/1999), НЗ (А/Висконсин/67/2005) и Н7 (А/Нидерланды/219/2003) экспрессировали на поверхности клеток PER.C6. Клетки инкубировали с антителами IgG в течение 1 ч, а затем подвергали трехстадийной промывке PBS+0,1% BSA. Связанные антитела детектировали с использованием ФЭ-конъюгированного античеловеческого антитела. В качестве контроля использовали нетрансфицированные клетки PER.C6.

Из НЗН2-нейтрализующих антител антитело CR8001 обнаруживало перекрестно связывающую активность с НА-вируса гриппа А подтипов Н1, НЗ и Н7, но оно не связывалось с клетками PER.C6 дикого типа. Кроме того, антитела CR8020 и CR8041 обнаруживали сильное связывание с НА типа НЗ и Н7. Антитела CR8043 и CR8057 обнаруживали сильное связывание с НА типа НЗ и слабое связывание с НА типа Н7. Антитело CR8055 обнаруживало низкие уровни фонового окрашивания на клетках PER.C6. Остальные 13 антител связывались только с НЗ-трансфицированными клетками, см. табл. 12.

Пример 8.

Перекрестно-нейтрализующая активность анти-НЗН2 IgG.

Для того чтобы определить, могут ли отобранные IgG блокировать множество штаммов вируса гриппа А, осуществляли дополнительные анализы *in vitro* на нейтрализацию вируса (VNA). VNA осуществляли на клетках MDCK (ATCC CCL-34). Клетки MDCK культивировали в среде для культивирования клеток MDCK (в среде MEM, в которую были добавлены антибиотики, 20 мМ Нерес и 0,15% (мас./об.) бикарбоната натрия (полная среда MEM) и которая содержала 10% (об./об.) фетальной бычьей сыворотки). Штаммы Н1Н1 (А/Новая Каледония/20/1999, А/Брисбен/59/2007 и А/Соломоновы острова/IVR-145), НЗН2 (А/Гонконг/1/68, А/Иоганесбург/33/94, А/Панама/2000/1999, А/Хиросима/52/2005 и А/Висконсин/67/2005), Н7Н3 (А/кряква/Нидерланды/12/2000) и Н10 (А/курица/Германия/Н/49), которые были использованы в этом анализе, разводили до титра $5,7 \times 10^3$ TCID₅₀/мл (50% инфекционная доза тканевой культуры на мл) и этот титр вычисляли методом Spearman и Karber. Препараты IgG (80 мкг/мл) подвергали 2-кратному серийному разведению (1:2-1:512) в полной среде MEM в лунках в четырех дубликатах. 25 мкл соответствующего разведения IgG смешивали с 25 мкл вирусной суспензии (100 TCID₅₀/25 мкл) и инкубировали в течение 1 ч при 37°C. Затем суспензию в четырех дубликатах переносили в 96-луночные планшеты, содержащие конфлюэнтные культуры MDCK в 50 мкл полной среды MEM. Перед использованием клетки MDCK высевали при плотности 3×10^4 клеток/лунку в среде для культивирования клеток MDCK, а затем клетки выращивали до достижения ими конфлюэнтности, промывали 300-350 мкл PBS, pH 7,4 и, наконец, в каждую лунку добавляли 50 мкл полной среды MEM. Инокулированные клетки культивировали в течение 3-4 дней при 37°C и проводили ежедневный мониторинг цитопатогенного эффекта (CPE). CPE сравнивали с позитивным контролем.

Из панели НЗН2-нейтрализующих антител антитело CR8020 и CR8041 обнаруживало гетеросубтипическую перекрестно нейтрализующую активность в отношении всех протестированных вирусов гриппа А подтипов НЗ, Н7 и Н10, за исключением вирусов подтипа Н1. Кроме того, антитело CR8043 обнаруживало перекрестно нейтрализующую активность в отношении всех протестированных штаммов вируса НЗ и Н10. Антитела CR8039, CR8041, CR8043 и CR8057 обнаруживали перекрестно нейтрализующую активность в отношении всех протестированных штаммов вируса НЗ. Дополнительные 13 антител обнаруживали перекрестно нейтрализующую активность в отношении более чем 1 из всех протестированных штаммов вируса НЗ, см. табл. 13.

Пример 9.

Анти-НЗН2 антитела связываются с НА с конформацией, которую он имел до слияния.

Для того чтобы определить, могут ли отобранные IgG связываться с молекулой НА с конформацией, которую она имела до или после слияния, осуществляли *in vitro* эксперимент с изменением pH.

Для этой цели полноразмерный рекомбинантный штамм НА вируса гриппа А подтипа НЗ (А/Висконсин/67/2005) экспрессировали на поверхности клеток PER.C6. Для анализа на специфическую реактивность при различных структурных конформациях НА 3×10^5 клеток обрабатывали 10 мкг/мл трипсина-ЭДТА в среде DMEM в течение 30 мин при комнатной температуре, промывали и инкубировали в течение 5 мин в подкисленном PBS (pH 4,9), снова промывали, а затем инкубировали в течение 20 мин в присутствии 20 мМ DTT при комнатной температуре. В каждой стадии клетки разделяли и необработанные прилипшие клетки ресуспендировали в 0,05% ЭДТА. Фракции клеток после каждой обработки инкубировали с анти-НЗН2 IgG CR8001, CR8020, CR8041, CR8043 и CR8057 в течение 30 мин. Затем клетки инкубировали в течение 30 мин с анти-IgG антителом, конъюгированным с фикоэритрином (Southern Biotech). Окрашенные клетки анализировали на аппарате FACS Calibur с помощью компьютерной программы CELLQuest Pro (Becton Dickinson). FACS-связывание IgG1 с экспрессируемым на поверхности гНА НЗ измеряли после обработки трипсином (столбцы, заштрихованные косыми поло-

сами); в забуференной среде, pH 4,9 (белые столбцы)) и в DTT (столбцы, заштрихованные перекрещивающимися полосами), где результаты выражены как процент связывания по отношению к необработанному гНА (сплошные зачерненные столбцы), см. фиг. 2. Все антитела CR8001, CR8020, CR8041 и CR8043 обнаруживали заметное снижение уровня связывания после изменения pH, что указывает на то, что специфичность к эпитопу наблюдалась только перед конформационным изменением молекулы НА, индуцированным низким pH. Антитело CR8057 обнаруживало снижение уровня связывания только после DTT-обработки, что указывает на то, что специфичность к независимому от конформации эпитопу наблюдалась только в присутствии НА1.

Пример 10.

Анти-Н3N2 антитело CR8041 предупреждает расщепление НА0.

Для того чтобы определить, могут ли отобранные IgG защищать молекулу НА от расщепления протеазой, осуществляли *in vitro* анализ на восприимчивость к протеазе.

Для этой цели 7,5 мкг рекомбинантного растворимого НА вируса гриппа А подтипа Н3 (А/Висконсин/67/2005) (Protein Sciences, CT, USA) подвергали обработке при различных pH (4,9, 5,3 и 8,0) в течение 1 ч при 37°C. После инкубирования реакции нейтрализовали. Образцы гидролизвали в течение ночи 0,5 мкг трипсина в присутствии и в отсутствие 7,5 мкг Fab-фрагментов CR8041 или CR8057. Реакции гасили путем добавления загрузочного буфера с SDS. К каждому образцу добавляли 3 мкл восстановителя Nupage (Invitrogen). Образцы подвергали электрофорезу в 4-12% бис-трис-геле в 1× MOPS-буфере. Полосы белка визуализировали путем окрашивания коллоидным синим (см. фиг. 3). В отсутствие Fab-фрагментов, молекула НА типа Н3 легко превращалась в восприимчивую к протеазе форму после слияния при pH 4,9 или 5,3, но не при pH 8,0. В присутствии Fab-фрагмента CR8057 происходила деградация НА типа Н3, и таким образом конформационное изменение при pH 4,9 не ингибировалось. В противоположность этому, присутствие Fab-фрагмента CR8041 предотвращало не только конформационное изменение молекулы НА типа Н3 и деградацию при низком pH, но также и pH-независимое расщепление НА0 на НА1 и НА2. Эти результаты указывают на то, что эпитоп для CR8041 расположен на сайте расщепления или рядом с ним. Эксперименты по конкурентному связыванию (результаты не приводятся) с панелью анти-Н3N2 антител указывали на присутствие перекрывающегося эпитопа и на аналогичный механизм действия антител CR8001, CR8020 и CR8043.

Пример 11.

Механизм действия связывающих молекул согласно изобретению.

Гликопротеин НА представляет собой тример, в котором каждый мономер состоит из двух гликополипептидов, связанных дисульфидной связью (обозначенных НА1 и НА2), где указанные гликополипептиды продуцируются в процессе инфицирования посредством протеолитического расщепления предшественника (НА0). Расщепление необходимо для инфекционности вируса, поскольку оно требуется для инициации слияния НА с мембраной, что приводит к конформационным изменениям.

Активация примированной молекулы происходит при низком pH в эндосомах, при pH5-pH6, и требует значительных изменений в структуре НА. 3-мерная конформационная структура нерасщепленного НА до слияния (I), расщепленного НА до слияния (II) и НА после слияния (III) схематически представлена на фиг. 4.

In vitro, конформационные изменения молекулы НА могут быть имитированы с использованием клеток млекопитающих, экспрессирующих НА на своей поверхности. Сначала, протеолитическое расщепление может быть инициировано путем добавления трипсина к клеткам. Затем конформационные изменения до и после слияния могут быть достигнуты путем снижения pH. Кроме того, часть молекулы НА1 может быть удалена путем добавления восстановителя, такого как DTT. Таким способом и путем добавления антител в конкретных стадиях можно определить, на какой именно стадии антитело будет блокировать процесс инфицирования. Для этого, клетки PER.C6® были трансфицированы экспрессионной конструкцией НА типа Н3, несущей НА от штамма А/Висконсин/67/2005, и подвергнуты различным обработкам, как описано в примере 10.

Для этих экспериментов клетки сначала инкубировали с анти-Н3 mAb до расщепления трипсином, а затем обрабатывали, как описано выше (см. фиг. 5). Связывание анти-Н3 mAb детектировали с использованием ФЭ-конъюгированного античеловеческого антитела в соответствии со стандартными протоколами. Флуоресцентные сигналы измеряли с помощью FACS-анализа. Термин "только клетки" означает сигнал, полученный после связывания mAb с необработанными клетками и принятый за 100%. Как видно на фиг. 5, mAb еще связывались с НА после различных обработок. Поскольку в вышеописанном примере 10 было показано, что анти-Н3 mAb CR8020, CR8041 и CR8043 связывались только с молекулой перед ее слиянием (т.е. перед конформационным изменением, обусловленным низким pH), то можно сделать вывод, что связывание антитела фактически ингибирует расщепление трипсином (см. также пример 10), по меньшей мере, *in vitro*, а, следовательно, последующие стадии также приводят к конформационному изменению и слиянию. Антитело CR8057, которое связывается с частью НА1 молекулы НА рядом с сайтом присоединения рецептора, обладает способностью связываться с НА после конформационного изменения и, как ожидалось, теряет свою способность связываться, если часть НА1 удаляется

после расщепления дисульфидных связей между доменами HA1 и HA2 в результате DTT-обработки.

Ингибирование расщепления трипсином было подтверждено в другом эксперименте *in vitro*. Сначала проводили эксперимент в течение определенного периода времени для определения времени, необходимого для инкубирования молекулы HA типа H3 с трипсином, в целях достижения соответствующего расщепления HA0 на HA1 и HA2. Для этого рекомбинантный растворимый HA типа H3 (A/Висконсин/67/2005; Protein Sciences, CT, USA) инкубировали в 4 mM трис-HCl буфера при pH 8,0, содержащего 6,7 мкг/мл трипсина и 1% N-додецил- β -демальтозида. Реакцию расщепления трипсином прекращали через определенные периоды времени путем добавления 1% BSA. Образцы подвергали электрофорезу в SDS-PAGE (в восстановленном геле) и блот-анализу в соответствии со стандартными методами. Полосы HA0, HA1 и HA2 детектировали с использованием кроличьего поликлонального анти-H3HA антитела (Protein Sciences, CT, USA). На фиг. 6 показано, что инкубирования в течение 2 ч было достаточно для почти полного расщепления, наблюдаемого на полосах HA1 и HA2 в восстанавливающем геле. Затем рекомбинантный растворимый HA типа H3 инкубировали с антителами CR8020, CR8041, CR8043 или CR8057, а затем подвергали расщеплению трипсином при pH 8,0. И снова, реакцию расщепления трипсином прекращали через определенные периоды времени путем добавления 1% BSA. Образцы подвергали электрофорезу в SDS-PAGE (в восстановленном геле) и блот-анализу. Полосы HA0, HA1 и HA2 детектировали с использованием поликлонального анти-H3 антитела. Результаты показали, что все три mAb CR8020, CR8041 и CR8043 предотвращали расщепление трипсином *in vitro*, поскольку инкубирование связанного с антителом HA типа H3 с трипсином защищало молекулу HA типа HA0 на геле (фиг. 7). В противоположность этому, инкубирование HA типа H3 с контрольным mAb (CR8057) в тех же самых условиях приводило к исчезновению полосы HA0. Этот эксперимент подтвердил данные, обсуждаемые в примере 10, для CR8041 и позволил экстраполировать эти наблюдения на антителах CR8020 и CR8043. Таким образом, связывающие молекулы согласно изобретению предупреждают, по меньшей мере, расщепление трипсином молекулы HA0, по меньшей мере, *in vitro*. Однако следует отметить, что не исключено, что дополнительные ингибирующие эффекты также опосредуются антителами (mAb) CR8020, CR8041 и CR8043, которые продуцируются позже в процессе инфицирования, и такие эффекты приводят к предотвращению pH-индуцированного конформационного изменения и/или процесса слияния. Для подтверждения этого факта обсуждаемый выше эксперимент повторяли, но с использованием в качестве контроля антитела CR8043 или антитела CR8057, которое добавляли к клеткам, экспрессирующим HA типа H3 только после расщепления трипсином. После инкубирования эти клетки снова инкубировали в буфере с низким pH, как было описано в примере 10, и обрабатывали DTT, как описано выше. Если механизм действия ограничивается ингибированием расщепления трипсином, то предполагается, что mAb CR8043 будет терять свою способность связываться после обработки буфером с соответствующим pH, поскольку, как было установлено авторами в примере 10, эти антитела не связываются с HA, имеющим конформацию после слияния. В противоположность этому, как можно видеть на фиг. 8, связывание mAb CR8043 еще детектировалось после обработки буфером при низком pH, и последующая DTT-обработка показала, что pH-индуцированное конформационное изменение также ингибировалось антителом CR8043, по меньшей мере, *in vitro*. Было показано, что антитело CR8057, которое связывается с областью HA HA1, ведет себя так, как и ожидалось, и больше не детектировалось, когда часть HA1 была потеряна после DTT-обработки.

Для того чтобы определить, обладают ли антитела CR8020 и CR8041 также способностью блокировать pH-индуцированное конформационное изменение HA, обсуждаемые выше эксперименты повторяли. В этом эксперименте антитела CR8020, CR8041 и CR8043 или антитело CR8057, используемое в качестве контроля, добавляли к клеткам, экспрессирующим штаммы HA A/Гонконг/1/1968, A/Гонконг/24/1985 или A/Висконсин/67/2005 подтипа H3, либо после всех обработок, обсуждаемых выше, либо до инкубирования при низких pH, либо до расщепления трипсином. Как было показано ранее для штамма, содержащего HA подтипа H3, A/Висконсин/67/2005, антитела CR8020, CR8041 и CR8043 распознают присутствующий эпитоп только до обработки при низком pH. Этот эпитоп является консервативным в трех HA, используемых в данном эксперименте, как можно видеть на фиг. 9C. Если механизм действия ограничивается ингибированием расщепления трипсином, то предполагается, что mAb CR8020, CR8041 и CR8043 будут терять свою способность связываться с уже расщепленным HA после обработки при соответствующем pH, поскольку, как было установлено авторами и как указывается в примере 10, эти антитела не связываются с HA, имеющим конформацию, которую он имел после слияния. В противоположность этому, как можно видеть на фиг. 9B, связывание mAb еще детектировалось после обработки при низком pH, и последующая DTT-обработка всех трех различных HA типа H3 показала, что pH-индуцированное конформационное изменение также ингибировалось антителами CR8020, CR8041 и CR8043, по меньшей мере, *in vitro*. Было обнаружено, что антитело CR8057 связывалось с областью HA типа HA1, имеющей высокую степень вариабельности, но не связывалось с HA штамма A/Гонконг/1/1968 и A/Гонконг/24/1985.

Пример 12.

Получение *in vitro* генерированных "ускользающих" мутантов показало, что положение эпитопа совпадает с консервативной последовательностью в HA типа H3.

Для того чтобы определить, с какой областью HA связываются антитела CR8020, CR8041 и CR8043, была предпринята попытка получить "ускользающие" мутанты в культурах *in vitro*. Вирусы A/Гонконг/1/1968 пассировали в культурах клеток MDCK в присутствии лимитирующих количеств моноклональных антител. Сначала определяли концентрацию антитела, необходимую для 3 log снижения инфекционности вируса после инокуляции клеток MDCK 100 единицами TCID₅₀, смешанными с различными количествами моноклонального антитела, и инкубирования в течение 3 дней. Антитело в этой концентрации добавляли в инокулят путем серийных пересевов, и после каждого посева, вирусные бляшки титровали в отсутствие и в присутствии различных количеств антитела для того, чтобы определить, являются ли вирусы восприимчивыми к опосредуемой антителом нейтрализации. Эту процедуру проводили для каждого из mAb CR8020, CR8041 и CR8043. "Ускользящие" вирусы от каждой культуры были выделены с помощью анализа методом бляшек, и из каждого из двух изолятов экстрагировали вирусную РНК, а затем эту РНК использовали для определения последовательности HA. Наблюдаемые мутированные аминокислоты представлены ниже:

CR8020: D19N и Q27L в обеих анализируемых бляшках;

CR8041: G33E в двух бляшках;

CR8043: R25M в одной бляшке и Q34R в другой бляшке.

Все три моноклональных антитела обнаруживали "ускользающие" мутации в одном и том же домене в части HA2 области стебля HA, смежной с гибридным пептидом. Сравнение аминокислотных последовательностей вирусов H3N2, имеющихся в базе данных для вирусов гриппа, NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/FLU/Database/select.cgi>) в этой области выявило поразительную консервативность этой последовательности. В табл. 14 проиллюстрирована вариабельность последовательности в области HA2, расположенной между аминокислотами W14 и K39, где были выявлены наблюдаемые ускользящие мутации. N представляет собой число штаммов, имеющих специфическую последовательность. Кроме того, указан(ы) год(ы) выделения штаммов, а также тестируемые штаммы, которые являются позитивными в экспериментах по нейтрализации, проводимых с использованием анти-H3 антител (Pa = A/Панама/2000/1999; Wis = A/Висконси/67/2005; Hs = A/Хиросима/52/2005; HK = A/Гонконг/1/1968). Из 1363 H3-вирусов, присутствующих в базе данных и имеющих вышеупомянутую последовательность HA2, большинство этих вирусов (81%) имели последовательности, присутствующие в штаммах вирусов, которые, как было показано, должны быть нейтрализованы. Из всех остальных последовательностей большинство имели аминокислоты, которые могут рассматриваться как консервативные замены. Что касается других мутаций, то необходимо провести тест на функциональную нейтрализацию для того, чтобы определить, влияют ли замены на функциональные свойства антитела. Важно отметить, что три аминокислотные замены, которые обнаруживались в эксперименте на "ускользание" вирусов (R25, G33 и Q34), не наблюдались в природных последовательностях вируса гриппа, а другие две мутации наблюдались только в комбинации (D19 и Q27), т.е. в комбинации, которая также отсутствовала в природных последовательностях. Это означает, что мутации оказывают негативное влияние на приспособляемость вируса. В целом, был сделан вывод, что антитела взаимодействуют с эпитопом на HA2, который среди вирусов подтипа H3 является в высокой степени консервативным, что подтверждает способность моноклональных антител к нейтрализации вирусов широкого ряда.

Пример 13.

Получение моноклональных антител для *in vivo* экспериментов.

Для характеристики и последующей идентификации IgG как потенциальных терапевтических антител *in vivo* они должны быть получены и очищены в достаточных количествах. IgG продуцировали в клетках PER.C6® в 25-литровом шейкере, после чего культуры собирали. Из осветленного сбора IgG очищали с помощью аффинной хроматографии на белке A и проведения стадии буферного обмена. Содержание мономера в IgG, очищенном путем замены буфера, составляло приблизительно 99% до и после стерильной фильтрации через 0,2 мкм-фильтр. Дополнительные *in vitro* анализы на нейтрализацию вирусов (VNA) осуществляли с использованием различных полученных препаратов антител, описанных выше. Результаты представлены в табл. 15.

Пример 14.

Профилактическая активность человеческих моноклональных антител IgG в ответ на провокационное заражение летальной дозой H3N2 *in vivo*.

mAb CR8020, CR8041 и CR8043 тестировали на профилактическую эффективность у самок мышей 129X1/SvJ (Jackson Labs) (MA = адаптированный для мышей) с моделью летального заражения вирусом гриппа A/HK/1/68-MA20 (H3N2). Вирус A/HK/1/68-MA20 был предоставлен проф. E.G. Brown, University of Ottawa, Ottawa, Ontario, Canada; Brown, E.G. et al. (2001). Этот вирус, перед его использованием в экспериментах на мышах, пассировали один раз в оплодотворенных куриных яйцах. Всех мышей подвергли акклиматизации и перед началом проведения эксперимента их содержали в определенных условиях в течение по меньшей мере 4 дней.

mAb внутривенно вводили в дозах 30, 10, 3 и 1 мг/кг в хвостовую вену (*vena cossygeus*) за 1 день до провокационного заражения, где средняя масса тела мыши составляла 18 г, а объем фиксированной дозы составлял 0,2 мл. Затем мышам ($n=8$ на группу) на день 0 вводили вирус 25 LD₅₀ А/НК/1/68-МА20 (Н3N2) путем интраназальной инокуляции. Фактическую дозу вводимого вируса оценивали путем титрования нескольких образцов-репликатов из инокулята, оставшегося после проведения инокуляции животных. Титры вирусов (TCID₅₀/мл) инокулята определяли на клетках MDCK. Результаты показали, что во время приготовления или введения инокулята не происходит какой-либо случайной инактивации вируса. Клинические признаки и массу тела определяли ежедневно начиная за 1 день (день -1) до провокационного заражения и до конца исследования в день 21. Клинические признаки оценивали по балльной системе (0 = отсутствие клинических признаков; 1 = жесткая шерсть; 2 = жесткая шерсть, слабая реактивность, пассивность во время переноски; 3 = жесткая шерсть, сворачивание в клубок, затрудненное дыхание, пассивность во время переноски; 4 = жесткая шерсть, сворачивание в клубок, затрудненное дыхание, животное не переворачивается на брюшко, когда его кладут на спинку). Животных с оценкой 4 подвергали эвтаназии. Для анализа уровней mAb в плазме на день 0 и определения присутствия антител, ингибирующих гемагглютиниацию (HI) на день 21, у всех мышей брали пробы крови на день 0 непосредственно перед заражением и на день 21 после инфицирования.

mAb тестировали в двух отдельных экспериментах. В каждом эксперименте одновременно использовали группу негативного контроля, которой вводили антитело (CR3014) в дозе 30 мг/кг. mAb CR8020 тестировали в первом эксперименте, а mAb CR8041 и CR8043 тестировали во втором эксперименте. Все мыши были активными и здоровыми на вид и не имели каких-либо явных признаков заболевания в процессе акклиматизации. На фиг. 10 проиллюстрированы показатели выживаемости мышей после введения mAb. Наблюдалась явная зависимость "доза - ответ", причем у всех групп, которым вводили антитела CR8020, CR8041 или CR8043 в дозах 30, 10 или 3 мг/кг, наблюдалась 100% выживаемость, тогда как при введении антитела CR8020 в дозе 1 мг/кг выживало 25% мышей, а в группе, которой вводили 1 мг/кг CR8041 и CR8043, не выживала ни одна мышь. Две контрольные mAb-группы показали 0% выживаемость. В первом эксперименте введение mAb CR8020 приводило к статистически значимому различию в продолжительности жизни при всех четырех тестируемых концентрациях по сравнению с продолжительностью жизни мышей контрольной группы ($p<0,005$; логранговый критерий). Во втором эксперименте, введение mAb CR8041 и CR8043 также приводило к статистически значимому различию в продолжительности жизни при всех четырех тестируемых концентрациях по сравнению с продолжительностью жизни мышей контрольной группы ($p<0,001$ для обоих mAb; логранговый критерий).

На фиг. 11 показано среднее изменение массы тела у мышей в течение проведения 21-дневного исследования после введения mAb. Подобно коэффициентам выживаемости, наблюдалась четкая обратная зависимость между потерей массы тела и дозой используемого антитела. При повышении концентрации антитела потеря массы тела уменьшалась, т.е. у групп мышей, которым вводили антитела CR8020, CR8041 или CR8043 в дозах 30, 10 или 3 мг/кг, наблюдалось увеличение средней массы тела приблизительно на 10-15% со дня 0 и до дня 21, что соответствовало возрастному увеличению массы, тогда как у групп, которым вводили дозу 1 мг/кг, и у групп, которым вводили контрольное mAb, средняя масса тела мышей снижалась на протяжении всего исследования. Изменения массы тела более подробно анализировали с помощью анализа площади под кривой (AUC). При проведении данного анализа, если мышь погибала/подвергалась эвтаназии в процессе катамнестического исследования, то использовали последнее значение массы тела, зарегистрированное до дня 21. Вкратце, массу тела мыши на день 0 использовали в качестве фоновой величины и изменение массы тела со дня 0 до дня 21 определяли по отношению к этой фоновой величине. AUC определяли как сумму площади выше и площади ниже базисной линии. Средние значения AUC для групп, которым вводили дозы mAb, сравнивали со значениями для соответствующих контрольных групп с помощью дисперсионного анализа с поправкой Дюннета для множества сравнений (табл. 16). Этот анализ показал, что средняя величина AUC для групп, которым вводили антитела CR8020, CR8041 и CR8043 в дозах 3, 10 и 30 мг/кг, статистически значимо отличалась ($P<0,001$) от средней величины для соответствующих контрольных групп (табл. 16). Для обеих групп, CR8041-групп, а также для групп, которым вводили CR8043 в дозе 1 мг/кг, наблюдалось статистически значимое различие по сравнению с контрольной группой ($p=0,004$ и $p<0,001$ соответственно). Однако благодаря двум выжившим мышам в группе, которой вводили CR8020 в дозе 1 мг/кг, наблюдалось увеличение в различии масс тела, а поэтому какого-либо статистически значимого различия по сравнению с контрольной группой не наблюдалось. Затем проводили дополнительный анализ для исследования зависимости "доза ответ" на снижение массы тела путем сравнения средних величин AUC для каждой концентрации антитела с помощью дисперсионного анализа с поправкой Тьюки для множественных сравнений (табл. 16). Что касается mAb CR8020 и CR8041, то снижение массы тела у групп, которым вводили дозу 1 мг/кг, статистически значимо превышало ($p<0,001$) снижение массы тела у соответствующих групп, которым вводили дозу 3 мг/кг, тогда как у групп, которым вводили дозы 3, 10 и 30 мг/кг, какого-либо статистически значимого различия не наблюдалось ($p>0,05$). Что касается mAb CR8043, то снижение массы тела у группы, которой вводили дозу 1 мг/кг, статистически значимо превышало ($p<0,001$) снижение массы тела у группы, которой вводили дозу 3 мг/кг, а снижение массы тела у группы, которой вводили дозу 3

мг/кг статистически значимо превышало снижение массы тела, наблюдаемое у группы, которой вводили дозу 10 мг/кг ($p < 0,001$). Средние AUC для групп, которым вводили антитело CR8043 в дозе 10 и 30 мг/кг, не обнаруживали значимого различия ($p = 0,997$).

Медианные клинические оценки для мышей проиллюстрированы на фиг. 12. У мышей, которым вводили антитела CR8020, CR8041 или CR8043 в дозе 30 и 10 мг/кг, не наблюдалось каких-либо клинических признаков, на что указывает медианная клиническая оценка 0 на протяжении всего 21-дневного периода исследования для 2 экспериментов. mAb 8020 давало нулевую клиническую оценку у группы, которой вводили дозу 3 мг/кг, тогда как у групп, которым вводили mAb 8041 и 8043 в дозе 3 мг/кг, наблюдалось увеличение клинических оценок до медианной оценки 1 и 3 соответственно. У групп, которым вводили все три mAb в дозе 1 мг/кг, клинические оценки повышались и достигали медианного значения 4 для всех групп. Мышей с клинической оценкой 4 подвергали эвтаназии в тот же день. Две выжившие мыши в группе, которой вводили антитело CR8020 в дозе 1 мг/кг, заболели на 7-й день исследования и этим мышам присваивали максимальную клиническую оценку 1 и 3 соответственно. Обе мыши полностью выздоравливали. Для групп, которым вводили CR8041 и CR8043 в дозе 3 мг/кг, профиль снижения массы тела был аналогичен профилю клинических оценок.

Эти результаты показали, что каждое по меньшей мере из трех человеческих анти-Н3Н2 антител, идентифицированных и продуцированных, как описано в настоящем документе (CR8020, CR8041 и CR8043), способно обеспечивать защиту *in vivo* от летальной дозы штамма вируса гриппа Н3Н2. При этом наблюдалась четкая зависимость "доза-ответ" между количеством каждого вводимого антитела и коэффициентом выживаемости. Результаты показали, что анти-Н3Н2 антитела IgG CR8041 и 8043 обладали способностью предупреждать клиническую манифестацию инфицирования вирусом Н3Н2 у мышей при введении им указанных антител за один день до инфицирования в дозе 10 мг/кг или выше. mAb CR8020 обладало способностью предупреждать клиническую манифестацию инфицирования вирусом Н3Н2 у мышей при введении им указанного антитела за один день до инфицирования в дозе 3 мг/кг или выше.

Пример 15.

Профилактическая и терапевтическая активность человеческих моноклональных антител IgG, направленных против заражения летальной дозой вируса Н3Н2 *in vivo*.

Это исследование проводили для оценки терапевтического эффекта описанных здесь моноклональных антител, например, CR8020, в постинфекционной модели, где указанные антитела, направленные против летального заражения вирусом гриппа Н3Н2 А/НК/1/68-МА20 *in vivo*. Мышам ($n=10$ на группу) внутривенно вводили mAb CR8020 в дозе 15 мг/кг в хвостовую вену (*vena coccygeus*) за 1 день до заражения (группа 1; профилактический позитивный контроль) или на дни 1, 2, 3, 4, 5 или 6 после заражения (группы 2-7), где средняя масса тела мыши составляла 18 г, а объем фиксированной дозы составлял 0,2 мл. Группе 8 вводили mAb CR3014 в качестве негативного контроля (15 мг/кг) на день 1 после заражения. Мышей подвергали заражению на день 0 вирусом А/НК/1/68-МА20 (Н3Н2), вводимым в LD₅₀-дозе = 25 (2,8 log TCID₅₀) путем интраназальной инокуляции. Партия и тип вируса, а также возраст мышей были такими же, как указано в примере 14. Клинические признаки и массу тела определяли ежедневно начиная за 1 день (день -1) до провокационного заражения и до конца исследования в день 21.

На фиг. 13А проиллюстрированы коэффициенты выживаемости мышей после внутривенного введения mAb CR8020 (15 мг/кг, всем группам) или контрольного mAb (15 мг/кг). При введении 15 мг/кг mAb CR8020 за 1 день до заражения или через 1 или 2 дня после заражения, все животные выживали, тогда как коэффициент выживаемости у мышей группы, которой вводили контрольное mAb составлял 0%. При введении 15 мг/кг mAb CR8020 через 3 или 4 дня после заражения, выживаемость составляла 50 и 10% соответственно. Продолжительность жизни животных каждой из этих групп статистически значимо отличалась от продолжительности жизни контрольной группы (у группы на день 3: $p < 0,001$ и у группы на день 4, $p = 0,002$; логранговый критерий). У групп, обработанных 15 мг/кг CR8020 на день 5 или 6, коэффициент выживаемости составляли 0%. Статистически значимого различия коэффициентов выживаемости у групп, обработанных на дни 5 или 6, по сравнению с контрольной группой ($p = 0,648$ и $p = 0,342$ соответственно; логранговый критерий) не наблюдалось.

На фиг. 13В проиллюстрировано среднее изменение массы тела у мышей в течение всего 21-дневного периода проведения эксперимента по сравнению с массой тела на день 0. Подобно коэффициентам выживаемости, наблюдалась четкая зависимость между снижением массы тела и временем введения 15 мг/кг mAb CR8020: если 15 мг/кг mAb CR8020 вводили в более поздние периоды времени, то снижение массы тела увеличивалось.

Более тщательный статистический анализ изменения массы тела проводили с помощью анализа площади под кривой (AUC) (табл. 17). При проведении анализа площади под кривой, если мышь погибала/подвергалась эвтаназии в процессе катанестического исследования, то использовали последнее значение массы тела, зарегистрированное до дня 21. Вкратце, массу тела мыши на день 0 использовали в качестве фоновой величины и изменение массы тела со дня 0 до дня 21 определяли по отношению к этой фоновой величине. AUC определяли как сумму площади выше и площади ниже базисной линии.

Медианные клинические оценки для мышей проиллюстрированы на фиг. 13С. Все мыши, которым вводили 15 мг/кг антитела CR8020 за 1 день до заражения, выживали и ни у одной из этих мышей не наблюдалось каких-либо клинических признаков в процессе исследования. Мыши, обработанные 15 мг/кг CR8020 через 1 день после заражения, выживали на 100%, однако у 4 из 10 животных наблюдались клинические признаки, и таким животным присваивали максимальную клиническую оценку 1-3. Все животные, обработанные 15 мг/кг CR8020 через 2 дня после заражения, выживали. Однако у 9 из 10 животных наблюдались клинические признаки, и таким животным присваивали максимальную клиническую оценку 2 или 3. Животные, обработанные 15 мг/кг CR8020 через 3 дня после заражения, обнаруживали 50% выживание. Все выжившие животные (n=5) имели клинические признаки, и таким животным была присвоена максимальная клиническая оценка 3. Все животные, обработанные 15 мг/кг CR8020 через 4 дня после заражения, кроме одной мыши, погибали. Выжившая мышь обнаруживала клинические признаки, и ей была присвоена максимальная клиническая оценка 2. У всех выживших мышей в группах обработки не наблюдалось каких-либо симптомов на день 21.

Клинические оценки анализировали методом GENMOD (SAS) в целях создания модели для повторных измерений, где объектами служили мыши, и данные измеряли по одинарной шкале (табл. 18). Поскольку кривые имели различные профили, то параметр "день" был включен в эту модель как переменная величина для данного класса. У мышей всех групп, обработанных 15 мг/кг mAb CR8020 за один день до заражения и через 1 и 2 дня после заражения, выживание составляло 100%, медианная клиническая оценка значительно отличалась от оценки выживаемости мышей контрольной mAb-группы на протяжении почти всего периода 21-дневного исследования ($p < 0,001$ для всех 3 групп). У групп мышей, которые были обработаны 15 мг/кг mAb CR8020 через 3 или 4 дня после заражения и выживаемость которых составляла 50 и 10% соответственно, медианная клиническая оценка также значительно отличалась от оценки выживаемости мышей контрольной mAb-группы на протяжении почти всего периода 21-дневного исследования ($p < 0,05$ для обеих групп). У групп, обработанных 15 мг/кг mAb CR8020 через 5 или 6 дней после заражения, медианная клиническая оценка значительно отличалась от оценки для контрольной mAb-группы только в случае обработки через 3 дня после заражения ($p < 0,001$). Такое различие, хотя и было статистически значимым, не рассматривалось как релевантное.

В заключение можно сказать, что терапия с использованием mAb CR8020 в дозе 15 мг/кг обеспечивала 100% защиту при его введении максимум через 2 дня после заражения мышей летальной дозой H3N2. Введение mAb CR8020 в дозе 15 мг/кг через 3 или 4 дня после заражения не давало полной защиты. Введение mAb CR8020 в дозе 15 мг/кг через 5 или 6 дней после заражения мышей летальной дозой H3N2 не давало защитного эффекта.

Полученные результаты показали, что постинфекционная обработка моноклональным антителом против вируса гриппа H3N2, описанным в настоящем документе и обозначенным CR8020, может обеспечивать защиту млекопитающих, а именно мышей, после заражения этих мышей летальной дозой вируса гриппа H3N2. Даже на более поздней стадии, т.е. через 4 дня после инфицирования, это антитело еще было способно частично защищать мышь от инфицирования летальной дозой вируса гриппа H3N2. Примечательно то, что через 21 день после инфицирования, у всех выживших животных, обработанных антителом, наблюдались нормальные показатели массы тела и не обнаруживалось каких-либо остаточных клинических признаков.

Пример 16.

Профилактическая активность человеческих моноклональных антител IgG против заражения летальной дозой H7N7 *in vivo*.

Это исследование проводили для оценки профилактического эффекта описанных здесь моноклональных антител, например, CR8020, в постинфекционной модели, где указанные антитела направлены против летального заражения вирусом гриппа H7N7 *in vivo*. mAb CR8020 тестировали на профилактическую эффективность у мышей с моделью заражения летальной дозой адаптированного для мышей штамма вируса гриппа А/курица/Нидерланды/621557/2003 (H7N7) (Центральный ветеринарный институт (CVI), Лелистад, Нидерланды). Вирус А/СН/НЛ/621557/03 (H7N7) был адаптирован для мышей после 3 пересевов в легких. Адаптированный для мышей вирус H7N7 пассажа 3 размножали в оплодотворенных куриных яйцах в лаборатории CVI. Всех мышей (Balb/c, самок, 6-8-недельных, n=8 на группу) подвергли акклиматизации и перед проведением эксперимента, их содержали в соответствующих условиях по меньшей мере в течение 4 дней. mAb CR8020 вводили внутривенно в дозах 30, 10, 3 или 1 мг/кг в хвостовую вену (*vena coccygeus*) за 1 день до заражения, причем, средняя масса тела мыши составляла 18 г, а объем фиксированной дозы составлял 0,2 мл. Мышам контрольной группы вводили 30 мг/кг mAb CR3014, используемого в качестве негативного контроля. Затем мышей заражали на день 0 дозой вируса 25 LD₅₀ А/СН/НЛ/621557/03 (H7N7) путем интраназальной инокуляции. Фактическая доза вводимого вируса была оценена путем титрования нескольких образцов-дубликатов из инокулята, оставшегося после завершения инокуляции животных. Титры вирусов (TCID₅₀/мл) инокулята определяли на клетках MDCK. Клинические признаки и массу тела определяли ежедневно начиная со дня 1 до начала заражения и вплоть до 21 дня проведения исследования, методом, аналогичным методу, описанному в примере 14. Для анализа уровней mAb в плазме на день 0 и для определения присутствия антител, ингибирующих

гемагглютинацию (H1), на день 21, у всех мышей брали пробы крови на день 0, непосредственно перед заражением и на день 21 после заражения.

В период акклиматизации все мыши были активными и здоровыми на вид без каких-либо признаков заболевания. На фиг. 14A представлены коэффициенты выживаемости для мышей после введения им mAb. У мышей, которым вводили 1 мг/кг mAb CR8020 или более, коэффициент выживаемости составлял 100%, тогда как у группы мышей, которым вводили контрольное mAb, коэффициент выживаемости составлял 0%. На фиг. 14B представлено изменение средней массы тела мышей за 21-дневный период исследования после введения mAb. У групп мышей, которым вводили 3, 10 и 30 мг/кг mAb CR8020, снижения массы тела в течение 21-дневного периода исследований не наблюдалось, тогда как у групп мышей, которым вводили 1 мг/кг mAb CR8020 и контрольное mAb, наблюдалось снижение массы тела, причем, на 21-й день исследования, средняя масса тела у мышей, которым вводили 1 мг/кг mAb CR8020, возвращалась на базовый уровень. Более тщательный статистический анализ изменения массы тела проводили с помощью анализа площади под кривой (AUC) (табл. 19). При проведении анализа площади под кривой, если мышь погибала/подвергалась эвтаназии в процессе катанестического исследования, то использовали последнее значение массы тела, зарегистрированное до дня 21. Вкратце, массу тела мыши на день 0 использовали в качестве фоновой величины и изменение массы тела со дня 0 до дня 21 определяли по отношению к этой фоновой величине. AUC определяли как сумму площадей выше и ниже базисной линии.

Наблюдается четкая обратная зависимость между потерей массы и дозой используемого антитела. При возрастании концентрации антитела, потеря массы снижается. У группы мышей, которым вводили 1, 3, 10 и 30 мг/кг mAb CR8020, среднее различие в потере массы по сравнению с потерей массы у группы, которой вводили контрольное mAb, составляло 47, 44, 79, 75, 86, 71 и 80, 48 г/день соответственно. Все различия были статистически значимыми ($p < 0,001$).

Медианные клинические оценки для мышей представлены на фиг. 14C. Все животные в каждой группе, за исключением одного или двух, обнаруживали клинические признаки (оценка=1) через 1 день после заражения. Это, вероятно, не было связано с заражением вирусом, поскольку неинфицированная группа, одновременно участвующая в этом исследовании, давала аналогичный эффект на день 1 (данные не приводятся).

Все мыши, обработанные 3, 10 или 30 мг/кг mAb CR8020 за 1 день до заражения, выживали, и ни у одного из этих животных не наблюдалось каких-либо клинических признаков в процессе исследования (со дня 2 до дня 21 после инфицирования). У мышей, которым вводили 1 мг/кг mAb CR8020 за один день до заражения, коэффициент выживаемости составлял 100%, а у 8 из 8 мышей наблюдались клинические признаки, оцениваемые по максимальной клинической оценке 3.

Полученные результаты показали, что человеческое анти-H3N2 антитело CR8020, идентифицированное и продуцированное как описано в настоящем документе (CR8020), способно обеспечивать гетеросубтипическую защиту *in vivo* от летальной дозы штамма вируса гриппа H7N7. mAb CR8020, при его введении за один день до инфицирования в дозе 3 мг/кг или выше, обладало способностью полностью предотвращать клинические манифестации у мышей, вызываемые инфицированием вирусом H7N7. Все мыши, которым вводили CR8020 в дозе 1 мг/кг за один день до летального заражения, выживали, и на 21-й день исследования потеря массы тела полностью прекращалась, а клинические признаки исчезали.

Второе исследование проводили для оценки и сравнения профилактической эффективности mAb CR8020, CR8041 и CR8043 у мышей с моделью заражения штаммом H7N7. mAb CR8020, CR8041 и CR8043 (продуцированные в клетках PER.C6®) тестировали на профилактическую эффективность у мышей с моделью заражения летальной дозой адаптированного для мышей штамма вируса гриппа A/курица/Нидерланды/621557/2003 (H7N7) (Центральный Ветеринарный Институт (CVI), Лелистад, Нидерланды). Вкратце, всех мышей (Balb/c, самок, 6-8-недельных, $n=8$ на группу) подвергали акклиматизации, и перед проведением эксперимента их содержали в соответствующих условиях по меньшей мере в течение 4 дней. mAb CR8020 вводили внутривенно в дозах 10, 3 или 1 мг/кг в хвостовую вену (*vena coccygeus*) за 1 день до заражения, причем средняя масса тела мыши составляла 18 г, а объем фиксированной дозы составлял 0,2 мл. mAb CR8041 и CR8043 вводили в тех же дозах, составляющих 30, 10, 3 или 1 мг/кг. Мышам контрольной группы вводили 30 мг/кг CR3014, используемого в качестве негативного контроля. После введения mAb мышей заражали на день 0 дозой вируса 25 LD₅₀ A/CH/NL/621557/03 (H7N7) путем интраназальной инокуляции. Клинические признаки и массу тела определяли ежедневно, начиная со дня 1 до начала заражения и до 21 дня проведения исследования.

На фиг. 15 представлены коэффициенты выживаемости, % изменения массы тела и клинические оценки для мышей после профилактического введения mAb этим мышам. Как показано на фиг. 15A, 100% выживаемость наблюдалась у групп, которым вводили 3 или 10 мг/кг CR8020, 10 или 30 мг/кг CR8041 и 30 мг/кг CR8043. В группе, которой вводили контрольное mAb, коэффициент выживаемости составлял 0%. Профилактическое введение CR8020 во всех трех дозах и CR8041 во всех четырех дозах давало статистически значимое повышение выживаемости по сравнению с выживаемостью животных в группе, которой вводили контрольное mAb (логранговый критерий, $p < 0,002$). Профилактическое введение 1 мг/кг CR8043 не приводило к статистически значимому повышению выживаемости по сравнению с

выживаемостью животных в группе, которой вводили контрольное mAb (логранговый критерий, $p=0,692$). Увеличение дозы CR8043 до 3 мг/кг или более приводило к статистически значимому повышению выживаемости по сравнению с выживаемостью животных в группе, которой вводили контрольное mAb (логранговый критерий, $p<0,034$).

В post hoc анализе продолжительность жизни сравнивали для групп, которым вводили наименьшие дозы mAb CR8020, CR8041 и CR8043. Профилактическое введение 1 мг/кг CR8020 приводило к статистически значимому повышению выживаемости по сравнению с выживаемостью, наблюдаемой при введении 1 мг/кг CR8041 и 1 мг/кг CR8043 (логранговый критерий, соответственно $p=0,029$ и $p<0,001$). Кроме того, профилактическое введение 1 мг/кг CR8041 приводило к статистически значимому повышению выживаемости по сравнению с выживаемостью, наблюдаемой при введении 1 мг/кг CR8043 (логранговый критерий, $p=0,004$).

На фиг. 15B представлено среднее изменение массы тела у мышей, наблюдаемое за период 21-дневного исследования после профилактического введения mAb. У животных группы, которой вводили 1 мг/кг mAb CR8020 и mAb CR8041, наблюдалась значительная потеря массы, сравнимая с потерей массы, наблюдаемой для группы, которой вводили контрольное mAb. У животных, которым вводили более высокую дозу mAb CR8020 и CR8041, потеря массы, наблюдаемая за период 21-дневного исследования, была ограничена или отсутствовала. У всех групп, которым вводили дозу mAb CR8043, наблюдалась значительная потеря массы, при этом средняя масса тела у животных группы, которой вводили дозу 30 мг/кг, почти полностью восстанавливалась до исходного уровня на день 21. Более тщательный анализ изменения массы тела проводили с помощью анализа площади под кривой (AUC) (табл. 21). Между потерей массы и дозой используемого антитела наблюдалась четкая обратная зависимость. При возрастании концентрации антитела потеря массы снижалась. У группы мышей, которым вводили 1 мг/кг CR8020, не наблюдалось какого-либо статистически значимого снижения потери массы по сравнению с потерей массы у контрольной группы ($p=0,356$). Увеличение дозы до 3 или 10 мг/кг приводило к статистически значимому снижению потери массы по сравнению с контрольной группой (в обоих случаях $p<0,001$). В случае введения 1 мг/кг CR8041 какого-либо статистически значимого снижения потери массы по сравнению с контрольной группой не наблюдалось ($p=1$).

Увеличение дозы до 3, 10 или 30 мг/кг CR8041 приводило к статистически значимому снижению потери массы по сравнению с контрольной группой (во всех 3 случаях, $p<0,001$). В случае введения 1, 3 или 10 мг/кг CR8043 какого-либо статистически значимого снижения потери массы по сравнению с контрольной группой не наблюдалось ($p=0,997$, $0,510$ и $0,992$ соответственно). Увеличение дозы до 30 мг/кг приводило к статистически значимому снижению потери массы по сравнению с контрольной группой ($p<0,001$). В дополнительном анализе средней величины AUC для данных изменения массы тела mAb CR8020, CR8041 и CR8043 сравнивали с помощью одномерного дисперсионного анализа, проводимого с использованием антитела и доз, включенных в эту модель как постоянные коэффициенты. Поскольку доза 30 мг/кг CR8020 не была включена в данное исследование, то сравнение ограничивалось дозами 1, 3 и 10 мг/кг антитела. Различия между антителами оценивали с использованием крайних значений среднего с поправкой Сидака для множественных сравнений. Обработка рассматриваемым антителом CR8020 во всех трех дозах, по сравнению с обработкой антителами CR8041 и CR8043, приводила к статистически значимому снижению потери массы тела (средняя разность крайних средних $23,73$ и $68,29$ г в день, соответственно, $p=0,013$ и $p<0,001$). Кроме того, обработка антителом CR8041, по сравнению с обработкой антителом CR8043, приводила к статистически значимому снижению потери массы (разность крайних средних $44,56$ г/день, $p<0,001$).

Медианные клинические оценки для мышей представлены на фиг. 15C. Все мыши, за исключением одной, на день 0 (в группе, которой вводили 3 мг/кг CR8020) обнаруживали клинические признаки (оценка=1, жесткая шерсть) в дни 0-3. Такое увеличение клинической оценки не наблюдалось в период акклиматизации и на день -1. Причина такого увеличения клинических оценок точно не ясна. У групп мышей, обработанных 3 или 10 мг/кг mAb CR8020 за 1 день до заражения, медианная клиническая оценка возвращалась до 0 через 9 дней после заражения, тогда как у контрольной группы медианная клиническая оценка достигала значения 4 на день 8, при этом все мыши погибали или подвергались эвтаназии на день 9. У группы, которой вводили 1 мг/кг CR8020, медианная клиническая оценка составляла 3 на дни 4-13 и возвращалась до 0 на день 15. У групп, которым вводили 3, 10 или 30 мг/кг mAb CR8041 за 1 день до заражения, медианная клиническая оценка возвращалась до 0 на дни 9, 10 или 12 после заражения соответственно. У групп, которым вводили CR8041 в дозе 1 мг/кг, медианная клиническая оценка была равна 4 на день 10 после заражения. Для групп, которым вводили 1, 3 или 10 мг/кг CR8043, медианная клиническая оценка составляла 4 на дни 9, 9 или 12 соответственно, а медианная клиническая оценка для группы, которой вводили 30 мг/кг CR8043, составляла 3 на дни 6-13 и возвращалась до 0 на день 14.

Вышеуказанные результаты явно указывают на то, что человеческие анти-N3N2 антитела CR8020, CR8041 и CR8043 могут обеспечивать гетеросубтипическую защиту от заражения летальной дозой вируса гриппа H7N7 in vivo. Было обнаружено, что mAb CR8020 является самым эффективным из всех трех mAb в отношении предотвращения инфицирования адаптированным для мышей вирусом гриппа A/CH/NL/621557/03 (H7N7), на что указывают результаты post hoc анализов на выживаемость и измене-

ние массы тела. При введении 3 или 10 мг/кг mAb CR8020 за один день до инфицирования, выживаемость мышей после заражения летальной дозой составляла 100%, а клинические манифестации в результате инфицирования вирусом H7N7 значительно снижались. В этом эксперименте при введении CR8020 в дозе 1 мг/кг за один день до инфицирования 75% мышей, зараженных летальной дозой, выживали, а клинические признаки у выживших мышей полностью исчезали на день 15 исследования, проводимого в течение 21 дня.

Пример 17.

Терапевтическая активность человеческих моноклональных антител IgG, направленная против заражения летальной дозой вируса H7N7 *in vivo*.

Это исследование проводили для оценки терапевтической эффективности и "окна" mAb CR8020 у модели с заражением вирусом H7N7. mAb CR8020 (продуцированное в клетках PER.C6®) тестировали на терапевтическую эффективность у мышей с моделью заражения адаптированной для мышей летальной дозой штамма вируса гриппа А/курица/Нидерланды/621557/2003 (H7N7) (Центральный Ветеринарный Институт (CVI), Лелистад, Нидерланды). Вкратце, перед проведением эксперимента всех мышей (Balb/c, самок, 6-8-недельных, n=8 на группу) подвергали акклиматизации и содержали в соответствующих условиях по меньшей мере в течение 4 дней. mAb CR8020 вводили внутривенно в дозе 15 мг/кг в хвостовую вену (*vena cava*) за 1 день до заражения (группа 1; профилактический позитивный контроль) или через 1, 2, 3, 4, 5 или 6 дней после заражения (группы 2-7); причем средняя масса тела мыши составляла 18 г, а объем фиксированной дозы составлял 0,2 мл. Мышам группы 8 вводили mAb CR3014 (15 мг/кг), используемое в качестве негативного контроля, через 1 день после заражения. Мышей заражали на день 0 дозой адаптированного для мышей вируса 25 LD₅₀ A/CH/NL/621557/03 (H7N7) путем интраназальной инокуляции. Клинические признаки и массу тела определяли ежедневно, начиная со дня 1 до заражения и до окончания 21-дневного эксперимента.

На фиг. 16А представлены коэффициенты выживаемости для мышей после внутривенного введения mAb CR8020 (15 мг/кг для всех групп) или контрольного mAb (15 мг/кг). При введении 15 мг/кг mAb CR8020 за 1 день до заражения или через 1 или 3 дня после заражения, все животные выживали, тогда как у группы мышей, которым вводили контрольное mAb, коэффициент выживаемости составлял 0%. При введении 15 мг/кг mAb CR8020 через 2 и 4 дня после заражения, выживаемость составляла 87,5% и 50%, соответственно. Продолжительность жизни животных этих групп статистически значимо отличалась от продолжительности жизни животных, которым вводили контрольное mAb ($p=0,002$ и $p=0,014$ соответственно). У групп, которым вводили 15 мг/кг CR8020 на 5- и 6-й дни, коэффициент выживаемости составлял 0%, а продолжительность жизни животных этих групп не обнаруживала статистически значимых отличий от продолжительности жизни животных, которым вводили контрольное mAb ($p=0,837$ и $p=0,876$ соответственно).

На фиг. 16В проиллюстрировано среднее изменение массы тела по сравнению с массой тела на день 0 у мышей во время 21-дневного исследования. В основном средняя потеря массы тела увеличивалась в том случае, когда mAb CR8020 вводили через более длительные промежутки времени после заражения. Однако кривые, построенные по данным средней массы тела для групп, которым вводили mAb CR8020 на 2- и 3-й дни обработки, пересекались в точке, соответствующей дню 10, что было вызвано гибелью одной мыши группы обработки на день 2. Анализ площади под кривой, построенной по данным изменения массы тела, указывал на резкий скачок потери средней массы тела у группы обработки на дни от -1 до 3 по сравнению с обработкой на дни 4-6 (табл. 22). Обработка 15 мг/кг CR8020 за 1 день до заражения или через 1, 2 или 3 дня после заражения приводила к статистически значимому снижению потери массы по сравнению с потерей массы у животных контрольной группы ($p<0,001$ для всех 4 групп). Обработка 15 мг/кг CR8020 на дни 4, 5 или 6 не приводила к статистически значимому снижению потери массы по сравнению с потерей массы у животных контрольной группы ($p=0,566$, $p=0,979$ и $p=0,858$ соответственно).

Медианные клинические оценки для мышей проиллюстрированы на фиг. 16С. Все животные, которым вводили 15 мг/кг CR8020 за 1 день до заражения, выживали, и ни у одной из этих мышей не наблюдалось каких-либо клинических признаков за весь период исследования. Животные, обработанные через 1 день после заражения, выживали на 100%, однако у 7 из 8 животных наблюдались клинические признаки, и таким животным присваивали максимальную клиническую оценку 1. Восьмому животному присваивали максимальную клиническую оценку 3. Все животные, обработанные на 2-й день после заражения, за исключением одного, выживали. У выживших животных (у 7 из 8 животных) наблюдались клинические признаки, и этим животным присваивали максимальную клиническую оценку 1 (n=4) или 3 (n=3). Выживаемость животных, обработанных на 3-й день после заражения, составляла 100%, и все эти животные обнаруживали клинические признаки с максимальной клинической оценкой 3. Из всех животных, обработанных на 4 день после заражения летальной дозой, 50% выживали. Все выжившие животные обнаруживали клинические признаки с максимальной клинической оценкой 3. Животные, обработанные на 5- или 6-й день после заражения, не выживали. Клинические оценки анализировали методом GENMOD (SAS) в целях создания модели для повторных измерений, где объектами служили мыши, и данные измеряли по одинарной шкале (табл. 23). Для групп, обработанных 15 мг/кг mAb CR8020 за 1

день до заражения и на дни 1, 2, 3 или 4 после заражения, медианная клиническая оценка статистически значимо отличалась от медианной клинической оценки для групп, которым вводили контрольное mAb на протяжении почти всего периода 21-дневного исследования (дни 8-21; $p < 0,038$ для всех 4 групп). Для групп мышей, обработанных 15 мг/кг mAb CR8020 на 5-й день после заражения, медианная клиническая оценка значимо отличалась от медианной клинической оценки для группы, которой вводили контрольное mAb, только на 8-й день ($p < 0,001$). Такое различие, хотя и было статистически значимым, не рассматривалось как релевантное. Медианная клиническая оценка для группы, которой вводили 15 мг/кг mAb CR8020 на 6-й день обработки, не обнаруживала статистически значимого отличия от медианной клинической оценки для контрольной группы.

Это исследование ясно показало, что терапия с использованием 15 мг/кг mAb CR8020 обеспечивала 87,5-100% защиту при его введении максимум через 3 дня после заражения мышей летальной дозой H7N7. Введение 15 мг/кг mAb CR8020 через 4 дня после заражения не давало полной защиты. Введение 15 мг/кг mAb CR8020 на дни 5 или 6 после заражения мышей летальной дозой H7N7 не давало протективного эффекта. Другими словами, введение антитела CR8020 за 4 дня или более до гибели обеспечивало защиту для мышей с моделью летального заражения.

Пример 18.

Коктейль моноклональных антител, которые эффективно нейтрализуют вирусы гриппа множества подтипов, принадлежащих к филогенетическим группам 1 и 2.

Вакцина, используемая для ежегодной сезонной вакцинации против гриппа, состоит из двух различных препаратов, вырабатывающих иммунитет против штаммов вируса гриппа А, т.е. репрезентативного циркулирующего вируса подтипа H1 и репрезентативного циркулирующего вируса подтипа H3. Это объясняется в основном тем, что штаммы вируса гриппа подтипов H1 и H3 настолько сильно отличаются друг от друга, что вакцина, полученная от штамма любого типа, не обеспечивает защиту против штамма другого подтипа. В идеальном случае препарат моноклональных антител, обеспечивающий широкий спектр защиты против вируса гриппа, должен быть эффективным против штаммов вируса гриппа, принадлежащих к филогенетической группе 1 (H1) и группе 2 (H3). Однако и в этом случае из-за различий в последовательностях молекул HA трудно получить одно такое антитело. Так, например, антитело Fab28, описанное в WO 2009/115972, связывается с подтипами H1 и нейтрализует эти подтипы гораздо лучше, чем подтип H3, что, вероятно, обусловлено меньшей консервативностью эпитопов вирусов группы 1 и группы 2 по сравнению с вирусами, принадлежащими к одной из этих филогенетических групп. Для получения одного продукта, эффективного против множества подтипов вирусов обеих филогенетических групп, два или более различных антитела могут быть объединены друг с другом с образованием "коктейля". Для достижения нужного результата такой препарат должен состоять из антител, которые не будут оказывать негативного влияния друг на друга.

Антитела, которые эффективно нейтрализуют вирусы подтипов H1, H5 и H9, описаны в WO 2008/028946, где в качестве типичных примеров приводятся антитела CR6261 и CR6323. Связывающая область (эпитоп), связывающаяся с антителом CR6261, была более четко охарактеризована посредством совместной кристаллизации молекул HA типа H1 или H5 и молекулы CR6261 (см. также базу данных PDB под регистрационными номерами 3GBM и 3GBM на сайте <http://www.pdb.org> и Ekiert et al., 2009). Для того чтобы определить, можно ли использовать моноклональные антитела согласно изобретению в комбинации с описанными ранее антителами CR6261, был проведен анализ с целью установить, могут ли такие антитела связываться с вирусами подтипов, принадлежащих к обеим филогенетическим группам 1 и 2. Кроме того, эксперименты по связыванию антител CR6261, CR6323, CR8001, CR8020, CR8041 и CR8043 с молекулами HA подтипов H1 и H5, а также подтипов H3 и H7 проводили с помощью ELISA и FACS, как описано в примере 7. Результаты были систематизированы в табл. 20, и эти результаты показали, что антитела, нейтрализующие вирусы группы 1 широкого спектра, не связываются с вирусами группы 2, и наоборот. Поскольку антитела не оказывают негативного влияния друг на друга, то можно предположить, что нейтрализующая активность антител против соответствующих подтипов будет сохраняться, что будет приводить к эффективной нейтрализации вирусов подтипов обеих групп 1 и 2.

Поэтому, с одной стороны, коктейль, содержащий антитела CR6261 и/или CR6323 и, с другой стороны, антитела CR8020, CR8041 и/или CR8043, будет обладать активностью, направленной против вирусов гриппа по меньшей мере обоим подтипам H1 и H3. Таким образом, с использованием одного препарата может быть достигнута эффективная защита против вирусов гриппа обоих подтипов, принадлежащих к филогенетическим группам 1 и 2.

Пример 19.

Кинетика связывания связывающих молекул.

Аффинности расщепленных папаином Fab-фрагментов CR8020 и CR8043 измеряли с использованием системы Octet RED и стрептавидиновых биосенсоров от ForteBio. Антигены гемагглютинина вируса гриппа подтипов H3 А/Висконсин/67/2005 (Protein Science) и А/Бризбен/10/2007 (Protein Science) биотинилировали для иммобилизации со стрептавидиновыми биосенсорами (ForteBio). Эксперименты по связыванию проводили 5 раз с использованием антител CR8020 и CR8043 в концентрациях 2,3-150 нМ и 0,16-30 нМ соответственно в кинетическом буфере (ForteBio, 18.5032). Серию экспериментов по измере-

нию аффинности на устройства Octet проводили следующим образом: сначала осуществляли иммобилизацию биотинилированного гемагглютинина со стрептавидиновыми биосенсорами в течение 1800 с, а затем осуществляли связывание с серийно разведенными Fab CR8020 и CR8043 в течение 1200 с и последующую диссоциацию в кинетическом буфере в течение 1800 с. Данные по связыванию анализировали с помощью аналитической компьютерной программы Octet Analysis с использованием модели 1:1.

Константы аффинности (K_d -величины) молекул, связывающихся с вирусом НА подтипа НЗ, представлены в табл. 24.

Таблица 1

Первый раунд амплификации V-каппа, V-лямбда и VH

Название праймера	Нуклеотидная последовательность праймера	SEQ ID NO:
OK1 (HuVK1B)	GAC ATC CAG WTG ACC CAG TCT CC	193
OK2 (HuVK2)	GAT GTT GTG ATG ACT CAG TCT CC	194
OK3 (HuVK2B2)	GAT ATT GTG ATG ACC CAG ACT CC	195
OK4 (HuVK3B)	GAA ATT GTG WTG ACR CAG TCT CC	196
OK5 (HuVK5)	GAA ACG ACA CTC ACG CAG TCT CC	197
OK6 (HuVK6)	GAA ATT GTG CTG ACT CAG TCT CC	198
OCK (HuCK)	ACA CTC TCC CCT GTT GAA GCT CTT	199
OL1 (HuVL1A) *	CAG TCT GTG CTG ACT CAG CCA CC	200
OL1 (HuVL1B) *	CAG TCT GTG YTG ACG CAG CCG CC	201
OL1 (HuVL1C) *	CAG TCT GTC GTG ACG CAG CCG CC	202
OL2 (HuVL2B)	CAG TCT GCC CTG ACT CAG CC	203
OL3 (HuVL3A)	TCC TAT GWG CTG ACT CAG CCA CC	204
OL4 (HuVL3B)	TCT TCT GAG CTG ACT CAG GAC CC	205
OL5 (HuVL4B)	CAG CYT GTG CTG ACT CAA TC	206
OL6 (HuVL5)	CAG GCT GTG CTG ACT CAG CCG TC	207
OL7 (HuVL6)	AAT TTT ATG CTG ACT CAG CCC CA	208
OL8 (HuVL7/8)	CAG RCT GTG GTG ACY CAG GAG CC	209
OL9 (HuVL9) #	CWG CCT GTG CTG ACT CAG CCM CC	210
OL9 (HuVL10) #	CAG GCA GGG CTG ACT CAG	211
OCL (HuCL2) X	TGA ACA TTC TGT AGG GGC CAC TG	212
OCL (HuCL7) X	AGA GCA TTC TGC AGG GGC CAC TG	213
OH1 (HuVH1B7A) +	CAG RTG CAG CTG GTG CAR TCT GG	214
OH1 (HuVH1C) +	SAG GTC CAG CTG GTR CAG TCT GG	215
OH2 (HuVH2B)	CAG RTC ACC TTG AAG GAG TCT GG	216
OH3 (HuVH3A)	GAG GTG CAG CTG GTG GAG	217
OH4 (HuVH3C)	GAG GTG CAG CTG GTG GAG WCY GG	218
OH5 (HuVH4B)	CAG GTG CAG CTA CAG CAG TGG GG	219
OH6 (HuVH4C)	CAG STG CAG CTG CAG GAG TCS GG	220
OH7 (HuVH6A)	CAG GTA CAG CTG CAG CAG TCA GG	221
OCM (HuCIgM)	TGG AAG AGG CAC GTT CTT TTC TTT	222

* Смесь в отношении 1:1:1.

Смесь в отношении 1:1.

x Смесь в отношении 1:1.

+ Смесь в отношении 1:1.

Таблица 2

Второй раунд амплификации V-каппа, V-лямбда и VH

Название праймера	Нуклеотидная последовательность праймера	SEQ ID NO:
OK1S (HuVK1B-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG GAC ATC CAG WTG ACC CAG TCT CC	223
OK2S (HuVK2-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG GAT GTT GTG ATG ACT CAG TCT CC	224
OK3S (HuVK2B2-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG GAT ATT GTG ATG ACC CAG ACT CC	225
OK4S (HuVK3B-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG GAA ATT GTG WTG ACR CAG TCT CC	226
OK5S (HuVK5-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG GAA ACG ACA CTC ACG CAG TCT CC	227
OK6S (HuVK6-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG GAA ATT GTG CTG ACT CAG TCT CC	228
OJK1 (HuJK1-NOT)	GAG TCA TTC TCG ACT TGC GGC CGC ACG TTT GAT TTC CAC CTT GGT CCC	229
OJK2 (HuJK2-NOT)	GAG TCA TTC TCG ACT TGC GGC CGC ACG TTT GAT CTC CAG CTT GGT CCC	230
OJK3 (HuJK3-NOT)	GAG TCA TTC TCG ACT TGC GGC CGC ACG TTT GAT ATC CAC TTT GGT CCC	231
OJK4 (HuJK4-NOT)	GAG TCA TTC TCG ACT TGC GGC CGC ACG TTT GAT CTC CAC CTT GGT CCC	232
OJK5 (HuJK5-NOT)	GAG TCA TTC TCG ACT TGC GGC CGC ACG TTT AAT CTC CAG TCG TGT CCC	233
OL1S (HuVL1A-SAL) *	TGA GCA CAC AGG TCG ACG CAG TCT GTG CTG ACT CAG CCA CC	234
OL1S (HuVL1B-SAL) *	TGA GCA CAC AGG TCG ACG CAG TCT GTG YTG ACG CAG CCG CC	235
OL1S (HuVL1C-SAL) *	TGA GCA CAC AGG TCG ACG CAG TCT GTC GTG ACG CAG CCG CC	236
OL2S (HuVL2B-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG CAG TCT GCC CTG ACT CAG CC	237
OL3S (HuVL3A-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG TCC TAT GWG CTG ACT CAG CCA CC	238
OL4S (HuVL3B-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG TCT TCT GAG CTG ACT CAG GAC CC	239
OL5S (HuVL4B-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG CAG CYT GTG CTG ACT CAA TC	240
OL6S (HuVL5-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG CAG GCT GTG CTG ACT CAG CCG TC	241
OL7S (HuVL6-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG AAT TTT ATG CTG ACT CAG CCC CA	242

029939

OL8S (HuVL7/8-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG CAG RCT GTG GTG ACY CAG GAG CC	243
OL9S (HuVL9-SAL) #	TGA GCA CAC AGG TCG ACG CWG CCT GTG CTG ACT CAG CCM CC	244
OL9S (HuVL10-SAL) #	TGA GCA CAC AGG TCG ACG CAG GCA GGG CTG ACT CAG	245
OJT.1 (HuJT.1-NOT)	GAG TCA TTC TCG ACT TGC GGC CGC ACC TAG GAC GGT GAC CTT GGT CCC	246
OJL2 (HuJL2/3-NOT)	GAG TCA TTC TCG ACT TGC GGC CGC ACC TAG GAC GGT CAG CTT GGT CCC	247
OJL3 (HuJL7-NOT)	GAG TCA TTC TCG ACT TGC GGC CGC ACC GAG GAC GGT CAG CTG GGT GCC	248
OH1S (HuVH1B-SFI)+	GTC CTC GCA ACT GCG GCC CAG CCG GCC ATG GCC CAG RTG CAG CTG GTG CAR TCT GG	249
OH1S (HuVH1C-SFI)+	GTC CTC GCA ACT GCG GCC CAG CCG GCC ATG GCC SAG GTC CAG CTG GTR CAG TCT GG	250
OH2S (HuVH2B-SFI)	GTC CTC GCA ACT GCG GCC CAG CCG GCC ATG GCC CAG RTC ACC TTG AAG GAG TCT GG	251
OH3S (HuVH3A-SFI)	GTC CTC GCA ACT GCG GCC CAG CCG GCC ATG GCC GAG GTG CAG CTG GTG GAG	252
OH4S (HuVH3C-SFI)	GTC CTC GCA ACT GCG GCC CAG CCG GCC ATG GCC GAG GTG CAG CTG GTG GAG WCY GG	253
OH5S (HuVH4B-SFI)	GTC CTC GCA ACT GCG GCC CAG CCG GCC ATG GCC CAG GTG CAG CTA CAG CAG TGG GG	254
OH6S (HuVH4C-SFI)	GTC CTC GCA ACT GCG GCC CAG CCG GCC ATG GCC CAG STG CAG CTG CAG GAG TCS GG	255
OH7S (HuVH6A-SFI)	GTC CTC GCA ACT GCG GCC CAG CCG GCC ATG GCC CAG GTA CAG CTG CAG CAG TCA GG	256
OJH1 (HuJH1/2-XHO)	GAG TCA TTC TCG ACT CGA GAC RGT GAC CAG GGT GCC	257
OJH2 (HuJH3-XHO)	GAG TCA TTC TCG ACT CGA GAC GGT GAC CAT TGT CCC	258
OJH3 (HuJH4/5-XHO)	GAG TCA TTC TCG ACT CGA GAC GGT GAC CAG GGT TCC	259
OJH4 (HuJH6-XHO)	GAG TCA TTC TCG ACT CGA GAC GGT GAC CGT GGT CCC	260

* Смесь в отношении 1:1:1.

Смесь в отношении 1:1.

+ Смесь в отношении 1:1.

Таблица 3

Описание второго раунда амплификации областей VL

Матрица	5'- праймер	3'- праймер	Продукт	Общие PK/PL (%)	Пул	Общие VL (%)
K1	OK1S	OJK1	K1J1	25	PK1	30
	OK1S	OJK2	K1J2	25		
	OK1S	OJK3	K1J3	10		
	OK1S	OJK4	K1J4	25		
	OK1S	OJK5	K1J5	15		
K2	OK2S	OJK1	K2J1	25	PK2	4
	OK2S	OJK2	K2J2	25		
	OK2S	OJK3	K2J3	10		
	OK2S	OJK4	K2J4	25		
	OK2S	OJK5	K2J5	15		
K3	OK3S	OJK1	K3J1	25	PK3	1
	OK3S	OJK2	K3J2	25		
	OK3S	OJK3	K3J3	10		
	OK3S	OJK4	K3J4	25		
	OK3S	OJK5	K3J5	15		
K4	OK4S	OJK1	K4J1	25	PK4	19
	OK4S	OJK2	K4J2	25		
	OK4S	OJK3	K4J3	10		
	OK4S	OJK4	K4J4	25		
	OK4S	OJK5	K4J5	15		
K5	OK5S	OJK1	K5J1	25	PK5	1
	OK5S	OJK2	K5J2	25		
	OK5S	OJK3	K5J3	10		
	OK5S	OJK4	K5J4	25		
	OK5S	OJK5	K5J5	15		
K6	OK6S	OJK1	K6J1	25	PK6	5
	OK6S	OJK2	K6J2	25		
	OK6S	OJK3	K6J3	10		
	OK6S	OJK4	K6J4	25		
	OK6S	OJK5	K6J5	15		
	OL1S	OJL1	L1J1	30		

029939

L1	OL1S	OJL2	L1J2	60	PL1	14
	OL1S	OJL3	L1J3	10		
L2	OL2S	OJL1	L2J1	30	PL2	10
	OL2S	OJL2	L2J2	60		
	OL2S	OJL3	L2J3	10		
L3	OL3S	OJL1	L3J1	30	PL3	10
	OL3S	OJL2	L3J2	60		
	OL3S	OJL3	L3J3	10		
L4	OL4S	OJL1	L4J1	30	PL4	1
	OL4S	OJL2	L4J2	60		
	OL4S	OJL3	L4J3	10		
L5	OL5S	OJL1	L5J1	30	PL5	1
	OL5S	OJL2	L5J2	60		
	OL5S	OJL3	L5J3	10		
L6	OL6S	OJL1	L6J1	30	PL6	1
	OL6S	OJL2	L6J2	60		
	OL6S	OJL3	L6J3	10		
L7	OL7S	OJL1	L7J1	30	PL7	1
	OL7S	OJL2	L7J2	60		
	OL7S	OJL3	L7J3	10		
L8	OL8S	OJL1	L8J1	30	PL8	1
	OL8S	OJL2	L8J2	60		
	OL8S	OJL3	L8J3	10		
L9	OL9S	OJL1	L9J1	30	PL9	1
	OL9S	OJL2	L9J2	60		
	OL9S	OJL3	L9J3	10		
					VL	100%

Таблица 4

Описание второго раунда амплификации областей VH

Матрица	5'- праймер	3'- праймер	Продукт	Общие PK/PL (%)	Пул	Общие VH (%)
H1	OH1S	OJH1	H1J1	10	PH1	25
	OH1S	OJH2	H1J2	10		
	OH1S	OJH3	H1J3	60		
	OH1S	OJH4	H1J4	20		
H2	OH2S	OJH1	H2J1	10	PH2	2
	OH2S	OJH2	H2J2	10		
	OH2S	OJH3	H2J3	60		
	OH2S	OJH4	H2J4	20		
H3	OH3S	OJH1	H3J1	10	PH3	25
	OH3S	OJH2	H3J2	10		
	OH3S	OJH3	H3J3	60		
	OH3S	OJH4	H3J4	20		
H4	OH4S	OJH1	H4J1	10	PH4	25
	OH4S	OJH2	H4J2	10		
	OH4S	OJH3	H4J3	60		
	OH4S	OJH4	H4J4	20		
H5	OH5S	OJH1	H5J1	10	PH5	2
	OH5S	OJH2	H5J2	10		
	OH5S	OJH3	H5J3	60		
	OH5S	OJH4	H5J4	20		
H6	OH6S	OJH1	H6J1	10	PH6	20
	OH6S	OJH2	H6J2	10		
	OH6S	OJH3	H6J3	60		
	OH6S	OJH4	H6J4	20		
H7	OH7S	OJH1	H7J1	10	PH7	1
	OH7S	OJH2	H7J2	10		
	OH7S	OJH3	H7J3	60		
	OH7S	OJH4	H7J4	20		
					VH	100%

Таблица 5

Характеристики отдельных библиотек IgM-экспрессирующих В-клеток памяти

Библиотеки IgM-экспрессирующих клеток памяти						
Донор	Клетки		Библиотеки			
	Общее число PBV ($\times 10^6$)	% В- клеток памяти	Размер ($\times 10^6$)	% частоты встреча емости вставок	% ОРС	% уникальных последова тельности
Индивидуум 1			3	96	74	98
Индивидуум 2	72,5	1,7	5	98	79	98
Индивидуум 3	67,5	1,4	3	96	79	98
Индивидуум 4	132,5	2,3	6	98	69	99

Таблица 6

Способность одноцепочечных фаговых антител перекрестно связываться с молекулами HA различных подтипов, как было определено с помощью ELISA (ELISA-титр; OD_{492 нм}).

X = не определяли; H3 = HA подтипа H3; H7 = HA подтипа H7;

HB = HA вируса гриппа B

SC #	H3	H7	HB
sc08-001	0,885	2,451	x
sc08-003	1,320	0,222	x
sc08-006	0,511	0,227	x
sc08-007	0,074	2,365	x
sc08-009	0,095	1,130	x
sc08-010	0,165	1,242	x
sc08-011	0,090	1,802	x
sc08-013	0,078	1,400	x
sc08-014	0,239	0,834	x
sc08-015	0,727	0,165	x
sc08-016	1,112	0,164	x
sc08-017	1,158	0,285	x
sc08-018	0,711	0,221	x

Таблица 7

Способность ПЭГ/НАС1-осажденных и стерилизованных на фильтре фаговых антител к связыванию с вирусами различных подтипов HA, как было определено с помощью ELISA (OD_{492 нм}). H1 = HA подтипа H1,

H3 = HA подтипа H3; H5 = HA подтипа H5; H7 = HA подтипа H7;

B(O) = HA вируса гриппа штамма B/Огайо/01/2005

SC #	H1	H3	H5	H7	B(O)
sc08-001	+	+	-	+	-
sc08-003	-	+	-	-	-
sc08-006	-	+	-	-	-
sc08-007	-	-	-	+	-
sc08-009	-	-	-	+	-
sc08-010	-	-	-	+	-
sc08-011	-	-	-	+	-
sc08-013	-	-	-	+	-
sc08-014	+	+	-	+	-
sc08-015	-	+	-	-	-
sc08-016	-	+	-	-	-
sc08-017	-	+	-	-	-
sc08-018	-	+	-	-	-

Таблица 8

FACS-анализ ПЭГ/НАС1-осажденных и стерилизованных на фильтре фаговых антител (выраженных как MFI = средняя интенсивность флуоресценции)
 PER.C6 = нетрансфицированные клетки PER.C6 (контроль);
 mH1, mH3, mH5, mH7, mHB = мембраносвязанный НА подтипов H1, H3, H5, H7 и подтипов вируса гриппа В соответственно

SC #	PER.C6	mH1	mH3	mH5	mH7	mHB
sc08-001	2	27	68	5	62	x
sc08-003	5	9	77	7	7	x
sc08-006	2	6	69	5	6	x
sc08-007	1	5	4	4	73	x
sc08-009	11	12	11	10	15	x
sc08-010	2	4	3	4	60	x
sc08-011	1	3	4	4	73	x
sc08-013	2	5	3	7	61	x
sc08-014	10	26	82	17	32	x
sc08-015	3	7	79	7	6	x
sc08-016	1	7	82	5	5	x
sc08-017	1	6	81	5	5	x
sc08-018	2	6	74	6	7	x

Таблица 9

Данные для CDR-областей НА-специфических иммуноглобулинов (SEQ ID NO)

IgG#	Vh докYC	HCDR1	HCDR2	HCDR3	Vl	LCDR1	LCDR2	LCDR3
CR8001	3-53	SNYVS (81)	LIYTGTTYYADSVKG (82)	VSALRFLQWPNYAMDV (83)	1-4	SGTRSDVGGHNYVS (84)	EVSHRPS (85)	SSYTGEGPLGV (86)
CR8003	3-7	SYWMS (87)	NMKQDGSEKYYVDSVKG (88)	GSCDDSWTGCHDAFDI (89)	2-14	GGNNIGSKSVH (90)	DSARPS (91)	QVWESGSDLRLI (92)
CR8015	3-7	SYWMS (87)	NMKQDGSEKYYVDSVKG (88)	GSCDDSWTGCHDAFDI (89)	2-14	GGDNIGRKSVMH (93)	DNSDRPS (94)	HVWGSRRDHYV (95)
CR8016	3-7	SYWMS (87)	NMKQDGSEKYYVDSVKG (88)	GSCDDSWTGCHDAFDI (89)	1-13	TGSSSNIGAGYDVH (96)	GNN (97) RPS	QSYDSSLVYV (98)
CR8017	3-7	SYWMS (87)	NMKQDGSEKYYVDSVKG (88)	GSCDDSWTGCHDAFDI (89)	2-13	QGDSLRSYYAS (99)	AKTNRPS (100)	NSRDSGNHVV (101)
CR8018	3-7	SYWMS (87)	NMKQDGSEKYYVDSVKG (88)	GSCDDSWTGCHDAFDI (89)	1-4	TGTSSDVGGYNYVS (102)	EVSHRPS (85)	SSYTGEGPLGV (86)
CR8019	3-23	TSAMS (103)	GISGSGATTYYAGSVKG (104)	DTSLFEYDTSGFTAPG NAFDI (105)	012	RASQSIISGYLN (106)	GASTLQS (107)	QQYTSPPYA (108)
CR8020	1-18	REGVS (109)	WISAYNGDTYYAQKFA (110)	EPPLFYSSWLDN (111)	A27	ARASQSVSMNYLA (112)	GASRRAT (113)	QQYGTSPRT (114)
CR8021	3-23	AYAMN (115)	AIGGSGGTYADSVKG (116)	GRDWTGGYFFDS (117)	B3	KSSQSIIFYSSNNKNY LT (118)	WASTRES (119)	QQYYSIPYT (120)
CR8038	3-23	GYAMS (121)	DIGGSGGGTYADSVKG (122)	SSSWDRYFFDS (123)	B3	KSSQSVLYSSIHKNY LA (124)	WASTRES (119)	QQYRSPT (125)

CR8039	4-59	SYIWS (126)	YIYYRGGTSYNPFLKS (127)	KDWGSAAGSVWYFDL (128)	1-2	TGTSSDVGGYNYVS (129)	EVSKRPS (130)	SSYAGSNNLI (131)
CR8040	3-33	SYGMH (132)	FIWYDGSNKHYADSMKG (133)	DGGYSTWERYFDL (134)	A26	RASQGIGSNLH (135)	YASQSIT (136)	HQSSSLPLT (137)
CR8041	1-18	SFGLS (138)	WISAYNGEIKYAQKFQG (139)	EPPLYFSSWSLDF (140)	A27	ARASQSVSSNYLA (141)	GASRRAT (142)	QQYDSSPRT (143)
CR8043	1-03	AYSMM (144)	WINTAIGNTQYSQKQFD (145)	GASWDARGWSGY (146)	B3	KSSQSVFSSSTNKNY LA (147)	WSSTRS (148)	HQYYTAPWT (149)
CR8049	2-26	NTRMGVS (150)	HIFSNDETSYRTSLKR (151)	IGSGYESSAYSTWLDP (152)	2-14	EGDTIGSKSVH (153)	NDRDRPS (154)	QVWESGGDQTV (155)
CR8050	4-34	DHYWS (156)	EVVHSGDTNYTPSLRN (157)	GRNAVAVGAIQRHYDY (158)	A27	RASQSVSRNYLA (159)	GASSRAT (160)	QHYSVLVA (161)
CR8052	4-61	SGTYIWS (162)	DISYSGSTNYNPSLKS (163)	AMAAYNYDRGGYNDYY YMDV (164)	O12	RASQGINTYLN (165)	AASTLQS (166)	QQSYSTAIT (167)
CR8055	3-33	TYGMH (168)	FIWYDGSNKHYQDSVKG (169)	DGGYSTWERYFDL (170)	A26	RASRSIGSDLH (171)	FASQSMS (172)	HQSSSLPLT (173)
CR8057	3-53	VIFMS (173)	IIYIDSTYYADSVKG (174)	ESGDFGDQTPYHYA MDV (175)	2-14	TGSSGDIGGYNAVS (176)	EVTSRPS (177)	CSFADSNILI (178)
CR8069	3-43	DYTMH (179)	LISWDGMSNYADSVKG (180)	DIRPRMPARHFMDV (181)	L2	RASQVNYNLA (182)	VASTRAT (183)	QQYNNWPPAIT (184)

Таблица 10

Данные для HA-специфических IgG. SEQ ID NO нуклеотидной и аминокислотной последовательностей переменных областей тяжелой и легкой цепей

Название IgG	SEQ ID NO: нуклеотидной последовательности, кодирующей вариабельную область тяжелой цепи	SEQ ID NO: аминокислотной последовательности вариабельной области тяжелой цепи	SEQ ID NO: нуклеотидной последовательности, кодирующей вариабельную область легкой цепи	SEQ ID NO: аминокислотной последовательности вариабельной области легкой цепи
CR8001	1	2	3	4
CR8003	5	6	7	8
CR8015	9	10	11	12
CR8016	13	14	15	16
CR8017	17	18	19	20
CR8018	21	22	23	24
CR8019	25	26	27	28
CR8020	29	30	31	32
CR8021	33	34	35	36
CR8038	37	38	39	40
CR8039	41	42	43	44
CR8040	45	46	47	48
CR8041	49	50	51	52
CR8043	53	54	55	56
CR8049	57	58	59	60
CR8050	61	62	63	64
CR8052	65	66	67	68
CR8055	69	70	71	72
CR8057	73	74	75	76
CR8069	77	78	79	80

Таблица 11
In vitro нейтрализация вируса гриппа H3N2
выбранными IgG

Титр нейтрализации SK50 (мкг/мл)	
IgG #	A/Висконсин/67/2005
CR8001	11,95
CR8003	5,31
CR8015	23,78
CR8016	1,77
CR8017	2,82
CR8018	6,03
CR8019	1,98
CR8020	8,45
CR8021	1,77
CR8038	3,54
CR8039	1,8
CR8040	>40
CR8041	3,99
CR8043	1,49
CR8049	3,26
CR8050	1,77
CR8052	>40
CR8055	1,07
CR8057	0,011
CR8069	ND

Таблица 12

Перекрестно связывающая активность анти-Н3N2 IgG.
 NCal. = А/Новая Каледония/20/1999 (Н1N1); Wisc. = А/Висконсин/67/2005 (Н3N2);
 NY. = А/Нью-Йорк/55/2004 (Н3N2), Wyo. = А/Вайоминг/3/2003 (Н3N2);
 Neth. = А/Нидерланды/219/2003 (Н7N7); ND = не определяли

IgG #	ELISA-анализ на связывание IgG (титрование)					FACS-анализ на связывание, [IgG]=5 мкг/мл, MFI (средняя интенсивность флуоресценции)			
	H1 NCal.	H3 Wisc.	H3 NY.	H3 Wyo.	H7 Neth.	PerC6	H1	H3	H7
CR8001	+	+	+	+	+	4	100	763	106
CR8003	-	+	+	+	-	3	3	657	5
CR8015	-	+	+	+	-	3	4	600	4
CR8016	-	+	+	+	-	3	3	840	5
CR8017	-	+	+	+	-	3	3	558	4
CR8018	-	+	+	+	-	3	3	348	4
CR8019	-	+	-	+	-	3	4	685	6
CR8020	-	+	+	+	+	4	3	657	140
CR8021	-	+	+	+	+	4	4	678	4
CR8038	-	+	+	+	-	ND	ND	ND	ND
CR8039	-	+	+	+	-	4	4	503	4
CR8040	-	+	+	+	-	4	5	446	4
CR8041	-	+	+	+	+	4	4	364	120
CR8043	-	+	+	+	+	4	4	646	11
CR8049	-	+	+	+	-	3	3	542	4
CR8050	-	+	+	+	-	6	8	282	6
CR8052	-	+	+	+	-	4	4	364	5
CR8055	-	-	-	-	-	21	31	433	26
CR8057	-	+	+	+	низкая	7	8	943	15
CR8069	-	+	+	+	-	4	6	447	5

Таблица 13

Перекрестно нейтрализующая активность анти-Н3N2 IgG; ND = не определяли

IgG #	Титр нейтрализации SK50 (мкг/мл)									
	H1			H3					H7	H10
	А/Новая Каледония/20/1999	А/Бризбен/59/2007	А/Соломоновы острова/IVR-145	А/Висконсин/67/2005	А/Хиросима/52/2005	А/Панама/2000/1999	А/Иоганнесбург/33/ 1994	А/Гонконг/1/1968	А/Кряква/ Нидерланды/12/2000	А/Курица/Германия/ N/49
CR8001	>40	>40	>40	11,95	13,02	>40	6,51	7,07	>40	>40
CR8003	>40	>40	>40	5,31	4,27	>40	>40	ND	>40	>40
CR8015	>40	>40	>40	23,78	28,28	>40	>40	ND	>40	>40
CR8016	>40	>40	>40	1,77	8,84	28,28	>40	ND	>40	>40
CR8017	>40	>40	>40	2,82	13,55	>40	>40	ND	>40	>40
CR8018	>40	>40	>40	6,03	8,45	>40	>40	ND	>40	>40
CR8019	>40	>40	>40	1,98	0,88	>40	0,88	ND	>40	>40
CR8020	>40	>40	>40	8,45	11,95	7,74	7,07	1,77	0,028	17,68
CR8021	ND	>40	>40	1,77	2,5	>40	3,54	14,14	>40	>40
CR8038	ND	ND	ND	3,54	7,07	>40	5,95	ND	>40	>40
CR8039	>40	>40	>40	1,8	3,26	4,6	1,33	2,97	>40	>40

CR8040	>40	>40	>40	>40	>40	>40	6,77	ND	>40	>40
CR8041	>40	>40	>40	3,99	4,75	2,99	1,69	1,05	1,105	25
CR8043	>40	>40	>40	1,49	3,54	10,15	2,66	4,2	>40	14,87
CR8049	>40	>40	>40	3,26	3,54	>40	>40	ND	>40	>40
CR8050	ND	ND	ND	1,77	ND	6,5	1,49	ND	>40	>40
CR8052	>40	>40	>40	>40	>40	21,89	>40	ND	>40	>40
CR8055	>40	>40	>40	1,07	1,15	>40	3,38	ND	>40	>40
CR8057	>40	>40	>40	0,011	0,0068	0,022	2,17	2,17	>40	>40
CR8069	>40	>40	>40	ND	3,54	11,89	3,54	11,89	>40	>40

Таблица 14

Консервативность последовательностей связывающей области
анти-Н3 mAb CR8020, CR8041 и CR8043

	Положение в HA2																			N	Годы	Тестируемые штаммы							
	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32				33	34	35	36	37	38	39
Консенсуальная последовательность	W	E	G	M	V	D	G	W	Y	G	F	R	H	Q	N	S	E	G	T	G	Q	A	A	D	L	K	655	1972-2008	Pa Hs-Wi
Группа_1	380	2004-2008	
Группа_2	127	1999-2004	
Группа_3	.	.	.	M	91	2007-2009	HK
Группа_4	69	1968-1997	
Группа_5	.	.	.	I	10	2007	
Группа_6	6	1999-2004	
Группа_7	4	2002-2007	
Группа_8	.	.	.	M	3	2004	
Группа_9	3	1999	
Группа_10	.	.	.	K	2	2009	
Группа_11	2	2003-2004	
Группа_12	1	2006	
Группа_13	1	2007	
Группа_14	1	2007	
Группа_15	1	2007	
Группа_16	1	2008	
Группа_17	N	1	2003	
Группа_18	C	1	2001	
Группа_19	N	1	1999	
Группа_20	.	.	.	I	1	1975	
Группа_21	.	.	.	M	1	2008	
Группа_22	.	.	.	M	1	2002	
Группа_23	- K	R	1	2002	

Таблица 15

Титры нейтрализации различных штаммов вируса гриппа А

IgG#	H1			H3				H7			H10
	3 штамма H1N1 (1999-2007)	A/Висконсин/67/2005	A/Хирисима/52/2005	A/Панама/2000/1999	A/Иоганнесбург/33/1994	A/Гонконг/1/1968	A/НК/1/68-M20	A/НК/1/68-M20c	A/Кряква/Нидерланды/12/2000	A/Курлица/И/62/1557/03-ма	A/Курлица/Германия/И/49
CR8001	>40	11.9	13.0	>40	6.5	7.1	5.26	0.4	>40	39.8	>40
CR8020	>40	3.5	3.5	5.0	2.0	1.8	1.8	1.8	2.5	27.8	6.6
CR8041	>40	3.3	3.5	5.0	1.6	1.7	1.8	1.7	38.0	258.0	37.2
CR8043	>40	1.6	1.8	4.2	1.2	0.8	1.8	1.2	>40	>40	6.6
CR8057	>40	0.005	0.003	0.01	>40	>40	>40	>40	>40	-	>250

Все титры SK50 в мкг/мл;
штаммы, адаптированные для мышей;
"Ma" - штамм H7, вызывающий пандемию.

Таблица 16

Средняя площадь под кривой изменения массы тела по сравнению с массой тела на день 0

Исследование	Группа	Средняя AUC (г×день)	SD (г×день)	P-величина ^а (mAb по сравнению с контролем)	P-величина ^б
1	30 мг/кг контроля	-82,86	14,15		
	1 мг/кг CR8020	-63,21	30,91	0,09	
	3 мг/кг CR8020	16,95	8,20	<0,001	<0,001 (1 и 3 мг/кг)
	10 мг/кг CR8020	31,44	9,09	<0,001	0,454 (3 и 10 мг/кг)
	30 мг/кг CR8020	25,62	12,94	<0,001	ns
2	30 мг/кг контроля	-86,51	8,83		
	1 мг/кг CR8041	-68,26	11,41	0,004	
	3 мг/кг CR8041	19,51	13,82	<0,001	<0,001 (1 и 3 мг/кг)
	10 мг/кг CR8041	35,23	11,06	<0,001	0,061 (3 и 10 мг/кг)
	30 мг/кг CR8041	28,21	7,89	<0,001	ns
	1 мг/кг CR8043	-66,19	8,74	<0,001	
	3 мг/кг CR8043	8,48	11,81	<0,001	<0,001 (1 и 3 мг/кг)
	10 мг/кг CR8043	31,57	7,90	<0,001	<0,001 (3 и 10 мг/кг)
	30 мг/кг CR8043	27,72	6,61	<0,001	0,997 (10 и 30 мг/кг)

^а) Средние величины AUC для групп, которым вводили mAb, по сравнению с группами, которым вводили контрольное Ab, где указанные величины были получены с помощью дисперсионного анализа с поправкой Дюннета для множественных сравнений.

^б) Средние величины AUC концентраций антител сравнивали для каждого антитела с помощью дисперсионного анализа с поправкой Тьюки для множественных сравнений.

ns = статистически незначимое.

Таблица 17

Средняя площадь под кривой изменения массы тела по сравнению с массой тела на день 0

Группа	Средняя AUC (г×день)	SD (г×день)	p-величина ^а
15 мг/кг CR8020 на день -1	33,44	10,06	<0,001
15 мг/кг CR8020 на день 1	10,70	16,23	<0,001
15 мг/кг CR8020 на день 2	-15,23	11,60	<0,001
15 мг/кг CR8020 на день 3	-65,45	35,90	0,003
15 мг/кг CR8020 на день 4	-85,95	23,14	0,742
15 мг/кг CR8020 на день 5	-100,88	12,78	0,986
15 мг/кг CR8020 на день 6	-84,91	12,28	0,653
Контрольное mAb на день 1	-95,76	11,55	

^а) Средние величины AUC для групп, которым вводили 15 мг/кг mAb CR8020, по сравнению с группами, которым вводили контрольное Ab, где указанные величины были получены с помощью дисперсионного анализа с поправкой Дюннета для множественных сравнений в post-hoc анализе.

Профилактическая обработка 15 мг/кг mAb CR8020 приводила к статистически значимому снижению потери массы тела по сравнению с массой тела животных контрольной группы ($p < 0,001$). Терапевтическое лечение 15 мг/кг mAb CR8020 на дни 1, 2 или 3 также приводило к статистически значимому снижению потери массы тела по сравнению с массой тела у контрольной группы ($p < 0,001$, $p < 0,001$ и $p = 0,003$ соответственно). Обработка 15 мг/кг mAb CR8020 на дни 4, 5 или 6 не приводила к статистически значимому снижению потери массы по сравнению с массой тела у контрольной группы ($p > 0,05$ для всех трех групп).

Таблица 18

Медианные клинические оценки

Интервал значимых различий между клиническими оценками по сравнению с клиническими оценками для группы, которой вводили контрольное mAb (например, различие в клинических оценках между группами, которым вводили 15 мг/кг на день -1, и контрольной группой было значимым начиная со дня 4).

Группа	По отношению к контролю	
	Интервал (дни)	p
15 мг/кг CR8020 на день -1	4-21	$\leq 0,001$
15 мг/кг CR8020 на день 1	2-21	$\leq 0,001$
15 мг/кг CR8020 на день 2	3, 5-21	$\leq 0,001$
15 мг/кг CR8020 на день 3	3, 5-21	$\leq 0,012$
15 мг/кг CR8020 на день 4	3, 5-21	$\leq 0,034$
15 мг/кг CR8020 на день 5	3	$\leq 0,001$
15 мг/кг CR8020 на день 6	3	$\leq 0,001$

Таблица 19

Средняя площадь под кривой изменения массы тела по сравнению с массой тела на день 0

Группа	Средняя AUC (г×день)	SD (г×день)	p-величина ^a (mAb CR8020 по сравнению с контролем)
30 мг/кг контроля	-93,06	10,88	
1 мг/кг CR8020	-45,61	15,05	$< 0,001$
3 мг/кг CR8020	-13,31	9,51	$< 0,001$
10 мг/кг CR8020	-6,35	12,40	$< 0,001$
30 мг/кг CR8020	-12,59	7,35	$< 0,001$

^a) Средние величины AUC для групп, которым вводили mAb CR8020, по сравнению с группами, которым вводили контрольное mAb, где указанные величины были получены с помощью дисперсионного анализа с поправкой Дюннета для множественных сравнений в post-hoc анализе.

Таблица 20

Систематизированные связывающие и нейтрализующие свойства
моноклональных антител, специфичных к HA вируса гриппа

	H1	H3		
	Связывание	VNA	Связывание	VNA
CR6261	+	+	-	-
CR6323	+	+	-	-
CR8001	+	-	+	+
CR8020	-	-	+	+
CR8041	-	-	+	+
CR8043	-	-	+	+

Таблица 21

Средняя площадь под кривой изменения массы тела
по сравнению с массой тела на день 0.

Группа	Средняя AUC (г×день)	SD (г×день)	p-величина ^a (mAb по сравнению с контролем) ^a
30 мг/кг контроля	-101,38	11,67	
1 мг/кг CR8020	-82,50	34,71	0,356
3 мг/кг CR8020	-5,70	23,97	<0,001
10 мг/кг CR8020	2,13	13,13	<0,001
1 мг/кг CR8041	-105,05	17,04	1
3 мг/кг CR8041	-32,22	30,87	0,001
10 мг/кг CR8041	-20,06	17,92	0,001
30 мг/кг CR8041	-10,01	10,11	0,001
1 мг/кг CR8043	-107,75	11,04	<0,997
3 мг/кг CR8043	-117,88	5,91	0,510
10 мг/кг CR8043	-94,00	23,23	0,992
30 мг/кг CR8043	-56,82	17,55	<0,001

^{a)} Средние величины AUC для групп, которым вводили mAb CR8020, по сравнению с группами, которым вводили контрольное mAb, где указанные величины были получены с помощью дисперсионного анализа с поправкой Дюннета для множественных сравнений в post-hoc анализе.

Таблица 22

Средняя площадь под кривой, построенная по данным изменения массы тела по сравнению с массой тела на день 0

Группа	Средняя AUC (г×день)	SD (г×день)	p-величина ^a (mAb по сравнению с контролем) ^a
15 мг/кг CR8020 на день -1	-7,68	8,17	<0,001
15 мг/кг CR8020 на день 1	-20,43	8,41	<0,001
15 мг/кг CR8020 на день 2	-38,18	37,35	<0,001
15 мг/кг CR8020 на день 3	-28,27	9,63	<0,001
15 мг/кг CR8020 на день 4	-99,11	37,90	0,566
15 мг/кг CR8020 на день 5	-93,62	10,29	0,979
15 мг/кг CR8020 на день 6	-94,06	7,65	0,858
Контрольное антитело на день 1	-93,33	10,58	

^{a)} Средние величины AUC сравнивали методом RobustReg (SAS), в котором меньшие величины массы относили к резко отклоняющимся значениям.

Таблица 23

Медианные клинические оценки

Группа	По отношению к контролю	
	Интервал (дни)	P
15 мг/кг CR8020 на день -1	4-21	≤0,001
15 мг/кг CR8020 на день 1	2,5-21	≤0,012
15 мг/кг CR8020 на день 2	6-21	≤0,038
15 мг/кг CR8020 на день 3	7-21	≤0,035
15 мг/кг CR8020 на день 4	5,6,8-21	≤0,016
15 мг/кг CR8020 на день 5	8	<0,001
15 мг/кг CR8020 на день 6	-	≥0,449

Таблица 24

Кинетика связывания
А/Висконсин

Fab	K _{on} (1/Мс)	K _{dis} (1/с)	KD (нМ)
CRF8020	2,03E+05	2,03E+05	11,2
CRF8043	4,08E+05	9,86E+05	0,3

А/Брисбен

Fab	K _{on} (1/Мс)	K _{dis} (1/с)	KD (нМ)
CRF8020	1,81E+05	1,43E+05	8,9
CRF8043	3,12E+05	8,69E+05	0,3

**Нуклеотидная и аминокислотная последовательность
вариабельных областей тяжелой и легкой цепей**

>SC08-001 ДНК VH (SEQ ID NO: 1)
 GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGAGGAGGCCTGATCCAGCCGGGGGGTCCCTGAGACTCT
 CCTGTGCAGCCTCTGGATTACCGTCAGTAGCAACTACGTGAGCTGGGTCCGCCAGGCCCC
 AGGGAAGGGGCTGGAGTGGCTCTCACTTATTACACGGGTGGTACCACATACTACGCAGAC
 TCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACCTCCAAGAATACGGTGTTCCTTCAA
 TGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACGCGCCATGTATTACTGTGCGAGAGTGTGAGCATTACG
 GTTTTTCAGTGGCCAACTACGCGATGGACGTC

>SC08-001 БЕЛОК VH (SEQ ID NO: 2)
 EVQLVESGGGLIQPGSLRLSCAASGFTVSSNYVSWVRQAPGKGLEWLSLIYTGTTYYAD
 SVKGRFTISRDNKNTVFLQMNSLRRAEDAAMYYCARVSAALRFLQWPNYAMDV

>SC08-001 ДНК VL (SEQ ID NO: 3)
 CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGGACGGTCCGATCACCATCT
 CCTGCTCTGGAACCCGAGTACGTTGGTGGTCATAATTATGTCTCCTGGTACCAACAACA
 CCCAGGCAAAGCCCCAACTCATGATTTATGAGGTGAGTTCATCGGCCCTCAGGGGTTTCT
 AATCGTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCAGCACGGCCTCCCTGACCATCTCTGGCTCCAGT
 CTGAGGACGAGGCTGATTATACTGCAGCTCTTATACAGGTGAAGGCCCCCTAGGAGTG

>SC08-001 БЕЛОК VL (SEQ ID NO: 4)
 QSALTQPASVSGSPGRSITISCSGTRSDVGGHNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSHRPSGV
 NRFSGSKSGSTASLTISGLQSEDEADYYCSSYTGEGPLGV

>SC08-003 ДНК VH (SEQ ID NO: 5)
 GAGGTGCAGCTGGTGGAGACCGGGGAGACTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCT
 CCTGTTCAGCCTCTGAATTCAGCTTCAGTAGTTATTGGATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCC
 AGGGAAGGGCTGGAGTGGGTGGCCAACATGAAGCAAGATGGAAGTGAGAAGTACTATGTG
 GACTCTGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCATATATCTGC
 AAATGAACAGCCTGAGAGGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGGGGTTCTGTGA
 CGATTCTGGACTGGTTGTCATGATGCTTTTGACATC

>SC08-003 БЕЛОК VH (SEQ ID NO: 6)
 EVQLVETGGDLVQPGSLRLSCSASEFSSYWMSWVRQAPGKLEWVANMKQDSEKYYV
 DSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRGEDTAVYYCARGSCDDSWTGCHDAFDI

>SC08-003 ДНК VL (SEQ ID NO: 7)
 GTGTTGACGACGCCGCCCTCGGTGTGAGTGGCCCCAGGACAGACGGCCAGGATTGCCTGTG
 GGGGAACAACATTTGGAGTAAAAGTGTGCACTGGTACCAGCAGAAGCCAGGCCAGGCCCC
 TGTGCTGGTCTGATGATGATAGCGCCCGCCCTCAGGGATCCCTGAGCGATTCTCTGGC
 TCCAATTCGGGAACACGGCCACCCTGACCATCAGCAGGGTTCGAGGCCGGGGATGAAGCCG
 ACTATTACTGTGAGGTGTGGGAGAGTGGTAGTGATCTACGACTGCTT

>SC08-003 БЕЛОК VL (SEQ ID NO: 8)
 VLTQPPSVSVAPGQTARIACGGNIGSKSVHWYQQKPGQAPVWLWYDDSRPSGIPERFSGS
 NSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWESGSDLRLL

>SC08-015 ДНК VH (SEQ ID NO: 9)
 CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGGGAGACTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCT
 CCTGTTCAGCCTCTGAATTCAGCTTCAGTAGTTATTGGATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCC
 AGGGAAGGGCTGGAGTGGGTGGCCAACATGAAGCAAGATGGAAGTGAGAAGTACTATGTG
 GACTCTGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCATATATCTGC
 AAATGAACAGCCTGAGAGGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGGGGTTCTGTGA
 CGATTCTGGACTGGTTGTCATGATGCTTTTGACATC

>SC08-015 БЕЛОК VH (SEQ ID NO: 10)

QVQLQESGGDLVQPGGSLRLSCSASEFSSYWMSWVRQAPGKGLEWVANMKQDSEKYYV
DSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSLRGEDTAVYYCARGSCDDSWTGCHDAFDI

>SC08-015 ДНК VL (SEQ ID NO: 11)

GTGTTGACGCAGCCGCCCTCGGTGTCAGTGGCCCCAGGACAGACGGCCAAGATTACCTGTG
GGGGAGACAACATTGGAAGAAAAAGTGTGCACTGGTACCAGCAGAAGCCAGGCCTGGCCCC
TGTGCTGGTCGTCAATGATAATAGCGACCGGCCCTCAGGGATCCCTGCGCGATTCTCTGGC
TCCAACCTCTGGGAACACGGCCACCCTGACCATCAGCAGGGTCGAAGCCGGGGATGAGGCCG
ACTATTACTGTACGTGTGGGGTAGTAGTCGTGACCATTATGTC

>SC08-015 БЕЛОК VL (SEQ ID NO: 12)

VLTQPPSVSVAPGQTAKITCGGDNIGRKSVHWYQQKPLAPVLWNDNSDRPSGIPARFSGS
NSGNTATLTI SRVEAGDEADYYCHVWGSSRDHYV

>SC08-016 ДНК VH (SEQ ID NO: 13)

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGACTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCT
CCTGTTTCAGCCTCTGAATTCAGCTTCAGTAGTTATTGGATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCC
AGGGAAAGGGCTGGAGTGGGTGGCCAACATGAAGCAAGATGGAAGTGAGAAGTACTATGTG
GACTCTGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCATTATATCTGC
AAATGAACAGCCTGAGAGGCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGGGGTTCCCTGTGA
CGATTCTTGACTGGTTGTCATGATGCTTTTGACATC

>SC08-016 БЕЛОК VH (SEQ ID NO: 14)

EVQLVESGGDLVQPGGSLRLSCSASEFSSYWMSWVRQAPGKGLEWVANMKQDSEKYYV
DSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSLRGEDTAVYYCARGSCDDSWTGCHDAFDI

>SC08-016 ДНК VL (SEQ ID NO: 15)

CAGTCTGTCTGACGCAGCCGCCCTCAGTGTCTGGGGCCCCAGGGCAGAGGGTCCACCATCT
CCTGCACTGGGAGCAGCTCCAACATCGGGGCAGGTTATGATGTACACTGGTACCAGCAGCT
TCCAGGAACAGCCCCAACTCCTCATCTATGGTAACAACAATCGGCCCTCAGGGGTCCCT
GACCGATTCTCTGGATCCAGGTCTGGCCCTTTAGCCCTCCTGGCCATCACTGGGCTCCAGG
CTGAGGATGAGGCTGATTATTACTGCCAGTCTATGACAGCAGCCTGAGTGTTTTATGTC

>SC08-016 БЕЛОК VL (SEQ ID NO: 16)

QSWTQPPSVSGAPQRVTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNNRPSGVDP
RFSGSRSGPLALLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLVYV

>SC08-017 ДНК VH (SEQ ID NO: 17)

GAGGTGCAGCTGGTGGAGACTGGGGGAGACTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCT
CCTGTTTCAGCCTCTGAATTCAGCTTCAGTAGTTATTGGATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCC
AGGGAAAGGGCTGGAGTGGGTGGCCAACATGAAGCAAGATGGAAGTGAGAAGTACTATGTG
GACTCTGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCATTATATCTGC
AAATGAACAGCCTGAGAGGCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGGGGTTCCCTGTGA
CGATTCTTGACTGGTTGTCATGATGCTTTTGACATC

>SC08-017 БЕЛОК VH (SEQ ID NO: 18)

EVQLVETGGDLVQPGGSLRLSCSAEFSSYWMWVRQAPGKGLEWVANMKQDSEKYYV
DSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLRGEDTAVYYCARGSCDDSWTGCHDAFDI

>SC08-017 ДНК VL (SEQ ID NO: 19)

TCTTCTGAGCTGACTCAGGACCCTGCTGTGTCTGTGGCCTTGGGACAGACAGTCAGGATCA
CATGCCAAGGAGACAGCCTCAGAAGCTATTATGCAAGCTGGTACCAGCAGAAGCCAGGACA
GGCCCCGTACTTGTTCATCTATGCTAAAACCAACCGGCCCTCAGGGATCCCAGACCGATT
TCTGGCTCCACCTCAGGAAACACTGCTTCCTTGACCATCACTGGGGCTCAGGCGGAGGATG
AGGCTGACTATTACTGTAACCTCCCGGACAGCAGTGGTAACCATGTGGTA

>SC08-017 БЕЛОК VL (SEQ ID NO: 20)

SSELTQDPAVSVVALGQTVRITCQGDSLRSYASWYQQKPGQAPVLIYAKTNRPSGIPDRF
SGSTSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSSGNHW

>SC08-018 ДНК VH (SEQ ID NO: 21)

GAGGTGCAGCTGGTGGAGACTGGGGGAGACTTGGTCCAGCCTGGGGGTCCCTGAGACTCT
CCTGTTCAGCCTCTGAATTCAGCTTCAGTAGTTATTGGATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCC
AGGGAAGGGCTGGAGTGGGTGGCCAACATGAAGCAAGATGGAAGTGAGAAGTACTATGTG
GACTCTGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCATTATATCTGC
AAATGAACAGCCTGAGAGGCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGGGTTCCTGTGA
CGATTCTTGACTGGTTGTCATGATGCTTTTGATATC

>SC08-018 БЕЛОК VH (SEQ ID NO: 22)

EVQLVETGGDLVQPGGSLRLSCSAEFSSYWMWVRQAPGKGLEWVANMKQDSEKYYV
DSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLRGEDTAVYYCARGSCDDSWTGCHDAFDI

>SC08-018 ДНК VL (SEQ ID NO: 23)

CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGGACAGTCGATCACCATCT
CCTGCACTGGAACCAGCAGTGACGTTGGTGGTTATAACTATGTCTCCTGGTACCAACAACA
CCCAGGCAAAGCCCCAACTCATGATTTATGAGGTCAGTCATCGGCCCTCAGGGGTTTCT
AATCGCTTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCAGCACGGCCTCCCTGACCATCTCTGGCTCCAGT
CTGAGGACGAGGCTGATTATTACTGCAGCTCTTATACAGGTGAAGGCCCCCTAGGAGTG

>SC08-018 БЕЛОК VL (SEQ ID NO: 24)

QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSHRPSGVS
NRFSGSKSGSTASLTISGLQSEDEADYYCSSYTGEGPLGV

>SC08-019 ДНК VH (SEQ ID NO: 25)

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGTCCCTGAGACTCT
CCTGTGGAGCCTCTGGAATCAGCGTTAGCACTTCTGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGTTCC
AGGGAAGGGCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAGTGGTAGTGGTGCTACCACATACTACGCA
GGCTCCGTGAAGGGTCGATTCACCATCTCCAGAGACAAATCCAAGAACACACTGCATCTGC
AAATGAGCAGACTGAGAGCCGAGGACACGGCATTACTACTGTGCGAAAGATACCTCCTT
GTTTGAGTATGATACAAGTGGTTTTACGGCTCCCGCAATGCTTTTGATATC

>SC08-019 БЕЛОК VH (SEQ ID NO: 26)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCGASGISVSTSAMSWVRQVPGKGLEWVSGISGSGATYYA
GSVKGRFTISRDKSKNTLHLQMSRLRAEDTAIYYCAKDTSLFEYDTSGFTAPGNAFDI

>SC08-019 ДНК VL (SEQ ID NO: 27)

GACATCCAGWTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGATGACAGAGTCACCA
TCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCGGCTATTTAAATTGGTATCAACAGAAACCAGG
GAAAGCCCCTAACCTCCTGATCTATGGTGCATCCACTTTGCAGAGTGGGGTCCCATCAAGG
TTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCACCAGTCTGCAACCTGAAG
ACTATGCAACTTACTACTGTCAACAGACTTACACCTCCCCTCCGTACGCT

>SC08-019 БЕЛОК VL (SEQ ID NO: 28)

DIQXTQSPSSLSASVDDRVTITCRASQSIGYLNWYQQKPGKAPNLLIYGASTLQSGVPSR
FSGSGSGLTDFTLTITSLQPEDYATYYCQQTYTSPPIA

>SC08-020 ДНК VH (SEQ ID NO: 29)

CAGGTACAGCTGCAGCAGTCAGGAGCTGAGGTGAAGACCCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCT
CCTGCAAGGCCTCTGGATACACCTTTACCAGGTTTGGTGTGTCAGCTGGATACGACAGGCCCC
TGGACAAGGGCTTGAGTGGATTGGATGGATCAGCGCTTACAATGGTGACACATACTATGCA
CAGAAGTTCCAGGCCAGAGTCACCATGACCACAGACACATCCACGACCACAGCCTACATGG
AGATGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGAACCCCCCT
TTTTTACAGCAGCTGGTCTCTTGACAAC

>SC08-020 БЕЛОК VH (SEQ ID NO: 30)

QVQLQQSGAEVKTPGASVKVSKASGYTFTRFGVSWIRQAPGGLEWIGWISAYNGDTYYA
QKFQARVMTTDTSTTTAYMEMRSLRSDDTAVYYCAREPPLFYSSWSLDN

>SC08-020 ДНК VL (SEQ ID NO: 31)

GAAATTGTGWTGACRCAGTCTCCAGGCACCCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCC
TCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCATGAACTACTTAGCCTGGTTCCAGCAGAAACC
TGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGGTCCCGCAGGGCCACTGGCATCCCCGAC
AGGATCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTG
CAGATTTTGCAGTGTATTACTGTGTCAGCAGTATGGTACCTCACCTCGGACG

>SC08-020 БЕЛОК VL (SEQ ID NO: 32)

EIVXTQSPGTLTSLSPGERATLSCRASQSVSMNYLAWFQQKPGQAPRLLIYGASRRATGIPD
RISGSGSGLTDFTLTISRLEPADFAVYYCQQYGTSPRT

>SC08-021 ДНК VH (SEQ ID NO: 33)

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGATACAGCCTGGGGGTCCCTGAGACTCT
CCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCGCCTATGCCATGAACTGGGTCCGCCAGGCTCC
AGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATGGTGGTAGTGGCGGTAGCACATACTACGCA
GACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAACCTCCAAGAAGATCCTGTATCTGC
AAATGAACGGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCATATATTACTGTGCGAAAGGCCGGGATTG
GACTGGGGTTACTTCTTTGACTCC

>SC08-021 БЕЛОК VH (SEQ ID NO: 34)

EVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTFSAYAMNWVRQAPGKGLEWVSAIGSGGSTYYA
DSVKGRFTISRDNSSKILYLQMNGLRAEDTAIYYCAKGRDWTGGYFFDS

>SC08-021 ДНК VL (SEQ ID NO: 35)

GACATCCAGWTGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGCCACCA
TCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTATTTTCTACAGCTCCAACAATAAGAACTACTTAAGTTG
GTACCAGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTACTGGGCATCTACCCGGGAA
TCCGGAGTCCCTGACCGATTTCAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCA
GCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTGTCAGCAATACTATAGTATTCCTA
CACT

>SC08-021 БЕЛОК VL (SEQ ID NO: 36)

DIQXTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSI FYSSNNKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRE
SGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSSIPYT

>SC08-038 ДНК VH (SEQ ID NO: 37)

GAGGTGCAGCTGGTGGACTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCGGGGGGTCCCTGAGACTCT
CCTGTGCAGCCTCTGGATTTCGCCTTTAGCGGCTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCC
AGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGATATTGGTGGTAGTGGTGGTGGCACATACTACGCA
GACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATGCCAAGAACACGCTGTATCTGC
AAATGAATAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAAAGCAGTAGCTG
GGACCGGGCTACTTCTTTGACTCC

>SC08-038 БЕЛОК VH (SEQ ID NO: 38)

VQLVDSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFVAFSGYAMSWVRQAPGKLEWVSDIGSGGGTYAD
SVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCAKSSSWDRAYFFDS

>SC08-038 ДНК VL (SEQ ID NO: 39)

GATATTGTGATGACCCAGACTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGCCACCA
TCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTATTTATACAGCTCCATCCATAAGAACTACTTAGCCTG
GTACCAGCAAAAACCAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTACTGGGCATCTACCCGGGAA
TCCGGGGTCCCTGACCGATTTCAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCA
GCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTGTCAGCAATATTATAGATCTCCTCC
AACT

>SC08-038 БЕЛОК VL (SEQ ID NO: 40)

DIVMTQTPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSIHKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRE
SGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYRSPPT

>SC08-039 ДНК VH (SEQ ID NO: 41)

CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCA
CGTGCAGTGTCTCTGGCGGCTCCATCGGTAGTTACTACTGGAGCTGGATACGGCAGCCCC
AGGGAAGGGACTGGAGTGGATTGGATATATCTATTACCGTGGGGGTACCAGTTACAACCCC
TCCCTCAAGAGTGCAGTCACCATATCAGTCGACACGTCCAAGAGCCAGTTCACCTGAAGC
TGAACCTGTGACCGCTGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAAAGGACTGGGGATC
AGCGGCCGGAAGTGTCTGGTACTTCGATCTC

>SC08-039 БЕЛОК VH (SEQ ID NO: 42)

QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSIGSYYSWIRQPPGKLEWIGYIYYRGGTSYNP
SLKSRVTISVDTSKSOFTLKLNSVTAADTAVYYCARKDWGSAAGSVWYFDL

>SC08-039 ДНК VL (SEQ ID NO: 43)

CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTCCCTCCGCGTCCGGGTCTCCTGGACAGTCAGTCACCATCT
CCTGCACTGGAACCAGCAGTGACGTTGGTGGTTATAATTATGTCTCCTGGTACCAACAACA
CCCAGGCAAAGCCCCAACTCATGATTCGTGAGGTCAGTAAGCGGCCCTCAGGGTCCCT
GATCGCTTCTCTGGTTCCAAGTCTGGCAACACGGCCTCCCTGACCGTCTCTGGGCTCCAGG
CTGAGGATGAGGCTGAATACTACTGCAGCTCGTATGCAGGCAGCAACAATCTGATA

>SC08-039 БЕЛОК VL (SEQ ID NO: 44)

QSALTQPPSASGSPGQSVTISCTGTSSDVGGINVSWYQQHPGKAPKLMIREVSKRPSGVP
DRFSGSKSGNTASLTVSGLQAEDEAEYYCSSYAGSNLI

>SC08-040 ДНК VH (SEQ ID NO: 45)

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCAGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCT
CCTGTGCAGCGTCTGGATTTCGCTTTCAGTAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCC
AGGCAAGGGACTGGAGTGGGTGACCTTTATATGGTATGATGGAAGTAATAAACAATGCA
GACTCCATGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATCCAAGAACACGCTGTATCTGC
AAATGAGCAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTTTATTACTGTGCGAGAGATGGGGGATA
TAGCACCTGGGAATGGTACTTCGATCTC

>SC08-040 БЕЛОК VH (SEQ ID NO: 46)

EVQLVESGGGWQPGRSLRLSCAASGFAPSSYGMHWVRQAPGKLEWVTFIWIYDGSNKHYAD
SMKGRFTISRDNKNTLYLQMSLRAEDTAVYYCARDGGYSTWEWYFDL

>SC08-040 ДНК VL (SEQ ID NO: 47)

GAAATTTGTGCTGACTCAGTCTCCGGACTTTCAGTCTGTGACTCCAAAGGAGAGATCACCA
TCACCTGCCGGGCCAGTCAGGGCATTGGCAGTAACTTACACTGGTACCAGCAGAAACCAGA
TCAGTCTCCAAAGCTCCTCATCAAGTATGCTTCCCAGTCCATCACAGGGGTCCCTCGAGG
TTCAGTGGCAGGGGATCTGGGACAGATTTACCCTCACCATCAATAGCCTGGAAGTTGAAG
ATGCTGCAGTGTATTACTGTTCATCAGAGTAGTAGTTTACCGTCACT

>SC08-040 БЕЛОК VL (SEQ ID NO: 48)

EIVLTQSPDFQSVTPKERVTITCRASQIGSNLHWYQQKPDQSPKLLIKYASQSIITGVPSR
FSGRSGTDFTLTINSLEVEDAAVYYCHQSSSLPLT

>SC08-041 ДНК VH (SEQ ID NO: 49)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCT
CCTGCCAGGCTTCGGGTTACACCTTTACCTCCTTTGGTCTCAGCTGGGTGCGACAGGCCCC
TGGACAAGGGCCTGAGTGGATGGGATGGATCAGCGCTTACAATGGTGAATAAAGTATGCA
CAGAAGTCCAGGGCAGAGTCTCCATGACCACAGACACATCAACGAGGACAGCCTACATGG
AGGTGCGGAGCCTCAGACCTGACGACACGGCCGTATACTACTGTGCGAGAGAGCCCCCCT
GTATTTTCAGTAGCTGGTCTCTCGACTTC

>SC08-041 БЕЛОК VH (SEQ ID NO: 50)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCQASGYTFTSFGLSWVRQAPGQGPPEWMMGWISAYNGEIKYA
QKFQGRVSMTTDTSTRTAYMEVRSRPPDDTAVYYCAREPLYFSSWSLDF

>SC08-041 ДНК VL (SEQ ID NO: 51)

GAAATTTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCC
TCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAACTACTTAGCCTGGTTCCAGCAGAAACC
TGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCAAGGAGGGCCACTGGCATCCCAGAC
AGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTG
AAGATTTTCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGATAGCTCACCTCGGACG

>SC08-041 БЕЛОК VL (SEQ ID NO: 52)

EIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQVSSNYLAWFQQKPGQAPRLLIYGASRRATGIPD
RFGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYDSSPRT

>SC08-043 ДНК VH (SEQ ID NO: 53)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGCTTT
CCTGCAAGGCTTCTGGATACACCTTCACTGCCTATTCTATGCATTGGGTGCGCCAGGCCCC
CGGACAAAGCCTTGAGTGGTTGGGATGGATCAACACTGCCATCGGTAACACACAATATTCA
CAGAAGTCCAGGACAGAGTACCATTACCAGGGACACATCTGCGCGCACATCGTACATGG
AACTGAGCAGCCTGAGATCTGGAGACACGGCTGTCTATTTCTGTGCGAGAGGGGCCTCTTG
GGACGCCCGTGGGTGGTCTGGCTAC

>SC08-043 БЕЛОК VH (SEQ ID NO: 54)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTAYSMHWVRQAPGQSLEWLGWINTAIGNTQYS
QKFDQDRVTITRDTSARTSYMELSSLRSGDTAVYFCARGASWDARGWSGY

>SC08-043 ДНК VL (SEQ ID NO: 55)

GACATCCAGWTGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGCCACCA
TCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTTTCCAGCTCCACCAATAAGAACTACTTAGCTTG
GTACCAGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAGGTGCTAATTTACTGGTCATCTACCCGGGAA
TCCGGGGTCCCTGACCGATTTCAGTGCCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCA
GCAGCCTGCAGGCTGCAGATGTGGCAGTTTATTACTGTCACCAATATTATACTGCTCCGTG
GACG

>SC08-043 БЕЛОК VL (SEQ ID NO: 56)

DIQXTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQVFSSTNKNYLAWYQQKPGQPPKVLIIYWSSTRE
SGVPDRFSASGSGTDFTLTISLQAADVAVYYCHQYYTAPWT

>SC08-049 ДНК VH (SEQ ID NO: 57)

CAGGTCACCTTGAAGGAGTCTGGTCCTGTACTGGTGAAGCCAAAGAGACCCTCACGCTGACCTGCACCGTCTCTGGGTTCTCACTCAGCAACACTAGAATGGGTGTGAGTTGGATCCGTCA GCCCCCAGGGAAGGCCCTGGAGTGGCTTGGCGACATCTTTTCGAACGACGAAACATCCTAC AGGACATCTCTGAAGAGGAGGCTCACCATCTCCAGGACATCTCCAAAAGTCAGGTGGTCC TTTCTATGACCAACGTGGACCTGCAGACACAGCCACATATTTTGTGCACGGATCGGGTC TGGCTATGAGAGTAGTGCTTACTCCACCTGGCTCGACCCC

>SC08-049 БЕЛОК VH (SEQ ID NO: 58)

QVTLKESGPVVLVVKPKETLTLTCTVSGFSLNTRMGVSWIRQPPGKALEWLAHIFSNDETSY RTSLKRRLTISQDISKSQWLSMTNVDPADTATYFCARIGSGYESSAYSTWLDP

>SC08-049 ДНК VL (SEQ ID NO: 59)

CAGTCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCGGTGTGAGTGGCCCCAGGGCAGACGGCCAGGCTCA CCTGTGAGGGAGACACAATTGGCAGTAAAAGTGTGCACCTGGTACCAGCAGAGGCCAGGCCA GGCCCCGTGTTGGTCGTCTATAATGATCGCGACCGGCCCTCAGGGATCCCTGAGCGATTC TCTGGCTCCAACTCTGGGCGCACGGCCACCCTGACCATCAGCAGGGTCTGAAGCCGGGGATG AGGCCGACTATTTCTGTGAGGTGTGGGAGAGTGGAGGTGATCAGACTGTC

>SC08-049 БЕЛОК VL (SEQ ID NO: 60)

QSVLTQPPSVSVAPGQTARLTCEGDTIGSKSVHWYQQRPGQAPVLWYNDRDRPSGIPERFS GNSNGRTATLTISRVEAGDEADYFCQVWESGGDQTV

>SC08-050 ДНК VH (SEQ ID NO: 61)

CAGGTGCAGCTACAGCAGTGGGGCGCAGGACTATTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCA CCTGCGCTGTGTATGGTGGGTCGTTCACTGATCACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGTCCCC AGGGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGTGAAGTCGTTCATAGTGGAGACACCAACTACACCCCG TCCCTCAGAAATCGAGTTTCCATATCGGTCGACTCGTCCAAGAATCAGTTCTCCCTGAGGC TGGGGTCTGTGACCGCCGCGACACGGCTGTCTATTACTGTGCGAGAGGCAGGAATGTTGC GGTAGTTGGTGCTATTACAGAGGCACTATGACTAC

>SC08-050 БЕЛОК VH (SEQ ID NO: 62)

QVQLQQWAGLLKPSSETLSLTCVYGGSTFDHYWSWIRQSPGKLEWIGEWHSQDNYTPS LRNRVSI SVDSKNQFSLRLGCVTAADTAVYYCARGRNVAVGAIQRHYDY

>SC08-050 ДНК VL (SEQ ID NO: 63)

GAAATTGTGATGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCC TCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGAACTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAGCC TGGCCTGGCTCCCAGGCTCCTCATCTCTGGTGCATCGAGCAGGGCCACTGGCGTCCCAGAC AGGTTTCAGTGGCAGGGGGTCTGACACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTG AAGATTTGCCGTGTATTACTGTGACACTATGGTTCCGGTCTTGTAGCT

>SC08-050 БЕЛОК VL (SEQ ID NO: 64)

EIVMTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSRNYLAWYQQKPLAPRLLISGASSRATGVPD RFSGRGSDTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQHYGSLVA

029939

>SC08-052 ДНК VH (SEQ ID NO: 65)

CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCA
CCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCGTCAGCAGTGGTACTTACTACTGGAGCTGGATCCGGCA
GCCCCAGGGAAGGGACTGGAGTGGATTGGGGATATCTCTTACAGTGGGAGCACCAACTAC
AACCCCTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATTTCTAGAGACACGTCCAAGAACCTGGTCTCCC
TGAAGCTGACCTCTGTGACCGCTGCGGACACGGCCGTGCATTACTGTGCGAGAGCGATGGC
GGCTTATAATTATGACAGGGGTGGTTATAACGACTACTACTACATGGACGTC

>SC08-052 БЕЛОК VH (SEQ ID NO: 66)

QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSVSSGTYYSWIRQPPGKLEWIGDISYSGSTNY
NPSLKS RVTISRDTSKNLVSLKLT SVTAADTAVHYCARAMAAYNYDRGGYNDYYYYMDV

>SC08-052 ДНК VL (SEQ ID NO: 67)

GACATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTGCGAGACAGAGTCACCA
TCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAAACACCTATTTAAATTGGTATCAGCAAAAACCAGG
GAAGGCCCTAAGTCTGATCTTTGCTGCATCCACTTTGCAAAGTGGAGTCCCATCAAGG
TTCAGTGGCAGTGGTCTGGGACAGAATTCACTCTCAACATCAACAATCTGCAACCTGAAG
ATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACTGCGATCACT

>SC08-052 БЕЛОК VL (SEQ ID NO: 68)

DIQLTQSPSSLSASVGD RVTITCRASQGINTYLNWYQQKPGKAPKVLIFAASTLQSGVPSR
FSGSGSGTEFTLNINNLQPEDFATYYCQQSYSTAIT

>SC08-055 ДНК VH (SEQ ID NO: 69)

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCT
CCTGTGCGGCGTCTGGATTCAGCTTACCACCTATGGCATGCAC TGGGTCCGCCAGGCTCC
AGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCCTTTATTTGGTATGATGGAAGTAACAAACACTATCAA
GACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAAGGACAATTCCAACAACATGTTGTATCTGC
AAATGGACAGCCTGAGAGTCGCCGACACGGCTGTTTATTACTGTGTGAGAGATGGGGGATA
TAGCACCTGGGAATGGTACTTCGATCTC

>SC08-055 БЕЛОК VH (SEQ ID NO: 70)

EVQLVESGGGWQPGRSLRLS CAASGFSTFTYGMHWVRQAPGKLEWVAFIWDG SNKH YQD
SVKGRFTISKDNSNM LYLQMDSLRVADTAVYYCVRDGGYSTWEWYFDL

>SC08-055 ДНК VL (SEQ ID NO: 71)

GAAATGTGCTGACTCAGTCTCCAGACTTTTCACTCTGTGGCTCCAAAGGAGAAAGTCACCA
TCACCTGCCGGGCCAGTCGGAGCATTGGTAGTGACTTGCCTGGTTT CAGCAGAGGCCAGA
TCAGTCTCCAAAGTCTTCATCAAGTTTGCTTCCAGTCCATGTCAGGGGTCCCCTCGAGG
TTCAGTGGCAGTGGTCTGGGAGAGATTTACCCTCACCATCAGTAGCCTGGAGGCTGAAG
ATGCTGCTACGTATTACTGTCATCAGAGTAGTAGTTTACCGCTCACT

>SC08-055 БЕЛОК VL (SEQ ID NO: 72)

EIVLTQSPDFQSVAPKEKVTITCRASRSIGSDLHWFQQRPDQSPKLLIKFASQSMSGVPSR
FSGSGSRDFTLTISSLEAEDAATYYCHQSSSLPLT

>SC08-057 ДНК VH (SEQ ID NO: 73)

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGAGGAGGCTTGGTCCAACCTGGGGGGTCCCTGAGACTCT
CCTGTGCAGCCTCTGGGTTACCGACAGTGTTCATCTTCATGAGTTGGGTCCGCCAGGCTCC
AGGGAAGGGGCTGGAGTGTGTCTCAATTATTTATATCGATGATTCCACATACTACGCAGAC
TCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGACACAATCCATGGGCACAGTGTCTTTGAAA
TGAACAGCCTGAGACCTGACGACACGGCCGTCTATTACTGTGCGACAGAGAGCGGAGACTT
TGGTGACCAAACGGGTCCCTATCATTACTACGCTATGGACGTC

>SC08-057 БЕЛОК VH (SEQ ID NO: 74)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRSLCAASGFTDSVIFMSWVRQAPGKGLECVSIIYIDDSTYYAD
SVKGRFTISRHNMGTVFLEMNSLRPDDTAVYYCATESGDFGDTGPHYHYAMDV

>SC08-057 ДНК VL (SEQ ID NO: 75)

CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGGACAGTCGATCACCATCT
CCTGCACTGGAAGCAGCGGTGACATTGGTGGTTATAACGCTGTCTCCTGGTACCAACACCA
CCAGGCCAAGCCCCAACTGATGATTTATGAGGTCACTAGTCGGCCCTCAGGGGTTTCC
GATCGCTTCTCTGCGTCCAGGTCTGGCGACACGGCCTCCCTGACTGTCTCTGGTCTCCAGG
CTGAGGACGAGGCTCACTATTACTGCTGCTCATTTCAGACAGCAACATTTTGATT

>SC08-057 БЕЛОК VL (SEQ ID NO: 76)

QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGSSGDIGGYNAVSWYQHHPGKAPKLMIEYVTSRPSGV
DRFSASRSGDTASLTVSGLQAEDEAHYYCCSFADSNILI

>SC08-069 ДНК VH (SEQ ID NO: 77)

GAGGTGCAGCTGGTGGAGACTGGGGGAGTCTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCT
CCTGTGCAGCCTCTGGCTTCACGTTTGAGGATTATACCATGCACTGGGTCCGTCAGTTCC
GGGGAAGGGTCTGGAGTGGGTGCGCTCATTAGTTGGGATGGCGGTATGTCAAACATGCA
GACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGACACAACAGCAAAAACCTCTCTGTATCTGC
AAGTGAGCAGTCTGAGAAGTGAAGACACCGCCCTGTATTACTGTGCAAAAGATATACGACC
CCGTATGCCAGCTCGTCACTTTATGGACGTC

>SC08-069 БЕЛОК VH (SEQ ID NO: 78)

EVQLVETGGVWQPGGSLRSLCAASGFTFEDYTMHWVRQVPGKLEWVALISWDGMSNYAD
SVKGRFTISRDNKSNLYLQVSSLRSEDTALYYCAKDIRPRMPARHFMDV

>SC08-069 ДНК VL (SEQ ID NO: 79)

GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGTCTCCGGGGAAAGAGCCACCC
TCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAATGTCAACTACAACCTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGG
CCAGGCTCCAGGCTCCTCATCTATGTTGCATCCACCAGGGCCACTGGTATCCAGACAGG
TTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAGTTCCTCTCACCATCAGCAGTCTGCAGTCTGAAG
ATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGTATAATAACTGGCCTCCGGCGATCACT

>SC08-069 БЕЛОК VL (SEQ ID NO: 80)

EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQNVNYNLAWYQQKPGQAPRLLIYVASTRATGIPDR
FSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQQYNNWPPAIT

>CR6261 ДНК HC (SEQ ID NO: 185)

gagggtgcagc	tggtggagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	ctgggtcctc	ggtgaaagtc	60
tcttgcaagg	cttctggagg	ccccttccgc	agctatgeta	tcagctgggt	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggcctgagtg	gatgggaggg	atcatcccta	tttttggtac	aacaaaatac	180
gcaccgaagt	tccagggcag	agtcaagatt	accgcggacg	atttcgcggg	cacagtttac	240
atggagctga	gcagcctgcg	atctgaggac	acggccatgt	actactgtgc	gaaacatatg	300
gggtaccagg	tgccggaaac	tatggacgtc	tggggcaaaag	ggaccacggg	caccgtctcg	360
agtgctagca	ccaagggccc	cagcgtgttc	cccctggccc	ccagcagcaa	gagcaccagc	420
ggcggcacag	ccgcccctgg	ctgcctgggt	aaggactact	tccccgagcc	cgtgaccgtg	480
agctggaaca	gcggcgcctt	gaccagcggc	gtgcacacct	tccccgcgt	gctgcagagc	540
agcggcctgt	acagcctgag	cagcgtgggt	accgtgccca	gcagcagcct	gggcaccag	600
acctacatct	gcaacgtgaa	ccacaagccc	agcaacacca	aggtggaaa	acgcgtggag	660
cccaagagct	gcgacaagac	ccacacctgc	ccccctgcc	ctgccccoga	gctgctgggc	720
ggaccctccg	tgttctctgt	ccccccaag	cccaaggaca	ccctcatgat	cagccggacc	780
cccagagtg	cctgcctggg	ggtggacgtg	agccacgagg	accccagggt	gaagttcaac	840
tggtacgtgg	acggcgtgga	ggtgcacaac	gccaaagacca	agccccggga	ggagcagtac	900
aacagcacct	accgggtggt	gagcgtgctc	accgtgctgc	accaggactg	gctgaacggc	960
aaggagtaca	agtgcaaggt	gagcaacaag	gccctgcctg	ccccatcoga	gaagaccatc	1020
agcaaggcca	agggccagcc	ccgggagccc	caggtgtaca	cctgcccccc	cagccgggag	1080
gagatgacca	agaaccaggt	gtccctcacc	tgtctggtga	agggttcta	ccccagcgac	1140
atcgccgtgg	agtgggagag	caacggccag	cccgagaaca	actacaagac	cacccccct	1200
gtgctggaca	gcgacggcag	cttcttctg	tacagcaagc	tcaccgtgga	caagagccgg	1260
tggcagcagg	gcaacgtggt	cagctgcagc	gtgatgcacg	aggccctgca	caaccactac	1320
accagaaga	gcctgagcct	gagccccggc	aag			1353

>CR6261 БЕЖОК HC (SEQ ID NO: 186)

E V Q L V E S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G P F R S
Y A I S W V R Q A P G Q G P E W M G G I I P I F G T T K Y A P
K F Q G R V T I T A D D F A G T V Y M E L S S L R S E D T A M
Y Y C A K H M G Y Q V R E T M D V W G K G T T V T V S S A S T
K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P
E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L
S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K
R V E P K S C D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P
P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F
N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L
T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S
K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L
V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D
S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E
A L H N H Y T Q K S L S L S P G K

>CR6261 ДНК LC (SEQ ID NO: 187)

cagtctgtgt	tgacgcagcc	gccctcagtg	tctgcggccc	caggacagaa	ggtcaccatc	60
tctgtctctg	gaagcagctc	caacattggg	aatgattatg	tatcctggta	ccagcagctc	120
ccaggaacag	ccccaaaact	cctcatttat	gacaataata	agcgaccctc	agggattcct	180
gaccgattct	ctggctccaa	gtctggcacg	tcagccacc	tgggcatcac	cggactccag	240
actggggacg	aggccaacta	ttactgcgca	acatgggatc	gccgcccgac	tgcttatggt	300
gtcttcggcg	gagggaccaa	gctgaccgtc	ctaggtgcgg	ccgcaggcca	gccaaggcc	360
gctcccagcg	tgaccctggt	ccccctctc	tccgaggagc	tgaggccaa	caaggccacc	420
ctgggtgtcc	tcatcagcga	cttctaccct	ggcgcctgga	ccgtggcctg	gaaggccgac	480
agcagccccg	tgaaggccgg	cgtggagacc	accacccca	gcaagcagag	caacaacaag	540

029939

tacgccgcca gcagctacct gagcctcacc cccgagcagt ggaagagcca cccgagctac 600
agctgccagg tgaccacagca gggcagcacc gtggagaaga ccgtggcccc caccgagtgcc 660
agc 663

>CR6261 BEJOK LC (SEQ ID NO: 188)

Q S V L T Q P P S V S A A P G Q K V T I S C S G S S S N I G N
D Y V S W Y Q Q L P G T A P K L L I Y D N N K R P S G I P D R
F S G S K S G T S A T L G I T G L Q T G D E A N Y Y C A T W D
R R P T A Y V V F G G G T K L T V L G A A A G Q P K A A P S V
T L F P P S S E E L Q A N K A T L V C L I S D F Y P G A V T V
A W K A D S S P V K A G V E T T T P S K Q S N N K Y A A S S Y
L S L T P E Q W K S H R S Y S C Q V T H E G S T V E K T V A P
T E C S

Вектор pIg-C911-HCgamma1 (SEQ ID NO: 189)

tcgacggatc gggagatctc ccgatcccct atggtgcact ctcagtacaa tctgctctga 60
tgccgcatag ttaagccagt atctgctccc tgctgtgtg ttggaggtcg ctgagtagtg 120
cgcgagcaaa a111aagc1a caacaaggca aggc11lgacc gacaallgca lgaagaalcl 180
gcttaggggtt aggcgttttg cgctgcttcg ctaggtggtc aatattggcc attagccata 240
ttattcattg gttatatagc ataaatcaat attggctatt ggccattgca tacgttgat 300
ccatatcata atatgtacat ttatattggc tcatgtccaa cattaccgcc atgttgacat 360
tgattattga ctagttatta atagtaatca attacggggt cattagtcca tagcccatat 420
atggagttcc gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac 480
cccgcgccat tgacgtcaat aatgacgtat gttccatag taacgccaat agggactttc 540
cattgacgtc aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagt 600
tatcatatgc caagtacgcc cctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat 660
tatgcccagt acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc 720
atcgctatta ccatgtgat gcggttttgg cagtacatca atgggctgg atagcggtt 780
gactcacggg gatttccaag tctccacccc attgacgtca atgggagttt gttttggcac 840
caaatcaac gggactttcc aaaatgtcgt aacaactccg cccattgac gcaaatggc 900
ggtaggcgtg tacggtggga ggtctatata agcagagctc gtttagtgaa ccgtcagatc 960
gcctggagac gccatccacg ctgttttgac ctccatagaa gacaccggga ccgatccagc 1020
ctcgcgggcc gggaacggtg cattggaagc tggcctggat atcctgactc tcttaggtag 1080
cctgcagaa gtttgtcgtg aggcactggg caggtaaagta tcaaggttac aagacaggtt 1140
taaggagatc aatagaaact ggccttctcg agacagagaa gactcctgcy tttctgatg 1200
gcactgattg gtcttactga catccacttt gccttctct ccaaggtgt ccactccag 1260
ttcaattaca gctcgcacc atgggatgga gctgtatcat cctcttctg gtactgctgc 1320
tggcccagcc ggccagtgc cttgaccggt gcaccacttt tgatgatgtt caagctccta 1380
attacactca acatacttca tctataggg gggtttacta tctctgatgaa atttttagat 1440
cggacactct ttatttaact caggatttat ttctccatt ttattctaatt gttacaggtt 1500
ttcatactat taatcatacg tttggcaacc ctgtcatacc ttttaaggat ggtatttatt 1560
ttgctgccac agagaaatca aatgtgtcc gtggtgggt ttttggttct accatgaaca 1620
acaagtcaca gtcggtgatt attattaaca attctactaa tgttggtata cgagcatgta 1680
actttgaatt gtgtgacaac ctttctttg ctgtttctaa accatgggt acacagacac 1740
atactatgat attcgataat gcatttaatt gcacttctga gtacatatct gatgccttt 1800
cgcttgatgt ttcagaaaag tcaggtaatt ttaaactctt acgagagttt gtgttataaa 1860
ataaagatgg gtttctctat gtttataagg gctatcaacc tatagatgta gttcgtgatc 1920
taccttctgg ttttaacact ttgaaacctt tttttaagtt gcctcttgg attaacatta 1980
caaattttag agccattctt acagccttt cacctgctca agacatttg ggcacgtcag 2040
ctgcagccta ttttgttggc tatttaaagc caactacatt tatgctcaag tatgatgaa 2100
atggtacaat cacagatgct gttgattgtt ctcaaatcc acttgctgaa ctcaaatgct 2160
ctgtaagag ctttgagatt gacaaaggaa tttaccagac ctctaatttc agggttgttc 2220
cctcaggaga tgttgtgaga ttccctaata ttacaaactt gtgtcctttt ggagaggtt 2280
ttaatgctac taaattccct tctgtctatg catgggagag aaaaaaatt tctaattgtg 2340
ttgtgatta ctctgtgctc tacaactcaa catttttttc aaccttaag tgctatggcg 2400
ttctgccac taagtgaat gatctttgct tctccaatgt ctatgcagat tctttgtag 2460
tcaagggaga tgatgaaga caaatagcgc caggacaaac tgggtgttatt gctgattata 2520
attataaatt gccagatgat ttcatgggt gtgtccttgc ttggaatact aggaacattg 2580
atgctacttc aactgtaat tataattata aatataggta tcttagacat ggcaagctta 2640
ggcctttgga gagagacata tctaattgtc ctttctccc tgatggcaaa ccttgcccc 2700

cacctgctct	taattgttat	tggcattaa	atgattatgg	tttttacacc	actactggca	2760
ttggctacca	accttacaga	gttgtagtag	tttcttttga	acttttaaat	gcaccggcca	2820
cggtttggg	acccaaatta	tcactgacc	ttattaagaa	ccagtgtgtc	aattttaatt	2880
ttaatggact	cactggtact	ggtgtgtaa	ctccttcttc	aaagagattt	caaccatttc	2940
aacaatttgg	ccgtgatggt	tctgatttca	ctgattccgt	tccgagatcct	aaaacatctg	3000
aaatattaga	catttcacct	tgctcttttg	ggggtgtaag	tgtaattaca	cctggaacaa	3060
atgcttcac	tgaagtgtct	gttctataatc	aagatgttaa	ctgcaactgat	gttctacag	3120
caattcatgc	agatcaactc	acaccagctt	ggcgcatata	ttctactgga	aacaatgtat	3180
tccagactca	ggcaggctgt	cttataggag	ctgagcatgt	cgacacttct	tatgagtgcg	3240
acattcctat	tggagctggc	atltgtgcta	gttaccatac	agtttcttta	ttacgtagta	3300
ctagccaaa	atctatttgg	gcttatacta	tgcttttagg	tgctgatagt	tcaattgctt	3360
actctaataa	caccattgct	atacctaata	acttttcaat	tagcattact	acagaagtaa	3420
tgctgttttc	tatggctaaa	acctccgtag	attgtaatat	gtacatctgc	ggagattcta	3480
ctgaatgtgc	taatttgctt	ctccaatatg	gtagcttttg	cacacaacta	aatcgtgac	3540
tctcaggat	tgctgctgaa	caggatcgca	acacacgtga	agtgttcgct	caagtcaaac	3600
aaatgtacaa	agcccaact	ttgaaatatt	ttggtggttt	taatttttca	caaatattac	3660
ctgaccctct	aaagccaact	aagaggtctt	ttattgagga	cttgctcttt	aataaggtga	3720
cactcgctga	tgctggcttc	atgaagcaat	atggcgaatg	cctaggtgat	attaatgcta	3780
gagatctcat	ttgtgctgag	aagttcaatg	gacttacagt	gttgccacct	ctgctcactg	3840
atgatattgat	tgctgctcct	actgctgctc	tagtttagtgg	tactgccact	ctggtgctga	3900
catttgggtgc	tggcgtgctc	cttcaaatac	cttttgctat	gcaaatggca	tataggttca	3960
atggcattgg	agttaccctaa	aatgttctct	atgagaacca	aaaacaaatc	gccaaccaat	4020
ttacaagaagc	gattagtcaa	attcaagaat	cacttacaac	aacatcaact	gcattgggca	4080
agctgcaaga	cgttgttaac	cagaatgctc	aagcattaaa	cacacttggt	aaacaactta	4140
gctctaattt	tgggtcaatt	tcaagtgtgc	taaatgatat	cctttcgcga	cttgataaag	4200
tccagggcga	ggtacaaatt	gacaggttaa	ttacaggcag	acttcaaagc	cttcaaacct	4260
atgtaacaca	acaactaatc	agggtgtctg	aaatcagggc	ttctgctaat	cttgctgcta	4320
ctaaaatgtc	tgaagtgtgt	cttggacaat	caaaaagagt	tgacttttgt	ggaagggct	4380
accaccttat	gtccttccca	caagcagccc	cgcatgggtg	tgtcttccca	catgtcacgt	4440
atgtgccatc	ccaggagagg	aacttcacca	cagcggcagc	aatttgcct	gaaggcaag	4500
catacttccc	tcgtgaaggt	gtttttgtgt	ttaatggcac	ttcttggttt	attacacaga	4560
ggaacttctt	ttctccacaa	ataattacta	cagacaatac	atltgtctca	gaaattgtg	4620
atgtcgttat	tggcatcatt	aacaacacag	ttatgatcc	tctgcaacct	gagcttgact	4680
cattcaaaga	agagctggac	aagtacttca	aaaatcatac	atccaccgat	gttgattttg	4740
ggcacaattc	aggcattaac	gcttctgtcg	tcaacattca	aaaagaaatt	gaccgcctca	4800
atgaggtcgc	agcaaattta	aatgaatcac	tcattgacct	tcaagaactg	gaaattgtg	4860
agcaatata	taaatggcct	ctcgacgaac	aaaaactcat	ctcagaagag	gatctgaatg	4920
ctgtgggcca	ggacacgcag	gaggtcatcg	tggtgccaca	ctccttgccc	tttaaggtgg	4980
tggtgatctc	agccatcctg	gcctggtgg	tgctcaccat	catctccctt	atcatcctca	5040
tcatgctttg	ccagaagaag	ccacgttagg	cgcccgctcg	agtgttagca	ccaagggccc	5100
cagcgtgttc	gcccgtggcc	ccagcagcaa	gagcaccagc	ggcggcacag	ccgcccggg	5160
ctgcctgggtg	aaggactact	tccccgagcc	cgtagccgtg	agctggaaca	gcggcgcctt	5220
gaccagcggc	gtgcacacct	tccccgcctg	gctgcagagc	agcggcctgt	acagcctgag	5280
cagcgtgggtg	accgtgcccc	gcagcagcct	gggcacccag	acctacatct	gcaacgtgaa	5340
ccacaagccc	agcaacacca	aggtggacaa	acgcgtggag	cccaagagct	gcgacaagac	5400
ccacaacctgc	ccccctgccc	ctgccccgca	gctgctgggc	ggaccctccg	tgttcctggt	5460
cccccccagg	cccaaggaca	ccctcatgat	cagccggacc	cccgaggtga	cctgctgtgt	5520
ggtggacgtg	agccacgagg	accccaggtg	gaagttcaac	tggtacgtgg	acggcgtgga	5580
ggtgcacaac	gccaagacca	agccccggga	ggagcagtag	aacagcacct	accgggtggt	5640
gagcgtgctc	accgtgctgc	accaggactg	gctgaaacggc	aaggagtaca	agtgcaaggt	5700
gagcaacaag	gccctgcctg	ccccatcga	gaagaccatc	agcaaggcca	agggccagcc	5760
ccgggagccc	caggtgtaca	ccctgcccc	cagccgggag	gagatgacca	agaaccaggt	5820
gtccctcacc	tgtctggtga	agggettcta	ccccagegac	atcgccgtgg	agtgggagag	5880
caacggccag	cccgagaaca	actacaagac	cacccccctt	gtgctggaca	gcgacggcag	5940
cttcttctctg	tacagcaagc	tcaccgtgga	caagagccgg	tggcagcagg	gcaacgtggt	6000
cagctgcagc	gtgatgcacg	aggccctgca	caaccactac	accagaaga	gctgagcct	6060
gagccccggc	aagtgataat	ctagagggcc	cgtttaaacc	cgctgatcag	cctcgactgt	6120
gccttctagt	tgccagccat	ctgttgtttg	ccccctcccc	gtgccttctt	tgaccctgga	6180
aggtgccact	cccactgtcc	tttcttaata	aaatgaggaa	attgcatcgc	attgtctgag	6240
taggtgtcat	tctattctgg	ggggtgggtg	ggggcaggac	agcaaggggg	aggattggga	6300
agacaatagc	aggcatgctg	gggatgcggt	gggctctatg	gcttctgagg	cggaaagaac	6360
cagctggggc	tctagggggt	atccccacgc	gccctgtagc	ggcgcattaa	gcgcccggg	6420
tgtgtgggtt	acgcgcagcg	tgaccgctac	acttgcagc	gccctagcgc	ccgctccttt	6480
cgctttcttc	ccttcctttc	tcgccacggt	cgccgctttt	ccccgtcaag	ctctaatacg	6540

ggggctccct	ttagggttcc	gatttagtgc	tttacggcac	ctcgacccca	aaaaacttga	6600
ttaggggat	ggttcacgta	gtgggccatc	gccctgatag	acgggttttc	gccctttgac	6660
ggttgagtc	acgttcttta	atagtgact	cttgttccaa	actggaacaa	cactcaaccc	6720
tatctcggtc	tattcttttg	atttataagg	gattttgccc	atttcggcct	attggttaaa	6780
aaatgagctg	atttaacaaa	aatttaacgc	gaattaattc	tgtggaatgt	gtgtcagtta	6840
gggtgtggaa	agtccccagg	ctccccagca	ggcagaagta	tgcaaacgat	gcatctcaat	6900
tagtcagcaa	ccaggtgtgg	aaagtcccc	ggctccccag	caggcagaag	tatgcaaacg	6960
atgcatctca	attagtcagc	aaccatagtc	ccgcccctaa	ctccgcccac	cccgccccta	7020
actccgcccc	gttccgcccc	ttctccgccc	catggctgac	taattttttt	tatttatgca	7080
gaggccgagg	ccgcctctgc	ctctgagcta	ttccagaagt	agtgaggagg	cttttttggg	7140
ggcctaggct	tttgcaaaaa	gctcccggga	gcttgatat	ccattttcgg	atctgatcaa	7200
gagacaggat	gaggatcggt	tcgcatgatt	gaacaagatg	gattgcaagc	aggttctccg	7260
gccgctggg	tgagaggct	attcggctat	gactgggcac	aacagacaat	ccgctgctct	7320
gatgcccgg	tgttccggct	gtcagcgca	gggcccgg	ttctttttgt	caagaccgac	7380
ctgctcgggt	ccctgaaatga	actgcaggac	gaggcagcgc	ggctatcgtg	gctggccaag	7440
acgggctgtc	cttgccgagc	tgtgctcgac	gttgctcactg	aagcgggaag	ggactggctg	7500
ctattgggctg	aagtggccggg	gcaggatctc	ctgtcatctc	accttgctcc	tgccgagaaa	7560
gtatccatca	tggctgatgc	aatgcccggg	ctgcatacgc	ttgatccggc	tacctgcccc	7620
ttcgaccacc	aagcgaacaa	tcgcatcgag	cgagcacgta	ctcggatgga	agccggctct	7680
gtcgatcagg	atgatctgga	cgaagagcat	caggggctcg	cgccagccga	actgttccc	7740
aggctcaagg	cgccatgccc	cgacggcgag	gatctcgtcg	tgaccatggg	cgatgcctgc	7800
ttgcccgaata	tcatggtgga	aaatggccgc	ttttctggat	tcatcgactg	tggccggctg	7860
gggtgtggcgg	accgctatca	ggacatagcg	ttggctacc	gtgatattgc	tgaagagctt	7920
gggatctcat	gctgtagccg	cttctcgtg	ctttacggta	tcgcccgtcc	cgattccgag	7980
cgcatcgcct	tctatcgcct	tcttgacgag	ttcttctgag	cgggactctg	gggttcgaaa	8040
tgaccgacca	agcgcgcccc	aacctgccat	cacgagattt	cgattccacc	gccgccttct	8100
atgaaaaggtt	gggcttcgga	atcgttttcc	gggacgcccg	ctggatgatc	ctccagcggg	8160
gggatctcat	gctggagtcc	ttcggcccac	ccaacttggt	tattgcagct	tataatgggt	8220
acaaataaag	caatagcatc	acaaatttca	caataaaagc	atttttttca	ctgcattcta	8280
ggtgtggttt	gtccaaactc	atcaatgtat	cttatcatgt	ctgtataacc	tcgacctcta	8340
gctagagctt	ggcgtaatca	tggtcatagc	tgtttcctgt	gtgaaattgt	tatccgctca	8400
caattccaca	caacatacga	gccggaagca	taaaagttaa	agcctggggt	gcctaagcag	8460
tgagctaact	cacattaatt	gcgttgccct	cactgcccgc	tttccagtcg	ggaacctgt	8520
cggtccagct	gcattaatga	atcggccaac	gcgcggggag	aggcggtttg	cgatttgggc	8580
gctcttccgc	ttctctgctc	actgactcgc	tgcgctcggg	cgttccggctg	cgccgagcgg	8640
gtcgtctcca	gtccaaaggc	gtaatacggg	tatccacaga	atcaggggat	aacgcgaggt	8700
agaacatgtg	agcaaaaggc	cagcaaaagg	ccaggaaccg	taaaaaggcc	gcgttgctgg	8760
cgtttttcca	taggctccgc	cccctgacg	agcatcacia	aaatcgacgc	tcaagtcaga	8820
ggtggcgaaa	cccgcacagga	ctataaagat	accaggcgtt	tccccctgga	agctccctcg	8880
tgctctctcc	tgttccgacc	ctgcccgtta	ccggataacct	gtcccctttt	ctccctcggg	8940
gaagcgtggc	gctttctcat	agctcacgct	gtaggtatct	cagttcgggtg	taggtcgttc	9000
gctccaagct	gggctgtgtg	cacgaacccc	ccgttcagcc	cgaccgctgc	gccttatccg	9060
gtaactatcg	tcttgatgcc	aaccgggtaa	gacacgactt	atcgccactg	gcagcagcca	9120
ctggtaacag	gattagcaga	cgagggatg	tagcgggtgc	tacagagttc	ttgaaagggt	9180
ggcctaacta	cggttacact	agaagaacag	tatttggtat	ctgcccctcg	ctgaagccag	9240
ttacctcgg	aaaaagagtt	ggtagctctt	gatccggcaa	acaaaccacc	gctggtagcg	9300
gtttttttgt	ttgcaagcag	cagattacgc	gcagaaaaaa	aggatctcaa	gaagatcctt	9360
tgatcttttc	tacggggtct	gacgctcagt	ggaacgaaaa	ctcacgttaa	gggattttgg	9420
tcatgagatt	atcaaaaagg	atcttcacct	agatcctttt	aaattaaaaa	tgaagtttta	9480
aatcaatcta	aagtatatat	gagtaaaact	ggtctgacag	ttaccaatgc	ttaatcagtg	9540
aggcacctat	ctcagcgatc	tgtctatttc	gttcatccat	agttgcctga	ctcccctcgg	9600
tgtagataac	tacgatacgg	gagggcttac	catctggccc	cagtgctgca	atgataaccg	9660
gagaccacag	ctcaccggct	ccagatttat	cagcaataaa	ccagccagcc	ggaagggccg	9720
agcgcagaag	tggctcctgca	actttatccg	cctccatcca	gtctattaat	tgttgccggg	9780
aagctagagt	aagttagttcg	ccagtttaata	gtttgcgcaa	cgttgttgcc	attgctacag	9840
gcacgtgggt	gtcacgctcg	tcgttttgta	tggcttcatt	cagctccggg	tcccaacgat	9900
caaggcgagt	tacatgatcc	cccatgttgt	gcaaaaaagc	ggttagctcc	ttcggctctc	9960
cgatcgttgt	cagaagtaag	ttggccgca	tgttatcact	catggttatg	gcagcactgc	10020
ataattctct	tactgtcatg	ccatccgtaa	gatgcttttc	tgtgactggt	gagtactcaa	10080
ccaagtcatt	ctgagaatag	tgtatgcggc	gaccaggttg	ctcttgcccg	gcgtcaatac	10140
gggataatac	cgccgccacat	agcagaactt	taaaagtgtc	catcattgga	aaacgttctt	10200
cggggcgaaa	actctcaagg	atcttaccgc	tgttgagatc	cagttcagatg	taaccactc	10260
gtgaccccaa	ctgatcttca	gcacttttta	ctttaccagg	cgtttctggg	tgagcaaaaa	10320
caggaaggca	aatgcccga	aaaagggaa	taagggcgac	acggaatgt	tgaatactca	10380

tactcttcct	ttttcaatat	tattgaagca	tttatcaggg	ttattgtctc	atgagcggat	10440
acatatttga	atgtatttag	aaaaataaac	aaataggggt	tccgcgcaca	tttccccgaa	10500
aagtgcacc	tgacg					10515

Вектор pIg-C909-Ckappa (SEQ ID NO: 191)

tcgacggatc	gggagatctc	ccgatcccct	atggtgcact	ctcagtacaa	tctgctctga	60
tgccgcatag	ttaagccagt	atctgctccc	tgcttggtgtg	ttggaggctcg	ctgagtagtg	120
cgcgagcaaa	atttaagcta	caacaaggca	aggcttgacc	gacaattggt	aattaacatg	180
agaatctgc	ttagggttag	cgcttttgcg	ctgcttcgct	agggtgtcaa	tattggccat	240
tagcatatt	attcattggt	tatatagcat	aaatcaatat	tggctattgg	ccattgcata	300
cgttgtatcc	atatcataat	atgtacattt	atattggctc	atgtccaaca	ttaccgccat	360
gttgacattg	attattgact	agttattaat	agtaatcaat	tacggggtca	ttagttcata	420
gcccatatat	ggagttccgc	gttacataac	ttacggtaaa	tggcccgcct	ggctgaccgc	480
ccaacgaccc	ccgcccattg	acgtcaataa	tgacgtatgt	tcccatagta	acgcgcaatg	540
ggactttcca	ttgacgtcaa	tgggtggagt	atttacggta	aactgcccac	ttggcagtac	600
atcaagtgta	tcatatgcca	agtacgcccc	ctattgacgt	caatgacggt	aaatggccccg	660
cctggcatta	tgcccagtac	atgaccttat	gggactttcc	tacttggcag	tacatctacg	720
tattagtcatt	cgctattacc	atggtgatgc	ggttttggca	gtacatcaat	ggcgtggat	780
agcggtttga	ctcacgggga	tttccaagtc	tccacccccat	tgacgtcaat	gggagtttgt	840
tttgccacca	aatcaacgg	gactttccaa	aatgtcgtaa	caactccgcc	ccattgacgc	900
aaatgggctg	taggcgtgta	cggtgggagg	tctatataag	cagagctcgt	ttagtgaacc	960
gtcagatcct	gtggagacgc	catccacgct	gttttgacct	ccatagaaga	caccgggacc	1020
gatccagcct	ccgcggccgg	gaacgggtgca	ttggaatcga	tgactctctt	aggtagcctt	1080
gcagaagtgt	gtcgtgaggg	actgggcagg	taagtatcaa	ggttacaga	caggtttaag	1140
gagatcaata	gaaactgggc	ttgtcgagac	agagaagact	cttgcgtttc	tgataggcac	1200
ctattggtct	tactgacatc	cactttgcct	ttctctccac	agggtgccac	tcccagttca	1260
attacagctc	gccaccatgc	ggctgcccgc	ccacgtctg	ggccttctca	tgctgtgggt	1320
gcccgcctcg	agatctatcg	atgcatgcca	tggtaccaag	cttgccacca	tgagcagcag	1380
ctcttggctg	ctgctgagcc	tgttggccgt	gacagccgcc	cagagcacca	tcgaggagca	1440
ggccaagacc	ttcctggaca	agttcaacca	cgaggccgag	gacctgttct	accagagcag	1500
cctggccagc	tggaactaca	acaccaacat	caccgaggag	aacgtgcaga	acatgaacaa	1560
cgccggcgac	aagtggagcg	ccttctgaa	ggagcagagc	acactggccc	agatgtacc	1620
cctgacggag	atccagaacc	tgaccgtgaa	gctgcagctg	caggccctgc	agcagaacgg	1680
cagcagcgtg	ctgagcaggg	acaagagcaa	gcggtgaaac	accatcctga	acaccatgtc	1740
taccatctac	agcaccggca	aagtgtgcaa	ccccgacaac	ccccaggagt	gctgtggtct	1800
ggagcccggc	ctgaacgaga	tcatggccaa	cagcctggac	tacaacgagc	ggctgtgggc	1860
ctgggagagc	tggcggagcg	aagtgggcaa	gcagctgctg	cccctgtacg	aggagtagct	1920
ggtgtctgaa	aacgagatgg	ccagggccaa	ccactacgag	gactacggcg	actactggag	1980
aggcgactac	gaagtgaacg	gcgtggacgg	ctacgactac	agcagagggc	agctgtagca	2040
ggacgtggag	cacaccttgc	aggagatcaa	gcctctgtac	gagcacctgc	acgcctacgt	2100
gcgggccaag	ctgatgaacg	cctaccccag	ctacatcagc	cccctcggct	gcctgcccgc	2160
ccacctgctg	ggcgacatgt	ggggccggtt	ctggaccaac	ctgtacagcc	tgaccgtgcc	2220
cttcggccag	aagcccaaca	tcgacgtgac	cgacgccatg	gtggaccagg	cctgggacgc	2280
ccagcggatc	ttcaaggagg	ccgagaagtt	cttcgtgagc	gtgggacctgc	ccaacatgac	2340
ccagggtctt	tgggagaaca	gcatgctgac	cgaccccggc	aatgtgcaga	aggccgtgtg	2400
ccaccccacc	gcctgggacc	tgggcaaggg	cgacttccgg	atcctgatgt	gcacaaaagt	2460
gaccatggac	gacttcctga	ccgcccacca	cgagatgggc	cacatccagt	acgacatggc	2520
ctacgcggcc	cagcccttcc	tgctgcgga	cggcgccaac	gagggctttc	acgaggccgt	2580
ggcgagatc	atgagcctga	gcgccgccac	ccccaaagcac	ctgaagagca	tcggcctgct	2640
gagccccgac	ttccaggagg	acaacgagac	cgagatcaac	ttcctgtctga	agcaggccct	2700
gacctcgtg	ggcacccctgc	ccttcaccta	catgctggag	aagtggcggg	ggatggtgtt	2760
taagggcgag	atccccaaag	accagtggt	gaagaagtgg	tgggagatga	agcggggat	2820
cgtgggcgtg	gtggagcccg	tgcccaca	cgagacctac	tgcgaccccg	ccagcctgtt	2880
ccacgtgagc	aacgactact	ccttcacccg	gtactacacc	cggaccctgt	accagttcca	2940
gttccaggag	gocctgtgcc	aggccgcaa	gcacgagggc	cccctgcaca	agtgcgacat	3000
cagcaaacagc	accgagggcc	gacagaaact	ggtcaacatg	ctgaggctgg	gcaagagcga	3060
gcccctggacc	ctggccctgg	agaatgtggt	gggcccgaag	aacatgaatg	tgcccctcct	3120
gctgaactac	ttcgagcccc	tgttcacctg	gctgaaggac	cagaacaaga	acagcttctg	3180
gggctggagc	accgactgga	gcccctacgc	cgaccagagc	atcaaagtgc	ggatcagcct	3240
gaagagcgc	ctggggcaca	aggcctacga	gtggaacgac	aacgagatgt	acctgttccg	3300
gagcagcgtg	gcctatgcca	tgcggcagta	cttctgaaa	gtgaagaacc	agatgatcct	3360
gttcggcgag	gaggacgtga	gagtgcccaa	cctgaagccc	cggatcagct	tcaacttctt	3420
cgtgaccgcc	cccaagaacg	tgagcgacat	catccccgg	accgaagtgg	agaaggccat	3480

ccggatgagc	cggagccgga	tcaacgacgc	cttccggctg	aacgacaact	ccctggagtt	3540
cctgggcatc	cagcccaccc	tgggcccctc	caaccagccc	cccgtgagca	tctggctgat	3600
cgtgtttgct	gtggtgatgg	gctgatctgt	ggtgggaatc	gtgatcctga	tcttcaccgg	3660
catccgggac	cggaagaaga	agaacaaggc	ccggagcggc	gagaaccctt	acgccagcat	3720
cgatatcagc	aagggcgaga	acaaccccgg	cttcacagaac	accgacgacg	tcagaccag	3780
cttctgataa	tctagaacga	gctcgaattc	gaagcttctg	cagacgcgct	gacgtcata	3840
ggatccgata	tcgccgtggc	gcccgcaccc	agcgtgttca	tcttcccccc	ctccgacgag	3900
cagctgaaga	gcggcaccgc	cagcgtggtg	tgctgctga	acaacttcta	ccccggggag	3960
gccaaaggtg	agtggaaggt	ggacaacgcc	ctgcagagcg	gcaacagcca	ggagagcgtg	4020
accgagcagg	acagcaagga	ctccacctac	agcctgagca	gcaccctcac	cctgagcaag	4080
cccgactacg	agaagcacia	ggtgtacgcc	tgcgagggtg	cccaccaggg	cctgagcagc	4140
cccgtgacca	agagcttcaa	ccggggcgag	tgtaataaga	cttaagttta	aaccgctgat	4200
cagcctcgac	tgtgccttct	agtgtccagc	catctgttgt	ttgccccctc	cccgtgcctt	4260
ccttgaccct	ggaaggtgcc	actcccactg	tcctttccta	ataaaatgag	gaaattgcat	4320
cgctatgtct	gagtaggtgt	catctattc	tggggggtgg	ggtggggcag	gacagcaag	4380
gggaggtatg	ggaagacaat	agcaggcatg	ctggggatgc	ggtgggctct	atggcttctg	4440
agggcgaaag	aaccagctgg	ggctctaggg	ggtatcccc	cgccgctgt	agcggcgc	4500
taagcgcggc	gggtgtggtg	gttacgcgca	gcgtgaccgc	tacacttgcc	agcgccttag	4560
gcgccgctcc	tttcgcttcc	ttcccctcct	ttctgcgcc	gttcgcccgc	tttccccctc	4620
aagctcctaaa	ttcggggctc	cctttagggt	tccgatttag	tgctttacgg	cacctcgacc	4680
ccaaaaaact	tgattaggg	gatggttca	gtagtggg	atcgccctga	tagacggttt	4740
ttcgcctttt	gacgttggag	tcacggttct	ttaatagttg	actcttgctc	caaaactgaa	4800
caactctcaa	ccctatctcg	gtctattctt	ttgatttata	agggattttg	gccattttcg	4860
cctatctggtt	aaaaaatgag	ctgatttaac	aaaaatttaa	cgcgaattaa	ttctgtgaa	4920
tgtgtgtcag	ttaggtgtg	gaaagtcccc	aggctcccc	gcaggcagaa	gtatgcaaa	4980
catgcatctc	aattagtcag	caaccaggtg	tggaagtcc	ccaggctccc	cagcaggcag	5040
aagtatgcaa	agcatgcatc	tcaattagtc	agcaaccata	gtcccgcctc	taactccg	5100
catcccgccc	ctaactccgc	ccagtccgc	ccattctccg	ccccatggct	gactaatttt	5160
ttttatttat	gcagaggccg	aggccgctc	tgctctgag	ctattccaga	agtagtgagg	5220
aggctttttt	ggaggcctag	gcttttgcaa	aaagctccc	ggagcttgta	tatccatttt	5280
cggtatctgat	cagcactgta	tgaaaaagcc	tgaactcacc	gcgacgtctg	tcgagaagtt	5340
tctgatcgaa	aagttcgaca	cgctctccga	cctgatgcag	ctctcgagg	gcgaagaatc	5400
tcgtgctttc	agcttcgatg	taggagggcg	tggtatgtc	ctgggggtaa	atagctgcgc	5460
cgatggtttc	tacaaagatc	gttatgttta	tcggcacttt	gcatcgcccg	cgctcccgat	5520
tcgggaagtg	cttgacattg	gggaattcag	cgagagcctg	acctattgca	tctcccgcg	5580
tgcaacagg	gtcacgttgc	aagacctg	tgaaaccgaa	ctgcccctg	ttctgcacc	5640
ggctcgggag	gccatggatg	cgatcgctgc	ggccgatctt	agccagacga	gcgggttcg	5700
cccattcggg	ccacaaggaa	tcggtcaata	cactacatgg	cgtgatttca	tatgcccgat	5760
tgctgatccc	catgtgtatc	actggcaaac	tgatgaggac	gacaccgtca	gtgcgtccgt	5820
cgcgcaagg	ctcgtgagc	tgatgcttgg	ggccgaggac	tgccccgaag	tcggcaccct	5880
cgtgcacgcg	gatttcggct	ccaacaatgt	cctgacggac	aatggccgca	taacagcgg	5940
cattgactgg	agcagggcga	tgttcgggga	ttcccatac	gaggtcgcca	acatcttctt	6000
ctggaggccg	tggttggctt	gtatggagca	gcagacgcgc	tacttcgagc	ggaggcatcc	6060
ggagcttgca	ggatcgccgc	ggctccgggc	gtatagctc	cgcattggct	ttgaccaatc	6120
ctatcagagc	ttggttgacg	gcaatttcga	tgatgcagct	tgggccgagg	gtcgatgcca	6180
cgcaatcgtc	cgatccggag	ccgggactgt	cgggcgtaca	caaatcgccc	gcagaagcgc	6240
ggccgtctgg	accgatggct	gtgtagaagt	actgcccgat	agtggaaacc	gacgccccag	6300
actcgtccg	agggcaaagg	aatagcacgt	gtaacagat	ttcgattcca	ccgcccctt	6360
ctatgaaagg	ttgggcttgc	gaatcgtttt	ccgggacgcc	ggctggatga	tcctgcaccg	6420
cggggatctc	atgctggagt	tcttcgccc	ccccacttg	tttattgcag	cttataatgg	6480
ttacaaataa	agcaatagca	tcacaaat	cacaaataaa	gcattttttt	cactgcattc	6540
tagttgtggg	ttgtccaaac	tcactaatgt	atcttatcat	gtctgtatac	cgtcgacctc	6600
tagctagagc	ttggcgtaat	catggtcata	gctgttctct	gtgtgaaatt	gttatccgct	6660
cacaattcca	cacaacatac	gagccggaag	cataaagtgt	aaagcctggg	gtgcctaatt	6720
agtgagctaa	ctcacattaa	ttcgcttgcg	ctcactgccc	gctttccagt	cgggaaacct	6780
gtcgtgccag	ctgcattaat	gaatcggcca	acgcgcgggg	agaggcggtt	tgctgattgg	6840
gcctcttcc	gcttcctcgc	tcactgactc	gctgcgctcg	gtcgttcggc	tgccgagcag	6900
ggatcagct	caactcaagg	cgtaataacg	ggtatccaca	gaatcagggg	ataacgcagg	6960
aaagaacatg	tgagcaaaa	gccagcaaaa	ggccaggaac	cgtaaaaagg	ccgcttgc	7020
ggcgtttttc	cataggtccc	gccccctga	cgagcatcac	aaaaatcgac	gctcaagtca	7080
gagtgggcga	aaccgacag	gactataaag	ataccaggcg	tttccccctg	gaagctccct	7140
cgctgcctct	cctgttccga	ccctgcgct	taccggatac	ctgtccgct	ttctcccttc	7200
gggaaagcgtg	gcgctttctc	atagctcacg	ctgtagggtat	ctcagttcgg	tgtaggctgt	7260
tcgctccaag	ctgggctgtg	tgcacgaacc	ccccgttcag	cccgaccgct	gcgcttatc	7320

cggtaaactat	cgtcttgagt	ccaacccggt	aagacacgac	ttatcgccac	tggcagcagc	7380
cactggtaaac	aggattagca	gagcgaggta	tgtaggcggt	gctacagagt	tcttgaagtg	7440
gtggcctaac	tacggctaca	ctagaagaac	agtatttggg	atctgcgctc	tgctgaagcc	7500
agttaccttc	ggaaaaagag	ttggtagctc	ttgatccggc	aaacaaacca	ccgctggtag	7560
cggttttttt	gtttgcaagc	agcagattac	gcgcagaaaa	aaaggatctc	aagaagatcc	7620
tttgatcttt	tctacggggt	ctgacgctca	gtggaacgaa	aaactcacgtt	aagggatttt	7680
ggtcatgaga	ttatcaaaaa	ggatctttac	ctagatcctt	ttaaattaaa	aatgaagttt	7740
taaatcaatc	taaagtatat	atgagtaaac	ttggctctgac	agttaccaat	gcttaatcag	7800
tgaggcacct	atctcagoga	tctgtctatt	tcgttcatcc	atagttgcct	gactccccgt	7860
cgtgtagata	actacgatac	gggagggctt	accatctggc	ccagtgctg	caatgatacc	7920
cggagaccga	cgtcacccg	ctccagattt	atcagcaata	aaccagccag	ccggaagggc	7980
tcggcgcgaga	agtggtcctg	caactttatc	cgctccatc	cagtctatta	attgctgccc	8040
ggaagctaga	gtaagtagtt	cgccagttaa	tagtttgccg	aacgttgttg	ccattgctac	8100
aggcatcgtg	gtgtcacgct	cgtcgtttgg	tatggcttca	ttcagctccg	gttcccaacg	8160
atcaaggcga	gttacatgat	ccccatggt	gtgcaaaaa	gcggttagct	ccttcggctc	8220
tcggatcgtt	gtcagaagta	agttggccgc	agtgttatca	ctcatggtta	tggcagacct	8280
gcataattct	cttactgtca	tgccatccgt	aagatgcttt	tctgtgactg	gtgagtactc	8340
aaccaagtca	ttctgagaat	agtgtatcgc	gcgaccgagt	tgctcttccc	cggcgtcaat	8400
acgggataat	aacgcgccac	atagcagaac	tttaaaagtg	ctcatcattg	gaaaaacttc	8460
ttcgggctga	aaactctcaa	gcatctttac	gagtttgaga	tccagttcga	tgtaaccacc	8520
tcgtgcaccc	aaactgatctt	cagcatcttt	tactttcacc	agcgtttctg	ggtgagcaaa	8580
aacagggaag	caaaatgccg	caaaaaagg	aataagggcg	acacggaaat	gttgaatact	8640
catactcttc	ctttttcaat	attattgaag	catttatcag	ggttattgtc	tcatgagcgg	8700
atacatattt	gaatgtattt	agaaaaataa	acaaataggg	gttccgcgca	catttccccg	8760
aaaagtgcc	cctgacg					8777

Вектор pIg-C910-Clambda (SEQ ID NO: 192)

tcgacggatc	gggagatctc	ccgatcccct	atgggtgact	ctcagtacaa	tctgctctga	60
tgccgcatag	ttaagccagt	atctgctccc	tgcttgtgtg	ttggaggctg	ctgagtagtg	120
cgcgagcaaa	atttaagcta	caacaaggca	aggcttgacc	gacaattggt	aattaacatg	180
agaaatctgc	ttagggttag	gcgttttgcg	ctgcttcgct	agggtgtcaa	tattggccat	240
tagccatatt	attcattggt	tatatagcat	aaatcaatat	tggctattgg	ccattgcata	300
cgttgtatcc	atatcataat	atgtacattt	atattggctc	atgtccaaca	ttaccgccat	360
gttgacattg	attattgact	agttattaat	agtaatcaat	tacggggcca	ttagttcata	420
gcccataata	ggagttccgc	gttacataac	ttacggtaaa	tggcccgcct	ggctgaccgc	480
ccaacgaccc	ccgcccattg	acgtcaataa	tgacgtatgt	tcccatagta	acgccaatag	540
ggactttcca	ttgacgtcaa	tgggtggagt	atltacggta	aactgccac	ttggcagtac	600
atcaagtgt	tcatatgcca	agtacgcccc	ctattgacgt	caatgacggt	aaatggcccc	660
cctggcatta	tgcccagtac	atgaccttat	gggactttcc	tacttggcag	tacatctacg	720
tattagtc	agctattacc	atgggtgatg	ggttttggca	gtacatcaat	gggctggtat	780
agcggtttga	ctcacgggga	tttccaagtc	tccaccccat	tgacgtcaat	gggagtttgt	840
tttggcacca	aaatcaacgg	gactttccaa	aatgtcgtaa	caactccgcc	ccattgacgc	900
aaatggggcg	taggcgtgta	cggtgggagg	tctatataag	cagagctcgt	ttagtgaacc	960
gtcagatcgc	ctggagacgc	catccacgct	gthttgacct	ccatagaaga	caccgggacc	1020
gatccagcct	ccgcgccggg	gaacgggtgca	ttggaatcga	tgactctctt	aggtagcctt	1080
gcagaagttg	gtcgtgaggg	actgggcagg	taagtatcaa	ggttacaaga	caggtttaag	1140
gagatcaata	gaaactgggc	ttgtcgagac	agagaagact	cttgcgtttc	tgataggcac	1200
ctattggtct	tactgacatc	cactttgcct	ttctctccac	agggtgtccac	tcccagttca	1260
attacagctc	gccaccatgc	ggttctccgc	tcagctgctg	ggccttctgg	tgctgtggat	1320
tcccggcgctc	tcgagatcta	tcgatgcatg	ccatggtacc	aagcttgcca	ccatgagcag	1380
cagctcttgg	ctgctgctga	gctggtggc	cgtgacagcc	gcccagagca	ccatcgagga	1440
gcaggccaag	accttctctg	acaagttcaa	ccacgaggcc	gaggacctgt	tctaccagag	1500
cagcctggcc	agctggaact	acaacaccaa	catcacggag	gagaacgtgc	agaacatgaa	1560
caacgcgggc	gacaagtgga	gcgccttctc	gaaggagcag	agcacactgg	cccagatgta	1620
cccctgacag	gagatccaga	acctgaccgt	gaagctgacg	ctgcaggccc	tgacgagaa	1680
cggcagcagc	gtgctgagcg	aggacaagag	caagcggctg	aaacacatcc	tgaacacat	1740
gtccaccatc	tacagaccg	gcaaagtgtg	caaccccagc	aaccccagg	agtgctgct	1800
gctggagccc	ggcctgaacg	agatcatggc	caacagcctg	gactacaacg	agcggctgtg	1860
ggcctgggag	agctggcgga	gcaagtggg	caagcagctg	cggcccctgt	acgaggagta	1920
cgtggtgctg	aagaacgaga	tggccagggc	caaccactac	gaggactacg	gcgactactg	1980
gagaggcgac	tacgaagtga	acggcgtgga	cggctacgac	tacagcagag	gccagctgat	2040
cgaggacgtg	gagcacacct	tcgaggagat	caagcctctg	tacgagcacc	tgacgcctca	2100
cgtgcggggc	aagctgatga	acgcctacc	cagctacatc	agccccatcg	gctgctgccc	2160

cgccccactg	ctggggcgaca	tgtggggcg	gttctggacc	aacctgtaca	gcctgaccgt	2220
gcccttcggc	cagaagccca	acatcgacgt	gaccgacgcc	atggtggacc	aggcctggga	2280
cgcccagcgg	atcttcaagg	aggccgagaa	gttcttcgtg	agcgtgggcc	tgcccaacat	2340
gaccaggggc	ttttgggaga	acagcatgct	gaccgacccc	ggcaatgtgc	agaaggccgt	2400
gtgccacccc	accgcctggg	acctgggcaa	gggcgacttc	cggatcctga	tgtgcaccaa	2460
agtgaccatg	gacgacttcc	tgaccgcca	ccacgagatg	ggccacatcc	agtacgacat	2520
ggcctacgcc	gcccagccct	tcctgctgcg	gaacggcgcc	aacgagggct	ttcacgaggc	2580
cgtgggcgag	atcatgagcc	tgagcgccgc	cacccccaa	cacctgaaga	gcatggccct	2640
gctgagcccc	gacttccagg	aggacaacga	gaccgagatc	aacttcctgc	tgaagcaggc	2700
cctgaccatc	gtgggacacc	tgcccttcac	ctacatgctg	gagaagtggc	ggtggatggt	2760
gtttaagggc	gagatcccca	aggaccagtg	gatgaagaag	tggtgggaga	tgaagcggga	2820
gatcgtgggc	gtggtggagc	ccgtgcccga	cgacgagacc	tactgcgacc	ccgccagcct	2880
gttcacacgtg	agcaacgact	actccttcat	ccggtactac	acccggaccc	tgtaccagtt	2940
ccagttccag	gagggccctgt	gccaggccgc	caagcacgag	ggccccctgc	acaagtgcga	3000
catcagcaac	agcaccgagg	ccggacagaa	agctgttcaac	atgctgcggc	tgggcaagag	3060
cgagccctgg	accctggccc	tggagaatgt	ggtggggcgc	aagaacatga	atgtgcccgc	3120
cctgctgaac	tacttcgagc	ccctgttcac	ctggctgaag	gaccagaaca	agaacagcct	3180
cgtgggctgg	agcaccgact	ggagccccta	cgccgaccag	agcatcaaag	tgcggatcag	3240
cctgaagggc	gacctggcgc	acaaggccta	cgagtggaac	gacaacgaga	gttaccgtgt	3300
ccggagcagc	gtggcctatg	ccatgcccga	gtacttcctg	aaagtgaaga	accagatgat	3360
cctgttcggc	gaggagagcg	tgagagtggc	caacctgaag	ccccggatca	gcttcaactt	3420
cttcgtgacc	gcccccaaga	acgtgagcga	catcatcccc	cggaccgaag	tggagaaggc	3480
catcaggatg	agccggagcc	gcatcaacga	cgcttcccg	ctgaacgaca	actcccagga	3540
gttctctggc	atccagccca	ccctgggccc	tcccaaccag	ccccccgtga	gcatctggct	3600
gatcgtgttt	ggcgtggtga	tggcgtgat	cgtggtggga	atcgtgatcc	tgatcttcac	3660
gggcatccgg	gaccggaaga	agaagaacaa	ggcccggagc	ggcgagaacc	cctacgccag	3720
catcgatatc	caaagggcg	agaacaaccc	cggcttccag	aacaccgacg	acgtgcagac	3780
cagcttctga	taatctagaa	cgagctcga	ttcgaagcct	ctgcagacgc	gtcgcagtca	3840
tatggatccg	atatcgccgt	ggcggcccga	ggccagccca	aggccgctcc	cagcgtgacc	3900
ctgttcccc	cctcctccga	ggagctgcag	gccaaacaag	ccaccctggt	gtgcctcacc	3960
agcgaactct	accctggcgc	cgtgaccctg	gcctggaag	ccgacagcag	ccccgtgaa	4020
gccggcgtgg	agaccaccac	ccccagcaag	cagagcaaca	acaagtacgc	cgccagcagc	4080
tacctgagcc	tcacccccga	gcagtggaa	agccaccgga	gctacagctg	ccaggtgacc	4140
cacgagggca	gcaccgtgga	gaagaccctg	gccccaccgc	agtgcagcta	atagacttaa	4200
gtttaaaccc	tgatcagcc	tcgactgtgc	cttctagttg	ccagccatct	gttgtttgcc	4260
cctccccctg	gccttccttg	accctggaag	gtgccactcc	caactgtcct	tcctaataaa	4320
atgaggaaat	tgcatcgcac	tgtctgagta	ggtgtcattc	tattctgggg	ggtggggtgg	4380
ggcagggacg	caagggggag	gattgggaag	acaatagcag	gcatgctggg	gatgcccgtg	4440
cctctatggc	ttctgagggc	gaaagaacca	gctggggctc	taggggggat	ccccaccgcg	4500
cctgtagcgg	gcatttaagc	gcggcgggtg	tggtggttac	gcgagcgtg	accgctacac	4560
ttgccagcgc	cctagcgcgc	gctcctttcg	ctttcttccc	ttcctttctc	gccacgttcg	4620
ccggctttcc	ccgtcaagct	ctaaatcggg	ggctcccttt	agggttccga	tttagtgctt	4680
tacggcacct	cgacccccaa	aaacttgatt	aggggtgatg	ttcacgtagt	gggcatcgcg	4740
cctgatagac	ggtttttcgc	cccttgacgt	tggagtccac	gttctttaat	agtggaactc	4800
tgttccaaac	tggacaacaa	ctcaacccta	tctcgggtct	ttcttttgat	ttataagggg	4860
ttttggccat	ttcggcctat	tggtaaaaa	atgagctgat	ttacaaaaaa	tttaacgcga	4920
attaattctg	tggaatgtgt	gtcagttagg	gtgtggaag	tcccaggtct	ccccagcagg	4980
cagaagtatg	caaagcatgc	atctcaatta	gtcagcaacc	aggtgtggaa	agtccccagg	5040
ctccccagca	ggcagaagta	tgcaaagcat	gcatctcaat	tagtcagcaa	ccatagtccc	5100
gcccctaact	ccgccccatc	cgcccctaac	tccgcccagt	tccgcccatt	ctccgcccc	5160
tggtgacta	atTTTTTTT	tttatgcaga	ggccgaggcc	gcctctgcct	ctgagctatt	5220
ccagaagttag	tgaggaggct	tttttgagg	cctaggcttt	tgcaaaaagc	tcccgggagc	5280
ttgtatatcc	atTTTtcgat	ctgatcagca	cgtgatgaaa	aagcctgaac	tcaccgcgac	5340
gtctgtcgag	aagtttctga	tcgaaaagt	cgacagcgtc	tccgacctga	tcagctctc	5400
ggagggcgaa	gaatctcgtg	ctttcagctt	cgatgtagga	gggctgggat	atgtcctgcg	5460
ggtaaatagc	tgccgccgatg	gtttctacaa	agatcgttat	gtttatcggc	actttgcatc	5520
ggcccgctc	ccgattccgg	aagtgttga	cattggggaa	ttcagcgaga	gcctgacct	5580
ttgcatctcc	cgccgtgcac	agggtgtcac	ggtgcaagac	ctgcctgaaa	ccgaactgcc	5640
cgctgttctg	cagccggtcg	cggaggccca	ggatgcgatc	gctgcggccg	atcttagcca	5700
gacgagcggg	ttcggcccat	tcggaccgca	aggaatcgtg	caatacacta	catggcgtga	5760
tttcatatgc	gcgattgctg	atccccatgt	gtatcactgg	caaaactgtg	tggacgacac	5820
cgtcagtgcg	tcogtcgcgc	aggctctcga	tgagctgatg	ctttgggccc	aggactgccc	5880
cgaagtccgg	cacctcgtgc	acgcggattt	cggctccaac	aatgtcctga	cggacaatgg	5940
ccgcataaca	gcggtcattg	actggagcga	ggcagtgctc	gggattcccc	aatcagaggt	6000

cgccaacatc	ttcttctgga	ggccgtggtt	ggcttgtatg	gagcagcaga	cgcgctactt	6060
cgagcggagg	catccggagc	ttgcaggatc	gccgcggctc	cgggcgata	tgtcccgc	6120
ttgctttgac	caactctatc	agagcttgg	tgacggcaat	ttcgatgatg	cagcttgggc	6180
gcagggtcga	tgcgacgcaa	tcgtccgatc	cggagccggg	actgtcgggc	gtacacaaat	6240
cgcccgcaga	agcgcggccg	tctggaccga	tggtctgtgta	gaagtactcg	ccgatagtgg	6300
aaaccgacgc	cccagcactc	gtccgagggc	aaaggaatag	cacgtgctac	gagatttcga	6360
ttccaccgac	gccttctatg	aaagtttgg	cttcggaatc	gttttcggg	acgccggctg	6420
gatgatcctc	gacgcggggg	atctcatgct	ggagtcttct	gcccacccca	acttgtttat	6480
tgacagcttat	aatggttaca	aataaagcaa	tagcatcaca	aatttcacaa	ataaagcatt	6540
tttttcaactg	cattctagtt	gtggtttgtc	caaactcatc	aatgtatctt	atcatgtctg	6600
tataccgctc	acctctagct	agagcttggc	gtaatcatgg	tcatagctgt	ttcctgtgtg	6660
aaattgttat	ccgctcacia	ttccacacia	catacgagcc	ggaagcataa	agtgtaaagc	6720
ctggggtgcc	taatgagtga	gctaactcac	attaattgctg	ttgctctcac	tgcccgcctt	6780
ccagtcggga	aacctgtcgt	gccagctgca	ttaatgaatc	ggccaacgcg	cggggagagg	6840
cggtttgcgt	attgggcgct	cttcgcctc	ctcgcctact	gactcgcctg	gctcggctgt	6900
tcggctgcgg	cgagcgggat	cagctcactc	aaagcgggta	atacggttat	ccacagaatc	6960
aggggataac	gcaggaaga	acatgtgagc	aaaagccag	caaaaggcca	ggaaccgtaa	7020
aaagcccgca	ttgctggcgt	ttttccatag	gctccgcccc	cctgacgagc	atcacaaaaa	7080
tcgacgctca	agtcaaggt	ggcgaaacc	gacaggacta	taaagatacc	agggctttcc	7140
ccctcgaagc	tccctcgtgc	gctctcctgt	tccgaccctg	ccgcttaccg	gatacctgtc	7200
cgctttctc	ccttcgggaa	gctggtgct	ttctcatagc	tcacgctgta	ggtatctcag	7260
ttcgggtgtag	gtcgttcgct	ccaagctggg	ctgtgtgcac	gaacccccg	ttcagcccga	7320
ccgctgcgcc	ttatccggta	actatcgtct	tgagtccaac	ccggtaaagc	acgacttatc	7380
gccactggca	gcagccactg	gtaacaggat	tagcagagcg	aggtagttag	cggtgtctac	7440
agagttcttg	aagtgtggc	ctaactacgg	ctacactaga	agaacagtat	ttggtatctg	7500
cgctctgctg	aagccagtta	ccttcggaaa	aagagttggt	agctcttgat	ccggcaaaaca	7560
aaccaccgct	ggtagcggtt	ttttgtttg	caagcagcag	attacgcgca	gaaaaaaag	7620
atctcaagaa	gtcctttga	tctttctac	gggtctgac	gctcagtgga	acgaaaaactc	7680
acgttaaggg	attttggta	tgagattatc	aaaaaggatc	ttcacctaga	tccttttaaa	7740
ttaaaaatga	agttttaaat	caatctaaag	tatatatgag	taaacttggg	ctgacagtta	7800
ccaatgctta	atcagtgagg	cacctatctc	agcgatctgt	ctatttcggt	catccatagt	7860
tgctgactc	cccctcgtgt	agataactac	gatacgggag	ggcttaccat	ctggcccag	7920
tgctgcaatg	ataccgcgag	accacgctc	accggtcca	gatttatcag	caataaacca	7980
gccagccgga	agggccgagc	gcagaagtgg	tcctgcaact	ttatccgctt	ccatccagtc	8040
tattaattgt	tgccgggaag	ctagagtaag	tagttcgcca	gttaaatagt	tgcgcaacgt	8100
tgttgccatt	gctacaggca	tcgtggtgct	acgctcgtcg	tttggtatgg	cttcattcag	8160
ctccggttcc	caacgatcaa	ggcgagttac	atgatcccc	atggtgtgca	aaaaagcgg	8220
tagctccttc	ggtcctccga	tcgttgcag	aagtaagttg	gccgcagtg	tactactcat	8280
ggttatggca	gcaactgcata	attctcttac	tgatcatgcca	tcctgtaagt	gcttttctgt	8340
gactggtgac	tactcaacca	agtcattctg	agaatagtg	atgcccgcgac	cgagttgctc	8400
ttgcccggcg	tcaatacggg	ataataccgc	gccacatagc	agaactttaa	aagtgtctcat	8460
cattggaaaa	cgttcttcgg	ggcgaaaact	ctcaaggatc	ttaccgctgt	tgagatccag	8520
ttcgatgtaa	cccactcgtg	cacccaactg	atcttcagca	tcttttactt	tcaccagcgt	8580
ttctgggtga	gcaaaaaacag	gaaggcaaaa	tgccgcaaaa	aagggaataa	ggcgacacg	8640
gaaatgttga	atactcatac	tcttcctttt	tcaatattat	tgaagcattt	atcagggtta	8700
ttgtctcatg	agcggataca	tatttgaatg	tatttagaaa	aataaaciaa	taggggttcc	8760
gcgcacattt	ccccgaaaag	tgccacctga	cg			8792

Последовательность незрелого НА от штамма вируса А/Гонконг/1/1968 (SEQ ID NO: 190)

MKTI IALSYIFCLALGQDLPGNDNSTATLCLGHNAVPNGTLVKTIITDDQIEVTNATELVQSSS
 TGKICNNPHRILLDGIDCTLIDALLGDPHCDVFNQNETWDLFVERSKAFSNCYPYDVPDYASLRS
 LVASSGTLEFITEGFTWTGVTQNGGSNACKRGPSSGFFSRLNWLTKSGSTYPVLNVTMPNNDN
 FDKLYIWGVHHPSTNQEQTSLYVQASGRVTVSTRSSQQTIIIPNIGSRPWVRLSSRSISYWTI
 VKPGDVLVINSNGNLIAPRGYFKMRTGKSSIMRSDAPIDTCISECITPNGSIIPNDKPFQNVNK
 IITYGACPKYVKQNTLKLATGMRNVPEKQTRGLFGAIAAGFIENGWEGMIDGWYGFHRHQNSEGTG
 QAADLKSQAADIDQINGKLNRVIEKTNEKFHQIEKEFSEVEGRIQDLEKYVEDTKIDLWSYNA
 ELLVALENQHTIDLTDSEMKNLFEKTRRQLRENAEDMGNGCFKIYHKCDNACIESIRNGTYDH
 DVYRDEALNNRFQIKGVELKSGYKDWILWISFAISCFLLCVLLGFIMWACQRGNIRCNICI

СПИСОК ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

<110> Crucell Holland BV

<120> ЧЕЛОВЕЧЕСКИЕ СВЯЗЫВАЮЩИЕ МОЛЕКУЛЫ, ОБЛАДАЮЩИЕ СПОСОБНОСТЬЮ НЕЙТРАЛИЗОВЫВАТЬ ВИРУС ГРИППА H3N2, И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

<130> 0170 WO 00 ORD

<140> PCT/EP2010/056217

<141> 2010-05-06

<160> 260

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 339

<212> ДНК

<213> Искусственная

<220>

<223> SC08-001 VH ДНК

<400> 1

gaggtgcagc tgggtggagtc tggaggaggc ctgatccagc cggggggggtc cctgagactc	60
tcctgtgcag cctctggatt caccgtcagt agcaactacg tgagctgggt ccgccaggcc	120
ccaggaagg ggctggagtg gctctcactt atttacacgg gtggtaccac atactacgca	180
gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaact ccaagaatac ggtgtttctt	240
caaatgaaca gcctgagagc cgaggacgcg gccatgtatt actgtgagag agtgtcagca	300
ttacggtttt tgcagtggcc aaactacgcg atggacgtc	339

<210> 2

<211> 113

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> SC08-001 VH Белок

<400> 2

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

029939

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Phe Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Ala Ala Met Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Val Ser Ala Leu Arg Phe Leu Gln Trp Pro Asn Tyr Ala Met Asp
100 105 110

Val

<210> 3
<211> 303
<212> ДНК
<213> Искусственная

<220>
<223> SC08-001 VL ДНК

<400> 3
cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacggtc gatcaccatc 60
tcctgctctg gaaccgcgag tgacgttggt ggtcataatt atgtctcctg gtaccaacaa 120
caccaggca aagccccaa actcatgatt tatgagggtca gtcacggcc ctcaggggtt 180
tctaatcgct tctctggctc caagtctggc agcacggcct ccctgaccat ctctggcctc 240
cagtctgagg acgaggctga ttattactgc agctcttata caggtgaagg cccctagga 300
gtg 303

<210> 4
<211> 101
<212> Белок
<213> Искусственная

<220>
<223> SC08-001 VL Белок

<400> 4

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

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Ser Gly Thr Arg Ser Asp Val Gly Gly His
20 25 30

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

Met Ile Tyr Glu Val Ser His Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60

029939

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

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

Gly Pro Leu Gly Val
100

<210> 5
<211> 342
<212> ДНК
<213> Искусственная

<220>
<223> SC08-003 VH ДНК

<400> 5
gaggtgcagc tgggtggagac cgggggagac ttggtccagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgttcag cctctgaatt cagcttcagt agttattgga tgagctgggt ccgccaggct 120
ccagggaaag ggctggagtg ggtggccaac atgaagcaag atggaagtga gaagtactat 180
gtggactctg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcattatat 240
ctgcaaatga acagcctgag aggcgaggac acggctgtgt attactgtgc gaggggttcc 300
tgtgacgatt cttggactgg ttgtcatgat gcttttgaca tc 342

<210> 6
<211> 114
<212> Белок
<213> Искусственная

<220>
<223> SC08-003 VH Белок

<400> 6

Glu Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Asp Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Glu Phe Ser Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Ala Asn Met Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Glu Ser Gly Ser Asp Leu Arg Leu
 85 90 95

Leu

<210> 9

<211> 342

<212> ДНК

<213> Искусственная

<220>

<223> SC08-015 VH ДНК

<400> 9

caggtgcagc tgcaggagtc ggggggagac ttggtccagc ctggggggtc cctgagactc 60
 tcctgttcag cctctgaatt cagcttcagt agttattgga tgagctgggt ccgccaggct 120
 ccagggaaag ggctggagtg ggtggccaac atgaagcaag atggaagtga gaagtactat 180
 gtggactctg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcattatat 240
 ctgcaaatga acagcctgag aggcgaggac acggctgtgt attactgtgc gaggggttcc 300
 tgtgacgatt cttggactgg ttgtcatgat gcttttgaca tc 342

<210> 10

<211> 114

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> SC08-015 VH Белок

<400> 10

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Glu Phe Ser Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

Ala Asn Met Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val 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 Val Tyr Tyr Cys

029939

85

90

95

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

Asp Ile

<210> 11

<211> 288

<212> ДНК

<213> Искусственная

<220>

<223> SC08-015 VL ДНК

<400> 11

gtgttgacgc agccgcctc ggtgtcagtg gcccaggac agacggccaa gattacctgt 60
 gggggagaca acattggaag aaaaagtgtg cactgggtacc agcagaagcc aggcctggcc 120
 cctgtgctgg tcgtcaatga taatagcgac cggccctcag ggatccctgc gcgattctct 180
 ggctccaact ctgggaacac ggccaccctg accatcagca gggtcgaagc cggggatgag 240
 gccgactatt actgtcacgt gtggggtagt agtcgtgacc attatgtc 288

<210> 12

<211> 96

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> SC08-015 VL Белок

<400> 12

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

Lys Ile Thr Cys Gly Gly Asp Asn Ile Gly Arg Lys Ser Val His Trp
 20 25 30

Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Leu Ala Pro Val Leu Val Val Asn Asp Asn
 35 40 45

Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser
 50 55 60

Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly Asp Glu
 65 70 75 80

Ala Asp Tyr Tyr Cys His Val Trp Gly Ser Ser Arg Asp His Tyr Val
 85 90 95

<210> 13
 <211> 342
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

 <220>
 <223> SC08-016 VH ДНК

 <400> 13
 gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggagac ttgggtccagc ctgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgttcag cctctgaatt cagcttcagt agttattgga tgagctgggt ccgccaggct 120
 ccagggaaag ggctggagtg ggtggccaac atgaagcaag atggaagtga gaagtactat 180
 gtggactctg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcattatat 240
 ctgcaaatga acagcctgag aggcgaggac acggctgtgt attactgtgc gaggggttcc 300
 tgtgacgatt cttggactgg ttgtcatgat gcttttgaca tc 342

<210> 14
 <211> 114
 <212> Белок
 <213> Искусственная

 <220>
 <223> SC08-016 VH Белок

<400> 14

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

 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Glu Phe Ser Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

 Ala Asn Met Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val 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 Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

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

 Asp Ile

<210> 15
 <211> 303
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

 <220>
 <223> SC08-016 VL ДНК

 <400> 15
 cagtctgtcg tgacgcagcc gccctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc 60
 tcctgcactg ggagcagctc caacatcggg gcagggttatg atgtacactg gtaccagcag 120
 cttccagga a cagccccaa actcctcatc tatggtaaca acaatcggcc ctccaggggtc 180
 cctgaccgat tctctggatc caggtctggc cctttagccc tcctggccat cactgggctc 240
 caggctgagg atgaggctga ttattactgc cagtcctatg acagcagcct gagtgtttat 300
 gtc 303

<210> 16
 <211> 101
 <212> Белок
 <213> Искусственная

 <220>
 <223> SC08-016 VL Белок

 <400> 16

 Gln Ser Val Val Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
 1 5 10 15

 Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
 20 25 30

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

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

 Ser Gly Ser Arg Ser Gly Pro Leu Ala Leu Leu Ala Ile Thr Gly Leu
 65 70 75 80

 Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser
 85 90 95

 Leu Ser Val Tyr Val
 100

029939

<210> 17
 <211> 342
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

<220>
 <223> SC08-017 VH ДНК

<400> 17
 gaggtgcagc tgggtggagac tgggggagac ttgggtccagc ctgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgttcag cctctgaatt cagcttcagt agttattgga tgagctgggt ccgccaggct 120
 ccagggaaaag ggctggagtg ggtggccaac atgaagcaag atggaagtga gaagtactat 180
 gtggactctg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcattatat 240
 ctgcaaatga acagcctgag aggcgaggac acggctgtgt attactgtgc gaggggttcc 300
 tgtgacgatt cttggactgg ttgtcatgat gcttttgaca tc 342

<210> 18
 <211> 114
 <212> Белок
 <213> Искусственная

<220>
 <223> SC08-017 VH Белок

<400> 18

Glu Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Asp Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Glu Phe Ser Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

Ala Asn Met Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val 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 Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

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

Asp Ile

<210> 19
 <211> 294
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

<220>
 <223> SC08-017 VL ДНК

<400> 19
 tcttctgagc tgactcagga ccctgctgtg tctgtggcct tgggacagac agtcaggatc 60
 acatgccaaag gagacagcct cagaagctat tatgcaagct ggtaccagca gaagccagga 120
 caggcccctg tacttgtcat ctatgctaaa accaaccggc cctcagggat cccagaccga 180
 ttctctggct ccacctcagg aaacactgct tccttgacca tcaactggggc tcaggcggag 240
 gatgaggctg actattactg taactcccgg gacagcagtg gtaaccatgt ggta 294

<210> 20
 <211> 98
 <212> Белок
 <213> Искусственная

<220>
 <223> SC08-017 VL Белок

<400> 20

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

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

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

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

Thr Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu
 65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn His
 85 90 95

Val Val

<210> 21
 <211> 342
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

029939

<220>

<223> SC08-018 VH ДНК

<400> 21

gaggtgcagc tgggtggagac tggggggagac ttgggtccagc ctgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgttcag cctctgaatt cagcttcagt agttattgga tgagctgggt ccgccaggct 120
 ccagggaaag ggctggagtg ggtggccaac atgaagcaag atggaagtga gaagtactat 180
 gtggactctg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcattatat 240
 ctgcaaatga acagcctgag aggcgaggac acggctgtgt attactgtgc gaggggttcc 300
 tgtgacgatt cttggactgg ttgtcatgat gcttttgata tc 342

<210> 22

<211> 114

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> SC08-018 VH Белок

<400> 22

Glu Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Asp Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Glu Phe Ser Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Asn Met Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val 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 Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Ser Cys Asp Asp Ser Trp Thr Gly Cys His Asp Ala Phe
 100 105 110

Asp Ile

<210> 23

<211> 303

<212> ДНК

<213> Искусственная

<220>

<223> SC08-018 VL ДНК

<400> 23

```

cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc      60
tcctgcaactg gaaccagcag tgacgttggt ggttataact atgtctcctg gtaccaacaa      120
caccagggca aagccccc aa actcatgatt tatgagggtca gtcacatcgcc ctcagggggtt      180
tctaatacgct tctctggctc caagtctggc agcacggcct ccctgacat ctctggcctc      240
cagtctgagg acgaggctga ttattactgc agctcttata caggtgaagg ccccttagga      300
gtg                                                                              303

```

<210> 24

<211> 101

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> SC08-018 VL Белок

<400> 24

```

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

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
          20           25           30

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

Met Ile Tyr Glu Val Ser His Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
          50           55           60

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

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

Gly Pro Leu Gly Val
          100

```

<210> 25

<211> 357

<212> ДНК

<213> Искусственная

<220>

029939

<223> SC08-019 VH ДНК

<400> 25

gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtacagc ctgggggggct cctgagactc 60
 tcctgtggag cctctggaat cagcgttagc acttctgcca tgagctgggt ccgccaggtt 120
 ccaggaaggg ggctggagtg ggtctcaggt attagtggta gtggtgctac cacatactac 180
 gcaggctccg tgaagggctg attcaccatc tccagagaca aatccaagaa cacactgcat 240
 ctgcaaatga gcagactgag agccgaggac acggccattt actactgtgc gaaagatacc 300
 tccttgtttg agtatgatac aagtggtttt acggctcccg gcaatgcttt tgatatac 357

<210> 26

<211> 119

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> SC08-019 VH Белок

<400> 26

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 Gly Ala Ser Gly Ile Ser Val Ser Thr Ser
 20 25 30

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

Ser Gly Ile Ser Gly Ser Gly Ala Thr Thr Tyr Tyr Ala Gly Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Lys Ser Lys Asn Thr Leu His
 65 70 75 80

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

Ala Lys Asp Thr Ser Leu Phe Glu Tyr Asp Thr Ser Gly Phe Thr Ala
 100 105 110

Pro Gly Asn Ala Phe Asp Ile
 115

<210> 27

<211> 294

<212> ДНК

<213> Искусственная

029939

<220>

<223> SC08-019 VL ДНК

<400> 27

gacatccagw tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtagatga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc ggctatttaa attggtatca acagaaacca 120
 gggaaagccc ctaacctcct gatctatggt gcatccactt tgcagagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcaccag tctgcaacct 240
 gaagactatg caacttacta ctgtcaacag atttacacct cccctccgta cgct 294

<210> 28

<211> 98

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> SC08-019 VL Белок

<220>

<221> misc_признак

<222> (4)..(4)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 28

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

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

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

Tyr Gly 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 Thr Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Tyr Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Tyr Thr Ser Pro Pro
 85 90 95

Tyr Ala

<210> 29

<211> 333

<212> ДНК

<213> Искусственная

029939

<220>

<223> SC08-020 VH ДНК

<400> 29

caggtacagc tgcagcagtc aggagctgag gtgaagaccc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgcaagg cctctggata cacctttacc aggtttggtg tcagctggat acgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gattggatgg atcagcgctt acaatgggtga cacatactat 180
gcacagaagt tccaggccag agtcaccatg accacagaca catccacgac cacagcctac 240
atggagatga ggagcctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagagaaccc 300
cccccttttt acagcagctg gtctcttgac aac 333

<210> 30

<211> 111

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> SC08-020 VH Белок

<400> 30

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

<210> 31

<211> 294

<212> ДНК

<213> Искусственная

<220>

<223> SC08-020 VL ДНК

<400> 31
 gaaattgtgw tgacrcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
 ctctcctgca gggccagtca gagtggttagc atgaactact tagcctgggt ccagcagaaaa 120
 cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcggtccc gcagggccac tggcatcccc 180
 gacaggatca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
 cctgcagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagtatggta cctcacctcg gacg 294

<210> 32
 <211> 98
 <212> Белок
 <213> Искусственная
 <220>
 <223> SC08-020 VL Белок

<220>
 <221> misc_признак
 <222> (4)..(4)
 <223> Xaa может представлять собой любую природную аминокислоту

<400> 32
 Glu Ile Val Xaa 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 Ser Val Ser Met Asn
 20 25 30
 Tyr Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Gly Ala Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Ile Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
 65 70 75 80
 Pro Ala Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Thr Ser Pro
 85 90 95

Arg Thr

<210> 33
 <211> 330
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

<220>

029939

<223> SC08-021 VH ДНК

<400> 33

```

gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttgatacagc ctggggggggtc cctgagactc      60
tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc gcctatgcca tgaactgggt ccgccaggct      120
ccaggaaggg ggctggagtg ggtctcagct attggtggta gtggcggttag cacatactac      180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca actccaagaa gatcctgtat      240
ctgcaaatga acggcctgag agccgaggac acggccatat attactgtgc gaaaggccgg      300
gattggactg gggggttactt ctttgactcc      330

```

<210> 34

<211> 110

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> SC08-021 VH Белок

<400> 34

```

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

```

```

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ala Tyr
          20           25           30

```

```

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

```

```

Ser Ala Ile Gly Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
          50           55           60

```

```

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Lys Ile Leu Tyr
65           70           75           80

```

```

Leu Gln Met Asn Gly Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
          85           90           95

```

```

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

```

<210> 35

<211> 309

<212> ДНК

<213> Искусственная

<220>

<223> SC08-021 VL ДНК

<400> 35

029939

gacatccagw tgaccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60
atcaactgca agtccagcca gagtattttc tacagctcca acaataagaa ctacttaact 120
tggtaccagc agaaaccagg acagcctcct aagctgctca tttactgggc atctaccggg 180
gaatccggag tcctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240
atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcagcaata ctatagtatt 300
ccctacact 309

<210> 36
<211> 103
<212> Белок
<213> Искусственная

<220>
<223> SC08-021 VL Белок

<220>
<221> misc_feature
<222> (4)..(4)
<223> Xaa может представлять собой любую природную аминокислоту

<400> 36

Asp Ile Gln Xaa 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 Ser Ile Phe Tyr Ser
20 25 30

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

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

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr 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 Ile Pro Tyr Thr
100

<210> 37
<211> 330
<212> ДНК
<213> Искусственная

<220>

029939

<223> SC08-038 VH ДНК

<400> 37

```
gaggtgcagc tgggtggactc tggggggaggc ttggtacagc cggggggggtc cctgagactc      60
tcctgtgcag cctctggatt cgccttttagc ggctatgcca tgagctgggt cgcgccaggt      120
ccaggaaggg ggctggagtg ggtctcagat attggtggta gtggtggtgg cacatactac      180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca atgccaagaa cacgctgtat      240
ctgcaaatga atagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaagcagt      300
agctgggacc gggcctactt ctttgactcc      330
```

<210> 38

<211> 109

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> SC08-038 VH Белок

<400> 38

```
Val Gln Leu Val Asp Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser
 1                    5                    10                    15
```

```
Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe Ser Gly Tyr Ala
                20                    25                    30
```

```
Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser
          35                    40                    45
```

```
Asp Ile Gly Gly Ser Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50                    55                    60
```

```
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65                    70                    75                    80
```

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

```
Lys Ser Ser Ser Trp Asp Arg Ala Tyr Phe Phe Asp Ser
          100                    105
```

<210> 39

<211> 309

<212> ДНК

<213> Искусственная

<220>

<223> SC08-038 VL ДНК

<400> 39

029939

gatattgtga tgacccagac tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60
 atcaactgca agtccagcca gagtgtttta tacagctcca tccataagaa ctacttagcc 120
 tgggtaccagc aaaaaccagg acagcctcct aagctgctca tttactgggc atctaccggg 180
 gaatccgggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240
 atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcagcaata ttatagatct 300
 cctccaact 309

<210> 40
 <211> 103
 <212> Белок
 <213> Искусственная

<220>
 <223> SC08-038 VL Белок

<400> 40

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

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

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

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

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr 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 Arg Ser Pro Pro Thr
 100

<210> 41
 <211> 336
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

<220>
 <223> SC08-039 VH ДНК

<400> 41

cagctgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
 acgtgcactg tctctggcgg ctccatcggt agttactact ggagctggat acggcagccc 120

029939

ccaggaagg gactggagt gattggatat atctattacc gtgggggtac cagttacaac 180
 ccctccctca agagtcgagt caccatatca gtcgacacgt ccaagagcca gttcaccttg 240
 aagctgaact ctgtgaccgc tgcggacacg gccgtgtatt actgtgagag aaaggactgg 300
 ggatcagcgg ccggaagtgt ctggtacttc gatctc 336

<210> 42
 <211> 112
 <212> Белок
 <213> Искусственная
 <220>
 <223> SC08-039 VH Белок
 <400> 42

Gln Leu 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 Gly Ser 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 Arg Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
 50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Ser Gln Phe Thr Leu
 65 70 75 80

Lys Leu Asn Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

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

<210> 43
 <211> 300
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

<220>
 <223> SC08-039 VL ДНК

<400> 43
 cagtctgccc tgactcagcc tccctccgcg tccgggtctc ctggacagtc agtcaccatc 60
 tcctgcactg gaaccagcag tgacgttggt ggttataatt atgtctcctg gtaccaacaa 120
 caccaggca aagccccc aa actcatgatt cgtgagggtca gtaagcggcc ctcaggggtc 180

029939

cctgatcgct tctctgggtc caagtctggc aacacggcct ccctgaccgt ctctgggctc 240
 caggctgagg atgaggctga atactactgc agctcgtatg caggcagcaa caatctgata 300

<210> 44
 <211> 100
 <212> Белок
 <213> Искусственная

<220>
 <223> SC08-039 VL Белок

<400> 44

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Ser Pro Gly Gln
 1 5 10 15

Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
 20 25 30

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

Met Ile Arg Glu Val Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
 50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Val Ser Gly Leu
 65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Ala Gly Ser
 85 90 95

Asn Asn Leu Ile
 100

<210> 45
 <211> 333
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

<220>
 <223> SC08-040 VH ДНК

<400> 45

gaggtgcagc tgggtggagtc aggggggaggc gtgggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cgtctggatt cgctttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
 ccaggcaagg gactggagtg ggtgacctt atatggtatg atggaagtaa taaacactat 180
 gcagactcca tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaatga gcagcctgag agccgaggac acggctgttt attactgtgc gagagatggg 300
 ggatatagca cctgggaatg gtacttcgat ctc 333

<210> 46
 <211> 111
 <212> Белок
 <213> Искусственная

<220>
 <223> SC08-040 VH Белок

<400> 46

Glu 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 Ala 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

Thr Phe Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys His Tyr Ala Asp Ser Met
 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 Ser Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Asp Gly Gly Tyr Ser Thr Trp Glu Trp Tyr Phe Asp Leu
 100 105 110

<210> 47
 <211> 291
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

<220>
 <223> SC08-040 VL ДНК

<400> 47

gaaattgtgc tgactcagtc tccggacttt cagtctgtga ctccaaagga gagagtcacc 60
 atcacctgcc gggccagtc gggcattggc agtaacttac actggtacca gcagaaacca 120
 gatcagtctc caaagctcct catcaagtat gcttcccagt ccatcacagg ggtcccctcg 180
 aggttcagtg gcaggggatc tgggacagat ttcaccctca ccatcaatag cctggaagtt 240
 gaagatgctg cagtgtatta ctgtcatcag agtagtagtt taccgctcac t 291

<210> 48
 <211> 97
 <212> Белок

029939

<213> Искусственная

<220>

<223> SC08-040 VL Белок

<400> 48

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys
1 5 10 15

Glu Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Gly Ser Asn
20 25 30

Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

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

Arg Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Val
65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln Ser Ser Ser Leu Pro Leu
85 90 95

Thr

<210> 49

<211> 333

<212> ДНК

<213> Искусственная

<220>

<223> SC08-041 VH ДНК

<400> 49

caggtgcagc tgggtgcagtc tggcgctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgccagg cttcgggtta cacctttacc tcctttggtc tcagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcctgagtg gatgggatgg atcagcgctt acaatgggtga aataaagtat 180
gcacagaagt tccagggcag agtctccatg accacagaca catcaacgag gacagcctac 240
atggaggtgc ggagcctcag acctgacgac acggccgtat actactgtgc gagagagccc 300
cccctgtatt tcagtagctg gtctctcgac ttc 333

<210> 50

<211> 111

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

029939

<223> SC08-041 VH Белок

<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 Gln Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Phe
20 25 30

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

Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Glu Ile Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Glu Pro Pro Leu Tyr Phe Ser Ser Trp Ser Leu Asp Phe
100 105 110

<210> 51

<211> 294

<212> ДНК

<213> Искусственная

<220>

<223> SC08-041 VL ДНК

<400> 51

gaaattgtgt tgacgcagtc tccagggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agcaactact tagcctgggt ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcaa ggagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtggt gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagtatgata gctcacctcg gacg 294

<210> 52

<211> 98

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> SC08-041 VL Белок

<400> 52

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

029939

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

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

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

Gln Asp Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ala Arg Thr Ser Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Ala Ser Trp Asp Ala Arg Gly Trp Ser Gly Tyr
 100 105 110

<210> 55

<211> 309

<212> ДНК

<213> Искусственная

<220>

<223> SC08-043 VL ДНК

<400> 55

gacatccagw tgaccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcca gagggccacc 60

atcaactgca agtccagcca gagtgttttt tccagctcca ccaataagaa ctacttagct 120

tggtaccagc agaaaccagg acagcctcct aagggtgctaa tttactggtc atctaccgg 180

gaatccgggg tcctgaccg attcagtgcc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240

atcagcagcc tgcaggctgc agatgtggca gtttattact gtcaccaata ttatactgct 300

ccgtggacg 309

<210> 56

<211> 103

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> SC08-043 VL Белок

<220>

<221> misc_feature

<222> (4)..(4)

<223> Xaa может представлять собой любую природную аминокислоту

<400> 56

Asp Ile Gln Xaa Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly

029939

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

Arg Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45

Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Asn Asp Glu Thr Ser Tyr Arg Thr Ser
 50 55 60

Leu Lys Arg Arg Leu Thr Ile Ser Gln Asp Ile Ser Lys Ser Gln Val
 65 70 75 80

Val Leu Ser Met Thr Asn Val Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Phe
 85 90 95

Cys Ala Arg Ile Gly Ser Gly Tyr Glu Ser Ser Ala Tyr Ser Thr Trp
 100 105 110

Leu Asp Pro
 115

<210> 59
 <211> 294
 <212> ДНК
 <213> Искусственная Sequence

<220>
 <223> SC08-049 VL ДНК

<400> 59
 cagtctgtgc tgactcagcc accctcgggtg tcagtggccc cagggcagac ggccaggctc 60
 acctgtgagg gagacacaat tggcagtaaa agtgtgcact ggtaccagca gaggccaggc 120
 caggcccctg tgttggtcgt ctataatgat cgcgaccggc cctcagggat ccctgagcga 180
 ttctctggct ccaactctgg gcgcacggcc accctgacca tcagcagggt cgaagccggg 240
 gatgaggccg actatttctg tcagggtgtgg gagagtggag gtgatcagac tgtc 294

<210> 60
 <211> 98
 <212> Белок
 <213> Искусственная

<220>
 <223> SC08-049 VL Белок

<400> 60

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

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

029939

20 25 30

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

Asn Asp Arg Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

Asn Ser Gly Arg Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
 65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Val Trp Glu Ser Gly Gly Asp Gln
 85 90 95

Thr Val

<210> 61
 <211> 339
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

<220>
 <223> SC08-050 VH ДНК

<400> 61
 cagggtgcagc tacagcagtg gggcgcagga ctattgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
 acctgcgctg tgtatgggtg gtcgttcact gatcactact ggagctggat ccgccagtcc 120
 ccaggaagg ggctggagt gattggtgaa gtcgttcata gtggagacac caactacacc 180
 ccgtccctca gaaatcgagt ttccatatcg gtcgactcgt ccaagaatca gttctccctg 240
 aggctggggg ctgtgaccgc cgcggacacg gctgtctatt actgtgagag aggcaggaat 300
 gttgcggtag ttggtgctat tcagaggcac tatgactac 339

<210> 62
 <211> 113
 <212> Белок
 <213> Искусственная

<220>
 <223> SC08-050 VH Белок

<400> 62

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 Phe Thr Asp His
 20 25 30

029939

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Glu Val Val His Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Thr Pro Ser Leu Arg
 50 55 60

Asn Arg Val Ser Ile Ser Val Asp Ser Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
 65 70 75 80

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

Arg Gly Arg Asn Val Ala Val Val Gly Ala Ile Gln Arg His Tyr Asp
 100 105 110

Tyr

<210> 63

<211> 294

<212> ДНК

<213> Искусственная

<220>

<223> SC08-050 VL ДНК

<400> 63

gaaattgtga tgacgcagtc tccagggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcctgca gggccagtca gagtgtagc agaaactact tagcctggta ccagcagaag 120

cctggcctgg ctcccaggct cctcatctct ggtgcatcga gcagggccac tggcgtccca 180

gacaggttca gtggcagggg gtctgacaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgccgtgta ttactgtcag cactatgggt cggtccttgt agct 294

<210> 64

<211> 98

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> SC08-050 VL Белок

<400> 64

Glu Ile Val Met 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 Ser Val Ser Arg Asn
 20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Leu Ala Pro Arg Leu Leu

029939

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

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Leu Val
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Thr Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val His Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Ala Met Ala Ala Tyr Asn Tyr Asp Arg Gly Gly Tyr Asn
100 105 110

Asp Tyr Tyr Tyr Met Asp Val
115

<210> 67
<211> 291
<212> ДНК
<213> Искусственная

<220>
<223> SC08-052 VL ДНК

<400> 67
gacatccagt tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gggcattaac acctatttaa attggtatca gcaaaaacca 120
gggaaggccc ctaaggtcct gatctttgct gcatccactt tgcaaagtgg agtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggttc tgggacagaa ttcactctca acatcaacaa tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta ctgcatcac t 291

<210> 68
<211> 97
<212> Белок
<213> Искусственная

<220>
<223> SC08-052 VL Белок

<400> 68

Asp Ile Gln Leu 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 Asn Thr Tyr
20 25 30

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

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

029939

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Asn Asn Met Leu Tyr
65 70 75 80

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

Val Arg Asp Gly Gly Tyr Ser Thr Trp Glu Trp Tyr Phe Asp Leu
100 105 110

<210> 71

<211> 291

<212> ДНК

<213> Искусственная

<220>

<223> SC08-055 VL ДНК

<400> 71

gaaattgtgc tgactcagtc tccagacttt cagtctgtgg ctccaaagga gaaagtcacc 60
atcacctgcc gggccagtcg gagcattggt agtgacttgc actggtttca gcagaggcca 120
gatcagtctc caaagctcct catcaagttt gcttcccagt ccatgtcagg ggtcccctcg 180
aggttcagtg gcagtgggtc tgggagagat ttcaccctca ccatcagtag cctggaggct 240
gaagatgctg ctacgtatta ctgtcatcag agtagtagtt taccgctcac t 291

<210> 72

<211> 97

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> SC08-055 VL Белок

<400> 72

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

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Arg Ser Ile Gly Ser Asp
20 25 30

Leu His Trp Phe Gln Gln Arg Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Phe Ala Ser Gln Ser Met Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Arg Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala
65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Ser Ser Ser Leu Pro Leu

029939

85

90

95

Thr

<210> 73

<211> 348

<212> ДНК

<213> Искусственная

<220>

<223> SC08-057 VH ДНК

<400> 73

gagggtgcagc tgggtggagtc tggaggaggc ttgggtccaac ctgggggggctc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggggtt caccgacagt gtcattcttca tgagttgggt cgcaccaggct 120
 ccaggaagg ggctggagtg tgtctcaatt atttatatcg atgattccac atactacgca 180
 gactccgtga agggccgatt caccatctcc agacacaatt ccatggggcac agtgtttctt 240
 gaaatgaaca gcctgagacc tgacgacacg gccgtctatt actgtgacag agagagcgga 300
 gactttggtg accaaacggg tccttatcat tactacgcta tggacgctc 348

<210> 74

<211> 116

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> SC08-057 VH Белок (

<400> 74

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

029939

Thr Glu Ser Gly Asp Phe Gly Asp Gln Thr Gly Pro Tyr His Tyr Tyr
 100 105 110

Ala Met Asp Val
 115

<210> 75
 <211> 300
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

<220>
 <223> SC08-057 VL ДНК

<400> 75
 cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60
 tcctgcactg gaagcagcgg tgacattggt ggttataacg ctgtctcctg gtaccaaacac 120
 caccaggca aagccccaa actgatgatt tatgagggtca ctagtcggcc ctcagggggtt 180
 tccgatcgct tctctgcgtc caggtctggc gacacggcct cctgactgt ctctgggtctc 240
 caggctgagg acgagggtca ctattactgc tgctcatttg cagacagcaa cattttgatt 300

<210> 76
 <211> 100
 <212> Белок
 <213> Искусственная

<220>
 <223> SC08-057 VL Белок

<400> 76

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

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Gly Asp Ile Gly Gly Tyr
 20 25 30

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

Met Ile Tyr Glu Val Thr Ser Arg Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe
 50 55 60

Ser Ala Ser Arg Ser Gly Asp Thr Ala Ser Leu Thr Val Ser Gly Leu
 65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala His Tyr Tyr Cys Cys Ser Phe Ala Asp Ser
 85 90 95

Asn Ile Leu Ile

100

<210> 77
 <211> 336
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

<220>
 <223> SC08-069 VH ДНК

<400> 77
 gaggtgcagc tgggtggagac tggggggagtc gtggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggcctt cacgtttgag gattatacca tgcactgggt ccgtcaagtt 120
 ccggggaagg gtctggagtg ggtcgcgctc attagttggg atggcggtat gtcaaactat 180
 gcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acagcaaaaa ctctctgtat 240
 ctgcaagtga gcagtctgag aagtgaagac accgcctgtg attactgtgc aaaagatata 300
 cgaccccgta tgccagctcg tcactttatg gacgtc 336

<210> 78
 <211> 112
 <212> Белок
 <213> Искусственная

<220>
 <223> SC08-069 VH Белок

<400> 78

Glu Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Val Val Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Glu Asp Tyr
 20 25 30

Thr Met His Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Leu Ile Ser Trp Asp Gly Gly Met Ser Asn Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Lys Asp Ile Arg Pro Arg Met Pro Ala Arg His Phe Met Asp Val
 100 105 110

029939

<210> 79
 <211> 297
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

<220>
 <223> SC08-069 VL ДНК

<400> 79
 gaaattgtgt tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccggggga aagagccacc 60
 ctctcctgca gggccagtca gaatgtcaac tacaacttag cctggtacca gcagaaacct 120
 ggccaggctc ccaggctcct catctatggt gcatccacca gggccactgg tatcccagac 180
 aggttcagtg gcagtggggc tgggacagag ttcactctca ccatcagcag tctgcagtct 240
 gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag tataataact ggcctccggc gatcact 297

<210> 80
 <211> 99
 <212> Белок
 <213> Искусственная

<220>
 <223> SC08-069 VL Белок

<400> 80

Glu Ile Val Leu 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 Asn Val Asn Tyr Asn
 20 25 30

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

Tyr Val Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp 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 Pro
 85 90 95

Ala Ile Thr

<210> 81
 <211> 5
 <212> Белок
 <213> Искусственная

<220>

<223> HCDR1

<400> 81

Ser Asn Tyr Val Ser

1 5

<210> 82

<211> 16

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> HCDR2

<400> 82

Leu Ile Tyr Thr Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly

1 5 10 15

<210> 83

<211> 16

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> HCDR3

<400> 83

Val Ser Ala Leu Arg Phe Leu Gln Trp Pro Asn Tyr Ala Met Asp Val

1 5 10 15

<210> 84

<211> 14

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> LCDR1

<400> 84

Ser Gly Thr Arg Ser Asp Val Gly Gly His Asn Tyr Val Ser

1 5 10

<210> 85

<211> 7

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> LCDR2

<400> 85

Glu Val Ser His Arg Pro Ser

1 5

<210> 86
 <211> 11
 <212> Белок
 <213> Искусственная

<220>
 <223> LCDR3

<400> 86

Ser Ser Tyr Thr Gly Glu Gly Pro Leu Gly Val
 1 5 10

<210> 87
 <211> 5
 <212> Белок
 <213> Искусственная

<220>
 <223> HCDR1

<400> 87

Ser Tyr Trp Met Ser
 1 5

<210> 88
 <211> 17
 <212> Белок
 <213> Искусственная

<220>
 <223> HCDR2

<400> 88

Asn Met Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 89
 <211> 16
 <212> Белок
 <213> Искусственная

<220>
 <223> HCDR3

<400> 89

Gly Ser Cys Asp Asp Ser Trp Thr Gly Cys His Asp Ala Phe Asp Ile
 1 5 10 15

<210> 90

<211> 11
<212> Белок
<213> Искусственная

<220>
<223> LCDR1

<400> 90

Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val His
1 5 10

<210> 91
<211> 6
<212> Белок
<213> Искусственная

<220>
<223> LCDR2

<400> 91

Asp Ser Ala Arg Pro Ser
1 5

<210> 92
<211> 12
<212> Белок
<213> Искусственная

<220>
<223> LCDR3

<400> 92

Gln Val Trp Glu Ser Gly Ser Asp Leu Arg Leu Leu
1 5 10

<210> 93
<211> 11
<212> Белок
<213> Искусственная

<220>
<223> LCDR1

<400> 93

Gly Gly Asp Asn Ile Gly Arg Lys Ser Val His
1 5 10

<210> 94
<211> 7
<212> Белок
<213> Искусственная

<220>
<223> LCDR2

<400> 94

Asp Asn Ser Asp Arg Pro Ser
1 5

<210> 95

<211> 11

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> LCDR3

<400> 95

His Val Trp Gly Ser Ser Arg Asp His Tyr Val
1 5 10

<210> 96

<211> 14

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> LCDR1

<400> 96

Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly Tyr Asp Val His
1 5 10

<210> 97

<211> 7

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> LCDR2

<400> 97

Gly Asn Asn Asn Arg Pro Ser
1 5

<210> 98

<211> 11

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> LCDR3

<400> 98

Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Ser Val Tyr Val
1 5 10

<210> 99

<400> 103

Thr Ser Ala Met Ser
1 5

<210> 104

<211> 17

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> HCDR2

<400> 104

Gly Ile Ser Gly Ser Gly Ala Thr Thr Tyr Tyr Ala Gly Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 105

<211> 21

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> HCDR3

<400> 105

Asp Thr Ser Leu Phe Glu Tyr Asp Thr Ser Gly Phe Thr Ala Pro Gly
1 5 10 15

Asn Ala Phe Asp Ile
20

<210> 106

<211> 11

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> LCDR1

<400> 106

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 107

<211> 7

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> LCDR2

<400> 107

Gly Ala Ser Thr Leu Gln Ser
1 5

<210> 108

<211> 10

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> LCDR3

<400> 108

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

<210> 109

<211> 5

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> HCDR1

<400> 109

Arg Phe Gly Val Ser
1 5

<210> 110

<211> 17

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> HCDR2

<400> 110

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

Ala

<210> 111

<211> 13

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> HCDR3

<400> 111

029939

Glu Pro Pro Leu Phe Tyr Ser Ser Trp Ser Leu Asp Asn
1 5 10

<210> 112
<211> 13
<212> Белок
<213> Искусственная

<220>
<223> LCDR1

<400> 112

Ala Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Met Asn Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 113
<211> 7
<212> Белок
<213> Искусственная

<220>
<223> LCDR2

<400> 113

Gly Ala Ser Arg Arg Ala Thr
1 5

<210> 114
<211> 9
<212> Белок
<213> Искусственная

<220>
<223> LCDR3

<400> 114

Gln Gln Tyr Gly Thr Ser Pro Arg Thr
1 5

<210> 115
<211> 5
<212> Белок
<213> Искусственная

<220>
<223> HCDR1

<400> 115

Ala Tyr Ala Met Asn
1 5

<210> 116
<211> 17
<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> HCDR2

<400> 116

Ala Ile Gly Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 117

<211> 12

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> HCDR3

<400> 117

Gly Arg Asp Trp Thr Gly Gly Tyr Phe Phe Asp Ser
1 5 10

<210> 118

<211> 17

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> LCDR1

<400> 118

Lys Ser Ser Gln Ser Ile Phe Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15

Thr

<210> 119

<211> 7

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> LCDR2

<400> 119

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 120

<211> 9

<212> Белок
<213> Искусственная

<220>
<223> LCDR3

<400> 120

Gln Gln Tyr Tyr Ser Ile Pro Tyr Thr
1 5

<210> 121
<211> 5
<212> Белок
<213> Искусственная

<220>
<223> HCDR1

<400> 121

Gly Tyr Ala Met Ser
1 5

<210> 122
<211> 17
<212> Белок
<213> Искусственная

<220>
<223> HCDR2

<400> 122

Asp Ile Gly Gly Ser Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 123
<211> 12
<212> Белок
<213> Искусственная

<220>
<223> HCDR3

<400> 123

Ser Ser Ser Trp Asp Arg Ala Tyr Phe Phe Asp Ser
1 5 10

<210> 124
<211> 17
<212> Белок
<213> Искусственная

<220>

<223> LCDR1

<400> 124

Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Ile His Lys Asn Tyr Leu
 1 5 10 15

Ala

<210> 125

<211> 9

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> LCDR3

<400> 125

Gln Gln Tyr Tyr Arg Ser Pro Pro Thr
 1 5

<210> 126

<211> 5

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> HCDR1

<400> 126

Ser Tyr Tyr Trp Ser
 1 5

<210> 127

<211> 16

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> HCDR2

<400> 127

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

<210> 128

<211> 15

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> HCDR3

<400> 128

Lys Asp Trp Gly Ser Ala Ala Gly Ser Val Trp Tyr Phe Asp Leu
 1 5 10 15

<210> 129

<211> 14

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> LCDR1

<400> 129

Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser
 1 5 10

<210> 130

<211> 7

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> LCDR2

<400> 130

Glu Val Ser Lys Arg Pro Ser
 1 5

<210> 131

<211> 10

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> LCDR3

<400> 131

Ser Ser Tyr Ala Gly Ser Asn Asn Leu Ile
 1 5 10

<210> 132

<211> 5

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> HCDR1

<400> 132

Ser Tyr Gly Met His
 1 5

<210> 133

<220>
 <223> LCDR3

<400> 137

His Gln Ser Ser Ser Leu Pro Leu Thr
 1 5

<210> 138
 <211> 5
 <212> Белок
 <213> Искусственная

<220>
 <223> HCDR1

<400> 138

Ser Phe Gly Leu Ser
 1 5

<210> 139
 <211> 17
 <212> Белок
 <213> Искусственная

<220>
 <223> HCDR2

<400> 139

Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Glu Ile Lys Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15

Gly

<210> 140
 <211> 13
 <212> Белок
 <213> Искусственная

<220>
 <223> HCDR3

<400> 140

Glu Pro Pro Leu Tyr Phe Ser Ser Trp Ser Leu Asp Phe
 1 5 10

<210> 141
 <211> 13
 <212> Белок
 <213> Искусственная

<220>
 <223> LCDR1

<400> 141

Ala Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 142

<211> 7

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> LCDR2

<400> 142

Gly Ala Ser Arg Arg Ala Thr
1 5

<210> 143

<211> 9

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> LCDR3

<400> 143

Gln Gln Tyr Asp Ser Ser Pro Arg Thr
1 5

<210> 144

<211> 5

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> HCDR1

<400> 144

Ala Tyr Ser Met His
1 5

<210> 145

<211> 17

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> HCDR2

<400> 145

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

Asp

<210> 146
 <211> 12
 <212> Белок
 <213> Искусственная

<220>
 <223> HCDR3

<400> 146

Gly Ala Ser Trp Asp Ala Arg Gly Trp Ser Gly Tyr
 1 5 10

<210> 147
 <211> 17
 <212> Белок
 <213> Искусственная

<220>
 <223> LCDR1

<400> 147

Lys Ser Ser Gln Ser Val Phe Ser Ser Ser Thr Asn Lys Asn Tyr Leu
 1 5 10 15

Ala

<210> 148
 <211> 7
 <212> Белок
 <213> Искусственная

<220>
 <223> LCDR2

<400> 148

Trp Ser Ser Thr Arg Glu Ser
 1 5

<210> 149
 <211> 9
 <212> Белок
 <213> Искусственная

<220>
 <223> LCDR3

<400> 149

His Gln Tyr Tyr Thr Ala Pro Trp Thr
 1 5

<210> 150
 <211> 7
 <212> Белок
 <213> Искусственная

<220>
 <223> HCDR1

<400> 150

Asn Thr Arg Met Gly Val Ser
 1 5

<210> 151
 <211> 16
 <212> Белок
 <213> Искусственная

<220>
 <223> HCDR2

<400> 151

His Ile Phe Ser Asn Asp Glu Thr Ser Tyr Arg Thr Ser Leu Lys Arg
 1 5 10 15

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

<220>
 <223> HCDR3

<400> 152

Ile Gly Ser Gly Tyr Glu Ser Ser Ala Tyr Ser Thr Trp Leu Asp Pro
 1 5 10 15

<210> 153
 <211> 11
 <212> Белок
 <213> Искусственная

<220>
 <223> LCDR1

<400> 153

Glu Gly Asp Thr Ile Gly Ser Lys Ser Val His
 1 5 10

<210> 154
 <211> 7
 <212> Белок
 <213> Искусственная

<220>

<223> LCDR2

<400> 154

Asn Asp Arg Asp Arg Pro Ser
1 5

<210> 155

<211> 11

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> LCDR3

<400> 155

Gln Val Trp Glu Ser Gly Gly Asp Gln Thr Val
1 5 10

<210> 156

<211> 5

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> HCDR1

<400> 156

Asp His Tyr Trp Ser
1 5

<210> 157

<211> 16

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> HCDR2

<400> 157

Glu Val Val His Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Thr Pro Ser Leu Arg Asn
1 5 10 15

<210> 158

<211> 16

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> HCDR3

<400> 158

Gly Arg Asn Val Ala Val Val Gly Ala Ile Gln Arg His Tyr Asp Tyr
1 5 10 15

<210> 159
 <211> 12
 <212> Белок
 <213> Искусственная

<220>
 <223> LCDR1

<400> 159

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg Asn Tyr Leu Ala
 1 5 10

<210> 160
 <211> 7
 <212> Белок
 <213> Искусственная

<220>
 <223> LCDR2

<400> 160

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr
 1 5

<210> 161
 <211> 9
 <212> Белок
 <213> Искусственная

<220>
 <223> LCDR3

<400> 161

Gln His Tyr Gly Ser Val Leu Val Ala
 1 5

<210> 162
 <211> 7
 <212> Белок
 <213> Искусственная

<220>
 <223> HCDR1

<400> 162

Ser Gly Thr Tyr Tyr Trp Ser
 1 5

<210> 163
 <211> 16
 <212> Белок
 <213> Искусственная

<220>

<223> HCDR2

<400> 163

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

<210> 164

<211> 20

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> HCDR3

<400> 164

Ala Met Ala Ala Tyr Asn Tyr Asp Arg Gly Gly Tyr Asn Asp Tyr Tyr
 1 5 10 15

Tyr Met Asp Val
 20

<210> 165

<211> 11

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> LCDR1

<400> 165

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Asn Thr Tyr Leu Asn
 1 5 10

<210> 166

<211> 7

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> LCDR2

<400> 166

Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser
 1 5

<210> 167

<211> 9

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> LCDR3

<400> 167

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Ala Ile Thr
1 5

<210> 168
<211> 5
<212> Белок
<213> Искусственная

<220>
<223> HCDR1

<400> 168

Thr Tyr Gly Met His
1 5

<210> 169
<211> 17
<212> Белок
<213> Искусственная

<220>
<223> HCDR2

<400> 169

Phe Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys His Tyr Gln Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 170
<211> 13
<212> Белок
<213> Искусственная

<220>
<223> HCDR3

<400> 170

Asp Gly Gly Tyr Ser Thr Trp Glu Trp Tyr Phe Asp Leu
1 5 10

<210> 171
<211> 11
<212> Белок
<213> Искусственная

<220>
<223> LCDR1

<400> 171

Arg Ala Ser Arg Ser Ile Gly Ser Asp Leu His
1 5 10

<210> 172
 <211> 7
 <212> Белок
 <213> Искусственная

<220>
 <223> LCDR2

<400> 172

Phe Ala Ser Gln Ser Met Ser
 1 5

<210> 173
 <211> 5
 <212> Белок
 <213> Искусственная

<220>
 <223> HCDR1

<400> 173

Val Ile Phe Met Ser
 1 5

<210> 174
 <211> 16
 <212> Белок
 <213> Искусственная

<220>
 <223> HCDR2

<400> 174

Ile Ile Tyr Ile Asp Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
 1 5 10 15

<210> 175
 <211> 19
 <212> Белок
 <213> Искусственная

<220>
 <223> HCDR3

<400> 175

Glu Ser Gly Asp Phe Gly Asp Gln Thr Gly Pro Tyr His Tyr Tyr Ala
 1 5 10 15

Met Asp Val

<210> 176

<211> 14
 <212> Белок
 <213> Искусственная

<220>
 <223> LCDR1

<400> 176

Thr Gly Ser Ser Gly Asp Ile Gly Gly Tyr Asn Ala Val Ser
 1 5 10

<210> 177
 <211> 7
 <212> Белок
 <213> Искусственная

<220>
 <223> LCDR2

<400> 177

Glu Val Thr Ser Arg Pro Ser
 1 5

<210> 178
 <211> 10
 <212> Белок
 <213> Искусственная

<220>
 <223> LCDR3

<400> 178

Cys Ser Phe Ala Asp Ser Asn Ile Leu Ile
 1 5 10

<210> 179
 <211> 5
 <212> Белок
 <213> Искусственная

<220>
 <223> HCDR1

<400> 179

Asp Tyr Thr Met His
 1 5

<210> 180
 <211> 17
 <212> Белок
 <213> Искусственная

<220>
 <223> HCDR2

<400> 180

Leu Ile Ser Trp Asp Gly Gly Met Ser Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 181

<211> 14

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> HCDR3

<400> 181

Asp Ile Arg Pro Arg Met Pro Ala Arg His Phe Met Asp Val
 1 5 10

<210> 182

<211> 11

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> LCDR1

<400> 182

Arg Ala Ser Gln Asn Val Asn Tyr Asn Leu Ala
 1 5 10

<210> 183

<211> 7

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> LCDR2

<400> 183

Val Ala Ser Thr Arg Ala Thr
 1 5

<210> 184

<211> 11

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> LCDR3

<400> 184

Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Pro Ala Ile Thr

1

5

10

<210> 185

<211> 1353

<212> ДНК

<213> Искусственная

<220>

<223> CR6261 НС ДНК

<400> 185

gaggtgcagc tgggtggagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaagtc 60
tcttgcaagg cttctggagg ccccttccgc agctatgcta tcagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcctgagtg gatgggaggg atcatcccta tttttggtac aacaaaatac 180
gcaccgaagt tccagggcag agtcacgatt accgcggacg atttcgcggg cacagtttac 240
atggagctga gcagcctgcg atctgaggac acggccatgt actactgtgc gaaacatatg 300
gggtaccagg tgcgcgaaac tatggacgtc tggggcaaag ggaccacggg caccgtctcg 360
agtgctagca ccaagggccc cagcgtgttc ccctggccc ccagcagcaa gagcaccagc 420
ggcggcacag cgcacctggg ctgcctggtg aaggactact tccccgagcc cgtgaccgtg 480
agctggaaca gcggcgcctt gaccagcggc gtgcacacct tccccgccgt gctgcagagc 540
agcggcctgt acagcctgag cagcgtggtg accgtgcccc gcagcagcct gggcaccagc 600
acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa acgcgtggag 660
cccaagagct gcgacaagac ccacacctgc cccccctgcc ctgcccccca gctgctgggc 720
ggaccctccg tgttcctggt ccccccaag cccaaggaca ccctcatgat cagccggacc 780
cccgaggtga cctgcgtggt ggtggacgtg agccacgagg accccgaggt gaagttcaac 840
tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcacaac gccaaagacca agccccggga ggagcagtac 900
aacagcacct accgggtggt gagcgtgctc accgtgctgc accaggactg gctgaacggc 960
aaggagtaca agtgcaaggt gagcaacaag gccctgcctg cccccatcga gaagaccatc 1020
agcaaggcca agggccagcc ccgggagccc caggtgtaca ccctgcccc cagccgggag 1080
gagatgacca agaaccaggt gtccctcacc tgtctggtga agggcttcta cccagcgcac 1140
atcgccgtgg agtgggagag caacggccag ccgagaaca actacaagac cccccccct 1200
gtgctggaca gcgacggcag cttcttctctg tacagcaagc tcaccgtgga caagagccgg 1260
tggcagcagg gcaacgtggt cagctgcagc gtgatgcacg aggccctgca caaccactac 1320
accagaaga gcctgagcct gagccccggc aag 1353

<210> 186

<211> 451

<212> Белок

<213> Искусственная

029939

<220>

<223> CR6261 HC Белок

<400> 186

Glu Val Gln Leu Val Glu 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 Pro Phe Arg Ser Tyr
 20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Pro Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Thr Lys Tyr Ala Pro Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Asp Phe Ala Gly Thr Val Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Lys His Met Gly Tyr Gln Val Arg Glu Thr Met Asp Val Trp Gly
 100 105 110

Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
 130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly

<220>

<223> CR6261 LC ДНК

<400> 187

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcgcccc caggacagaa ggtcaccatc 60
 tcctgctctg gaagcagctc caacattggg aatgattatg taccctggta ccagcagctc 120
 ccaggaacag cccccaaact cctcatttat gacaataata agcgaccctc agggattcct 180
 gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tgggcatcac cggactccag 240
 actggggagc aggccaacta ttactgcgca acatgggatc gccgcccgac tgcttatggt 300
 gtcttcggcg gagggaccaa gctgaccgtc ctaggtgcgg ccgcaggcca gcccaaggcc 360
 gctcccagcg tgaccctggt cccccctcc tccgaggagc tgcaggccaa caaggccacc 420
 ctgggtgtgcc tcatcagcga cttctaccct ggcgcccgtga ccgtggcctg gaaggccgac 480
 agcagccccg tgaaggccgg cgtggagacc accacccccca gcaagcagag caacaacaag 540
 tacgccgcca gcagctacct gagcctcacc cccgagcagt ggaagagcca ccggagctac 600
 agctgccagg tgaccacga gggcagcacc gtggagaaga ccgtggcccc caccgagtgc 660
 agc 663

<210> 188

<211> 221

<212> Белок

<213> Искусственная

<220>

<223> CR6261 LC Белок

<400> 188

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

029939

Thr Ala Tyr Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
 100 105 110

Ala Ala Ala Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro
 115 120 125

Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu
 130 135 140

Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp
 145 150 155 160

Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln
 165 170 175

Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu
 180 185 190

Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly
 195 200 205

Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
 210 215 220

<210> 189

<211> 10515

<212> ДНК

<213> Искусственная

<220>

<223> Вектор pIg-C911-NCgamma1

<400> 189

tcgacggatc gggagatctc ccgatcccct atggtgcaact ctcaagtaca tctgctctga 60
 tgccgcatag ttaagccagt atctgctccc tgcttgtgtg ttggaggctg ctgagtagtg 120
 cgcgagcaaa atttaagcta caacaaggca aggcttgacc gacaattgca tgaagaatct 180
 gcttaggggtt aggcgttttg cgctgcttcg ctaggtgggc aatattggcc attagccata 240
 ttattcattg gttatatagc ataaatcaat attggctatt ggccattgca tacgttgat 300
 ccatatcata atatgtacat ttatattggc tcatgtccaa cattaccgcc atgttgacat 360
 tgattattga ctagttatta atagtaatca attacggggc cattagttca tagcccatat 420
 atggagttcc gcgttacata acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac 480
 ccccgccat tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc 540
 cattgacgtc aatgggtgga gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg 600
 tatcatatgc caagtagccc ccctattgac gtcaatgacg gtaaattggcc cgcctggcat 660

tatgcccagt	acatgacctt	atgggacttt	cctacttggc	agtacatcta	cgtattagtc	720
atcgctatta	ccatggtgat	gcggttttgg	cagtacatca	atgggcgtgg	atagcggttt	780
gactcacggg	gatttccaag	tctccacccc	attgacgtca	atgggagttt	gttttggcac	840
caaaatcaac	gggactttcc	aaaatgtcgt	aacaactccg	ccccattgac	gcaaatgggc	900
ggtaggcgtg	tacggtggga	ggtctatata	agcagagctc	gtttagttaa	ccgtcagatc	960
gcctggagac	gccatccacg	ctgttttgac	ctccatagaa	gacaccggga	ccgatccagc	1020
ctccgcgggc	gggaacgggtg	cattggaagc	tggcctggat	atcctgactc	tcttaggtag	1080
ccttgcagaa	gttggtcgtg	aggcactggg	caggtaaagta	tcaaggttac	aagacaggtt	1140
taaggagatc	aatagaaact	gggcttgtcg	agacagagaa	gactcctgcg	tttctgatag	1200
gcacctattg	gtcttactga	catccacttt	gcctttctct	ccacaggtgt	ccactcccag	1260
ttcaattaca	gctcgccacc	atgggatgga	gctgtatcat	cctcttcttg	gtactgctgc	1320
tggcccagcc	ggccagtgac	cttgaccggt	gcaccacttt	tgatgatggt	caagctccta	1380
attacactca	acatacttca	tctatgaggg	gggtttacta	tcctgatgaa	atTTTTtagat	1440
cggacactct	ttatttaact	caggatttat	ttcttccatt	ttattctaata	gttacagggg	1500
ttcatactat	taatcatagc	tttggcaacc	ctgtcataacc	ttttaaggat	ggtattttatt	1560
ttgctgccac	agagaaatca	aatgttgtcc	gtggttgggt	ttttggttct	accatgaaca	1620
acaagtcaca	gtcggtgatt	attattaaca	attctactaa	tgttgttata	cgagcatgta	1680
actttgaatt	gtgtgacaac	cctttctttg	ctgtttctaa	acccatgggt	acacagacac	1740
atactatgat	atcagataat	gcatttaatt	gcactttcga	gtacatatct	gatgcctttt	1800
cgcttgatgt	ttcagaaaag	tcaggtaatt	ttaaactactt	acgagagttt	gtgtttaaaa	1860
ataaagatgg	gtttctctat	gtttataagg	gctatcaacc	tatagatgta	gttcgtgatc	1920
taccttctgg	ttttaacact	ttgaaaccta	tttttaagtt	gcctcctggg	attaacatta	1980
caaattttag	agccattctt	acagcctttt	cacctgctca	agacatttgg	ggcacgtcag	2040
ctgcagccta	ttttgttggc	tatttaaagc	caactacatt	tatgctcaag	tatgatgaaa	2100
atggtacaat	cacagatgct	gttgattggt	ctcaaaatcc	acttgctgaa	ctcaaatgct	2160
ctgttaagag	ctttgagatt	gacaaaggaa	tttaccagac	ctctaatttc	agggttgttc	2220
cctcaggaga	tgttgtgaga	ttccctaata	ttacaaactt	gtgtcctttt	ggagaggttt	2280
ttaatgctac	taaattccct	tctgtctatg	catgggagag	aaaaaaaaatt	tctaattgtg	2340
ttgctgatta	ctctgtgctc	tacaactcaa	catttttttc	aacctttaag	tgctatggcg	2400
tttctgccac	taagttgaat	gatctttgct	tctccaatgt	ctatgcagat	tctttttag	2460
tcaagggaga	tgatgtaaga	caaatagcgc	caggacaaac	tggtgttatt	gctgattata	2520

attataaatt gccagatgat ttcattgggtt gtgtccttgc ttggaatact aggaacattg 2580
 atgctacttc aactggtaat tataattata aatataggta tcttagacat ggcaagctta 2640
 ggccctttga gagagacata tctaattgtgc ctttctcccc tgatggcaaa ccttgcaccc 2700
 cacctgctct taattgttat tggccattaa atgattatgg tttttacacc actactggca 2760
 ttggctacca accttacaga gttgtagtac tttcttttga acttttaaat gcaccggcca 2820
 cggtttgtgg accaaaatta tccactgacc ttattaagaa ccagtgtgtc aattttaatt 2880
 ttaatggact cactgggtact ggtgtgttaa ctcttcttc aaagagattt caaccatttc 2940
 aacaatttgg ccgtgatgtt tctgatttca ctgattccgt tcgagatcct aaaacatctg 3000
 aaatattaga catttcacct tgctcttttg ggggtgtaag tgtaattaca cctggaacaa 3060
 atgcttcatc tgaagttgct gttctatata aagatgttaa ctgcactgat gtttctacag 3120
 caattcatgc agatcaactc acaccagctt ggcgcatata ttctactgga aacaatgtat 3180
 tccagactca ggcaggtctg cttataggag ctgagcatgt cgacacttct tatgagtgcg 3240
 acattcctat tggagctggc atttgtgcta gttaccatac agtttcttta ttacgtagta 3300
 ctagccaaaa atctattgtg gcttatacta tgtctttagg tgctgatagt tcaattgctt 3360
 actctaataa caccattgct atacctacta acttttcaat tagcattact acagaagtaa 3420
 tgctgtttc tatggctaaa acctccgtag attgtaatat gtacatctgc ggagattcta 3480
 ctgaatgtgc taatttgctt ctccaatatg gtagcttttg cacacaacta aatcgtgcac 3540
 tctcaggtat tgctgctgaa caggatcgca acacacgtga agtgttcgct caagtcaaac 3600
 aatgtacaa aacccaact ttgaaatatt ttggtggtt taattttca caaatattac 3660
 ctgaccctct aaagccaact aagaggtctt ttattgagga cttgctcttt aataaggtga 3720
 cactcgctga tgctggcttc atgaagcaat atggcgaatg cctaggtgat attaattgcta 3780
 gagatctcat ttgtgcgcag aagttcaatg gacttacagt gttgccacct ctgctcactg 3840
 atgatatgat tgctgcctac actgctgctc tagttagtgg tactgccact gctggatgga 3900
 catttggtgc tggcgctgct cttcaaatac cttttgctat gcaaattggca tataggttca 3960
 atggcattgg agttacccaa aatgttctct atgagaacca aaaacaaatc gccaaccaat 4020
 ttaacaaggc gattagtcaa attcaagaat cacttacaac aacatcaact gcattgggca 4080
 agctgcaaga cgttgttaac cagaatgctc aagcattaaa cacacttggt aaacaactta 4140
 gctctaattt tggtgcaatt tcaagtgtgc taaatgatata ctttctcgca cttgataaag 4200
 tcgaggcgga ggtacaaatt gacaggttaa ttacaggcag acttcaaagc cttcaaacct 4260
 atgtaacaca acaactaatc agggctgctg aatcagggc ttctgctaat cttgctgcta 4320
 ctaaaatgtc tgagtgtgtt cttggacaat caaaaagagt tgacttttgt ggaaagggct 4380
 accaccttat gtccttccca caagcagccc cgcattggtg tgtcttccca catgtcacgt 4440

atgtgccatc	ccaggagagg	aacttcacca	cagcgccagc	aatttgtcat	gaaggcaaag	4500
catacttccc	tcgtgaaggt	gtttttgtgt	ttaatggcac	ttcttggttt	attacacaga	4560
ggaacttctt	ttctccacaa	ataattacta	cagacaatac	at ttgtctca	ggaaattgtg	4620
atgtcgttat	tggcatcatt	aacaacacag	tttatgatcc	tctgcaacct	gagcttgact	4680
cattcaaaga	agagctggac	aagtacttca	aaaatcatac	atcaccagat	gttgattttg	4740
gcgacatttc	aggcattaac	gcttctgtcg	tcaacattca	aaaagaaatt	gaccgcctca	4800
atgaggtcgc	taaaaattta	aatgaatcac	tcattgacct	tcaagaactg	ggaaaaatag	4860
agcaatatat	taaatggcct	ctcgacgaac	aaaaactcat	ctcagaagag	gatctgaatg	4920
ctgtggggcca	ggacacgcag	gaggtcatcg	tggtgccaca	ctccttgccc	tttaagggtg	4980
tggtgatctc	agccatcctg	gccctgggtg	tgctcaccat	catctccctt	atcatcctca	5040
tcattgctttg	gcagaagaag	ccacgttagg	cggccgctcg	agtgctagca	ccaagggccc	5100
cagcgtgttc	cccctggccc	ccagcagcaa	gagcaccagc	ggcggcacag	ccgccctggg	5160
ctgcctgggtg	aaggactact	tccccgagcc	cgtgaccgtg	agctggaaca	gcggcgcctt	5220
gaccagcggc	gtgcacacct	tccccgccgt	gctgcagagc	agcggcctgt	acagcctgag	5280
cagcgtgggtg	accgtgcccc	gcagcagcct	gggcacccag	acctacatct	gcaacgtgaa	5340
ccacaagccc	agcaacacca	aggtggacaa	acgcgtggag	cccaagagct	gcgacaagac	5400
ccacacctgc	ccccctgcc	ctgccccoga	gctgctgggc	ggaccctccg	tgttcctggt	5460
ccccccaag	cccaaggaca	ccctcatgat	cagccggacc	cccgaggtga	cctgcgtggt	5520
ggtggacgtg	agccacgagg	accccgaggt	gaagttcaac	tggtacgtgg	acggcgtgga	5580
ggtgcacaac	gccaaagacca	agccccggga	ggagcagtac	aacagcacct	accgggtggt	5640
gagcgtgctc	accgtgctgc	accaggactg	gctgaacggc	aaggagtaca	agtgcaaggt	5700
gagcaacaag	gccctgcctg	ccccatcga	gaagaccatc	agcaaggcca	agggccagcc	5760
ccgggagccc	caggtgtaca	ccctgcccc	cagccgggag	gagatgacca	agaaccaggt	5820
gtccctcacc	tgtctggtga	agggcttcta	ccccagcgac	atcgccgtgg	agtgggagag	5880
caacggccag	cccgagaaca	actacaagac	cacccccct	gtgctggaca	gcgacggcag	5940
cttcttctg	tacagcaagc	tcaccgtgga	caagagccgg	tggcagcagg	gcaacgtggt	6000
cagctgcagc	gtgatgcacg	aggccctgca	caaccactac	accagaaga	gcctgagcct	6060
gagccccggc	aagtgataat	ctagagggcc	cgtttaaacc	cgctgatcag	cctcgactgt	6120
gccttctagt	tgccagccat	ctgttgtttg	cccccccc	gtgccttct	tgaccctgga	6180
aggtgccact	cccactgtcc	tttcttaata	aaatgaggaa	attgcatcgc	attgtctgag	6240
taggtgtcat	tctattctgg	ggggtggggt	ggggcaggac	agcaaggggg	aggattggga	6300

agacaatagc aggcattgctg gggatgctgg gggctctatg gcttctgagg cggaaagaac 6360
 cagctggggc tctagggggg atccccacgc gccctgtagc ggcgcattaa gcgcggcggg 6420
 tgtgggtggtt acgcgcagcg tgaccgctac acttgccagc gccctagcgc ccgctccttt 6480
 cgctttcttc ccttcctttc tcgccacggt cgccggcttt ccccgtaag ctctaaatcg 6540
 ggggctccct ttaggggttc gatttagtgc tttacggcac ctcgaccca aaaaacttga 6600
 ttagggatgat gggtcacgta gtgggcatc gccctgatag acggtttttc gcccttgac 6660
 gttggagtcc acgttcttta atagtggact cttgttccaa actggaacaa cactcaaccc 6720
 tatctcggtc tattcttttg atttataagg gattttgccg atttcggcct attggttaaa 6780
 aatgagctg atttaacaaa aatttaacgc gaattaattc tgtggaatgt gtgtcagtta 6840
 ggggtgtgaa agtccccagg ctccccagca ggcagaagta tgcaaagcat gcatctcaat 6900
 tagtcagcaa ccagggtggt aaagtcccca ggctccccag caggcagaag tatgcaaagc 6960
 atgcatctca attagtcagc aaccatagtc ccgcccctaa ctccgcccct cccgccccta 7020
 actccgcca gttccgcca ttctccgcc catggctgac taattttttt tatttatgca 7080
 gaggccgagg ccgctctgct ctctgagcta ttccagaagt agtgaggagg cttttttgga 7140
 gccctaggct tttgcaaaaa gctcccggga gcttgatat ccattttcgg atctgatcaa 7200
 gagacaggat gaggatcgtt tcgcatgatt gaacaagatg gattgcacgc aggttctccg 7260
 gccgcttggg tggagaggct attcggctat gactgggcac aacagacaat cggctgctct 7320
 gatgccgccc tgttccggct gtcagcgcag gggcgcccgg ttctttttgt caagaccgac 7380
 ctgtccggtg ccctgaatga actgcaggac gaggcagcgc ggctatcgtg gctggccacg 7440
 acgggcgttc cttgcgcagc tgtgctcagc gttgtcactg aagcgggaag ggactggctg 7500
 ctattgggag aagtgccggg gcaggatctc ctgtcatctc accttgctcc tgccgagaaa 7560
 gtatccatca tggctgatgc aatgcggcgg ctgcatacgc ttgatccggc tacctgcca 7620
 ttcgaccacc aagcgaacaa tcgcatcgag cgagcacgta ctcgatgga agccggtctt 7680
 gtcgatcagg atgatctgga cgaagagcat caggggctcg cccagccga actgttcgcc 7740
 aggctcaagg cgcgcagcgc cgacggcgag gatctcgtcg tgaccatgg cgatgcctgc 7800
 ttgccgaata tcatggtgga aatggcgcg tttcttgat tcactgactg tggccggctg 7860
 ggtgtggcgg accgctatca ggacatagcg ttggctacc gtgatattgc tgaagagctt 7920
 ggcggcgaat gggctgaccg cttcctcgtg ctttacggta tcgcccctcc cgattcgcag 7980
 cgcacgcct tctatgcct tcttgacgag ttcttctgag cgggactctg gggttcgaaa 8040
 tgaccgacca agcgcagccc aacctgcat cagagattt cgattccacc gccgccttct 8100
 atgaaagggt gggcttcgga atcgttttcc gggacgccgg ctggatgatc ctccagcgcg 8160
 gggatctcat gctggagtcc ttcgcccacc ccaactgtt tattgcagct tataatggtt 8220

acaaataaag	caatagcatc	acaaatttca	caaataaagc	atTTTTTTca	ctgcattcta	8280
gTTgtggTTT	gtccaaactc	atcaatgtat	cttatcatgt	ctgtataaccg	tcgacctcta	8340
gctagagctt	ggcgtaatca	tggtcatagc	tgTTTTctgt	gtgaaattgt	tatccgctca	8400
caattccaca	caacatacga	gccggaagca	taaagtgtaa	agcctgggggt	gcctaatgag	8460
tgagctaact	cacattaatt	gcgTTgcgct	cactgccccg	tttccagtcg	ggaaacctgt	8520
cgtgccagct	gcattaatga	atcggccaac	gcgcggggag	aggcggTTtg	cgtattgggc	8580
gctcttccgc	ttcctcgctc	actgactcgc	tgcgctcggt	cgttcggctg	cggcgagcgg	8640
tatcagctca	ctcaaagggc	gtaatacggT	tatccacaga	atcaggggat	aacgcaggaa	8700
agaacatgtg	agcaaaaggc	cagcaaaagg	ccaggaaccg	taaaaaggcc	gcgTTgctgg	8760
cgtTTTTcca	taggctccgc	ccccctgacg	agcatcacia	aaatcgacgc	tcaagtcaga	8820
ggTggcgaaa	cccgcacagga	ctataaagat	accaggcgTT	tccccctgga	agctccctcg	8880
tgcgctctcc	tgTTccgacc	ctgcgcgctta	ccggatacct	gtccgccttt	ctcccttcgg	8940
gaagcgtggc	gctttctcat	agctcacgct	gtaggtatct	cagttcggTg	taggtcgTtc	9000
gctccaagct	gggctgtgtg	cacgaacccc	ccgTtcagcc	cgaccgctgc	gccttatccg	9060
gtaactatcg	tcttgagTcc	aaccgcggtaa	gacacgactt	atcgccactg	gcagcagcca	9120
ctggtaacag	gattagcaga	gcgaggtatg	taggcggTgc	tacagagTtc	ttgaagtggT	9180
ggcctaacta	cggctacact	agaagaacag	tatttggtat	ctgcgctctg	ctgaagccag	9240
ttaccttcgg	aaaaagagTt	ggtagctctt	gatccggcaa	acaaaccacc	gctggtagcg	9300
gTTTTTTTgt	ttgcaagcag	cagattacgc	gcagaaaaaa	aggatctcaa	gaagatcctt	9360
tgatcttttc	tacggggTct	gacgctcagT	ggaacgaaaa	ctcacgTtaa	gggattttgg	9420
tcatgagatt	atcaaaaagg	atcttcacct	agatcctttt	aaattaaaaa	tgaagTttta	9480
aatcaatcta	aagtatatat	gagtaaactt	ggTctgacag	ttaccaatgc	ttaatcagTg	9540
aggcacctat	ctcagcgatc	tgtctatttc	gttcatccat	agTtgccTga	ctccccgTcg	9600
tgtagataac	tacgatacgg	gagggcttac	catctggccc	cagTgctgca	atgataaccgc	9660
gagaccacag	ctcaccggct	ccagatttat	cagcaataaa	ccagccagcc	ggaagggccg	9720
agcgcagaag	tggtcctgca	actttatccg	cctccatcca	gtctattaat	tgTtgccggg	9780
aagctagagT	aagtagTtcg	ccagTtaata	gTttgcgcaa	cgtTgTtgcc	attgctacag	9840
gcatcgTggT	gtcacgctcg	tcgTttggTa	tggtTtcatt	cagctccggT	tcccaacgat	9900
caaggcgagT	tacatgatcc	cccatgTtgt	gcaaaaaagc	ggTtagctcc	ttcggtcctc	9960
cgatcgTtgt	cagaagTaaG	ttggccgcag	tgTtatcact	catggTtatg	gcagcactgc	10020
ataattctct	tactgtcatg	ccatccgTaa	gatgcttttc	tgtgactggT	gagtactcaa	10080

029939

ccaagtcatt ctgagaatag tgtatgctggc gaccgagttg ctcttgcccg gcgtcaatac 10140
 gggataatac cgcgccacat agcagaactt taaaagtgtc catcattgga aaacgttctt 10200
 cggggcgaaa actctcaagg atcttaccgc tgttgagatc cagttcgatg taaccctactc 10260
 gtgcacccaa ctgatcttca gcatctttta ctttcaccag cgtttctggg tgagcaaaaa 10320
 caggaaggca aaatgccgca aaaaagggaa taagggcgac acggaaatgt tgaataactca 10380
 tactcttcct ttttcaatat tattgaagca tttatcaggg ttattgtctc atgagcggat 10440
 acatatttga atgtatttag aaaaataaac aaataggggt tccgcgcaca tttccccgaa 10500
 aagtgccacc tgacg 10515

<210> 190

<211> 566

<212> Белок

<213> Искусственная Sequence

<220>

<223> Последовательность незрелой НА из А/Гонконг/1/1968

<400> 190

Met Lys Thr Ile Ile Ala Leu Ser Tyr Ile Phe Cys Leu Ala Leu Gly
 1 5 10 15

Gln Asp Leu Pro Gly Asn Asp Asn Ser Thr Ala Thr Leu Cys Leu Gly
 20 25 30

His His Ala Val Pro Asn Gly Thr Leu Val Lys Thr Ile Thr Asp Asp
 35 40 45

Gln Ile Glu Val Thr Asn Ala Thr Glu Leu Val Gln Ser Ser Ser Thr
 50 55 60

Gly Lys Ile Cys Asn Asn Pro His Arg Ile Leu Asp Gly Ile Asp Cys
 65 70 75 80

Thr Leu Ile Asp Ala Leu Leu Gly Asp Pro His Cys Asp Val Phe Gln
 85 90 95

Asn Glu Thr Trp Asp Leu Phe Val Glu Arg Ser Lys Ala Phe Ser Asn
 100 105 110

Cys Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala Ser Leu Arg Ser Leu Val
 115 120 125

Ala Ser Ser Gly Thr Leu Glu Phe Ile Thr Glu Gly Phe Thr Trp Thr
 130 135 140

029939

Gly Val Thr Gln Asn Gly Gly Ser Asn Ala Cys Lys Arg Gly Pro Gly
 145 150 155 160

Ser Gly Phe Phe Ser Arg Leu Asn Trp Leu Thr Lys Ser Gly Ser Thr
 165 170 175

Tyr Pro Val Leu Asn Val Thr Met Pro Asn Asn Asp Asn Phe Asp Lys
 180 185 190

Leu Tyr Ile Trp Gly Val His His Pro Ser Thr Asn Gln Glu Gln Thr
 195 200 205

Ser Leu Tyr Val Gln Ala Ser Gly Arg Val Thr Val Ser Thr Arg Arg
 210 215 220

Ser Gln Gln Thr Ile Ile Pro Asn Ile Gly Ser Arg Pro Trp Val Arg
 225 230 235 240

Gly Leu Ser Ser Arg Ile Ser Ile Tyr Trp Thr Ile Val Lys Pro Gly
 245 250 255

Asp Val Leu Val Ile Asn Ser Asn Gly Asn Leu Ile Ala Pro Arg Gly
 260 265 270

Tyr Phe Lys Met Arg Thr Gly Lys Ser Ser Ile Met Arg Ser Asp Ala
 275 280 285

Pro Ile Asp Thr Cys Ile Ser Glu Cys Ile Thr Pro Asn Gly Ser Ile
 290 295 300

Pro Asn Asp Lys Pro Phe Gln Asn Val Asn Lys Ile Thr Tyr Gly Ala
 305 310 315 320

Cys Pro Lys Tyr Val Lys Gln Asn Thr Leu Lys Leu Ala Thr Gly Met
 325 330 335

Arg Asn Val Pro Glu Lys Gln Thr Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala
 340 345 350

Gly Phe Ile Glu Asn Gly Trp Glu Gly Met Ile Asp Gly Trp Tyr Gly
 355 360 365

Phe Arg His Gln Asn Ser Glu Gly Thr Gly Gln Ala Ala Asp Leu Lys
 370 375 380

Ser Thr Gln Ala Ala Ile Asp Gln Ile Asn Gly Lys Leu Asn Arg Val
 385 390 395 400

029939

Ile Glu Lys Thr Asn Glu Lys Phe His Gln Ile Glu Lys Glu Phe Ser
405 410 415

Glu Val Glu Gly Arg Ile Gln Asp Leu Glu Lys Tyr Val Glu Asp Thr
420 425 430

Lys Ile Asp Leu Trp Ser Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Ala Leu Glu
435 440 445

Asn Gln His Thr Ile Asp Leu Thr Asp Ser Glu Met Asn Lys Leu Phe
450 455 460

Glu Lys Thr Arg Arg Gln Leu Arg Glu Asn Ala Glu Asp Met Gly Asn
465 470 475 480

Gly Cys Phe Lys Ile Tyr His Lys Cys Asp Asn Ala Cys Ile Glu Ser
485 490 495

Ile Arg Asn Gly Thr Tyr Asp His Asp Val Tyr Arg Asp Glu Ala Leu
500 505 510

Asn Asn Arg Phe Gln Ile Lys Gly Val Glu Leu Lys Ser Gly Tyr Lys
515 520 525

Asp Trp Ile Leu Trp Ile Ser Phe Ala Ile Ser Cys Phe Leu Leu Cys
530 535 540

Val Val Leu Leu Gly Phe Ile Met Trp Ala Cys Gln Arg Gly Asn Ile
545 550 555 560

Arg Cys Asn Ile Cys Ile
565

<210> 191

<211> 8777

<212> ДНК

<213> Искусственная

<220>

<223> Вектор pIg-C909-Cкappa

<400> 191

tcgacggatc gggagatctc ccgatcccct atgggtgcaact ctcaagtacaa tctgctctga 60
tgccgcatag ttaagccagt atctgctccc tgcttggtgtg ttggagggtcg ctgagtagtg 120
cgcgagcaaa atttaagcta caacaaggca aggcttgacc gacaattggt aattaacatg 180
aagaatctgc ttaggggttag gcgttttgcg ctgcttcgct aggtggtcaa tattggccat 240
tagccatatt attcattgggt tatatagcat aaatcaatat tggctattgg ccattgcata 300

cgttgtatcc	atatcataat	atgtacattt	atattggctc	atgtccaaca	ttaccgccat	360
gttgacattg	attattgact	agttattaat	agtaatcaat	tacgggggtca	ttagttcata	420
gccccatata	ggagttccgc	gttacataac	ttacggtaaa	tggccccgct	ggctgaccgc	480
ccaacgaccc	ccgcccattg	acgtcaataa	tgacgtatgt	tcccatagta	acgccaatag	540
ggactttcca	ttgacgtcaa	tgggtggagt	atttacggta	aactgcccac	ttggcagtac	600
atcaagtgta	tcatatgcca	agtacgcccc	ctattgacgt	caatgacggg	aaatggcccc	660
cctggcatta	tgcccagtac	atgaccttat	gggactttcc	tacttggcag	tacatctacg	720
tattagtcac	cgctattacc	atgggtgatg	ggttttggca	gtacatcaat	gggcgtggat	780
agcggtttga	ctcacgggga	tttccaagtc	tccaccccat	tgacgtcaat	gggagtttgt	840
tttggcacca	aaatcaacgg	gactttccaa	aatgtcgtaa	caactccgcc	ccattgacgc	900
aaatggggcg	taggcgtgta	cggtgggagg	tctatataag	cagagctcgt	ttagtgaacc	960
gtcagatcgc	ctggagacgc	catccacgct	gttttgacct	ccatagaaga	caccgggacc	1020
gatccagcct	ccgcggccgg	gaacggtgca	ttggaatcga	tgactctctt	aggtagcctt	1080
gcagaagttg	gtcgtgaggc	actgggcagg	taagtatcaa	ggttacaaga	caggtttaag	1140
gagatcaata	gaaactgggc	ttgtcgagac	agagaagact	cttgcgtttc	tgataggcac	1200
ctattggtct	tactgacatc	cactttgcct	ttctctccac	aggtgtccac	tcccagttca	1260
attacagctc	gccaccatgc	ggctgcccc	ccagctgctg	ggccttctca	tgctgtgggt	1320
gcccccctcg	agatctatcg	atgcatgcca	tggtaccaag	cttgccacca	tgagcagcag	1380
ctcttggtcg	ctgctgagcc	tgggtggccgt	gacagccgcc	cagagcacca	tcgaggagca	1440
ggccaagacc	ttcctggaca	agttcaacca	cgaggccgag	gacctgttct	accagagcag	1500
cctggccagc	tggaaactaca	acaccaacat	caccgaggag	aacgtgcaga	acatgaacaa	1560
cgccggcgac	aagtggagcg	ccttcctgaa	ggagcagagc	acactggccc	agatgtacc	1620
cctgcaggag	atccagaacc	tgaccgtgaa	gctgcagctg	caggccctgc	agcagaacgg	1680
cagcagcgtg	ctgagcaggg	acaagagcaa	gcggtgaac	accatcctga	acaccatgtc	1740
caccatctac	agcaccggca	aagtgtgcaa	ccccgacaac	ccccaggagt	gcctgctgct	1800
ggagcccggc	ctgaacgaga	tcatggccaa	cagcctggac	tacaacgagc	ggctgtgggc	1860
ctgggagagc	tggcggagcg	aagtgggcaa	gcagctgcgg	cccctgtacg	aggagtacgt	1920
ggtgctgaag	aacgagatgg	ccagggccaa	ccactacgag	gactacggcg	actactggag	1980
aggcgactac	gaagtgaacg	gcgtggacgg	ctacgactac	agcagaggcc	agctgatcga	2040
ggacgtggag	cacaccttcg	aggagatcaa	gcctctgtac	gagcacctgc	acgcctacgt	2100
gcgggccaag	ctgatgaacg	cctaccccag	ctacatcagc	cccatcggct	gcctgcccc	2160

ccacctgctg ggcgacatgt ggggcccgggt ctggaccaac ctgtacagcc tgaccgtgcc 2220
 cttcggccag aagcccaaca tcgacgtgac cgacgccatg gtggaccagg cctggggacgc 2280
 ccagcggatc ttcaaggagg ccgagaagtt cttcgtgagc gtgggcctgc ccaacatgac 2340
 ccagggcctt tgggagaaca gcatgctgac cgaccccggc aatgtgcaga aggccgtgtg 2400
 ccaccccacc gcctgggacc tgggcaaggg cgacttccgg atcctgatgt gcaccaaagt 2460
 gaccatggac gacttctga cgcgccacca cgagatgggc cacatccagt acgacatggc 2520
 ctacgccgcc cagcccttcc tgctgcgga cggcgccaac gagggctttc acgaggccgt 2580
 gggcgagatc atgagcctga ggcgcgccac cccaagcac ctgaagagca tcggcctgct 2640
 gagccccgac ttccaggagg acaacgagac cgagatcaac ttctgctga agcaggccct 2700
 gaccatcgtg ggcaccctgc ccttcaccta catgctggag aagtggcggg ggatggtggt 2760
 taagggcgag atccccaagg accagtggat gaagaagtgg tgggagatga agcgggagat 2820
 cgtgggcgtg gtggagcccg tgccccacga cgagacctac tgcgaccccg ccagcctggt 2880
 ccacgtgagc aacgactact ccttcatccg gtactacacc cggaccctgt accagttcca 2940
 gttccaggag gccctgtgcc aggccgcca gcacgagggc cccctgcaca agtgcgacat 3000
 cagcaacagc accgaggccg gacagaaact gttcaacatg ctgcggctgg gcaagagcga 3060
 gccctggacc ctggccctgg agaatgtggg gggcgccaag aacatgaatg tgcgccccct 3120
 gctgaactac ttcgagcccc tgttcacctg gctgaaggac cagaacaaga acagcttcgt 3180
 gggctggagc accgactgga gccctacgc cgaccagagc atcaaagtgc ggatcagcct 3240
 gaagagcgcc ctgggcgaca aggcctacga gtggaacgac aacgagatgt acctgttccg 3300
 gagcagcgtg gcctatgcca tgcggcagta cttcctgaaa gtgaagaacc agatgatcct 3360
 gttcggcgag gaggacgtga gagtggccaa cctgaagccc cggatcagct tcaacttctt 3420
 cgtgaccgcc cccaagaacg tgagcgacat catccccgg accgaagtgg agaaggccat 3480
 ccggatgagc cggagccgga tcaacgacgc cttccggctg aacgacaact ccctggagtt 3540
 cctgggcatc cagcccaccc tgggcccctc caaccagccc cccgtgagca tctggctgat 3600
 cgtgtttggc gtggtgatgg gcgatgatcg ggtgggaatc gtgatcctga tcttcaccgg 3660
 catccgggac cggaagaaga agaacaaggc ccggagcggc gagaaccct acgccagcat 3720
 cgatatcagc aagggcgaga acaaccccgg cttccagaac accgacgacg tgcagaccag 3780
 cttctgataa tctagaacga gctcgaattc gaagcttctg cagacgcgtc gacgtcatat 3840
 ggatccgata tcgcccgtggc ggccgcaccc agcgtgttca tcttcccccc ctccgacgag 3900
 cagctgaaga gcggcaccgc cagcgtggtg tgctgctga acaacttcta ccccggggag 3960
 gccaaggtgc agtgaaggt ggacaacgcc ctgcagagcg gcaacagcca ggagagcgtg 4020
 accgagcagg acagcaagga ctccacctac agcctgagca gcaccctcac cctgagcaag 4080

gccgactacg agaagcaciaa ggtgtacgcc tgcgaggtga cccaccaggg cctgagcagc 4140
cccgtgacca agagcttcaa ccggggcgag tgttaataga ctttaagtta aaccgctgat 4200
cagcctcgac tgtgccttct agttgccagc catctgttgt ttgccccctcc cccgtgcctt 4260
ccttgaccct ggaaggtgcc actcccactg tcctttccta ataaaatgag gaaattgcat 4320
cgcattgtct gagtaggtgt cattctattc tgggggggtgg ggtggggcag gacagcaagg 4380
gggaggattg ggaagacaat agcaggcatg ctgggggatgc ggtgggctct atggcttctg 4440
aggcggaaaag aaccagctgg ggctctaggg ggtatcccca cgcgccctgt agcggcgcac 4500
taagcgcggc ggggtgtggtg gttacgcgca gcgtgaccgc tacacttgcc agcgccttag 4560
cgccccctcc tttcgctttc ttcccttctt ttctcgccac gttcgccggc tttccccgtc 4620
aagctctaaa tcgggggctc cctttagggt tccgatttag tgctttacgg cacctcgacc 4680
ccaaaaaact tgattagggg gatggttcac gtagtgggcc atcgccctga tagacggttt 4740
ttcgcccttt gacgttggag tccacgttct ttaatagtgg actcttgttc caaactggaa 4800
caacactcaa ccctatctcg gtctattctt ttgatttata agggattttg gccatttcgg 4860
cctattgggt aaaaaatgag ctgatttaac aaaaatttaa cgcaattaa ttctgtggaa 4920
tgtgtgtcag ttaggggtgtg gaaagtcccc aggctcccca gcaggcagaa gtatgcaaag 4980
catgcatctc aattagtcag caaccagggtg tggaaagtcc ccaggctccc cagcaggcag 5040
aagtatgcaa agcatgcatc tcaattagtc agcaaccata gtcccgcccc taactccgcc 5100
catcccgcc ctaactccgc ccagttccgc ccattctccg ccccatggct gactaatttt 5160
ttttatttat gcagaggccg aggccgcctc tgccctctgag ctattccaga agtagtgagg 5220
aggctttttt ggaggcctag gcttttgcaa aaagctcccg ggagcttgta tatccatttt 5280
cggatctgat cagcacgtga tgaaaaagcc tgaactcacc gcgacgtctg tcgagaagtt 5340
tctgatcgaa aagttcgaca gcgtctccga cctgatgcag ctctcggagg gcgaagaatc 5400
tcgtgctttc agcttcgatg taggagggcg tggatatgtc ctgccccgtaa atagctgcgc 5460
cgatggtttc taaaaagatc gttatgttta tcggcacttt gcatcgcccg cgctccccgat 5520
tccggaagtg cttgacattg ggggaattcag cgagagcctg acctattgca tctcccgcc 5580
tgcacagggt gtcacgttgc aagacctgcc tgaaccgaa ctgccccgctg ttctgcagcc 5640
ggtcgcggag gccatggatg cgatcgctgc ggccgatctt agccagacga gcgggttcgg 5700
cccattcgga ccacaaggaa tcggtaata cactacatgg cgtgatttca tatgcgcgat 5760
tgctgatccc catgtgtatc actggcaaac tgtgatggac gacaccgtca gtgcgtccgt 5820
cgcgcaggct ctcgatgagc tgatgctttg ggccgaggac tgccccgaag tccggcacct 5880
cgtgcacgcg gatttcggct ccaacaatgt cctgacggac aatggccgca taacagcgg 5940

cattgactgg agcgaggcga tgttcgggga ttccaatac gaggtcgcca acatcttctt 6000
ctggaggccg tggttggctt gtatggagca gcagacgcgc tacttcgagc ggaggcatcc 6060
ggagcttgca ggatcgccgc ggctccgggc gtatatgctc cgcattggtc ttgaccaact 6120
ctatcagagc ttggttgacg gcaatttcga tgatgcagct tgggcgcagg gtcgatgcga 6180
cgcaatcgtc cgatccggag cggggactgt cgggcgtaca caaatcgccc gcagaagcgc 6240
ggccgtctgg accgatggct gtgtagaagt actcgccgat agtggaacc gacgccccag 6300
cactcgtccg agggcaaagg aatagcacgt gctacgagat ttcgattcca ccgcccctt 6360
ctatgaaagg ttgggcttcg gaatcgtttt cggggacgcc ggctggatga tcctccagcg 6420
cggggatctc atgctggagt tcttcgcca cccaacttg tttattgcag cttataatgg 6480
ttacaaataa agcaatagca tcacaaatth cacaaataa gcattttttt cactgcattc 6540
tagttgtggt ttgtccaaac tcatcaatgt atcttatac gtctgtatac cgtcgacctc 6600
tagctagagc ttggcgtaat catggtcata gctgtttcct gtgtgaaatt gttatccgct 6660
cacaattcca cacacatac gagccggaag cataaagtgt aaagcctggg gtgcctaatg 6720
agtgagctaa ctcacattaa ttgcgttgcg ctactgccc gctttccagt cgggaaacct 6780
gtcgtgccag ctgcattaat gaatcgcca acgcgcgggg agaggcgggt tgcgtattgg 6840
gcgctcttcc gcttctctgc tactgactc gctgcgctcg gtcgttcggc tgcggcgagc 6900
ggtatcagct cactcaaagg cggtaatacgt gttatccaca gaatcagggg ataacgcagg 6960
aaagaacatg tgagcaaaag gccagcaaaa ggccaggaac cgtaaaaagg ccgcttgct 7020
ggcgtttttc cataggctcc gccccctga cgagcatcac aaaaatcgac gctcaagtca 7080
gaggtggcga aaccgacag gactataaag ataccaggcg tttccccctg gaagctccct 7140
cgtgcgctct cctgttccga cctgcccgt taccggatac ctgtccgct ttctccctc 7200
gggaagcgtg gcgctttctc atagctcacg ctgtaggtat ctcagttcgg tgtaggctgt 7260
tcgctccaag ctgggctgtg tgcacgaacc cccgttcag cccgaccgct gcgccttacc 7320
cggtaactat cgtcttgagt ccaaccgggt aagacacgac ttatcgccac tggcagcagc 7380
cactggtaac aggattagca gagcgaggta tgtaggcgggt gctacagagt tcttgaagtg 7440
gtggcctaac tacggctaca ctagaagaac agtatttgggt atctgcgctc tgctgaagcc 7500
agttaccttc ggaaaaagag ttggtagctc ttgatccggc aaacaaacca ccgctggtag 7560
cggttttttt gtttgcaagc agcagattac gcgcagaaaa aaaggatctc aagaagatcc 7620
tttgatcttt tctacggggt ctgacgctca gtggaacgaa aactcacggt aagggatfff 7680
ggatcatgaga ttatcaaaaa ggatcttcac ctagatcctt ttaaattaa aatgaagttt 7740
taaatcaatc taaagtatat atgagtaaac ttggtctgac agttaccaat gcttaatcag 7800
tgaggcacct atctcagcga tctgtctatt tcgttcatcc atagttgcct gactccccgt 7860

cgtgtagata actacgatac gggagggcctt accatctggc cccagtgctg caatgatacc 7920
 gcgagacca cgctcaccgg ctccagatth atcagcaata aaccagccag ccggaagggc 7980
 cgagcgcaga agtggctctg caactttatc cgccctccatc cagtctatta attggtgccc 8040
 ggaagctaga gtaagtagtt cgccagttaa tagtttgccg aacgttggtg ccattgctac 8100
 aggcacgctg gtgtcacgct cgctcgtttgg tatggcttca ttcagctccg gttcccaacg 8160
 atcaaggcga gttacatgat ccccatggtt gtgcaaaaaa gcgggttagct ccttcggtcc 8220
 tccgatcgtt gtcagaagta agttggccgc agtggtatca ctcatgggta tggcagcact 8280
 gcataattct cttactgtca tgccatccgt aagatgcttt tctgtgactg gtgagtactc 8340
 aaccaagtca ttctgagaat agtgtatgcg gcgaccgagt tgctcttgcc cggcgtcaat 8400
 acgggataat accgcgccac atagcagaac tttaaagtg ctcatcattg gaaaacgttc 8460
 ttcggggcga aaactctcaa ggatcttacc gctggtgaga tccagttcga tgtaaccac 8520
 tcgtgcaccc aactgatctt cagcatcttt tactttcacc agcgtttctg ggtgagcaaa 8580
 aacaggaagg caaaatgccg caaaaaaggg aataagggcg acacggaaat gttgaatact 8640
 catactcttc ctttttcaat attattgaag catttatcag ggttattgtc tcatgagcgg 8700
 atacatattt gaatgtattt agaaaaataa acaaataggg gttccgcgca catttccccg 8760
 aaaagtgcc cctgacg 8777

<210> 192

<211> 8792

<212> ДНК

<213> Искусственная

<220>

<223> Вектор pIg-C910-C1ambda

<400> 192

tcgacggatc gggagatctc ccgatcccct atgggtgact ctcaagtaca tctgctctga 60
 tgccgcatag ttaagccagt atctgctccc tgcttggtgtg ttggaggctg ctgagtagtg 120
 cgcgagcaaa atttaagcta caacaaggca aggcttgacc gacaattggt aattaacatg 180
 aagaatctgc ttaggggttag gcggttttgcg ctgcttcgct aggtggtcaa tattggccat 240
 tagccatatt attcattggt tatatagcat aatcaatat tggctattgg ccattgcata 300
 cgttgtatcc atatcataat atgtacattt atattggctc atgtccaaca ttaccgcat 360
 gttgacattg attattgact agttattaat agtaatcaat tacgggggtca ttagttcata 420
 gcccatatat ggagttccgc gttacataac ttacggtaaa tggcccgcct ggctgaccgc 480
 ccaacgaccc ccgcccattg acgtcaataa tgacgtatgt tcccatagta acgccaatag 540
 ggactttcca ttgacgtcaa tgggtggagt atttacggta aactgccac ttggcagtac 600

atcaagtgta	tcatatgcca	agtacgcccc	ctattgacgt	caatgacggt	aatggccccg	660
cctggcatta	tgcccagtac	atgaccttat	gggactttcc	tacttggcag	tacatctacg	720
tattagtcac	cgctattacc	atgggtgatgc	ggttttggca	gtacatcaat	gggagtggtat	780
agcggtttga	ctcacgggga	tttccaagtc	tccaccccat	tgacgtcaat	gggagtttgt	840
tttggcacca	aatcaacgg	gactttccaa	aatgtcgtaa	caactccgcc	ccattgacgc	900
aatggggcgg	taggcgtgta	cgggtgggagg	tctatataag	cagagctcgt	ttagtgaacc	960
gtcagatcgc	ctggagacgc	catccacgct	gttttgacct	ccatagaaga	caccggggacc	1020
gatccagcct	ccgcgccgg	gaacggtgca	ttggaatcga	tgactctctt	aggtagcctt	1080
gcagaagttg	gtcgtgaggc	actggggcagg	taagtatcaa	ggttacaaga	caggtttaag	1140
gagatcaata	gaaactgggc	ttgtcgagac	agagaagact	cttgcgtttc	tgataggcac	1200
ctattggctt	tactgacatc	cactttgcct	ttctctccac	agggtgtccac	tcccagttca	1260
attacagctc	gccaccatgc	ggttctccgc	tcagctgctg	ggccttctgg	tgctgtggat	1320
tcccggcgtc	tcgagatcta	tcgatgcatg	ccatggtacc	aagcttgcca	ccatgagcag	1380
cagctcttgg	ctgctgctga	gcctggtggc	cgtgacagcc	gcccagagca	ccatcgagga	1440
gcaggccaag	accttcttgg	acaagttcaa	ccacgaggcc	gaggacctgt	tctaccagag	1500
cagcctggcc	agctggaact	acaacaccaa	catcaccgag	gagaacgtgc	agaacatgaa	1560
caacgccggc	gacaagtgga	gcgcccttct	gaaggagcag	agcacactgg	cccagatgta	1620
ccccctgcag	gagatccaga	acctgaccgt	gaagctgcag	ctgcaggccc	tgcagcagaa	1680
cggcagcagc	gtgctgagcg	aggacaagag	caagcggctg	aacaccatcc	tgaacaccat	1740
gtccaccatc	tacagcaccg	gcaaagtgtg	caacccccgac	aacccccagg	agtgccctgct	1800
gctggagccc	ggcctgaacg	agatcatggc	caacagcctg	gactacaacg	agcggctgtg	1860
ggcctgggag	agctggcgga	gcgaagtggg	caagcagctg	cggcccctgt	acgaggagta	1920
cgtggtgctg	aagaacgaga	tggccagggc	caaccactac	gaggactacg	gcgactactg	1980
gagaggcgac	tacgaagtga	acggcgtgga	cggctacgac	tacagcagag	gccagctgat	2040
cgaggacgtg	gagcacacct	tcgaggagat	caagcctctg	tacgagcacc	tgcacgccta	2100
cgtgcggggc	aagctgatga	acgcctaccc	cagctacatc	agccccatcg	gctgcctgcc	2160
cgcccacctg	ctgggcgaca	tgtggggccg	gttctggacc	aacctgtaca	gcctgaccgt	2220
gcccttcggc	cagaagccca	acatcgacgt	gaccgacgcc	atggtggacc	aggcctggga	2280
cgcccagcgg	atcttcaagg	aggccgagaa	gttcttcgtg	agcgtggggc	tgcccacat	2340
gaccagggc	ttttgggaga	acagcatgct	gaccgacccc	ggcaatgtgc	agaaggccgt	2400
gtgccacccc	accgcctggg	acctgggcaa	gggcgacttc	cggatcctga	tgtgcaccaa	2460
agtgaccatg	gacgacttcc	tgaccgcccc	ccacgagatg	ggccacatcc	agtacgacat	2520

ggcctacgcc gccagccct tcctgctgcg gaacggcgcc aacgagggct ttcacgaggc 2580
 cgtgggcgag atcatgagcc tgagcgccgc ccccccaag cacctgaaga gcatcggcct 2640
 gctgagcccc gacttccagg aggacaacga gaccgagatc aacttcctgc tgaagcaggc 2700
 cctgaccatc gtgggcaccc tgccttcac ctacatgctg gagaagtggc ggtggatggt 2760
 gtttaagggc gagatcccca aggaccagtg gatgaagaag tgggtgggaga tgaagcggga 2820
 gatcgtgggc gtgggtggagc ccgtgccccca cgacgagacc tactgcgacc ccgccagcct 2880
 gttccacgtg agcaacgact actccttcat ccggtactac acccggaccc tgtaccagtt 2940
 ccagttccag gaggccctgt gccaggcgc caagcacgag ggccccctgc acaagtgcga 3000
 catcagcaac agcaccgagg ccggacagaa actgttcaac atgctgcggc tgggcaagag 3060
 cgagccctgg accctggccc tggagaatgt ggtggcgcc aagaacatga atgtgcgccc 3120
 cctgctgaac tacttcgagc ccctgttcac ctggctgaag gaccagaaca agaacagctt 3180
 cgtgggctgg agcaccgact ggagccccta cgccgaccag agcatcaaag tgcggatcag 3240
 cctgaagagc gccctgggcg acaaggccta cgagtggaac gacaacgaga tgtacctgtt 3300
 ccggagcagc gtggcctatg ccatgcgga gtacttcctg aaagtgaaga accagatgat 3360
 cctgttcggc gaggaggacg tgagagtggc caacctgaag ccccgatca gcttcaactt 3420
 cttcgtgacc gcccccaaga acgtgagcga catcatcccc cggaccgaag tggagaaggc 3480
 catccggatg agccggagcc ggatcaacga cgcttcagg ctgaacgaca actccctgga 3540
 gttcctgggc atccagcccc ccctgggccc tcccaccag cccccgtga gcatctggct 3600
 gatcgtgttt ggcgtggtga tgggcgtgat cgtggtggga atcgtgatcc tgatcttcac 3660
 cggcatccgg gaccggaaga agaagaacaa ggcccggagc ggcgagaacc cctacgccag 3720
 catcgatata agcaagggcg agaacaacc cggcttcag aacaccgacg acgtgcagac 3780
 cagcttctga taatctagaa cgagctcga ttcgaagctt ctgcagacgc gtcgacgtca 3840
 tatggatccg atatcgccgt ggcggccgca ggccagcccc aggccgctcc cagcgtgacc 3900
 ctgttcccc ctcctccga ggagctgcag gccacaagg ccaccctggg gtgcctcatc 3960
 agcgacttct accctggcgc cgtgaccgtg gcttggagg ccgacagcag ccccgtaag 4020
 gccggcgtgg agaccaccac ccccagcaag cagagcaaca acaagtacgc cgccagcagc 4080
 tacctgagcc tcacccccga gcagtggaag agccaccgga gctacagctg ccaggtgacc 4140
 cacgagggca gcaccgtgga gaagaccgtg gccccaccg agtgcagcta atagacttaa 4200
 gtttaaaccg ctgatcagcc tcgactgtgc cttctagttg ccagccatct gttgtttgcc 4260
 cctccccgt gccttccttg accctggaag gtgccactcc cactgtcctt tcctaataaa 4320
 atgaggaaat tgcacgcat tgtctgagta ggtgtcattc tattctgggg ggtggggtgg 4380

ggcaggacag caagggggag gattgggaag acaatagcag gcatgctggg gatgcggtgg 4440
gctctatggc ttctgaggcg gaaagaacca gctggggctc taggggggat ccccacgcgc 4500
cctgtagcgg cgcatthaagc gcgggcgggtg tgggtggttac ggcagcgtg accgctacac 4560
ttgccagcgc cctagcgcgc gctcctttcg ctttcttccc ttcctttctc gccacgttcg 4620
ccggcctttcc cegtcaagct ctaaactcggg ggctcccttt agggttccga tttagtgtt 4680
tacggcacct cgaccccaaa aaacttgatt aggggtgatgg ttcacgtagt gggccatcgc 4740
cctgatagac ggtttttctgc cctttgacgt tggagtccac gttctttaat agtggactct 4800
tgttccaaac tggaacaaca ctcaacccta tctcgggtcta ttcttttgat ttataagggg 4860
ttttggccat ttcggcctat tggttaaaaa atgagctgat ttaacaaaaa tttaacgcga 4920
attaattctg tggaatgtgt gtcagttagg gtgtggaaag tccccaggct cccagcagg 4980
cagaagtatg caaagcatgc atctcaatta gtcagcaacc aggtgtggaa agtccccagg 5040
ctccccagca ggcagaagta tgcaaagcat gcatctcaat tagtcagcaa ccatagtccc 5100
gcccctaact cgcgccatcc cgcccctaac tccgccagt tccgccatt ctccgcccga 5160
tggctgacta atttttttta tttatgcaga ggccgaggcc gcctctgcct ctgagctatt 5220
ccagaagtag tgaggaggct tttttggagg cctaggcttt tgcaaaaagc tcccgggagc 5280
ttgtatatcc attttccgat ctgatcagca cgtgatgaaa aagcctgaac tcaccgcgac 5340
gtctgtcgag aagtttctga tcgaaaagtt cgacagcgtc tccgacctga tgcagctctc 5400
ggagggcgaa gaatctcgtg ctttcagctt cgatgtagga gggcgtggat atgtcctgcg 5460
ggtaaatagc tgcgccgatg gtttctacaa agatcgttat gtttatcggc actttgcatc 5520
ggccgcgctc ccgattccgg aagtgttga cattggggaa ttcagcgaga gcctgacct 5580
ttgcatctcc cgccgtgcac aggggtgtcac gttgcaagac ctgcctgaaa ccgaactgcc 5640
cgctgttctg cagccggctg cggaggccat ggatgcgac gctgcggccg atcttagcca 5700
gacgagcggg ttcggcccat tcggaccgca aggaatcggg caatacacta catggcgtga 5760
tttcatatgc gcgattgctg atccccatgt gtatcactgg caaactgtga tggacgacac 5820
cgtcagtgcg tccgtcgcgc aggtctctga tgagctgatg ctttgggccc aggactgccc 5880
cgaagtccgg cacctcgtgc acgcccattt cggctccaac aatgtcctga cggacaatgg 5940
ccgcataaca gcggtcattg actggagcga ggcgatgttc ggggattccc aatacagagt 6000
cgccaacatc ttcttctgga ggccgtgggt ggcttgtatg gagcagcaga cgcgctactt 6060
cgagcggagg catccggagc ttgcaggatc gccgcggctc cgggcgtata tgctccgcat 6120
tggctctgac caactctatc agagcttggg tgacggcaat ttcgatgatg cagcttgggc 6180
gcagggtcga tgcgacgcaa tcgtccgatc cggagccggg actgtcgggc gtacacaaat 6240
cgcccgcaga agcgcggccg tctggaccga tggctgtgta gaagtactcg ccgatagtgg 6300

aaaccgacgc	cccagcactc	gtccgagggc	aaaggaatag	cacgtgctac	gagatttcga	6360
ttccaccgcc	gccttctatg	aaaggttggg	cttcggaatc	gttttccggg	acgccggctg	6420
gatgatcctc	cagcgcgggg	atctcatgct	ggagttcttc	gcccacccca	acttgtttat	6480
tgcagcttat	aatggttaca	aataaagcaa	tagcatcaca	aatttcacaa	ataaagcatt	6540
tttttactg	cattctagtt	gtggtttgtc	caaactcatc	aatgtatctt	atcatgtctg	6600
tataccgctg	acctctagct	agagcttggc	gtaatcatgg	tcatagctgt	ttcctgtgtg	6660
aaattgttat	ccgctcacia	ttccacacia	catacgagcc	ggaagcataa	agtgtaaagc	6720
ctgggggtgcc	taatgagtga	gctaactcac	attaattgcy	ttgcyctcac	tgcccgcctt	6780
ccagtcggga	aacctgtcgt	gccagctgca	ttaatgaatc	ggccaacgcg	cggggagagg	6840
cggtttgctg	attggggcgt	cttcgccttc	ctcgcctcact	gactcgcctgc	gctcggctcgt	6900
tcggctgcgg	cgagcgggat	cagctcactc	aaaggcggta	atacggttat	ccacagaatc	6960
aggggataac	gcaggaaaga	acatgtgagc	aaaaggccag	caaaaggcca	ggaaccgtaa	7020
aaaggccgcg	ttgctggcgt	ttttccatag	gctccgcccc	cctgacgagc	atcacaaaaa	7080
tcgacgctca	agtcagaggt	ggcgaaacc	gacaggacta	taaagatacc	aggcgtttcc	7140
ccctggaagc	tccctcgtgc	gctctcctgt	tccgaccctg	ccgcttaccg	gatacctgtc	7200
cgcctttctc	ccttcgggaa	gcytgccgct	ttctcatagc	tcacgctgta	ggtatctcag	7260
ttcgggtgtag	gtcgttcgct	ccaagctggg	ctgtgtgcac	gaacccccg	ttcagcccga	7320
ccgctgcgcc	ttatccggta	actatcgtct	tgagtccaac	ccgtaagac	acgacttatc	7380
gccactggca	gcagccactg	gtaacaggat	tagcagagcg	aggatgtag	gcggtgctac	7440
agagtctctg	aagtgggtgg	ctaactacgg	ctacactaga	agaacagtat	ttggtatctg	7500
cgctctgctg	aagccagtta	ccttcggaaa	aagagttgg	agctcttgat	ccggcaaaca	7560
aaccaccgct	ggtagcgggt	tttttgcttg	caagcagcag	attacgcgca	gaaaaaaagg	7620
atctcaagaa	gatcctttga	tcttttctac	ggggtctgac	gctcagtgga	acgaaaactc	7680
acgttaaggg	atcttggtca	tgagattatc	aaaaaggatc	ttcacctaga	tccttttaaa	7740
ttaaaaatga	agttttaaat	caatctaaag	tatatatgag	taaacttgg	ctgacagtta	7800
ccaatgctta	atcagtgagg	cacctatctc	agcgatctgt	ctatttcggt	catccatagt	7860
tgctgactc	cccgtcgtgt	agataactac	gatacgggag	ggcttaccat	ctggccccag	7920
tgctgcaatg	ataccgcgag	accacgcctc	accggctcca	gatttatcag	caataaacca	7980
gccagccgga	agggccgagc	gcagaagtgg	tctgcaact	ttatccgcct	ccatccagtc	8040
tattaattgt	tgccgggaag	ctagagtaag	tagttcgcca	gttaatagtt	tgcgcaacgt	8100
tgttgccatt	gctacaggca	tcgtgggtgc	acgctcgtcg	tttggatgg	cttcattcag	8160

ctccggttcc caacgatcaa ggcgagttac atgatcccc atgttggtgca aaaaagcggg 8220
tagctccttc ggtcctccga tcggtgtcag aagtaagttg gccgcagtgt taccactcat 8280
ggttatggca gactgcata attctcttac tgtcatgcca tccgtaagat gcttttctgt 8340
gactggtgag tactcaacca agtcattctg agaatagttg atgcggcgac cgagttgctc 8400
ttgcccggcg tcaatacggg ataataccgc gccacatagc agaactttaa aagtgtcat 8460
cattggaaaa cgttcttcgg ggcgaaaact ctcaaggatc ttaccgctgt tgagatccag 8520
ttcgatgtaa cccactcgtg caccctaactg atcttcagca tcttttactt tcaccagcgt 8580
ttctgggtga gcaaaaacag gaaggcaaaa tgccgcaaaa aagggaataa gggcgacacg 8640
gaaatgttga atactcatac tcttcctttt tcaatattat tgaagcattt atcagggtta 8700
ttgtctcatg agcggataca tatttgaatg tatttagaaa aataaacaaa taggggttcc 8760
gcgcacattt ccccgaaaag tgccacctga cg 8792

<210> 193
<211> 23
<212> ДНК
<213> Искусственная

<220>
<223> ОК1 (HuVK1B)

<400> 193
gacatccagw tgaccsagtc tcc 23

<210> 194
<211> 23
<212> ДНК
<213> Искусственная

<220>
<223> ОК2 (HuVK2)

<400> 194
gatggttga tgactcagtc tcc 23

<210> 195
<211> 23
<212> ДНК
<213> Искусственная

<220>
<223> ОК3 (HuVK2B2)

<400> 195
gatattgtga tgaccsagac tcc 23

<210> 196
<211> 23
<212> ДНК
<213> Искусственная

<220>
 <223> ОК4 (HuVK3B)

<400> 196
 gaaattgtgw tgacrcagtc tcc 23

<210> 197
 <211> 23
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

<220>
 <223> ОК5 (HuVK5)

<400> 197
 gaaacgacac tcacgcagtc tcc 23

<210> 198
 <211> 23
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

<220>
 <223> ОК6 (HuVK6)

<400> 198
 gaaattgtgc tgactcagtc tcc 23

<210> 199
 <211> 24
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

<220>
 <223> ОСК (HuСК)

<400> 199
 acactctccc ctggtgaagc tctt 24

<210> 200
 <211> 23
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

<220>
 <223> OL1 (HuVL1A)*

<400> 200
 cagtctgtgc tgactcagcc acc 23

<210> 201
 <211> 23
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

<220>
 <223> OL1 (HuVL1B)*

<400> 201 cagtctgtgy tgacgcaгсс гсс	23
<210> 202 <211> 23 <212> ДНК <213> Искусственная	
<220> <223> OL1 (HuVL1C) *	
<400> 202 cagtctgtcg tgacgcaгсс гсс	23
<210> 203 <211> 20 <212> ДНК <213> Искусственная	
<220> <223> OL2 (HuVL2B)	
<400> 203 cagtctgccc tgactcaгсс	20
<210> 204 <211> 23 <212> ДНК <213> Искусственная	
<220> <223> OL3 (HuVL3A)	
<400> 204 tcctatgwgс tgactcaгсс acc	23
<210> 205 <211> 23 <212> ДНК <213> Искусственная	
<220> <223> OL4 (HuVL3B)	
<400> 205 tcttctgagc tgactcaгga ccc	23
<210> 206 <211> 20 <212> ДНК <213> Искусственная	
<220> <223> OL5 (HuVL4B)	
<400> 206 cagcytgtgc tgactcaatc	20

<210> 207
 <211> 23
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

 <220>
 <223> OL6 (HuVL5)

 <400> 207
 caggctgtgc tgactcagcc gtc 23

<210> 208
 <211> 23
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

 <220>
 <223> OL7 (HuVL6)

 <400> 208
 aattttatgc tgactcagcc cca 23

<210> 209
 <211> 23
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

 <220>
 <223> OL8 (HuVL7/8)

 <400> 209
 cwgccctgtgc tgactcagcc mcc 23

<210> 210
 <211> 23
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

 <220>
 <223> OL9 (HuVL9) #

 <400> 210
 cwgccctgtgc tgactcagcc mcc 23

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

 <220>
 <223> OL9 (HuVL10) #

 <400> 211
 caggcagggc tgactcag 18

<210> 212

<211> 23
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

 <220>
 <223> OCL (HuCL2)X

 <400> 212
 tgaacattct gtaggggcca ctg 23

<210> 213
 <211> 23
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

 <220>
 <223> OCL (HuCL7)X

 <400> 213
 agagcattct gcaggggcca ctg 23

<210> 214
 <211> 23
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

 <220>
 <223> OH1 (HuVH1B7A)+

 <400> 214
 cagrtgcagc tgggtgcartc tgg 23

<210> 215
 <211> 23
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

 <220>
 <223> OH1 (HuVH1C)+

 <400> 215
 saggtccagc tggtrcagtc tgg 23

<210> 216
 <211> 23
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

 <220>
 <223> OH2 (HuVH2B)

 <400> 216
 cagrtcacct tgaaggagtc tgg 23

<210> 217
 <211> 18
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

<220>
 <223> ОН3 (HuVH3A)

<400> 217
 gaggtgcagc tgggtggag 18

<210> 218
 <211> 23
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

<220>
 <223> ОН4 (HuVH3C)

<400> 218
 gaggtgcagc tgggtggagwс уgg 23

<210> 219
 <211> 23
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

<220>
 <223> ОН5 (HuVH4B)

<400> 219
 caggtgcagc tacagcagtg ggg 23

<210> 220
 <211> 23
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

<220>
 <223> ОН6 (HuVH4C)

<400> 220
 cagstgcagc tgcaggagtc sgg 23

<210> 221
 <211> 23
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

<220>
 <223> ОН7 (HuVH6A)

<400> 221
 caggtacagc tgcagcagtc agg 23

<210> 222
 <211> 24
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

<220>
 <223> ОСМ (HuCIgM)

<400> 222
 tggaagaggc acgttctttt cttt 24

<210> 223
 <211> 41
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

<220>
 <223> OK1S (HuVK1B-SAL)

<400> 223
 tgagcacaca ggtcgcgga catccagwtg acccagtctc c 41

<210> 224
 <211> 41
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

<220>
 <223> OK2S (HuVK2-SAL)

<400> 224
 tgagcacaca ggtcgcgga tgttgatg actcagtctc c 41

<210> 225
 <211> 41
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

<220>
 <223> OK3S (HuVK2B2-SAL)

<400> 225
 tgagcacaca ggtcgcgga tattgtgatg acccagactc c 41

<210> 226
 <211> 41
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

<220>
 <223> OK4S (HuVK3B-SAL)

<400> 226
 tgagcacaca ggtcgcgga aattgtgwtg acrcagtctc c 41

<210> 227
 <211> 41
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

<220>
 <223> OK5S (HuVK5-SAL)

<400> 227
 tgagcacaca ggtcgcgga aacgacactc acgcagtctc c 41

<210> 228
 <211> 41
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

 <220>
 <223> OK6S (HuVK6-SAL)

 <400> 228
 tgagcacaca ggtcgcacgga aattgtgctg actcagtctc c 41

 <210> 229
 <211> 48
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

 <220>
 <223> OJK1 (HuJK1-NOT)

 <400> 229
 gagtcattct cgacttgcgg ccgcacgttt gatttccacc ttggtccc 48

 <210> 230
 <211> 48
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

 <220>
 <223> OJK2 (HuJK2-NOT)

 <400> 230
 gagtcattct cgacttgcgg ccgcacgttt gatctccagc ttggtccc 48

 <210> 231
 <211> 48
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

 <220>
 <223> OJK3 (HuJK3-NOT)

 <400> 231
 gagtcattct cgacttgcgg ccgcacgttt gatataccact ttggtccc 48

 <210> 232
 <211> 48
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

 <220>
 <223> OJK4 (HuJK4-NOT)

 <400> 232
 gagtcattct cgacttgcgg ccgcacgttt gatctccacc ttggtccc 48

 <210> 233

<211> 48
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

 <220>
 <223> OJK5 (HuJK5-NOT)

 <400> 233
 gagtcatcttct cgaacttgccg cgcacggttt aatctccagt cgtgtccc 48

<210> 234
 <211> 41
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

 <220>
 <223> OL1S (HuVL1A-SAL)*

 <400> 234
 tgagcacaca ggtcgacgca gtctgtgctg actcagccac c 41

<210> 235
 <211> 41
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

 <220>
 <223> OL1S (HuVL1B-SAL)*

 <400> 235
 tgagcacaca ggtcgacgca gtctgtgytg acgcagccgc c 41

<210> 236
 <211> 41
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

 <220>
 <223> OL1S (HuVL1C-SAL)*

 <400> 236
 tgagcacaca ggtcgacgca gtctgtcgtg acgcagccgc c 41

<210> 237
 <211> 38
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

 <220>
 <223> OL2S (HuVL2B-SAL)

 <400> 237
 tgagcacaca ggtcgacgca gtctgccttg actcagcc 38

<210> 238
 <211> 41
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

<220>
 <223> OL3S (HuVL3A-SAL)

 <400> 238
 tgagcacaca ggtcgcacgtc ctatgwgctg actcagccac c 41

 <210> 239
 <211> 41
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

 <220>
 <223> OL4S (HuVL3B-SAL)

 <400> 239
 tgagcacaca ggtcgcacgtc ttctgagctg actcaggacc c 41

 <210> 240
 <211> 38
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

 <220>
 <223> OL5S (HuVL4B-SAL)

 <400> 240
 tgagcacaca ggtcgcacgca gcytgtgctg actcaatc 38

 <210> 241
 <211> 41
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

 <220>
 <223> OL6S (HuVL5-SAL)

 <400> 241
 tgagcacaca ggtcgcacgca ggctgtgctg actcagccgt c 41

 <210> 242
 <211> 41
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

 <220>
 <223> OL7S (HuVL6-SAL)

 <400> 242
 tgagcacaca ggtcgcacgaa ttttatgctg actcagcccc a 41

 <210> 243
 <211> 41
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

 <220>
 <223> OL8S (HuVL7/8-SAL)

<400> 243
 tgagcacaca ggtcgcacgca grctgtggtg acycaggagc c 41

<210> 244
 <211> 41
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

<220>
 <223> OL9S (HuVL9-SAL)#

<400> 244
 tgagcacaca ggtcgcacgcw gcctgtgctg actcagccmc c 41

<210> 245
 <211> 36
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

<220>
 <223> OL9S (HuVL10-SAL)#

<400> 245
 tgagcacaca ggtcgcacgca ggcagggctg actcag 36

<210> 246
 <211> 48
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

<220>
 <223> OJL1 (HuJL1-NOT)

<400> 246
 gagtcatcttct cgacttgctgg ccgcacctag gacggtgacc ttggtccc 48

<210> 247
 <211> 48
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

<220>
 <223> OJL2 (HuJL2/3-NOT)

<400> 247
 gagtcatcttct cgacttgctgg ccgcacctag gacggtcagc ttggtccc 48

<210> 248
 <211> 48
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

<220>
 <223> OJL3 (HuJL7-NOT)

<400> 248
 gagtcatcttct cgacttgctgg ccgcaccgag gacggtcagc tgggtgcc 48

<210> 249
 <211> 56
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

 <220>
 <223> OH1S (HuVH1B-SFI)+

 <400> 249
 gtcctcgcaa ctgсggссса gccggccatg gcccagrtgc agctggtgca rtctgg 56

 <210> 250
 <211> 56
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

 <220>
 <223> OH1S (HuVH1C-SFI)+

 <400> 250
 gtcctcgcaa ctgсggссса gccggccatg gccsaggtcc agctggtrca gtctgg 56

 <210> 251
 <211> 56
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

 <220>
 <223> OH2S (HuVH2B-SFI)

 <400> 251
 gtcctcgcaa ctgсggссса gccggccatg gcccagrtca ccttgaagga gtctgg 56

 <210> 252
 <211> 51
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

 <220>
 <223> OH3S (HuVH3A-SFI)

 <400> 252
 gtcctcgcaa ctgсggссса gccggccatg gccgaggtgc agctggtgga g 51

 <210> 253
 <211> 56
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

 <220>
 <223> OH4S (HuVH3C-SFI)

 <400> 253
 gtcctcgcaa ctgсggссса gccggccatg gccgaggtgc agctggtgga gwcygg 56

 <210> 254

<211> 56
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

 <220>
 <223> OH5S (HuVH4B-SFI)

 <400> 254
 gtcctcgsaa ctgсggссса gccggccatg gcccaggtgc agctacagca gtgggg 56

 <210> 255
 <211> 56
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

 <220>
 <223> OH6S (HuVH4C-SFI)

 <400> 255
 gtcctcgsaa ctgсggссса gccggccatg gcccagstgc agctgcagga gtcsgg 56

 <210> 256
 <211> 56
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

 <220>
 <223> OH7S (HuVH6A-SFI)

 <400> 256
 gtcctcgsaa ctgсggссса gccggccatg gcccaggtac agctgcagca gtcagg 56

 <210> 257
 <211> 36
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

 <220>
 <223> OJH1 (HuJH1/2-XHO)

 <400> 257
 gagtcattct сgactcgaga crgtgaccag ggtgcc 36

 <210> 258
 <211> 36
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

 <220>
 <223> OJH2 (HuJH3-XHO)

 <400> 258
 gagtcattct сgactcgaga сggtgaccat tgtccc 36

 <210> 259
 <211> 36
 <212> ДНК
 <213> Искусственная

<220>

<223> ОЈНЗ (НцЈН4/5-ХНО)

<400> 259

gagtcattct cgaactcgaga cggtgaccag ggttcc

36

<210> 260

<211> 36

<212> ДНК

<213> Искусственная

<220>

<223> ОЈН4 (НцЈН6-ХНО)

<400> 260

gagtcattct cgaactcgaga cggtgaccgt ggtccc

36

Библиография

Air MA (1981), Sequence relationships among the hemagglutinin genes of 12 subtypes of influenza A virus. Proc Natl Acad Sci USA 78(12):7639-7643.

Boel E et al. (2000), Functional human monoclonal antibodies of all isotypes constructed from phage display library-derived single-chain Fv antibody fragments. J Immunol Methods 239:153-166.

Brown EG et al. (2001), Pattern of mutation in the genome of influenza A virus on adaptation to increased virulence in the mouse lung: Identification of functional themes. PNAS 98:6883-6888.

Burton DR and Barbas CF (1994), Human antibodies from combinatorial libraries. Adv Immunol. 57:191-280.

Chou TC and P Talalay (1984), Quantitative analysis of dose-effect relationships: the combined effects of multiple drugs or enzyme inhibitors. Adv Enzyme Regul 22:27-55.

De Kruif J et al. (1995a), Rapid selection of cell subpopulation-specific human monoclonal antibodies from a synthetic phage antibody library. Proc Natl Acad Sci USA 92:3938.

De Kruif J et al. (1995b), Selection and application of human single-chain Fv antibody fragments from a semi-synthetic phage antibody display library with designed CDR3 regions. J Mol Biol 248:97-105.

Ekiert et al. (2009), Antibody recognition of a highly conserved influenza virus epitope. Science 324:246-251.

Fouchier AM et al. (2005), Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls. J Virol 79(5):2814-2822.

Gocnik M. et al. (2007), Antibodies specific to the HA2 glycopolypeptide of influenza A virus haemagglutinin with fusion-inhibition activity contribute to the protection of mice against lethal infection, J Gen Virol 88: 951-955.

Huls G et al. (1999), Antitumor immune effector mechanisms recruited by phage display-derived fully human IgG1 and IgA1

monoclonal antibodies. *Cancer Res* 59:5778-5784.

Östberg L and Pursch E (1983), Human x (Mouse x Human) hybridomas stably producing human antibodies. *Hybridoma* 2(4): 361-367.

Slootstra JW et al. (1996), Structural aspects of antibody-antigen interaction revealed through small random peptide libraries. *Mol Divers* 1:87-96.

Stropkovská A et al. (2009), Broadly cross-reactive monoclonal antibodies against HA2 glycopeptide of influenza A virus hemagglutinin of H3 subtype reduce replication of influenza A viruses of human and avian origin. *Acta Virologica* 53: 15-20.

The World Health Organization Global Influenza Program Surveillance Network (2005), Evolution of H5N1 Avian Influenza Viruses in Asia. *Emerg Infect Dis* 11: 1515-1521.

Varečková E. et al. (2003a), Inhibition of fusion activity of influenza A haemagglutinin mediated by HA2-specific monoclonal antibodies. *Arch Virol* 148: 469-486.

Varečková E. et al. (2003b), A monoclonal antibody specific to the HA2 glycoprotein of influenza A virus haemagglutinin that inhibits its fusion activity reduces replication of the virus. *Acta Virologica* 47: 229-236.

Wang T. et al. (2010), Broadly protective monoclonal antibodies against H3 influenza viruses following sequential immunization with different hemagglutinins. *PLoS Pathogens* 6(2): 1-9.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Выделенная человеческая связывающая молекула, обладающая способностью специфически распознавать эпитоп в белке гемагглютинина вируса гриппа (HA) и связываться с этим эпитопом, где указанная молекула обладает нейтрализующей активностью, направленной против вирусов гриппа, содержащих HA подтипа H3, и перекрестно нейтрализующей активностью, направленной против, по меньшей мере, вируса гриппа, содержащего HA подтипа H7, и/или вируса гриппа, содержащего HA подтипа H10, где указанная связывающая молекула обладает способностью предотвращать *in vitro* расщепление трипсином молекулы-предшественника HA типа H3, где молекулой является HA0, в HA1 и HA2, где указанная связывающая молекула включает область CDR1 тяжелой цепи SEQ ID NO: 109, область CDR2 тяжелой цепи SEQ ID NO: 110 и область CDR3 тяжелой цепи SEQ ID NO: 111, а также область CDR1 легкой цепи SEQ ID NO: 112, область CDR2 легкой цепи SEQ ID NO: 113 и область CDR3 легкой цепи SEQ ID NO: 114.

2. Выделенная человеческая связывающая молекула, обладающая способностью специфически распознавать эпитоп в белке гемагглютинина вируса гриппа (HA) и связываться с этим эпитопом, где указанная молекула обладает нейтрализующей активностью, направленной против вирусов гриппа, содержащих HA подтипа H3, и перекрестно нейтрализующей активностью, направленной против, по меньшей мере, вируса гриппа, содержащего HA подтипа H7, и/или вируса гриппа, содержащего HA подтипа H10, где указанная связывающая молекула обладает способностью предотвращать *in vitro* расщепление трипсином молекулы-предшественника HA типа H3, где молекулой является HA0, в HA1 и HA2, где указанная связывающая молекула включает область CDR1 тяжелой цепи SEQ ID NO: 138, область CDR2 тяжелой цепи SEQ ID NO: 139 и область CDR3 тяжелой цепи SEQ ID NO: 140, а также область CDR1 легкой цепи SEQ ID NO: 141, область CDR2 легкой цепи SEQ ID NO: 142 и область CDR3 легкой цепи SEQ ID NO: 143.

3. Выделенная человеческая связывающая молекула, обладающая способностью специфически распознавать эпитоп в белке гемагглютинина вируса гриппа (HA) и связываться с этим эпитопом, где указанная молекула обладает нейтрализующей активностью, направленной против вирусов гриппа, содержащих HA подтипа H3, и перекрестно нейтрализующей активностью, направленной против, по меньшей

мере, вируса гриппа, содержащего HA подтипа H7, и/или вируса гриппа, содержащего HA подтипа H10, где указанная связывающая молекула обладает способностью предотвращать *in vitro* расщепление трипсином молекулы-предшественника HA типа H3, где молекулой является HA0, в HA1 и HA2, где указанная связывающая молекула включает область CDR1 тяжелой цепи SEQ ID NO: 144, область CDR2 тяжелой цепи SEQ ID NO: 145 и область CDR3 тяжелой цепи SEQ ID NO: 146, а также область CDR1 легкой цепи SEQ ID NO: 147, область CDR2 легкой цепи SEQ ID NO: 148 и область CDR3 легкой цепи SEQ ID NO: 149.

4. Выделенная связывающая молекула по пп.1-3, обладающая способностью специфически распознавать эпитоп в белке гемагглютинина вируса гриппа (HA) и связываться с этим эпитопом, где указанная молекула обладает нейтрализующей активностью, направленной против вирусов гриппа, содержащих HA подтипа H3, отличающаяся тем, что указанная связывающая молекула обладает, по крайней мере, нейтрализующей активностью, направленной против одного или нескольких штаммов H3N2, выбранных из группы, состоящей из штаммов: А/Висконсин/67/2005, А/Хиросима/52/2005, А/Панама/2007/99 и А/Иоганесбург/33/94.

5. Связывающая молекула по п.4, где указанная связывающая молекула дополнительно обладает нейтрализующей активностью, направленной против штамма H3N2 А/Гонконг/1/68.

6. Связывающая молекула по любому из пп.1-5, где указанная связывающая молекула обладает способностью предотвращать конформационные изменения белка HA типа H3, необходимые для слияния вирусной мембраны с эндосомной мембраной инфицированной клетки.

7. Связывающая молекула по любому из пп.1-6, где указанная связывающая молекула не обладает способностью связываться с вирусом гриппа А, содержащим HA подтипа H1, и нейтрализовывать указанный вирус.

8. Связывающая молекула по любому из пп.1-7, где указанной связывающей молекулой является человеческое моноклональное антитело.

9. Применение связывающей молекулы по любому из пп.1-8 в качестве лекарственного средства для профилактики и/или лечения инфекции, вызываемой вирусом гриппа, содержащим HA подтипа H3.

10. Применение связывающей молекулы по любому из пп.1-8 для диагностики инфекции гриппа, вызываемой вирусом гриппа, содержащим HA подтипа H3.

11. Иммуноконъюгат, включающий связывающую молекулу по любому из пп.1-8 и по меньшей мере одну метку, где метка содержит терапевтическое средство или диагностическое средство.

12. Фармацевтическая композиция для профилактики и/или лечения инфекции, вызываемой вирусом гриппа, содержащим HA подтипа H3, включающая связывающую молекулу по любому из пп.1-8 и фармацевтически приемлемый наполнитель.

13. Применение связывающей молекулы по любому из пп.1-8 для приготовления лекарственного средства для профилактики и/или лечения инфекции, вызываемой вирусом гриппа.

14. Применение по п.13, отличающееся тем, что указанная инфекция гриппа вызывается вирусом гриппа, содержащим HA подтипа H3.

15. Молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая связывающую молекулу по любому из пп.1-8.

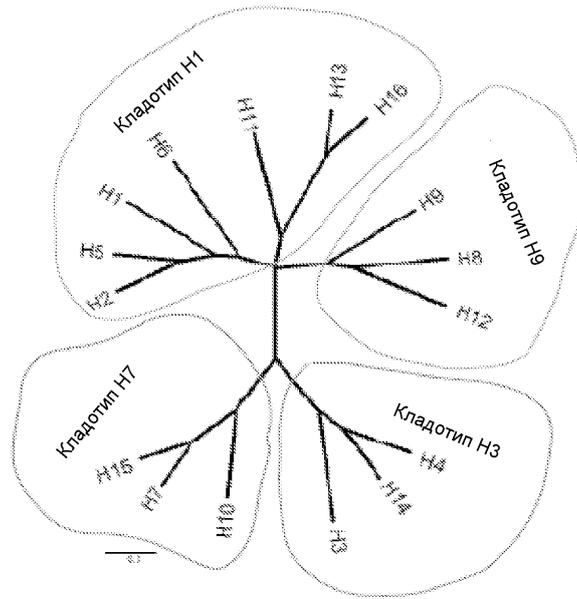
16. Вектор экспрессии, содержащий по меньшей мере одну молекулу нуклеиновой кислоты по п.15.

17. Хозяин для получения связывающей молекулы по любому из пп.1-8, содержащий по меньшей мере один вектор по п.16, где хозяином является клетка человека.

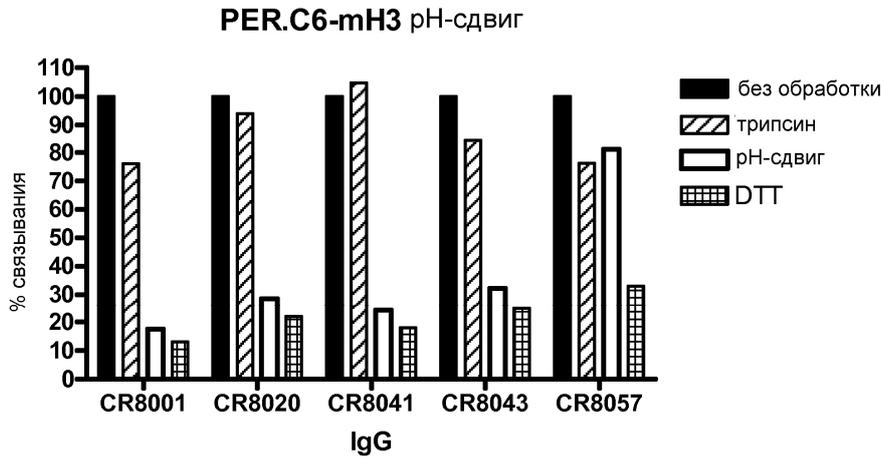
18. Способ получения связывающей молекулы по любому из пп.1-8, включающий следующие стадии:

культивирование хозяина по п.17 в условиях, благоприятствующих экспрессии связывающей молекулы; и

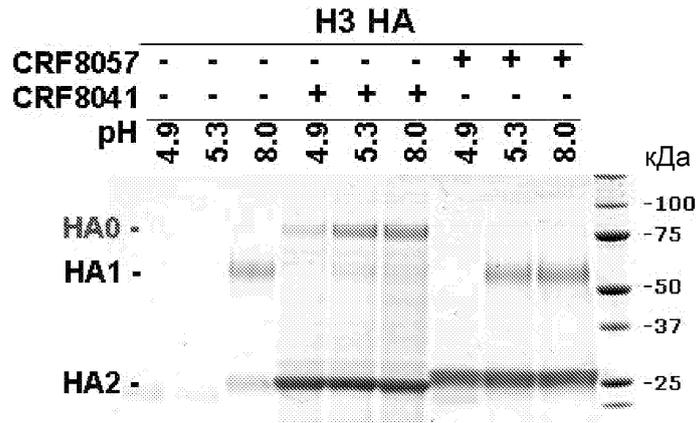
выделение экспрессированной связывающей молекулы.



Фиг. 1

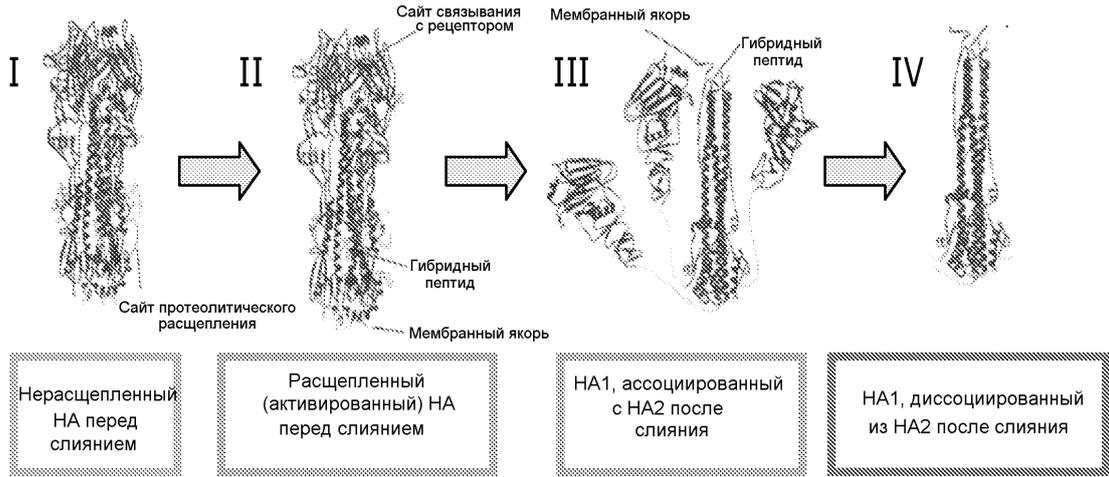


Фиг. 2



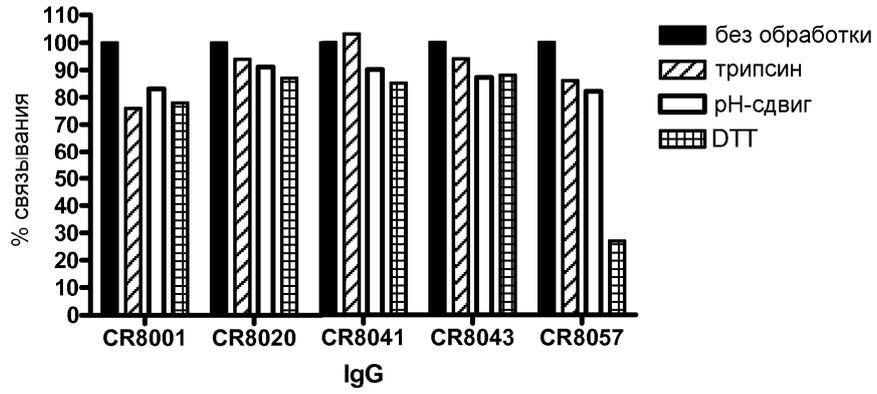
SDS-PAGE, восстановленный

Фиг. 3



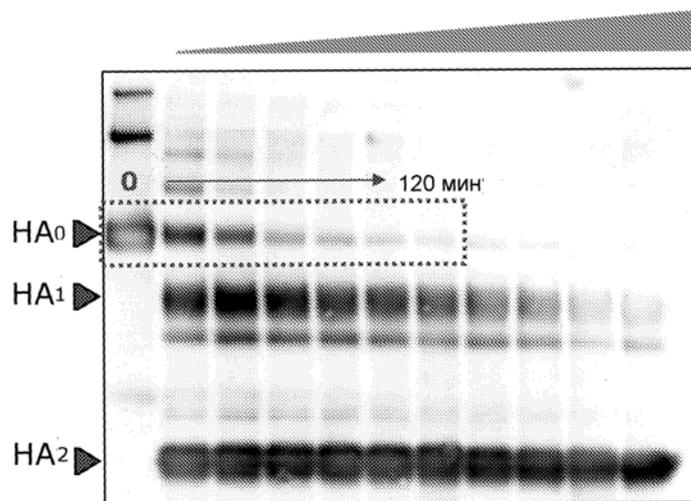
Фиг. 4

блокирование PER.C6-mH3 трипсином



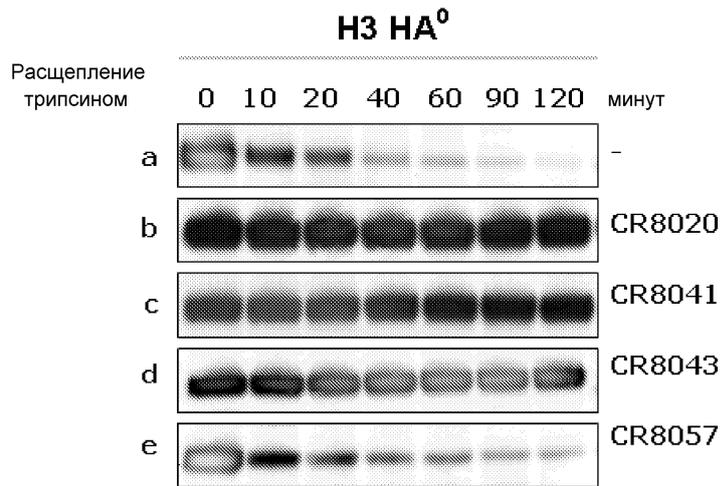
Фиг. 5

Расщепление (мин)



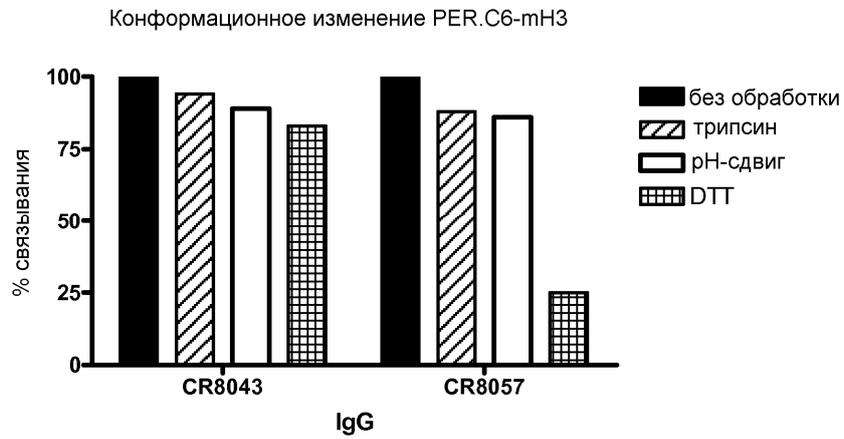
Для каждой дорожки: 0,4 мкг HA; SDS-PAGE, восстановленный

Фиг. 6



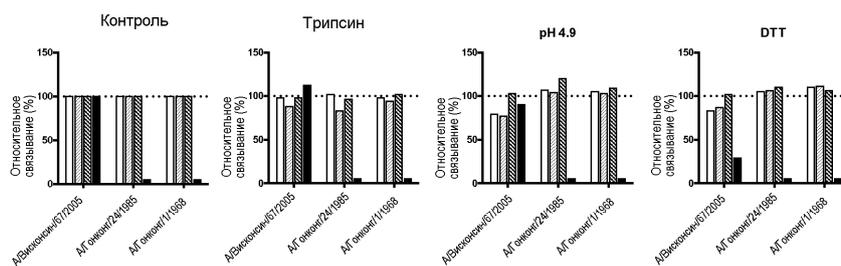
Для каждой дорожки: 0,4 мкг HA; 2,5 мкг IgG; SDS-PAGE, восстановленный

Фиг. 7

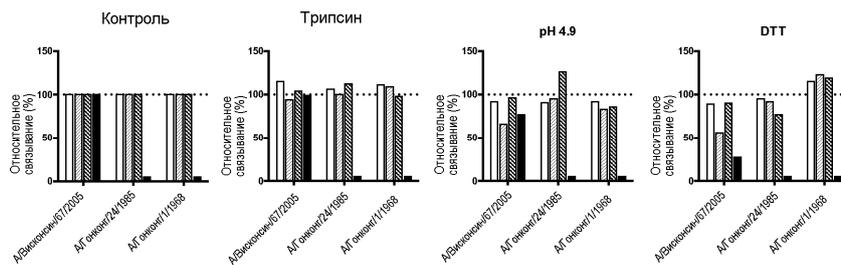


Фиг. 8

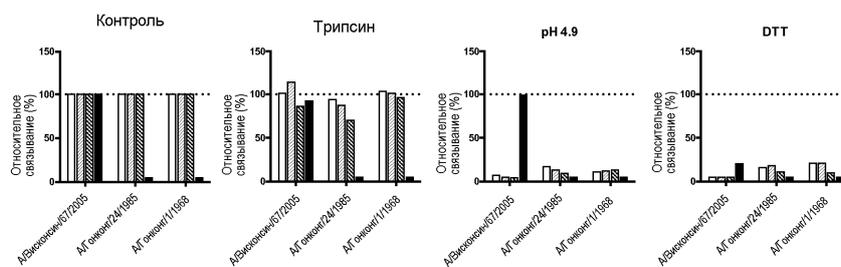
A.



B.



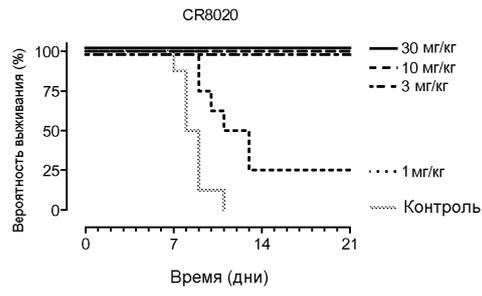
C.



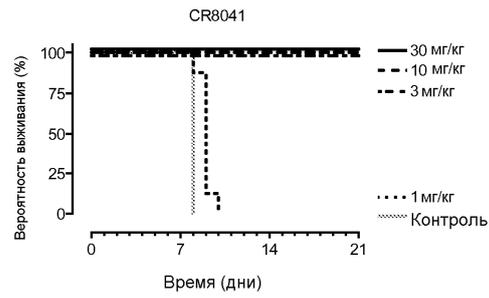
CR8020
 CR8041
 CR8043
 CR8057

Фиг. 9

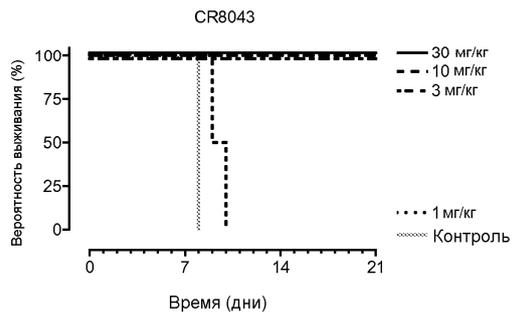
A.



B.

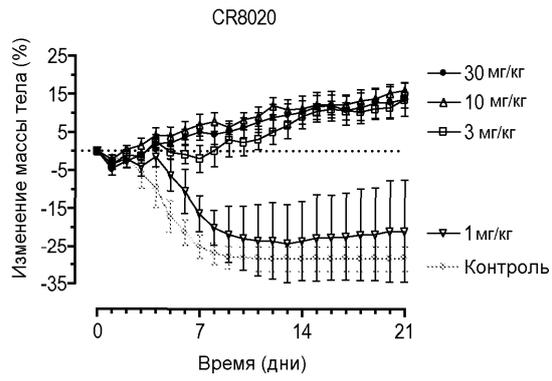


C.

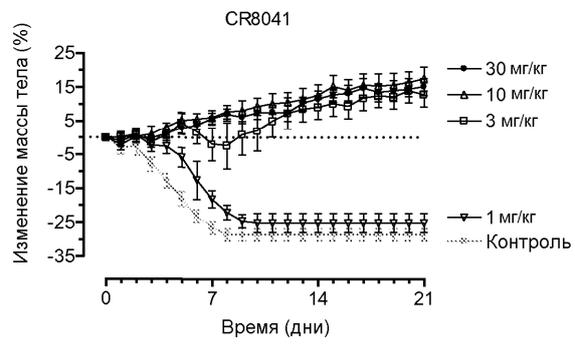


Фиг. 10

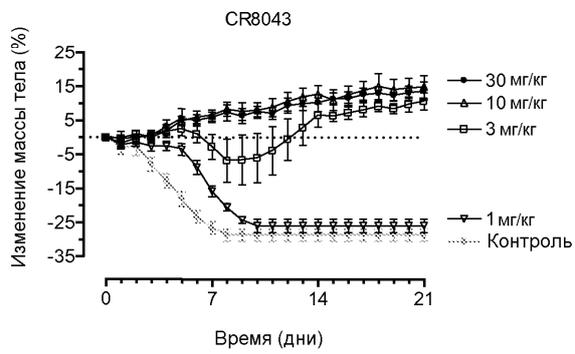
A.



B.

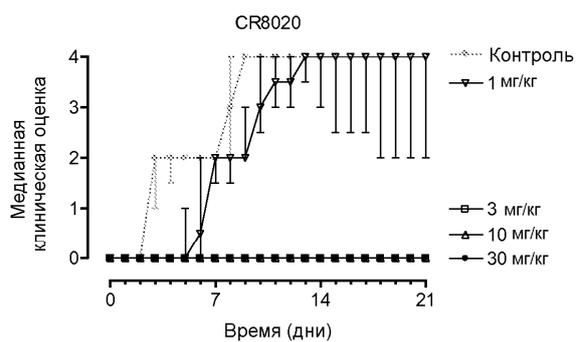


C.

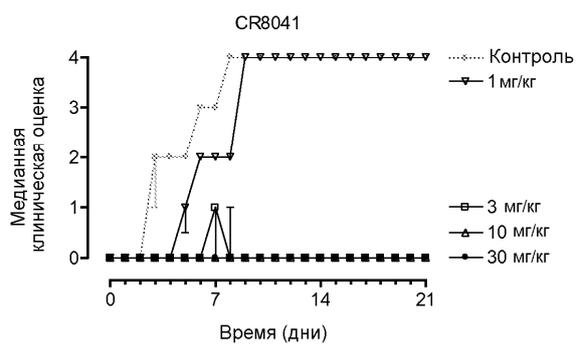


Фиг. 11

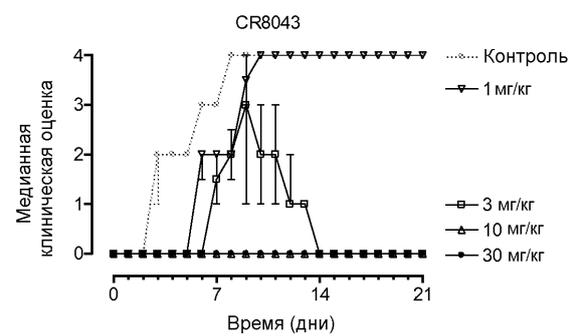
A.



B.

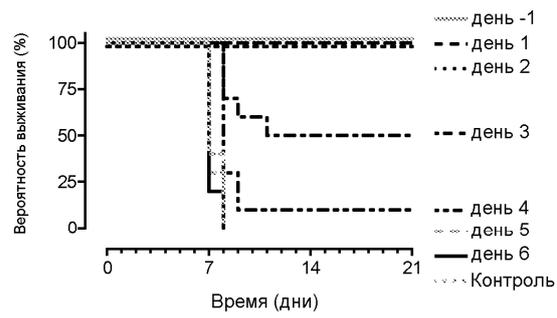


C.

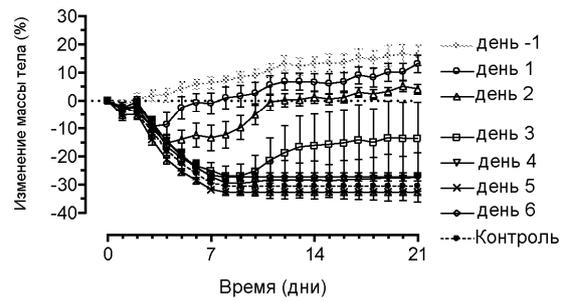


Фиг. 12

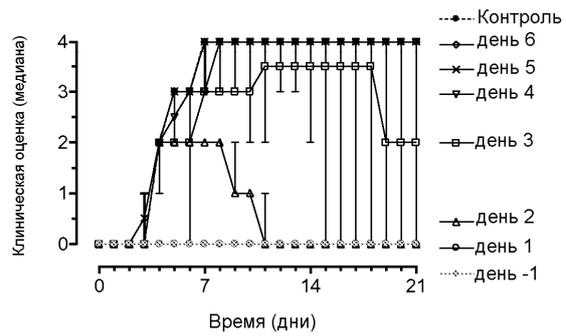
A.



B.

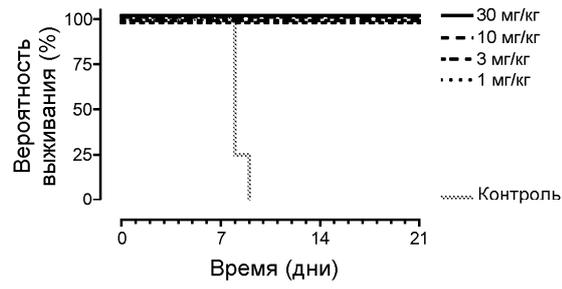


C.

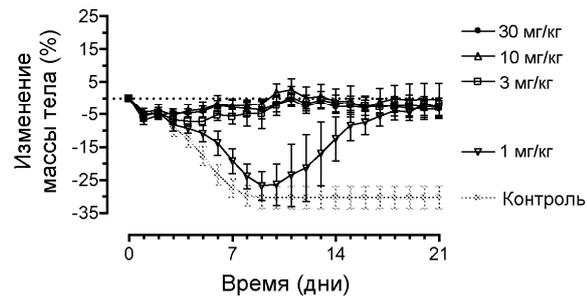


Фиг. 13

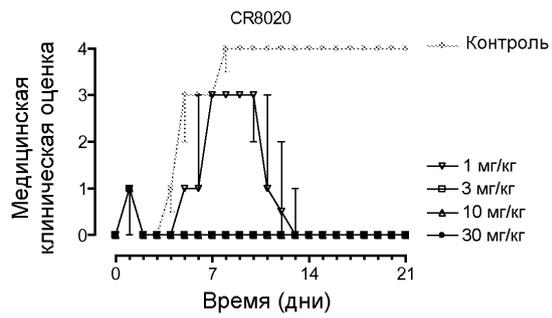
A.



B.

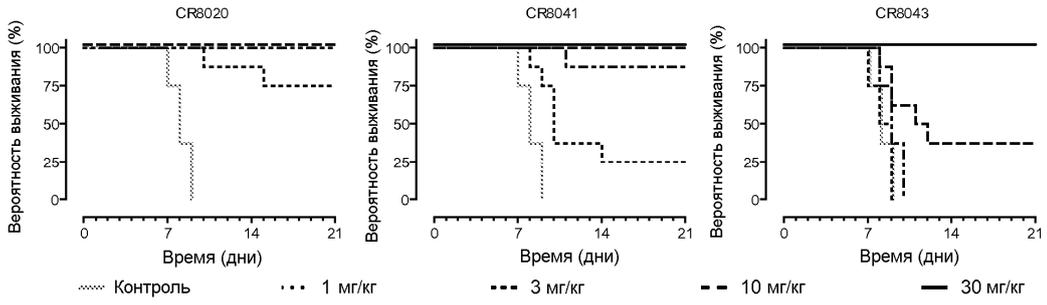


C.

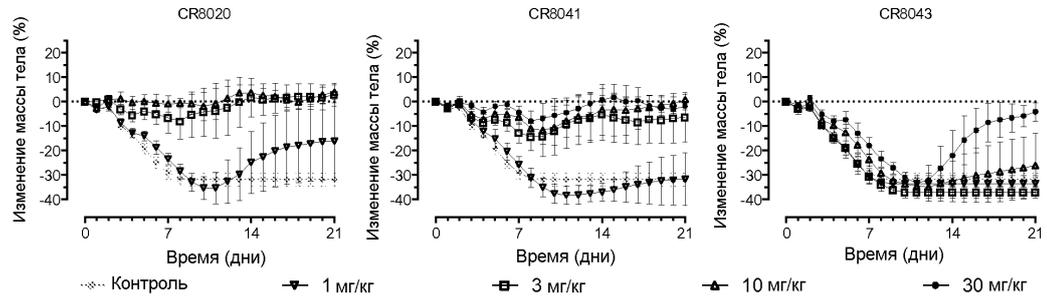


Фиг. 14

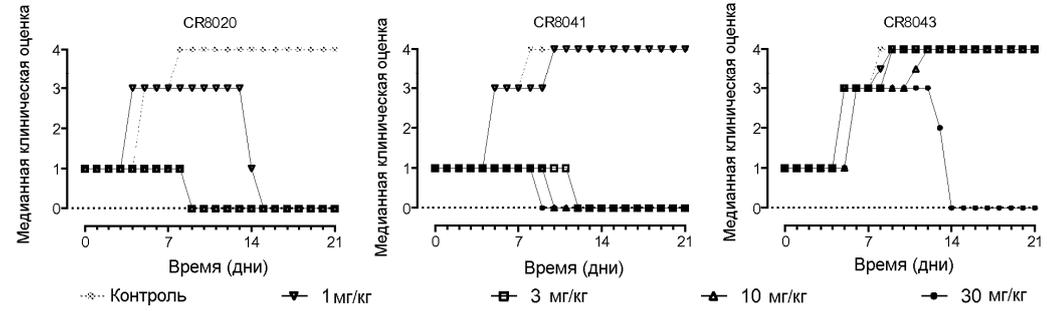
A.



B.

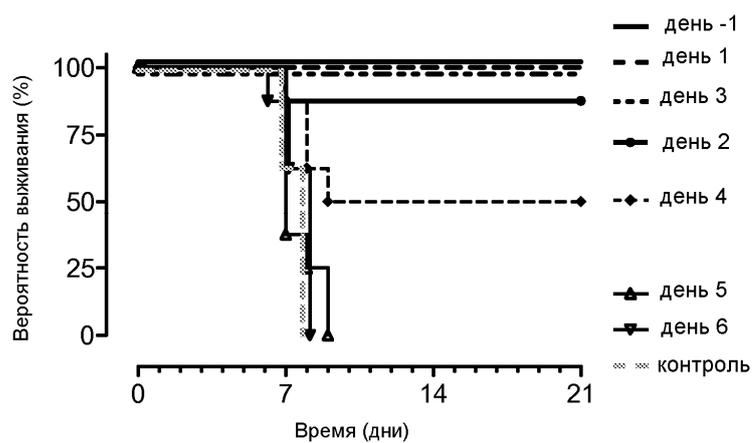


C.

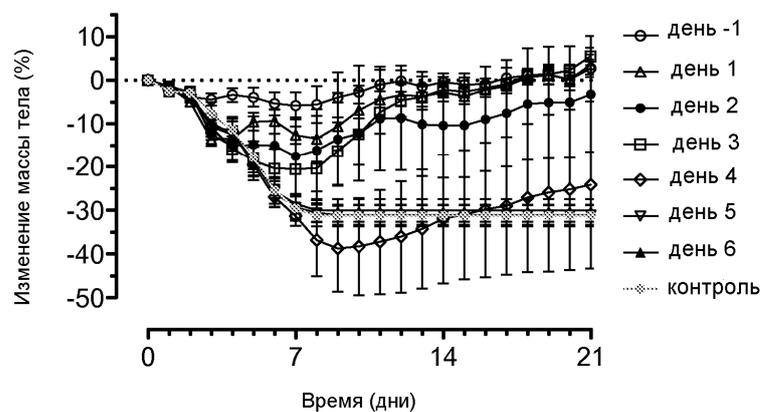


Фиг. 15

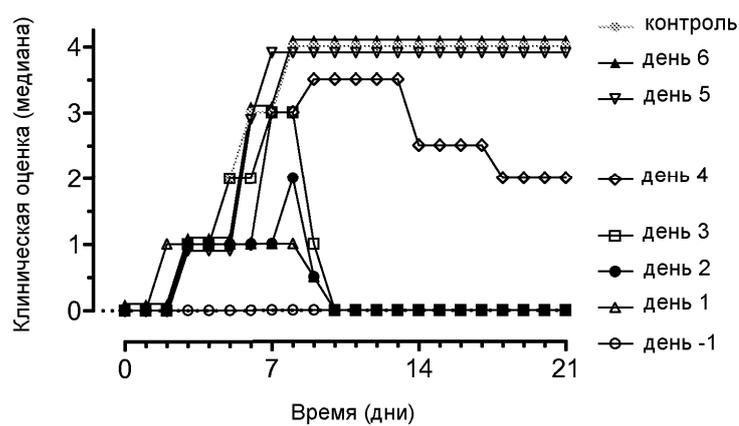
A.



B.



C.



Фиг. 16



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2