

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **048133**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2024.10.28

(21) Номер заявки
202092732

(22) Дата подачи заявки
2019.07.02

(51) Int. Cl. *A61P 31/18* (2006.01)
C07K 16/10 (2006.01)

(54) **АНТИТЕЛА, КОТОРЫЕ НАЦЕЛЕНЫ НА ГЛИКОПРОТЕИН gp120 ВИРУСА
ИММУНОДЕФИЦИТА ЧЕЛОВЕКА (ВИЧ), И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ**

(31) **62/693,642; 62/810,191**

(32) **2018.07.03; 2019.02.25**

(33) **US**

(43) **2021.06.16**

(86) **PCT/US2019/040342**

(87) **WO 2020/010107 2020.01.09**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ДЖИЛИД САЙЭНС, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
**Балакришнан Мини, Карр Брайан А.,
Хун Магдалена С., Канвар Ману,
Пэйс Крэйг С., Редер Дуг, Шенауэр
Мэтью Роберт, Серафини Лоредана,
Стивенсон Хизер Тереза, Томсен
Натан Д., Юй Хелен, Чжан Сюэ (US)**

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(56) **WO-A1-2013192589
WO-A1-2016196740**

**J. F. SCHEID ET AL.: "Sequence and
Structural Convergence of Broad and Potent HIV
Antibodies That Mimic CD4 Binding:supporting
online material", SCIENCE, NIH AUTHOR
MANUSCRIPT, vol. 333, no. 6049, 14 July 2011
(2011-07-14), pages 1-54, XP055400143, US ISSN:
0036-8075, DOI:10.1126/science.1207227 cited in the
application, the whole document**

(57) Предложены антитела, которые связываются с gp120 ВИЧ и нейтрализуют ВИЧ. Также предложены способы применения таких антител отдельно или в комбинации с другими терапевтическими агентами для лечения или предотвращения ВИЧ-инфекции.

B1

048133

048133

B1

Ссылка на родственные заявки

Настоящее изобретение испрашивает приоритет в соответствии со статьей 35 § 119(e) ода законов США на основании предварительной заявки на патент США № 62/693Св642, поданной 3 июля 2018 г., и предварительной заявки на патент США № 62/810191, поданной 25 февраля 2019 г., содержания которых настоящим полностью включены в данное изобретение посредством ссылки во всех отношениях.

Перечень последовательностей

В настоящее изобретение входит перечень последовательностей, который был подан в электронном виде в формате ASCII и настоящим полностью включен в данное изобретение посредством ссылки. Указанная копия ASCII, созданная 10 июня 2019 г., названа 1232_P2F_SL.txt, и ее размер составляет 899216 байт.

Область техники

Настоящее изобретение относится к антителам и их антигенсвязывающим фрагментам для лечения и/или предотвращения инфекции вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ).

Уровень техники

Инфекция вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ) и схожие заболевания являются главной всемирной проблемой общественного здравоохранения. Большая часть из одобренных на сегодняшний день методов лечения ВИЧ-инфекции нацелена на обратную транскриптазу, ферменты протеазы и интегразу вируса. До сих пор с данными методами лечения были связаны устойчивость ВИЧ к таким существующим лекарственным средствам, токсичность при длительном применении и отсутствие соблюдения пациентом схем ежедневного приема доз. Следовательно, важно находить и разрабатывать новые антитела против ВИЧ с предпочтительными свойствами, подходящими для терапевтического применения.

В WO 2012/158948 описаны человеческие антитела против ВИЧ, происходящие из В-клеток памяти ВИЧ-инфицированных доноров, которые способны ингибировать инфицирование видами ВИЧ-1 из множества клад. Антитела против ВИЧ также описаны, например, в WO 2005/058963, WO 2013/090644, WO 2014/063059 и EP 0690132B1. Терапевтическое применение указанных антител может быть ограничено вследствие охвата вирусов одного пациента, фармакокинетики, полиспецифичности и других свойств. Соответственно, существует потребность в новых антителах против ВИЧ для терапевтического применения.

Краткое описание изобретения

В настоящем изобретении предложены композиции для лечения или предотвращения ВИЧ. В частности, в данном изобретении предложены антитела, которые связывают гликопротеин gp120 (gp120) оболочки (Env) вируса иммунодефицита человека (ВИЧ). В настоящем изобретении предложены антитела против ВИЧ и их антигенсвязывающие фрагменты, включая нейтрализующие антитела против ВИЧ широкого спектра действия и их антигенсвязывающие фрагменты, фармацевтические композиции, содержащие такие антитела и их фрагменты, и способы применения данных антител и их фрагментов для лечения и предотвращения ВИЧ-инфекции.

В одном аспекте, в настоящем изобретении предложено антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с гликопротеином gp120 оболочки вируса иммунодефицита человека-1 (ВИЧ-1). Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат варибельную область тяжелой цепи (VH), содержащую определяющие комплементарность области (CDR, гиперварибельные участки) VH, и варибельную область легкой цепи (VL), содержащую области CDR VL. В некоторых вариантах реализации области CDR VH и области CDR VL имеют последовательности, представленные в: SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно; SEQ ID NO: 159, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно; SEQ ID NO: 137, 160, 139, 140, 141 и 142, соответственно; SEQ ID NO: 137, 161, 139, 140, 141 и 142, соответственно; SEQ ID NO: 137, 162, 139, 140, 141 и 142, соответственно; SEQ ID NO: 137, 163, 139, 140, 141 и 142, соответственно; SEQ ID NO: 137, 138, 164, 140, 141 и 142, соответственно; SEQ ID NO: 159, 138, 164, 140, 141 и 142, соответственно; SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 165 и 142, соответственно; SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 166 и 142, соответственно; SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 167 и 142, соответственно; SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 168 и 142, соответственно; SEQ ID NO: 137, 138, 154, 140, 141 и 142, соответственно, или последовательности SEQ ID NO: 137, 138, 139, 570, 141 и 142, соответственно. В некоторых случаях антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат в каркасной области 3 (FR3) VH в положении, соответствующем 74a, 74b, 74c и 74d (нумерация по Кабату), последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO: 453 или SEQ ID NO: 627. В некоторых случаях области CDR VH и области CDR VL имеют последовательности, представленные в: SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат в каркасной области 3 (FR3) VH в положении, соответствующем 74a, 74b, 74c, и 74d (нумерация по Кабату), последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO: 627. В некоторых случаях антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат FR3 VH, содержащую следующую последовательность аминокислот:

RVSLTRHASWDFDFTFSFYMDLKLRSDDTAVYFCAR (SEQ ID NO: 628) или RVSLTRHASWDFDFTFSFYMDLKLRSDDTAVYFCAR (SEQ ID NO: 629). В некоторых вариантах реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат FR3 VH, содержащую следующую последовательность

аминокислот: RVS LTRHAS FDFDTFSFYMDLKALRSDDTAVYFCAR (SEQ ID NO: 629). В некоторых случаях области CDR VH и области CDR VL имеют последовательности, представленные в: SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат FR3 VH, содержащую следующую последовательность аминокислот: RVS LTRHAS FDFDTFSFYMDLKALRSDDTAVYFCAR (SEQ ID NO: 629).

В другом аспекте области CDR VH и области CDR VL имеют последовательности, представленные в: SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно; или последовательности SEQ ID NO: 153, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно. В некоторых случаях VH данного антитела содержит один или более из следующих: гистидин в положении 3, серин в положении 5, глутамин в положении 72, тирозин в положении 76, валин в положении 82с, изолейцин в положении 89 (нумерация положений согласно Кабату). В некоторых случаях VL данного антитела содержит один или более из следующих: аргинин в положении 14, аланин в положении 60, валин в положении 83 и изолейцин в положении 98 (нумерация положений согласно Кабату). В некоторых случаях антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат в каркасной области 3 (FR3) VH в положении, соответствующем 74а, 74b, 74с и 74d (нумерация по Кабату), последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO: 453 или SEQ ID NO: 627. В некоторых случаях антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат FR3 VH, содержащую следующую последовательность аминокислот:

RVS LTRHAS WDFDTFSFYMDLKALRSDDTAVYFCAR (SEQ ID NO: 628) или RVS LTRHAS FDFDTFSFYMDLKALRSDDTAVYFCAR (SEQ ID NO: 629). В некоторых вариантах реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат FR3 VH, содержащую следующую последовательность аминокислот: RVS LTRHAS FDFDTFSFYMDLKALRSDDTAVYFCAR (SEQ ID NO: 629). В некоторых вариантах реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат области CDR VH и области CDR VL, имеющие последовательности, представленные в SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно, и содержат в каркасной области 3 (FR3) VH в положении, соответствующем 74а, 74b, 74с и 74d (нумерация по Кабату), последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO: 627. В некоторых вариантах реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат области CDR VH и области CDR VL, имеющие последовательности, представленные в SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно, и содержат FR3 VH, содержащую следующую последовательность аминокислот:

RVS LTRHAS FDFDTFSFYMDLKALRSDDTAVYFCAR (SEQ ID NO: 629). В некоторых вариантах реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат области CDR VH и области CDR VL, имеющие последовательности, представленные в SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно, и содержат FR3 VH, содержащую следующую последовательность аминокислот: RVS LTRHAS FDFDTFSFYMDLKALRSDDTAVYFCAR (SEQ ID NO: 629), и содержат VL, содержащую последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO: 278. В некоторых вариантах реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат области CDR VH и области CDR VL, имеющие последовательности, представленные в SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно, и содержат VH, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, например, на 100%, идентична последовательности аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 477, и VL, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, например, на 100%, идентична последовательности аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 278, и содержат FR3 VH, содержащую следующую последовательность аминокислот:

RVS LTRHAS FDFDTFSFYMDLKALRSDDTAVYFCAR (SEQ ID NO: 629). В некоторых вариантах реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат области CDR VH и области CDR VL, имеющие последовательности, представленные в SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно, и содержат VH, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, например, на 100%, идентична последовательности аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 477, и содержат FR3 VH, содержащую следующую последовательность аминокислот:

RVS LTRHAS FDFDTFSFYMDLKALRSDDTAVYFCAR (SEQ ID NO: 629), и содержат VL, содержащую последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO: 278.

Указанные выше антитела могут дополнительно содержать VH с одной или более (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 или 18) из следующих аминокислот в указанных положениях (нумерация положений согласно Кабату): валин в положении 5, глутаминовая кислота в положении 10, лизин в положении 12, лизин в положении 23, аспарагин в положении 28, аргинин в положении 30, тиро-

нии 18, аланин в положении 19, серин в положении 65, треонин или гистидин в положении 72, лизин в положении 74, серин в положении 76, серин в положении 77, фенилаланин в положении 98 или глицин в положении 99. В некоторых вариантах реализации VL содержит аланин в положении 19 (нумерация по Кабату). В других дополнительных вариантах реализации VH содержит одну или более из следующих аминокислот в указанных положениях (нумерация положений согласно Кабату): гистидин в положении 72, фенилаланин в положении 76 или фенилаланин в положении 74а. В других вариантах реализации VL содержит одну или более (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8) из следующих аминокислот в указанных положениях (нумерация положений согласно Кабату): аргинин в положении 18, аланин в положении 19, серин в положении 65, треонин в положении 72, серин в положении 76, серин в положении 77, фенилаланин в положении 98 или глицин в положении 99. В некоторых вариантах реализации антители или его антигенсвязывающий фрагмент содержат области CDR VH и области CDR VL, имеющие последовательности, представленные в SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно, и содержат VH, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, например, на 100%, идентична последовательности аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 477, и VL, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, например, на 100%, идентична последовательности аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 278, и содержат VH со следующими аминокислотами в указанных положениях (нумерация положений согласно Кабату): аспарагин в положении 28, аргинин в положении 30, тирозин в положении 32, гистидин в положении 72, фенилаланин в положении 76, и фенилаланин в положении 74а, и тирозин в положении 99 (например, аспарагин в положении 28, аргинин в положении 30, тирозин в положении 32, гистидин в положении 73, фенилаланин в положении 76 и тирозин в положении 98, причем положения аминокислот соответствуют таковым в SEQ ID NO: 477). В некоторых вариантах реализации антители или его антигенсвязывающий фрагмент содержат области CDR VH и области CDR VL, имеющие последовательности, представленные в SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно, и содержат VH, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, например, на 100%, идентична последовательности аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 477, и VL, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, например, на 100%, идентична последовательности аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 278, и содержат VL с аланином в положении 19 (нумерация по Кабату). В некоторых вариантах реализации антители или его антигенсвязывающий фрагмент содержат области CDR VH и области CDR VL, имеющие последовательности, представленные в SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно, и содержат VH, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, например, на 100%, идентична последовательности аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 477, и VL, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, например, на 100%, идентична последовательности аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 278, и содержат VH со следующими аминокислотами в указанных положениях (нумерация положений согласно Кабату): аспарагин в положении 28, аргинин в положении 30, тирозин в положении 32, гистидин в положении 72, фенилаланин в положении 76, и фенилаланин в положении 74а, и тирозин в положении 99, и содержат VL со следующими аминокислотами в указанных положениях (нумерация положений согласно Кабату): аланин в положении 19.

В некоторых вариантах реализации VL содержит последовательность аминокислот, представленную в любой из последовательностей SEQ ID NO: 332-342. В некоторых случаях антители содержит Fc-область IgG1 человека. В некоторых вариантах реализации Fc-область IgG1 человека представляет собой IgG1m17 (SEQ ID NO: 348).

Описанное выше антители или его антигенсвязывающий фрагмент дополнительно содержат Fc-область IgG1 человека, содержащую (положения пронумерованы согласно нумерации EU): (i) аспарагиновую кислоту в положении 239, глутаминовую кислоту в положении 332, аланин в положении 236, лейцин в положении 330; (ii) аспарагиновую кислоту в положении 239, глутаминовую кислоту в положении 332, лейцин в положении 428 и серин в положении 434; (iii) аспарагиновую кислоту в положении 239, глутаминовую кислоту в положении 332, аланин в положении 236, лейцин в положении 428 и серин в

генсвязывающий фрагмент содержат области CDR VH и области CDR VL, имеющие последовательности, представленные в SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно, и содержат VH, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, например, на 100%, идентична последовательности аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 477, и VL, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, например, на 100%, идентична последовательности аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 278, и дополнительно содержат Fc-область IgG1 человека, содержащую (положения пронумерованы согласно нумерации EU): аспарагиновую кислоту в положении 239, глутаминовую кислоту в положении 332, аланин в положении 236, лейцин в положении 330, лейцин в положении 428 и серин в положении 434, и константную область легкой цепи каппа человека Km3 (SEQ ID NO:351).

В некоторых вариантах реализации указанное антитело или антигенсвязывающий фрагмент имеют улучшенное, продленное, увеличенное или повышенное время полужизни в сыворотке млекопитающего (например, отличного от человека примата, человека) по сравнению с другими антителами против ВИЧ, такими как антитело А. В некоторых вариантах реализации антитело или антигенсвязывающий фрагмент имеют время полужизни в сыворотке человека, которое составляет по меньшей мере приблизительно 3 суток, например, по меньшей мере приблизительно 4 суток, по меньшей мере приблизительно 5 суток, по меньшей мере приблизительно 6 суток, по меньшей мере приблизительно 7 суток, по меньшей мере приблизительно 8 суток, по меньшей мере приблизительно 9 суток, по меньшей мере приблизительно 10 суток, по меньшей мере приблизительно 12 суток, по меньшей мере приблизительно 14 суток, по меньшей мере приблизительно 16 суток, по меньшей мере приблизительно 18 суток, по меньшей мере приблизительно 20 суток, по меньшей мере приблизительно 21 сутки, по меньшей мере приблизительно 24 суток, по меньшей мере приблизительно 28 суток, по меньшей мере приблизительно 30 суток или больше. В некоторых вариантах реализации антитело или антигенсвязывающий фрагмент обладают улучшенной, усиленной или повышенной активностью уничтожения инфицированных ВИЧ клеток по сравнению с другими антителами против ВИЧ, такими как антитело А. В некоторых вариантах реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат области CDR VH и области CDR VL, имеющие последовательности, представленные в SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно, и обладают улучшенным, продленным, увеличенным или повышенным временем полужизни в сыворотке млекопитающего (например, отличного от человека примата, человека) по сравнению с другими антителами против ВИЧ, такими как антитело А. В некоторых вариантах реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат области CDR VH и области CDR VL, имеющие последовательности, представленные в SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно, и обладают улучшенной, усиленной или повышенной активностью уничтожения инфицированных ВИЧ клеток по сравнению с другими антителами против ВИЧ, такими как антитело А.

В другом аспекте настоящего изобретения предложено антитело, которое связывается с гликопротеином gp120 оболочки ВИЧ-1. Указанное антитело содержит VH, содержащую области CDR 1-3 VH, и VL, содержащую области CDR 1-3 VL, причем области CDR 1-3 VH и области CDR 1-3 VL имеют последовательности, представленные в: SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно; или последовательности SEQ ID NO: 153, 138, 154, 140, 141 и 142, соответственно. Антитело содержит Fc-область IgG1 человека, содержащую (положения пронумерованы согласно нумерации EU): (i) аспарагиновую кислоту в положении 239, глутаминовую кислоту в положении 332, аланин в положении 236, лейцин в положении 330; (ii) аспарагиновую кислоту в положении 239, глутаминовую кислоту в положении 332, лейцин в положении 428 и серин в положении 434; (iii) аспарагиновую кислоту в положении 239, глутаминовую кислоту в положении 332, аланин в положении 236, лейцин в положении 428 и серин в положении 434; (iv) аспарагиновую кислоту в положении 239, глутаминовую кислоту в положении 332, лейцин в положении 330, лейцин в положении 428 и серин в положении 434; (v) аспарагиновую кислоту в положении 239, глутаминовую кислоту в положении 332, аланин в положении 236, лейцин в положении 330, лейцин в положении 428 и серин в положении 434; или (vi) лейцин в положении 243, пролин в положении 292, лейцин в положении 300, изолейцин в положении 305, лейцин в положении 396, лейцин в положении 428 и серин в положении 434. В некоторых вариантах реализации антитело содержит VH, содержащую области CDR 1-3 VH, и VL, содержащую области CDR 1-3 VL, причем области CDR 1-3 VH и области CDR 1-3 VL имеют последовательности, представленные в: SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно, причем антитело содержит Fc-область IgG1 человека, содержащую (положения пронумерованы согласно нумерации EU): аспарагиновую кислоту в положении 239, глутаминовую кислоту в положении 332, аланин в положении 236, лейцин в положении 330, лейцин в положении 428 и серин в положении 434.

В некоторых вариантах реализации антитело содержит легкую цепь, содержащую аланин в положении 19 (нумерация по Кабату). В некоторых вариантах реализации антитело содержит в каркасной

области 3 (FR3) VH в положениях, соответствующих 74a, 74b, 74c и 74d (нумерация по Кабату), последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO: 453 или SEQ ID NO: 627. В некоторых вариантах реализации антитело содержит в каркасной области 3 (FR3) VH в положениях, соответствующих 74a, 74b, 74c и 74d (нумерация по Кабату), последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO: 627. В некоторых вариантах реализации антитело содержит FR3 VH, содержащую следующую последовательность аминокислот:

RVSLTRHASWDFDFTFSFYMDLKLRSDDTAVYFCAR (SEQ ID NO: 628) или RVSLTRHASDFDFTFSFYMDLKLRSDDTAVYFCAR (SEQ ID NO: 629). В некоторых вариантах реализации антитело содержит FR3 VH, содержащую следующую последовательность аминокислот:

RVSLTRHASDFDFTFSFYMDLKLRSDDTAVYFCAR (SEQ ID NO: 629). В некоторых вариантах реализации антитело содержит последовательность аминокислот, представленную в любой из последовательностей SEQ ID NO: 332 -342. В некоторых случаях антитело содержит VH и VL с последовательностью аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 182 и 223, соответственно. В некоторых случаях антитело содержит VH и VL с последовательностью аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 220 и 276, соответственно. В некоторых вариантах реализации антитело содержит VH и VL с последовательностью аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 477 и 278, соответственно. В других вариантах реализации Fc-область IgG1 человека представляет собой IgG1ml7 (SEQ ID NO: 348). В некоторых вариантах реализации антитело содержит константную область легкой цепи каппа человека. В некоторых случаях константная область легкой цепи каппа человека представляет собой Km3 (SEQ ID NO: 351).

В некоторых вариантах реализации указанное антитело или антигенсвязывающий фрагмент имеют улучшенное, продленное, увеличенное или повышенное время полужизни в сыворотке млекопитающего (например, отличного от человека примата, человека) по сравнению с другими антителами против ВИЧ, такими как антитело А и/или антитело В. В некоторых вариантах реализации антитело или антигенсвязывающий фрагмент имеют время полужизни в сыворотке человека, которое составляет по меньшей мере приблизительно 3 суток, например, по меньшей мере приблизительно 4 суток, по меньшей мере приблизительно 5 суток, по меньшей мере приблизительно 6 суток, по меньшей мере приблизительно 7 суток, по меньшей мере приблизительно 8 суток, по меньшей мере приблизительно 9 суток, по меньшей мере приблизительно 10 суток, по меньшей мере приблизительно 12 суток, по меньшей мере приблизительно 14 суток, по меньшей мере приблизительно 16 суток, по меньшей мере приблизительно 18 суток, по меньшей мере приблизительно 20 суток, по меньшей мере приблизительно 21 сутки, по меньшей мере приблизительно 24 суток, по меньшей мере приблизительно 28 суток, по меньшей мере приблизительно 30 суток или больше. В некоторых вариантах реализации антитело обладает улучшенной, усиленной или повышенной активностью уничтожения инфицированных ВИЧ клеток по сравнению с другими антителами против ВИЧ, такими как антитело А и/или антитело В. В некоторых вариантах реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат области CDR VH и области CDR VL, имеющие последовательности, представленные в SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно, причем антитело содержит Fc-область IgG1 человека, содержащую (положения пронумерованы согласно нумерации EU): лейцин в положении 428 и серин в положении 434, и обладает улучшенным, продленным, увеличенным или повышенным временем полужизни в сыворотке млекопитающего (например, отличного от человека примата, человека) по сравнению с другими антителами против ВИЧ, такими как антитело А и/или антитело В. В некоторых вариантах реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат области CDR VH и области CDR VL, имеющие последовательности, представленные в SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно, причем антитело содержит Fc-область IgG1 человека, содержащую (положения пронумерованы согласно нумерации EU): аспарагиновую кислоту в положении 239, глутаминовую кислоту в положении 332, аланин в положении 236, лейцин в положении 330, и обладают улучшенной, усиленной или повышенной активностью уничтожения инфицированных ВИЧ клеток по сравнению с другими антителами против ВИЧ, такими как антитело А и/или антитело В.

В другом дополнительном аспекте настоящего изобретения предложено антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL), причем VH и VL содержат последовательности аминокислот, представленные далее соответственно: (1) последовательности SEQ ID NO: 184 и 223; (2) последовательности SEQ ID NO: 185 и 223; (3) последовательности SEQ ID NO: 182 и 225; (4) последовательности SEQ ID NO: 185 и 225; (5) последовательности SEQ ID NO: 186 и 223; (6) последовательности SEQ ID NO: 187 и 223; (7) последовательности SEQ ID NO: 188 и 223; (8) последовательности SEQ ID NO: 189 и 223; (9) последовательности SEQ ID NO: 190 и 223; (10) последовательности SEQ ID NO: 191 и 223; (11) последовательности SEQ ID NO: 192 и 223; (12) последовательности SEQ ID NO: 193 и 223; (13) последовательности SEQ ID NO: 194 и 223; (14) последовательности SEQ ID NO: 195 и 223; (15) последовательности SEQ ID NO: 196 и 223; (16) последовательности SEQ ID NO: 197 и 223; (17) последовательности SEQ ID NO: 198 и 223; (18) последовательности SEQ ID NO: 199 и 223; (19) последовательности SEQ ID NO: 200 и 223; (20) последовательности SEQ ID NO: 201 и 223; (21) последовательности SEQ ID NO: 202 и 223; (22) последовательности SEQ ID NO: 203 и 223; (23) последовательности SEQ ID NO: 204 и 223; (24) последовательности SEQ ID NO: 205 и 223; (25) последовательности SEQ ID NO: 206 и 223; (26) последовательности SEQ ID NO:

вательность аминокислот, представленные в последовательностях SEQ ID NO: 220 и 276, соответственно. В других вариантах реализации VH и VL содержат последовательность аминокислот, представленные в последовательностях SEQ ID NO: 182 и 516, соответственно. В других вариантах реализации VH и VL содержат последовательность аминокислот, представленные в последовательностях SEQ ID NO: 182 и 276, соответственно. В других вариантах реализации VH и VL содержат последовательность аминокислот, представленные в последовательностях SEQ ID NO: 182 и 569, соответственно. В некоторых вариантах реализации VH и VL содержат последовательность аминокислот, представленные в последовательностях SEQ ID NO: 477 и 223, соответственно. В некоторых вариантах реализации VH и VL содержат последовательность аминокислот, представленные в последовательностях SEQ ID NO: 477 и 278, соответственно. В некоторых вариантах реализации VH и VL содержат последовательность аминокислот, представленные в последовательностях SEQ ID NO: 477 и 292, соответственно. В других вариантах реализации VH и VL содержат последовательность аминокислот, представленные в последовательностях SEQ ID NO: 478 и 276, соответственно.

В некоторых вариантах реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат VH, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности аминокислот, выбранной из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 181 - 221 и 465 - 478, и VL, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности аминокислот, выбранной из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 222 - 311, 479 - 516 и 569. В некоторых вариантах реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат VH, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, например, на 100%, идентична последовательности аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 477, и VL, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, например, на 100%, идентична последовательности аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 278.

В некоторых вариантах реализации антитело дополнительно содержит Fc-область IgG1 человека. В некоторых случаях Fc-область IgG1 человека представляет собой IgG1m17 (SEQ ID NO: 348). В некоторых вариантах реализации антитело содержит Fc-область IgG1 человека, содержащую (положения пронумерованы согласно нумерации EU): (i) аспарагиновую кислоту в положении 239, глутаминовую кислоту в положении 332, аланин в положении 236, лейцин в положении 330; (ii) аспарагиновую кислоту в положении 239, глутаминовую кислоту в положении 332, лейцин в положении 428 и серин в положении 434; (iii) аспарагиновую кислоту в положении 239, глутаминовую кислоту в положении 332, аланин в положении 236, лейцин в положении 428 и серин в положении 434; (iv) аспарагиновую кислоту в положении 239, глутаминовую кислоту в положении 332, лейцин в положении 330, лейцин в положении 428 и серин в положении 434; (v) аспарагиновую кислоту в положении 239, глутаминовую кислоту в положении 332, аланин в положении 236, лейцин в положении 330, лейцин в положении 428 и серин в положении 434 или (vi) лейцин в положении 243, пролин в положении 292, лейцин в положении 300, изолейцин в положении 305, лейцин в положении 396, лейцин в положении 428 и серин в положении 434. В некоторых вариантах реализации антитело содержит константную область легкой цепи каппа человека. В некоторых случаях константная область легкой цепи каппа человека представляет собой Km3 (SEQ ID NO: 351).

В некоторых вариантах реализации у указанного антитела или антигенсвязывающего фрагмента улучшенное, продленное, увеличенное или повышенное время полужизни в сыворотке млекопитающего (например, отличного от человека примата, человека) по сравнению с другими антителами против ВИЧ, такими как антитело А и/или антитело В. В некоторых вариантах реализации у антитела или антигенсвязывающего фрагмента время полужизни в сыворотке человека составляет по меньшей мере приблизительно 3 суток, например, по меньшей мере приблизительно 4 суток, по меньшей мере приблизительно 5 суток, по меньшей мере приблизительно 6 суток, по меньшей мере приблизительно 7 суток, по меньшей мере приблизительно 8 суток, по меньшей мере приблизительно 9 суток, по меньшей мере приблизительно 10 суток, по меньшей мере приблизительно 12 суток, по меньшей мере приблизительно 14 суток, по меньшей мере приблизительно 16 суток, по меньшей мере приблизительно 18 суток, по меньшей мере приблизительно 20 суток, по меньшей мере приблизительно 21 сутки, по меньшей мере приблизительно 24 суток, по меньшей мере приблизительно 28 суток, по меньшей мере приблизительно 30 суток или больше. В некоторых вариантах реализации антитело или антигенсвязывающий фрагмент обладает

ется с гликопротеином gp120 оболочки вируса иммунодефицита человека-1 (ВИЧ-1), указанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат (i) варибельную область тяжелой цепи (VH), содержащую определяющие комплементарность области 1-3 VH (CDR 1-3), и (ii) варибельную область легкой цепи (VL), содержащую области CDR 1-3 VL, причем области CDR 1-3 VH и области CDR 1-3 VL имеют последовательности, представленные в: (i) последовательностях SEQ ID NO: 159, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно; (ii) последовательностях SEQ ID NO: 137, 160, 139, 140, 141 и 142, соответственно; (iii) последовательностях SEQ ID NO: 137, 161, 139, 140, 141 и 142, соответственно; (iv) последовательностях SEQ ID NO: 137, 162, 139, 140, 141 и 142, соответственно; (v) последовательностях SEQ ID NO: 137, 163, 139, 140, 141 и 142, соответственно; (vi) последовательностях SEQ ID NO: 137, 138, 164, 140, 141 и 142, соответственно; (vii) последовательностях SEQ ID NO: 159, 138, 164, 140, 141 и 142, соответственно; (viii) последовательностях SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 165 и 142, соответственно; (ix) последовательностях SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 166 и 142, соответственно; (x) последовательностях SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 167 и 142, соответственно; (xi) последовательностях SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 168 и 142, соответственно; (xii) последовательностях SEQ ID NO: 137, 138, 154, 140, 141 и 142, соответственно, или (xiii) последовательностях SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно, и причем по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90% или более сайтов N-связанного гликозилирования в VL сиалилированы. В некоторых вариантах реализации предложено антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с гликопротеином gp120 оболочки вируса иммунодефицита человека-1 (ВИЧ-1), указанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат (i) варибельную область тяжелой цепи (VH), содержащую определяющие комплементарность области 1-3 VH (CDR 1-3), и (ii) варибельную область легкой цепи (VL), содержащую области CDR 1-3 VL, причем области CDR 1-3 VH и области CDR 1-3 VL имеют последовательности, представленные в: SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно, и причем по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90% или более сайтов N-связанного гликозилирования в VL сиалилированы. В некоторых вариантах реализации предложено антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с гликопротеином gp120 оболочки вируса иммунодефицита человека-1 (ВИЧ-1), указанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат (i) варибельную область тяжелой цепи (VH), содержащую определяющие комплементарность области 1-3 VH (CDR 1-3), и (ii) варибельную область легкой цепи (VL), содержащую области CDR 1-3 VL, причем области CDR 1-3 VH и области CDR 1-3 VL имеют последовательности, представленные в: SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно, причем содержат VH со следующими аминокислотами в указанных положениях (нумерация положений согласно Кабату): аспарагин в положении 28, аргинин в положении 30, тирозин в положении 32, гистидин в положении 72, фенилаланин в положении 76, и фенилаланин в положении 74а и тирозин в положении 99 (например, аспарагин в положении 28, аргинин в положении 30, тирозин в положении 32, гистидин в положении 73, фенилаланин в положении 76 и тирозин в положении 98, причем положения аминокислот соответствуют таковым в SEQ ID NO: 477), и причем по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90% или более сайтов N-связанного гликозилирования в VL сиалилированы. В некоторых вариантах реализации в сайтах N-связанного гликозилирования в VL занятость сиаловой кислотой (например, одним или двумя концевыми остатками сиаловой кислоты) составляет по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90% или более. В некоторых вариантах реализации аспарагин в VL в положении аминокислоты 72 согласно нумерации по Кабату (N72) сиалилирован. В некоторых вариантах реализации сиалилированные сайты N-связанного гликозилирования в VL содержат от 1 до 5 остатков сиаловой кислоты, например, от 1 до 4 остатков сиаловой кислоты, например, от 1 до 3 остатков сиаловой кислоты, например, от 1 до 2 остатков сиаловой кислоты. В некоторых вариантах реализации VL сиалилированы N-ацетилнейраминовой кислотой (НАНК). В некоторых вариантах реализации остатки сиаловой кислоты присутствуют в двухантенных структурах. В некоторых вариантах реализации остатки сиаловой кислоты присутствуют в сложных структурах N-связанных гликанов. В некоторых вариантах реализации остатки сиаловой кислоты присутствуют в гибридных структурах N-связанных гликанов.

В дополнительном аспекте предложено биспецифическое антитело, содержащее: первое антигенсвязывающее плечо, которое связывается с gp120, указанное первое антигенсвязывающее плечо содержит: (i) области CDR 1-3 VH и области CDR 1-3 VL или (ii) VH и VL по любому из пунктов 1 - 63; и второе антигенсвязывающее плечо, связывающееся со вторым антигеном. В некоторых вариантах реализации предложено биспецифическое антитело, содержащее: первое антигенсвязывающее плечо, которое связывается с gp120, указанное первое антигенсвязывающее плечо содержит области CDR 1-3 VH и области CDR 1-3 VL, представленные в последовательностях SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно, и второе антигенсвязывающее плечо, связывающееся со вторым антигеном. В некоторых вариантах реализации предложено биспецифическое антитело, содержащее: первое антигенсвязывающее плечо, которое связывается с gp120, указанное первое антигенсвязывающее плечо содержит VH и VL,

содержащие последовательности аминокислот, представленные в SEQ ID NO: 477 и 278, соответственно, и второе антигенсвязывающее плечо, связывающееся со вторым антигеном. В некоторых вариантах реализации второй антиген выбран из группы, состоящей из: CD3, FcγRI (CD64), FcγRII (CD32), FcγRIII (CD16); CD89, CCR5, CD4, gp41, иммуноглобулин-подобного рецептора клеток-киллеров с тремя доменами Ig и длинным цитоплазматическим хвостом 1 (KLR3DL1), иммуноглобулин-подобного рецептора клеток-киллеров с тремя доменами Ig и длинным цитоплазматическим хвостом 1 (KLR3DL1), иммуноглобулин-подобного рецептора клеток-киллеров с двумя доменами Ig и длинным цитоплазматическим хвостом 1 (KLR2DL1), иммуноглобулин-подобного рецептора клеток-киллеров с двумя доменами Ig и длинным цитоплазматическим хвостом 2 (KLR2DL2), иммуноглобулин-подобного рецептора клеток-киллеров с двумя доменами Ig и длинным цитоплазматическим хвостом 3 (KLR2DL3), лектин-подобного рецептора C1 клеток-киллеров (KLRC1), лектин-подобного рецептора C2 клеток-киллеров (KLRC2), лектин-подобного рецептора C3 клеток-киллеров (KLRC3), лектин-подобного рецептора C4 клеток-киллеров (KLRC4), лектин-подобного рецептора D1 клеток-киллеров (KLRD1), лектин-подобного рецептора K1 клеток-киллеров (KLRK1), запускающего естественную цитотоксичность рецептора 3 (NCR3 или NKp30), запускающего естественную цитотоксичность рецептора 2 (NCR2 или NK-p44), запускающего естественную цитотоксичность рецептора 1 (NCR1 или NK-p46), CD226 (DNAM-1), молекулы цитотоксических и регуляторных Т-клеток (CRTAM или CD355), представителя 1 семейства сигнальных молекул активации лимфоцитов (SLAMF1), CD48 (SLAMF2), антигена лимфоцитов 9 (LY9 или SLAMF3), CD244 (2B4 или SLAMF4), CD84 (SLAMF5), представителя 6 семейства SLAM (SLAMF6 или NTB-A), представителя 7 семейства SLAM (SLAMF7 или CRACC), CD27 (TNFRSF7), семафорина 4D (SEMA4D или CD100) и CD160 (NK1), и второго эпитопа gp120.

В настоящем изобретении также предложена фармацевтическая композиция, содержащая антитело или антигенсвязывающий фрагмент, описанный в данном изобретении, и фармацевтически приемлемый носитель.

В некоторых вариантах реализации фармацевтическая композиция дополнительно содержит второй агент (например, один или более дополнительных агентов) для лечения ВИЧ-инфекции. В некоторых случаях фармацевтическая композиция дополнительно содержит обращающие латентность агенты (LRA) или иммуностимулирующий агент, например, агонист Toll-подобного рецептора (TLR), например, агонист TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9 и/или TLR10. В некоторых вариантах реализации LRA представляет собой агонист TLR7 или агонист TLR8. В некоторых случаях агонист TLR7 выбран из группы, состоящей из весатолимода, имихимода и резиквимода. В некоторых вариантах реализации фармацевтическая композиция дополнительно содержит антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывает, ингибирует и/или нейтрализует ВИЧ. В некоторых вариантах реализации фармацевтическая композиция дополнительно содержит второе антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывает, ингибирует и/или нейтрализует ВИЧ, причем второе антитело или его антигенсвязывающий фрагмент не конкурируют с антителом или антигенсвязывающим фрагментом, описанным в данном изобретении, за связывание с gp120. В некоторых вариантах реализации второе антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывает, ингибирует и/или нейтрализует ВИЧ, содержат вариабельные домены VH и VL нейтрализующего антитела широкого спектра действия (bNAbs) против ВИЧ или конкурирует с ними. В некоторых вариантах реализации второе антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывает, ингибирует и/или нейтрализует ВИЧ, связываются с эпитопом или участком gp120, выбранным из группы, состоящей из: (i) третьей вариабельной петли (V3) и/или области с высоким содержанием маннозы, содержащей гликан олигоманнозного типа в положении N332; (ii) второй вариабельной петли (V2) и/или верхушки тримера Env; (iii) стыка gp120 и gp41 или (iv) безмолвной поверхности gp120. В некоторых вариантах реализации второе антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывает, ингибирует и/или нейтрализует ВИЧ, связываются с эпитопом или участком gp120 в третьей вариабельной петле (V3) и/или области с высоким содержанием маннозы, содержащей гликан олигоманнозного типа в положении N332, и содержат области VH и VL из антитела, выбранного из группы, состоящей из GS-9722, PGT-121.60, PGT-121.66, PGT-121, PGT-122, PGT-123, PGT-124, PGT-125, PGT-126, PGT-128, PGT-130, PGT-133, PGT-134, PGT-135, PGT-136, PGT-137, PGT-138, PGT-139, 10-1074, VRC24, 2G12, BG18, 354BG8, 354BG18, 354BG42, 354BG33, 354BG129, 354BG188, 354BG411, 354BG426, DH270.1, DH270.6, PGDM12, VRC41.01, PGDM21, PCDN-33A, BF520.1 и VRC29.03, или конкурируют с ними. В некоторых вариантах реализации второе антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывает, ингибирует и/или нейтрализует ВИЧ, связываются с эпитопом или участком gp120 во второй вариабельной петле (V2) и/или верхушке тримера Env, и содержит области VH и VL из антитела, выбранного из группы, состоящей из PG9, PG16, PGC14, PGG14, PGT-142, PGT-143, PGT-144, PGT-145, CH01, CH59, PGDM1400, CAP256, CAP256-VRC26.08, CAP256-VRC26.09, CAP256-VRC26.25, PCT64-24E и VRC38.01, или конкурируют с ними. В некоторых вариантах реализации второе антитело или антигенсвязывающий фрагмент связываются с эпитопом или участком gp120 на стыке gp120 и gp41, и содержат области VH и VL из антитела, выбранного из группы, состоящей из PGT-151, CAP248-2B, 35022, 8ANC195, ACS202, VRC34 и VRC34.01, или конкурируют с ними. В некоторых вариантах реализации второе антитело или антиген-

связывающий фрагмент антитела, которое связывает, ингибирует и/или нейтрализует ВИЧ, связываются с эпитопом или участком безмолвной поверхности gp120, и содержат области VH и VL из антитела, выбранного из группы, состоящей из VRC-PG05 и SF12, или конкурируют с ними. В некоторых вариантах реализации второе антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывает, ингибирует и/или нейтрализует ВИЧ, связывается с эпитопом или участком gp41 в околочелювном регионе (MPER). В некоторых вариантах реализации второе антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывает, ингибирует и/или нейтрализует ВИЧ, связываются с эпитопом или участком gp41 в околочелювном регионе (MPER), и содержат области VH и VL из антитела, выбранного из группы, состоящей из 10E8, 10E8v4, 10E8-5R-100cF, 4E10, DH511.11P, 2F5, 7b2 и LN01, или конкурируют с ними. В некоторых вариантах реализации второе антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывает, ингибирует и/или нейтрализует ВИЧ, связываются с эпитопом или участком пептида слияния gp41 и содержат области VH и VL из антитела, выбранного из группы, состоящей из VRC34 и ACS202, или конкурируют с ними. В некоторых вариантах реализации второе антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывает, ингибирует и/или нейтрализует ВИЧ, содержат VH и VL из PGT121.60 или PGT121.66. В некоторых случаях антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывает, ингибирует и/или нейтрализует ВИЧ, содержат VH и VL с последовательностью SEQ ID NO: 443 и/или SEQ ID NO: 447. В других случаях антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывает, ингибирует и/или нейтрализует ВИЧ, содержат VH в составе SEQ ID NO: 454 и VL в составе SEQ ID NO: 455. В других дополнительных случаях антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывает, ингибирует и/или нейтрализует ВИЧ, содержат VH в составе SEQ ID NO: 454 и VL в составе SEQ ID NO: 456.

В другом аспекте настоящего изобретения предложены нуклеиновые кислоты, нуклеотиды или полинуклеотиды, кодирующие антитело или антигенсвязывающий фрагмент, описанные в данном изобретении. В некоторых вариантах реализации нуклеиновая кислота или нуклеиновые кислоты включают ДНК, кДНК или мРНК. В некоторых вариантах реализации нуклеиновая кислота или нуклеиновые кислоты кодируют VH, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 181 - 221 и 465 - 478, и идентичную по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или на 100%, последовательности нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из последовательности SEQ ID NO: 572 - 581; и кодируют VL, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 222 - 311, 479 - 516 и 569, и идентичную по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или на 100% последовательности нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из последовательности SEQ ID NO: 582 - 595. В некоторых вариантах реализации нуклеиновая кислота или нуклеиновые кислоты кодируют HC, выбранную из группы, состоящей из последовательности SEQ ID NO: 1 - 47 и 517 - 530, и идентичную по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или на 100% последовательности нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 596 - 605; и кодируют LC, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 48 - 136 и 531-567, и идентичную по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или на 100% последовательности нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 606 - 619. В другом аспекте настоящего изобретения предложен вектор экспрессии или векторы экспрессии, содержащие нуклеиновую кислоту или нуклеиновые кислоты, функционально связанные с регуляторной последовательностью. В некоторых вариантах реализации вектор экспрессии или векторы экспрессии включают плазмидный вектор или вирусный вектор. Дополнительно предложены фармацевтические композиции, содержащие нуклеиновую кислоту или нуклеиновые кислоты, или вектор экспрессии или векторы экспрессии, описанные в данном изобретении, и фармацевтически приемлемый носитель. Дополнительно предложены липидные наночастицы, содержащие нуклеиновую кислоту или нуклеиновые кислоты, или вектор экспрессии или векторы экспрессии, описанные в данном изобретении.

В другом дополнительном аспекте настоящего изобретения предложена клетка-хозяин, или популяция клеток-хозяев, содержащих нуклеиновую кислоту или нуклеиновые кислоты, или вектор экспрессии или векторы экспрессии, описанные в данном изобретении. В некоторых вариантах реализации клетка или популяция клеток включает эукариотическую клетку. В некоторых вариантах реализации клетка или популяция клеток включает клетку млекопитающего, клетку человека, клетку хомяка, клетку насекомого, клетку растения или клетку дрожжей. В некоторых вариантах реализации клетка млекопитающе-

го представляет собой клетку яичника китайского хомячка (СНО) или клетку человека, например, эмбриональную клетку почки человека или В-клетку человека. В некоторых вариантах реализации клетка преимущественно сиалилирует сайты N-связанного гликозилирования в переменных доменах (Fv) экспрессированных антигенсвязывающих молекул, например, экспрессированных антител или антигенсвязывающих фрагментов. В некоторых вариантах реализации клетка сиалилирует по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95% или более сайтов N-связанного гликозилирования в переменных доменах (Fv) экспрессированных антител или антигенсвязывающих фрагментов. В некоторых вариантах реализации клетка сиалилирует по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95% или более сайтов N-связанного гликозилирования в VL экспрессированных антител или антигенсвязывающих фрагментов. В некоторых вариантах реализации аспарагин в VL в положении аминокислоты 72 согласно нумерации по Кабату (N72) сиалилирован. В некоторых вариантах реализации сиалилированные сайты N-связанного гликозилирования в VL содержат от 1 до 5 остатков сиаловой кислоты, например, от 1 до 4 остатков сиаловой кислоты, например, от 1 до 3 остатков сиаловой кислоты, например, от 1 до 2 остатков сиаловой кислоты. В некоторых вариантах реализации VL сиалилированы N-ацетилнейраминовой кислотой (НАНК). В некоторых вариантах реализации остатки сиаловой кислоты присутствуют в двухантенных структурах. В некоторых вариантах реализации остатки сиаловой кислоты присутствуют в сложных структурах N-связанных гликанов. В некоторых вариантах реализации остатки сиаловой кислоты присутствуют в гибридных структурах N-связанных гликанов.

В другом дополнительном аспекте в данном изобретении предложены антигенсвязывающие фрагменты антител, описанных в данном изобретении. В некоторых вариантах реализации антигенсвязывающие фрагменты выбраны из группы, состоящей из фрагмента scFv, sc(Fv)₂, Fab, F(ab)₂, Fab', F(ab')₂, Fabc или Fv. Дополнительно предложен химерный антигенный рецептор (CAR), содержащий антигенсвязывающий фрагмент антитела, описанный в данном изобретении. В некоторых вариантах реализации CAR экспрессирован на Т-клетке, В-клетке, макрофаге или НК-клетке. Дополнительно предложена CAR-Т-клетка, содержащая CAR, описанный в данном изобретении. В некоторых вариантах реализации Т-клетка представляет собой CD4+ Т-клетку, CD8+ Т-клетку или их комбинацию. В некоторых вариантах реализации клетку вводят субъекту. В некоторых вариантах реализации клетка аутологичная. В некоторых вариантах реализации клетка аллогенная.

В другом дополнительном аспекте, в настоящем изобретении предложен способ получения антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, описанного в данном изобретении. Способ включает культивирование клетки-хозяина в культуре клеток и выделение антитела или антигенсвязывающего фрагмента из культуры клеток. В некоторых случаях способ дополнительно включает включение антитела или антигенсвязывающего фрагмента в состав стерильной фармацевтической композиции, подходящей для введения человеку.

В другом аспекте настоящего изобретения предложен способ лечения или предотвращения ВИЧ у нуждающегося в этом человека. Способ включает введение указанному субъекту эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, или фармацевтической композиции, описанной в данном изобретении.

В некоторых вариантах реализации способ дополнительно включает введение указанному субъекту второго агента (например, одного или более дополнительных агентов) для лечения ВИЧ-инфекции. В некоторых случаях способ включает введение указанному субъекту агониста TLR7. В некоторых случаях агонист TLR7 выбран из группы, состоящей из везатоломода, имихимода и резиквимода. В некоторых вариантах реализации способ дополнительно включает введение указанному субъекту антитела или антигенсвязывающего фрагмента антитела, которое связывает, ингибирует и/или нейтрализует ВИЧ. В некоторых вариантах реализации способ дополнительно включает введение второго антитела или антигенсвязывающего фрагмента антитела, которое связывает, ингибирует и/или нейтрализует ВИЧ, причем второе антитело или его антигенсвязывающий фрагмент не конкурируют с антителом или антигенсвязывающим фрагментом, описанным в данном изобретении, за связывание с gp120. В некоторых вариантах реализации второе антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывает, ингибирует и/или нейтрализует ВИЧ, содержат переменные домены VH и VL нейтрализующего антитела широкого спектра действия (bNAbs) против ВИЧ или конкурируют с ними. В некоторых вариантах реализации второе антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывает, ингибирует и/или нейтрализует ВИЧ, связываются с эпитопом или участком gp120, выбранным из группы, состоящей из: (i) третьей переменной петли (V3) и/или области с высоким содержанием маннозы, содержащей гликан олигоманнозного типа в положении N332; (ii) второй переменной петли (V2) и/или верхушки тримера Env; (iii) стыка gp120 и gp41 или (iv) безмолвной поверхности gp120. В некоторых вариантах реализации второе антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывает, ингибирует и/или ней-

трализуется ВИЧ, связываются с эпитопом или участком gp120 в третьей вариабельной петле (V3) и/или области с высоким содержанием маннозы, содержащей гликан олигоманнозного типа в положении N332, и содержат области VH и VL из антитела, выбранного из группы, состоящей из GS-9722, GS-9722, PGT-121.60, PGT-121.66, PGT-121, PGT-122, PGT-123, PGT-124, PGT-125, PGT-126, PGT-128, PGT-130, PGT-133, PGT-134, PGT-135, PGT-136, PGT-137, PGT-138, PGT-139, 10-1074, VRC24, 2G12, BG18, 354BG8, 354BG18, 354BG42, 354BG33, 354BG129, 354BG188, 354BG411, 354BG426, DH270.1, DH270.6, PGDM12, VRC41.01, PGDM21, PCDN-33A, BF520.1 и VRC29.03, или конкурирует с ними. В некоторых вариантах реализации второе антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывает, ингибирует и/или нейтрализует ВИЧ, связываются с эпитопом или участком gp120 во второй вариабельной петле (V2) и/или верхушке тримера Env, и содержат области VH и VL из антитела, выбранного из группы, состоящей из PG9, PG16, PGC14, PGG14, PGT-142, PGT-143, PGT-144, PGT-145, CH01, CH59, PGDM1400, CAP256, CAP256-VRC26.08, CAP256-VRC26.09, CAP256-VRC26.25, PCT64-24E и VRC38.01, или конкурируют с ними. В некоторых вариантах реализации второе антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывает, ингибирует и/или нейтрализует ВИЧ, связываются с эпитопом или участком gp120 на стыке gp120 и gp41, и содержат области VH и VL из антитела, выбранного из группы, состоящей из PGT-151, CAP248-2B, 35022, 8ANC195, ACS202, VRC34 и VRC34.01, или конкурируют с ними. В некоторых вариантах реализации второе антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывает, ингибирует и/или нейтрализует ВИЧ, связываются с эпитопом или участком безмолвной поверхности gp120, и содержат области VH и VL из антитела, выбранного из группы, состоящей из VRC-PG05 и SF12, или конкурируют с ними. В некоторых вариантах реализации второе антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывает, ингибирует и/или нейтрализует ВИЧ, связываются с эпитопом или участком gp41 в околосмембранном регионе (MPER). В некоторых вариантах реализации второе антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывает, ингибирует и/или нейтрализует ВИЧ, связываются с эпитопом или участком gp41 в околосмембранном регионе (MPER), и содержат области VH и VL из антитела, выбранного из группы, состоящей из 10E8, 10E8v4, 10E8-5R-100cF, 4E10, DH511.11P, 2F5, 7b2 и LN01, или конкурируют с ними. В некоторых вариантах реализации второе антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывает, ингибирует и/или нейтрализует ВИЧ, связываются с эпитопом или участком пептида слияния gp41 и содержат области VH и VL из антитела, выбранного из группы, состоящей из VRC34 и ACS202, или конкурируют с ними. В некоторых вариантах реализации второе антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывает, ингибирует и/или нейтрализует ВИЧ, содержат VH и VL из PGT121.60 или PGT121.66. В некоторых случаях антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывает, ингибирует и/или нейтрализует ВИЧ, содержат VH и VL с последовательностью SEQ ID NO: 443 и/или SEQ ID NO: 447. В других случаях антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывает, ингибирует и/или нейтрализует ВИЧ, содержат VH внутри SEQ ID NO: 454 и VL внутри SEQ ID NO: 455. В других дополнительных случаях антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое связывает, ингибирует и/или нейтрализует ВИЧ, содержат VH из SEQ ID NO: 454 и VL из SEQ ID NO: 456. В некоторых вариантах реализации антитело или антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, вводят человеку совместно с вакциной против ВИЧ. В различных вариантах реализации вакцина против ВИЧ включает вирусную вакцину. В некоторых вариантах реализации вирусная вакцина получена на основе вируса, выбранного из группы, состоящей из аренавируса, аденовируса, поксвируса и рабдовируса.

В другом аспекте настоящего изобретения предложен способ ингибирования ВИЧ у нуждающегося в этом человека. Способ включает введение указанному субъекту эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, или фармацевтической композиции, описанной в данном изобретении.

Если нет других определений, то все технические и научные термины, используемые в данном изобретении, имеют те же значения, которые обычно понимает средний специалист в области, к которой относится настоящее изобретение. Хотя для осуществления или тестирования настоящего изобретения можно применять способы и материалы, сходные или эквивалентные описанным в данном изобретении, типичные способы и материалы описаны ниже. Все публикации, заявки на патент, патенты и другие ссылочные материалы, упомянутые в данном изобретении, полностью включены посредством ссылки. В случае противоречия, настоящее изобретение, включая определения, будет иметь преимущественную силу. Материалы, способы и примеры являются лишь иллюстрирующими и не предназначены для ограничения.

Краткое описание фигур

На фиг. 1 показаны результаты репортерного анализа антителозависимой клеточной цитотоксичности (АЗКЦ), проведенного с антителом А-1 после стрессовых испытаний (исследования стабильности) в различных условиях. У образца, который подвергали стрессовым испытаниям при 37°C в буфере для состава при pH 5,9 в течение шести недель, выявили большее снижение активности по сравнению с другими образцами.

На фиг. 2 показана кинетика окисления W74a в динамике, измеренная в стрессовых испытаниях в

различных условиях. Ромб: антитело А-1, 25°C, рН 5,9. Незаштрихованный круг: антитело А-1, 37°C, рН 5,9. Незаштрихованный треугольник: антитело А-1, 37°C, рН 7,4. Степень окисления была наибольшей в образце при рН 5,9, подвергнутом стрессовым испытаниям при 37°C в течение 6 недель, позволяя предположить, что окисление W74a может быть причиной утраты эффективности, наблюдаемой при данном условии. Дополнительно к значительному окислению в W74a тяжелой цепи, наблюдаемому при условиях рН 5,9, наблюдали стабильный процент дезамидирования в положении N26 легкой цепи в конструкциях, происходящих из культуры клеток, и он дополнительно повышался в условиях инкубации при рН 7,4.

На фиг. 3 показана кинетика дезамидирования N26 в динамике, измеренная в стрессовых испытаниях в различных условиях (включают окисление до аспарагиновой кислоты, изоаспарагиновой кислоты и аспартил-сукцинимидного интермедиата). Ромб: антитело А-1, 25°C, рН 5,9. Незаштрихованный круг: антитело А-1, 37°C, рН 5,9. Незаштрихованный треугольник: антитело А-1, 37°C, рН 7,4. Степень дезамидирования была наибольшей в образце при рН 7,4, подвергнутом стрессовым испытаниям при 37°C в течение 6 недель.

На фиг. 4 показано представление в виде точечной диаграммы профиля нейтрализации семи вариантов МАТ. Антитела подвергали скринингу относительно панели происходящих из 152 пациентов ВИЧ-1, псевдотипированных Env из клонов (n=133) и изолятов (n=19) из плазмы вируса подтипа В. Каждая точка представляет IC95 нейтрализации одного вируса. В скобках (ширина/срединная IC95). Ширина представляет % вирусов, нейтрализованных с IC95≤50 мг/мл. Срединные значения IC95 рассчитывали, используя вирусы с IC95≤50 мг/мл. (1) Антитело А-1 (89%/2,66 мкг/мл); (2) 1.1.90-1 (86%/2,59 мкг/мл); (3) 1.1.64-1 (92%/2,25 мкг/мл); (4) 1.1.10-1 (86%/1,93 мкг/мл); (5) 1.52.1-1 (83%/3,66 мкг/мл); (6) 1.52.90 (78%/4,42 мкг/мл); (7) 1.1.138-1 (82%/2,59 мкг/мл).

На фиг. 5 показано представление в виде точечной диаграммы профиля нейтрализации трех МАТ. Антитела подвергали скринингу относительно панели 142 изолятов из плазмы ВИЧ-1, псевдотипированных Env из подтипа В. В скобках (ширина/срединная IC95), определение аналогично таковому для фиг. 4. Каждая точка представляет IC95 нейтрализации одного вируса. (1) антитело А (87%/1,72 мкг/мл); (2) антитело А-1 (87%/1,09 мкг/мл); (3) 1.52.64-1 (86%/2,0 мкг/мл).

На фиг. 6 показано, что мутации в Fc IgG1, которые усиливают активность уничтожения эффекторными клетками (например, аспарагиновая кислота в положении 239, глутаминовая кислота в положении 332, аланин в положении 236, лейцин в положении 330 согласно нумерации EU (DEAL)) могут укорачивать время полужизни в сыворотке *in vivo*. Такое укорочение времени полужизни в сыворотке можно частично или полностью обратить путем введения

также мутаций в Fc IgG1, которые повышают связывание с FcRn (например, лейцина в положение 428 и серина в положение 434 согласно нумерации EU (LS)). Изображены наглядные нормированные на дозу фармакокинетические профили для PGT121-WT (круг), PGT121-DEAL (треугольник), PGT121.60 (квадрат), PGT121-LS (ромб) и А-1 (заштрихованный круг), которые вводили в/в непримированным яванским макакам (n=3). Каждый символ представляет собой измеренную среднюю (\pm CO) концентрацию в сыворотке.

На фиг. 7 показаны фармакокинетические профили для антитела А (треугольник), антитела А-1, партия 14 (круг), антитела А-1, партия 22 (незаштрихованный треугольник), антитела А-1, партия 3 (незаштрихованный круг), антитела А-1, партия 10 (квадрат), и антитела А-1, партия 7 (незаштрихованный квадрат) после внутривенного (в/в) введения дозы непримированным самцам яванских макаков (n=3). Каждый символ представляет собой измеренную среднюю (\pm CO) концентрацию в сыворотке.

На фиг. 8 показаны профили зависимости средней концентрации в сыворотке (\pm CO) от времени для трех партий 1.52.64-1 после в/в введения непримированным самцам и самкам яванских макаков (n=3). Партию 4 (незаштрихованный квадрат) вводили при 0,5 мг/кг путем медленного в/в болюсного введения, тогда как партию 18-PP21 (незаштрихованный круг) и партию 14525-32 (круг) вводили при 30 мг/кг путем в/в инфузии в течение 30 мин. Каждый символ представляет собой измеренную среднюю (\pm CO) концентрацию в сыворотке.

Подробное описание изобретения

В настоящем изобретении предложены антитела, которые нацелены на вирус иммунодефицита человека (ВИЧ). Антитела, описанные в данном изобретении, связываются с белком gp120 оболочки (Env) ВИЧ (gp120). В некоторых вариантах реализации данные антитела представляют собой нейтрализующие ВИЧ антитела. В некоторых вариантах реализации данные антитела нейтрализуют широкий спектр ВИЧ.

ВИЧ-1 является главным семейством ВИЧ и является причиной 95% всех инфекций ВИЧ по всему миру. ВИЧ-2 преимущественно обнаруживают в нескольких Западноафриканских странах. Вирусы ВИЧ подразделяют на определенные группы: М, N, О и Р, из которых М является "основной" группой и отвечает за большую часть ВИЧ/СПИД во всем мире. На основании генетической последовательности группы М дополнительно подразделяют на подтипы (также называемые кладами) с преобладанием в различных географических местоположениях.

"Подтип" или "клада" группы М представляет собой подтип группы М ВИЧ-1, определенный по

данным о генетической последовательности. Примеры подтипов группы М включают подтипы А-К. Известно, что некоторые из подтипов более вирулентны или устойчивы к различным лекарственным средствам. Также существуют "циркулирующие рекомбинантные формы", или CRF, происходящие в результате рекомбинации между вирусами различных подтипов, каждой из которых присвоен номер. CRF12BF, например, представляет собой рекомбинацию между подтипами В и F. Подтип А широко распространен в Западной Африке. Подтип В является доминирующей формой в Европе, Америке, Японии, Таиланде и Австралии. Подтип С является доминирующей формой в Южной Африке, Восточной Африке, Индии, Непале и районах Китая. Подтип D, как правило, встречаются только в Восточной и Центральной Африке. Подтип Е никогда не обнаруживали в нерекомбинантной форме, только рекомбинированным с подтипом А в виде CRF01_АЕ. Подтип F обнаруживали в Центральной Африке, Южной Америке и Восточной Европе. Подтип G (и CRF02AG) обнаруживали в Африке и Центральной Европе. Подтип H ограничен Центральной Африкой. Подтип I изначально использовали в качестве названия штамма, который теперь называют CRF04_срх, где срх означает "сложную" ("complex") рекомбинацию нескольких подтипов. Подтип J, главным образом, обнаруживают в Северной, Центральной и Западной Африке, и на Карибских островах. Подтип К ограниченный Демократической Республикой Конго и Камеруном. Данные подтипы иногда дополнительно подразделяют на подподтипы, такие как А1 и А2 или F1 и F2. В 2015 г. обнаружили, что штамм CRF19, рекомбинантный штамм подтипа А, подтипа D и подтипа G, с протеазой подтипа D, сильно ассоциирован с быстрым прогрессированием до СПИД на Кубе.

В настоящем изобретении предложены нейтрализующие антитела (например, нейтрализующие АТ широкого спектра действия), которые нацелены на полипептид gp120 на поверхности инфицированных ВИЧ клеток. Без привязки к какой-либо гипотезе, нейтрализующие антитела против белков вирусной оболочки могут обеспечить приобретенную иммунную защиту против воздействия ВИЧ-1 путем блокирования инфицирования восприимчивых клеток. Широкий спектр нейтрализации свидетельствует о том, что антитела могут нейтрализовать изоляты ВИЧ-1 из различных клад. Таким образом, антитела, входящие в объем настоящего изобретения, обладают активностью связывания с различными кладами.

Гликопротеин gp120 оболочки ВИЧ.

Гликопротеин оболочки gp120 (или gp120) представляет собой гликопротеин с молекулярной массой 120 кДа, который является частью наружного слоя ВИЧ. Он находится в виде шипов на мембране вируса, состоящих из трех молекул gp120, связанных друг с другом и закоренных в мембрану посредством белка gp41. Gp120 необходим для вирусной инфекции, так как он облегчает проникновение ВИЧ в клетку-хозяина посредством взаимодействия с рецепторами поверхности клетки. Данные рецепторы включают DC-SIGN, гепарансульфат протеогликан, рецептор CD4, рецептор хемокинов 5 с мотивом С-С (CCR5) и рецептор хемокинов 4 с мотивом С-Х-С (CXCR4). Связывание с CD4 на хелперных Т-клетках вызывает начало каскада конформационных изменений в gp120 и gp41, которые приводят к слиянию вируса с мембраной клетки-хозяина.

Gp120 кодируется геном env ВИЧ. Ген env кодирует продукт гена из приблизительно 850 аминокислот. Первичным продуктом env является белок gp160, который расщепляется с образованием gp120 (приблизительно 480 аминокислот) и gp41 (приблизительно 345 аминокислот) в эндоплазматическом ретикулуме клеточной протеазой фурином.

Последовательность аминокислот типичного полипептида gp160 клона ВИЧ WITO представлена ниже (гиперварибельная петля V3 выделена жирным шрифтом, и потенциальный сайт N-связанного гликозилирования N332 выделен жирным шрифтом и подчеркнут):

```
MKVMGTTKKNYQHLWRWGIIMLLGMLMMSAAEQLVVTVYYGVPVWREANTTLFCASDAKA
YDTEVHNVWATHACVPTDPNPQEVVMGNVTEDFNMWKNMVEQMHEDIISLWDQSLKPC
VKLTPLCVTLHCTNVTISSNNGSTANVTMREEMKNCSENTTTVIRDKIQKEYALFYKLD
IVPIEGKNTNTSYRLINCNTSVITQACPKVSFEPIPIHYCAPAGFAILKCNKTFNGKG
PCRNVTSTVQCTHGIKPVVSTQLLNGLAEEDIIRSENFTNNGKNIIVQLKEPVKINC
TRPGNNTRRSINIGPGRAFYATGAIIGDIRKAHCNISTEQWNNTLTQIVDKLREQFGNK
TIIFNQSSGGDPEVVMHTFNCGGEFFYCNSSTQLFNSTWFNNGTSTWNSTADNITLPCRI
KQVINMWQEVGKAMYAPPVIRGQIDCSSNITGLILTRDGGSNSSQNETFRPGGGMKDNW
RSELYKYKVVKIEPLGIAPTRAKRRVQREKRAVTLGAVFLGFLGAAGSTMGAASLTTLT
VQARLLLSGIVQQSNLLRAIEAQQHMLQLTVWGIKQLQARVLAIERYLKDDQQLLGIWG
CSGKLICTTTVPWNTSWSNKSVDYIWNMTWMQWEREIDNYTGFIYTLIEESQNQQEKN
ELELLELDKASLWNWFNITNWLWYIKLFIMIGGLVGLRIVCAVLSIVNVRVQGYSP
SFQTRLNPNRGPDRPEETEGERDRDRSARLVNGFLAIIWDDLRLSLCLFSYHRLRDL
LLIVARVVEILGRRGWEILKYWWNLKYWSQELKNSAVSLLNVTAIAVAEGTDRVIEIV
QRAVRAILHIPTRIRQGFERALL (SEQ ID NO: 343)
```

Последовательность аминокислот типичного полипептида gp120 представлена ниже (гиперварибельная петля V3 выделена жирным шрифтом, и потенциальный сайт N-связанного гликозилирования N332 выделен жирным шрифтом и подчеркнут):

AEQLWVTVYYGVPVWREANTTLFCASDAKAYDTEVHNVWATHACVPTDPNPQEVVMGNV
 TEDFNMWKNNMVEQMHEDIISLWDQSLKPCVKLTPLCVTLHCTNVTISSTNGSTANVTM
 REEMKNCFSNTTIVIRDKIQKEYALFYKLDIVPIEGKNTNTSYRLINCNTSVITQACPK
 VSFEPPIPIHYCAPAGFAILKCNKTFNGKGPCRVSTVQCTHGIKPVVSTQLLLNGSLA
 EEDIIRSENFTNNGKNIIVQLKEPVKIN**CTRPGNNTRRSINIGPGRAFYATGAIIGDI**
RKAHCNISTEQWNNLTQIVDKLREQFGNKTIIFNQSSGGDPEVVMHTFNCGGEFFYCN
 STQLFNSTWFNNGTSTWNSTADNITLPCRICKVINMWQEVGKAMYAPPPIRGQIDCSSNI
 TGLILTRDGGSSQNETFRPGGGNMKDNWRSELYKYKVVKIEPLGIAPTRAKRRVVQR
 EKR (SEQ ID NO: 344)

Последовательность аминокислот другого типичного полипептида gp120 (см. bioaffrica.net/proteomics/ENV-GP120prot.html) представлена ниже (гипервариабельная петля V3 выделена жирным шрифтом, и потенциальный сайт N-связанного гликозилирования N332 выделен жирным шрифтом и подчеркнут):

TEKLWVTVYY	GVPVWKEATT	TLFCASDAKA	YDTEVHNVWA	THACVPTDPN
PQEVVLVNV	ENFNMWKNM	VEQMHEDIIS	LWDQSLKPCV	KLTPLCVSLK
CTDLKNDTNT	NSSSGRMIME	KGEIKNCSFN	ISTSIRGKVQ	KEYAFFYKLD
IIPIDNDTTS	YKLTSCNTSV	ITQACPKVSF	EPIPIHYCAP	AGFAILKCNN
KTFNGTGPCT	NVSTVQCTHG	IRPVVSTQLL	LNGSLAEDEV	VIRSVNFTDN
AKTIIIVQLNT	SVEIN CTRPN	NNTRKRIRIQ	RGPGRAFVTI	GKIGNMRQAH
CN ISRAKWNN	TLKQIASKLR	EQFGNNKTI	FKQSSGGDPE	IVTHSFNCGG
EFFYCNSTQL	FNSTWFNSTW	STEGSNNTEG	SDTITLPCR	KQIINMWQKV
GKAMYAPPIS	GQIRCSSNIT	GLLLTRDGGN	SNNESEIFRP	GGGDMRDNR
SELYKYKVVK IEPLGVAPTK AKRRVVQREK R (SEQ ID NO: 345)				

Геномное разнообразие среди независимых изолятов вируса иммунодефицита человека 1 типа (ВИЧ-1), в меньшей степени среди последовательных изолятов из одних и тех же пациентов и даже в изоляте из одного пациента является хорошо известной особенностью ВИЧ-1. Хотя такая гетерогенность последовательности распределена по всему геному, большинство гетерогенности расположено в гене env. Сравнение предсказанных последовательностей аминокислот из нескольких различных изолятов показало, что гетерогенность последовательности кластеризована в пяти гипервариабельных участках (обозначенных V1- V5) гликопротеина поверхности gp120. У участка V3, хотя его длина составляет лишь 35 аминокислот, выявили значительную вариабельность последовательности. Несмотря на такую вариабельность, участок V3 содержит детерминанты, которые опосредуют взаимодействия с клетками CD4⁺. Повышение вариабельности gp120 приводит к более высоким уровням репликации вируса, позволяя предположить повышение приспособленности вируса у индивидов, инфицированных разнообразными вариантами ВИЧ-1. Без привязки к теории полагают, что более высокие уровни репликации вируса могут быть вследствие давления иммунного ответа хозяина (например, ускользания от иммунного ответа) и/или адаптации к каждому отдельному хозяину, чтобы максимизировать уровень репликации вируса. Вариабельность в потенциальных сайтах N-связанного гликозилирования (PNGS) также приводит к повышенной приспособленности вируса. PNGS позволяет связывание длинноцепочечных углеводов с высоковариабельными участками gp120. Таким образом, количество и точное расположение PNGS в env может влиять на приспособленность вируса, или на способность к репликации каждого варианта вируса, обеспечивая большую или меньшую чувствительность к иммунным ответам хозяина, в частности, к нейтрализующим антителам.

Консенсусная последовательность участка V3 gp120 (Milich и др., J. Virol., 67(9):5623-5634 (1993)) представлена ниже:

CTRPNNNTRKSIHIGPGRAFYTTGEEIIGDIRQAH (SEQ ID NO: 346)

Варианты антитела, описанные в данном изобретении, связываются с сайтом связывания CD4 (CD4bs) gp120 ВИЧ. Сайт связывания CD4 (CD4bs) содержит структурно консервативные сайты, расположенные внутри β1-α1, петли D, β20-β21 (мостикового листа) и β24-α5 gp120, которые определяют связывание CD4 и входят в эпитопы направленных против CD4bs антител (Qiao, и др., Antiviral Res., август 2016 г.; 132:252-61). CD4bs gp120 образует конформационные эпитопы, которые узнаются антителами против CD4bs, содержащими один или более аминокислотных остатков, выбранных из Thr278, Asp279, Ala281, Thr283, Asp368, Trp427, Glu460, Ser461, Glu462, Leu452, Leu453 и Arg476. Аминокислотные остатки и нумерация положений приведены относительно изолята ВИЧ-1 подтипа В HXB2, который соответствует остаткам 1-511 в эталонной последовательности NCBI № NP_057856.1, представленной ниже. Остатки Thr278, Asp279, Asn280, Ala281, Thr283, Asp368, Trp427, Leu452, Leu453, Gly459, Glu464, Ser465, Glu466, Ile467, Gly472, Gly473 и Arg476, которые могут участвовать в CD4bs gp120, выделены жирным шрифтом и подчеркнуты:

MRVKEKYQHLWRWGWRWGTMLLGMLMICSATEKLWVTVYYGVPVWKEATTTLFCASDAK
 AYDTEVHNWVWATHACVPTDPNPQEVVVLNVNTEFNFMWKNMVEQMHEDIISLWDQSLKP
 CVKLTPLCVSLKCTDLKNDTNTNSSSGRMIMEKGEIKNCSFNISTSIIRGKVQKEYAFFY
 KLDIIPIDNDTTSYKLTSCNTSVITQACPKVSFEPIPIHYCAPAGFAILKCNKTFNGT
 GPCTNVSTVQCTHGRPVVSTQLLLNGSLAEVEVVIRSVNFTDNAKTIIVQLNTSVEIN
 CTRFNNNTRKRIRIQRGPGRFVVTIGKIGNMRQAHCNISRAKWNNTLTKQIASKLREQFG
 NNKTIIFKQSSGGDPEIVTHSFNCGGEFFYCNSTQLFNSTWFNSTWSTEGSNNTEGSDT
 ITLPCRIKQIINMWQKVGKAMYAPPISGQIRCSSNITGLLLTRDGGNSNNESEIFRPGG
GDMRDNWRSELYKYKVVKIEPLGVAPTAKRRVQREKR (SEQ ID NO: 571).

Трёхмерные модели, изображающие аминокислотные остатки, участвующие в CD4bs gp120, представлены, например, в Canducci и др., *Retrovirology*. 15 января 2009 г.; 6:4; Falkowska и др., *J Virol.*, апрель 2012 г.; 86(8):4394-403; и Li и др., *J. Virol.*, октябрь 2012 г.; 86(20): 11231-41; Gristick и др., *Nat Struct Mol Biol.*, октябрь 2016 г.; 23(10):906-915; Kwon и др., *Nat Struct Mol Biol.*, июнь 2015 г.; 22(7):522-31; Liu и др., *Nat Struct Mol Biol.*, апрель 2017 г.; 24(4):370-378; Chen и др., *Science.*, 20 ноября 2009 г.; 326(5956): 1123-7 и Lyumkis и др., *Science.*, 20 декабря 2013 г.; 342(6165): 1484-90. В некоторых вариантах реализации варианты антитела, описанные в данном изобретении, конкурируют с антителами против CD4bs b12, CH103, 1NC9, 12A12, VRC01, VRC07-523, N6, 3BNC117, NIH45-46 и/или PGV04 (VRC-PG04) за связывание с CD4bs gp120. В некоторых вариантах реализации варианты антитела, описанные в данном изобретении, связываются с эпитопом, перекрывающимся или идентичным эпитопу, с которым связываются антитела против CD4bs b12, CH103, 1NC9, 12A12, VRC01, VRC07-523, N6, 3BNC117, NIH45-46 и/или PGV04 (VRC-PG04).

Антитела против gp120.

В настоящем изобретении предложены антитела против gp120. В некоторых вариантах реализации данные антитела связываются с антигенами ВИЧ-1, экспрессированными на поверхности клетки, и уничтожают или убивают инфицированную клетку.

В некоторых вариантах реализации данные антитела представляют собой нейтрализующие антитела (например, моноклональные), которые нацелены на ВИЧ-1. "Нейтрализующее антитело" представляет собой антитело, которое нейтрализует способность ВИЧ начинать и/или сохранять инфекцию в хозяине и/или в клетках-мишенях *in vitro*. В настоящем изобретении предложены нейтрализующие моноклональные антитела человека, причем указанные антитела распознают антиген из ВИЧ, например, полипептид gp120. В некоторых вариантах реализации "нейтрализующее антитело" может ингибировать проникновение вируса ВИЧ-1, например, SF162 и/или JR-CSF, с индексом нейтрализации >1,5 или >2,0 (Kostrikis LG и др., *J. Virol.*, 70(1): 445-458 (1996)).

В некоторых вариантах реализации данные антитела представляют собой нейтрализующие антитела широкого спектра действия (например, моноклональные), которые нацелены на ВИЧ-1. Под "нейтрализующими антителами широкого спектра действия" подразумевают антитела, которые нейтрализуют более одного вида вируса ВИЧ-1 (из разнообразных клад и различных штаммов внутри клады) в анализе нейтрализации. Нейтрализующее антитело широкого спектра действия может нейтрализовать по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или более различных штаммов ВИЧ-1, указанные штаммы относятся к одной или различнымкладам. В некоторых вариантах реализации нейтрализующее антитело широкого спектра действия может нейтрализовать множество видов ВИЧ-1, относящихся к по меньшей мере 2, 3, 4, 5 или 6 различнымкладам. В некоторых вариантах реализации ингибиторная концентрация антитела может составлять менее чем приблизительно 0,0001 мкг/мл, менее чем приблизительно 0,001 мкг/мл, менее чем приблизительно 0,01 мкг/мл, менее чем приблизительно 0,1 мкг/мл, менее чем приблизительно 0,5 мкг/мл, менее чем приблизительно 1,0 мкг/мл, менее чем приблизительно 5 мкг/мл, менее чем приблизительно 10 мкг/мл, менее чем приблизительно 25 мкг/мл, менее чем приблизительно 50 мкг/мл или менее чем приблизительно 100 мкг/мл для нейтрализации приблизительно 50% введенного вируса в анализе нейтрализации.

В некоторых вариантах реализации данные антитела проявили сильную активность широкого спектра и входят в группу высокоактивных агонистических антител против сайта связывания CD4 (HAAD). Такие антитела имитируют связывание белка рецептора CD4 хозяина с gp120. В некоторых вариантах реализации антитела или их антигенсвязывающие фрагменты содержат в своей вариабельной области тяжелой цепи триптофан в положении 50; аспарагин в положении 58; аргинин в положении 71 и триптофан в положении 100 (нумерация положений согласно Кабату). В некоторых вариантах реализации антитела или их антигенсвязывающие фрагменты содержат в своей вариабельной области легкой цепи триптофан или фенилаланин в положении 67 и глутаминовую кислоту в положении 96 (нумерация положений согласно Кабату). В некоторых вариантах реализации антитела или их антигенсвязывающие фрагменты содержат в своей вариабельной области легкой цепи триптофан в положении 67 и глутаминовую

кислоту в положении 96 (нумерация положений согласно Кабату). В некоторых случаях переменная область легкой цепи содержит сайт N-связанного гликозилирования в каркасной области 3. В некоторых вариантах реализации антитела или их антигенсвязывающие фрагменты содержат в своей переменной области тяжелой цепи триптофан в положении 50; аспарагин в положении 58; аргинин в положении 71 и триптофан в положении 100; и содержат в своей переменной области легкой цепи триптофан или фенилаланин в положении 67 и глутаминовую кислоту в положении 96 (нумерация положений согласно Кабату). В некоторых вариантах реализации антитела или их антигенсвязывающие фрагменты содержат в своей переменной области тяжелой цепи триптофан в положении 50; аспарагин в положении 58; аргинин в положении 71 и триптофан в положении 100; и содержат в своей переменной области легкой цепи триптофан в положении 67 и глутаминовую кислоту в положении 96 (нумерация положений согласно Кабату). В некоторых вариантах реализации антитела или их антигенсвязывающие фрагменты содержат области CDR VH и области CDR VL, имеющие последовательности, представленные в SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно, и дополнительно содержат в своей переменной области тяжелой цепи триптофан в положении 50; аспарагин в положении 58; аргинин в положении 71 и триптофан в положении 100; и содержат в своей переменной области легкой цепи триптофан в положении 67 и глутаминовую кислоту в положении 96 (нумерация положений согласно Кабату). В некоторых вариантах реализации антитела или их антигенсвязывающие фрагменты содержат области CDR VH и области CDR VL, имеющие последовательности, представленные в SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно, и дополнительно содержат в своей переменной области легкой цепи триптофан в положении 67 и глутаминовую кислоту в положении 96 (нумерация положений согласно Кабату). В некоторых вариантах реализации антитела или их антигенсвязывающие фрагменты содержат области CDR VH и области CDR VL, имеющие последовательности, представленные в SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно, и дополнительно содержат в своей переменной области тяжелой цепи триптофан в положении 50; аспарагин в положении 58; аргинин в положении 71 и триптофан в положении 100; и содержат в своей переменной области легкой цепи триптофан в положении 67 и глутаминовую кислоту в положении 96 (нумерация положений согласно Кабату) и содержат в своей переменной области легкой цепи триптофан в положении 67 и глутаминовую кислоту в положении 96 (нумерация положений согласно Кабату).

Примеры HAAD включают антитела, описанные в данном изобретении, а также антитела, описанные в Scheid и др., Science, 333:1633-1637 (2011); и West и др., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, E2083-E2090 (2012). Исследования показали, что антитело А и антитело В происходят из одной линии В-клеток из одного пациента и отличаются в четырех положениях аминокислот в своих переменных областях легкой цепи и в десяти положениях аминокислот в своих переменных областях тяжелой цепи (Scheid и др., 2011). Примеры антител включают, но не ограничены антителом А, антителом В и антителом, содержащим тяжелую цепь антитела А и легкую цепь антитела В.

В табл. I представлены определяющие комплементарность области (гиперпеременные участки, CDR) переменной области тяжелой цепи и переменной области легкой цепи антитела А и антитела В согласно определениям Кабата, Чотиа и международной базы данных по иммуногенетике (IMGT).

Таблица I

Области CDR антитела А и антитела В.

CDR антитела А	Кабат	Чотиа	IMGT
VH-CDR1	DYFIH (SEQ ID NO: 137)	GYNIRDY (SEQ ID NO: 143)	GYNIRDYF (SEQ ID NO: 149)
VH-CDR2	WINPKTGQPNNPRQFQG (SEQ ID NO: 138)	PKTG (SEQ ID NO: 144)	INPKTGQP (SEQ ID NO: 150)
VH-CDR3	QRSDYWDFDV (SEQ ID NO: 139)	RSDYWDFD (SEQ ID NO: 145)	ARQRSDYWDFDV (SEQ ID NO: 151)
VL-CDR1	QANGYLN (SEQ ID NO: 140)	NGY (SEQ ID NO: 146)	GY (SEQ ID NO: 152)
VL-CDR2	DGSKLER (SEQ ID NO: 141)	DGS (SEQ ID NO: 147)	DGS (SEQ ID NO: 147)
VL-CDR3	QVYEF (SEQ ID NO: 142)	YE (SEQ ID NO: 148)	QVYEF (SEQ ID NO: 142)
CDR антитела В	Кабат	Чотиа	IMGT
VH-CDR1	DHFIH (SEQ ID NO: 153)	GYKISDH (SEQ ID NO: 155)	GYKISDHF (SEQ ID NO: 157)

VH-CDR2	WINPKTGQPNNPRQFQG (SEQ ID NO: 138)	PKTG (SEQ ID NO: 144)	INPKTGQP (SEQ ID NO: 150)
VH-CDR3	QRSDFWDFDV (SEQ ID NO: 154)	RSDFWDFD (SEQ ID NO: 156)	ARQRSDFWDFDV (SEQ ID NO: 158)
VL-CDR1	QANGYLN (SEQ ID NO: 140)	NGY (SEQ ID NO: 146)	GY (SEQ ID NO: 152)
VL-CDR2	DGSKLER (SEQ ID NO: 141)	DGS (SEQ ID NO: 147)	DGS (SEQ ID NO: 147)
VL-CDR3	QVYEF (SEQ ID NO: 142)	YE (SEQ ID NO: 148)	QVYEF (SEQ ID NO: 142)

Определяющие комплементарность области (CDR) типичных антител согласно настоящему изобретению представлены ниже: области CDR согласно определению Кабата (табл. II и V), определению Чотиа (табл. III и VI) и определению IMGT (табл. IV и VII). Антитела, содержащие области CDR, перечисленные ниже, входят в объем настоящего изобретения.

В некоторых вариантах реализации антитела против gp120 или связывающие gp120 их фрагменты согласно настоящему изобретению дополнительно к тому, что они содержат шесть CDR из антитела A или антитела B согласно определениям Кабата, Чотиа или IMGT, представленным ниже, также содержат триптофан (W) или фенилаланин (F) в положении 74a по Кабату, аспарагиновую кислоту (D) в положении 74b по Кабату, фенилаланин (F) в положении 74c по Кабату и аспарагиновую кислоту (D) в положении 74d по Кабату; т.е., последовательность WDFD (SEQ ID NO: 453) или FDFD (SEQ ID NO: 627) в каркасной области 3 своей VH или домена тяжелой цепи. В некоторых вариантах реализации антитела против gp120 или связывающие gp120 их фрагменты согласно настоящему изобретению дополнительно к тому, что они содержат шесть CDR из антитела A, также содержат фенилаланин (F) в положении 74a по Кабату, аспарагиновую кислоту (D) в положении 74b по Кабату, фенилаланин (F) в положении 74c по Кабату и аспарагиновую кислоту (D) в положении 74d по Кабату; т.е., последовательность FDFD (SEQ ID NO: 627) в каркасной области 3 своей VH или домена тяжелой цепи. Кристаллографические исследования показали, что каркасная область 3 в положениях с номерами по Кабату 74a, 74b, 74c и 74d в VH образует часть паратопа описанных в данном изобретении вариантов антител, непосредственно контактирующую с целевым антигеном gp120. См., например, Lee и др., Immunity (2017) 46(4): 690-702 (фиг. 1G, идентифицирующая остаток W71d); Klein и др., Cell (2013), 153(1):126-38 (фиг. 4 и 5); и Zhou и др., (2013) Immunity (2013) 39 245-258 (табл. 1); ленточные диаграммы кристаллизованных структур 5V8L, 5V8M, 4JPV и 4LSV можно посмотреть на сайте resb.org.

Таблица II

Определения (Кабат) CDR антител

VH-CDR1	VH-CDR2	VH-CDR3	VL-CDR1	VL-CDR2	VL-CDR3
DYFIH (SEQ ID NO: 137)	WINPKTGQPNNPRQFQG (SEQ ID NO: 138)	QRSDYWDFDV (SEQ ID NO: 139)	QANGYLN (SEQ ID NO: 140)	DGSKLER (SEQ ID NO: 141)	QVYEF (SEQ ID NO: 142)
DYFMH (SEQ ID NO: 159)	WINPKTGQPNNPRQFQG (SEQ ID NO: 138)	QRSDYWDFDV (SEQ ID NO: 139)	QANGYLN (SEQ ID NO: 140)	DGSKLER (SEQ ID NO: 141)	QVYEF (SEQ ID NO: 142)
DYFIH (SEQ ID NO: 137)	WINPKWGQPNNPRQFQG (SEQ ID NO: 160)	QRSDYWDFDV (SEQ ID NO: 139)	QANGYLN (SEQ ID NO: 140)	DGSKLER (SEQ ID NO: 141)	QVYEF (SEQ ID NO: 142)
DYFIH (SEQ ID NO: 137)	WINPKGGQPNNPRQFQG (SEQ ID NO: 161)	QRSDYWDFDV (SEQ ID NO: 139)	QANGYLN (SEQ ID NO: 140)	DGSKLER (SEQ ID NO: 141)	QVYEF (SEQ ID NO: 142)
DYFIH (SEQ ID NO: 137)	WINPKAGQPNNPRQFQG (SEQ ID NO: 162)	QRSDYWDFDV (SEQ ID NO: 139)	QANGYLN (SEQ ID NO: 140)	DGSKLER (SEQ ID NO: 141)	QVYEF (SEQ ID NO: 142)
DYFIH (SEQ ID NO: 137)	WINPKHGQPNNPRQFQG (SEQ ID NO: 163)	QRSDYWDFDV (SEQ ID NO: 139)	QANGYLN (SEQ ID NO: 140)	DGSKLER (SEQ ID NO: 141)	QVYEF (SEQ ID NO: 142)
DYFIH (SEQ ID NO: 137)	WINPKTGQPNNPRQFQG (SEQ ID NO: 138)	QRTDYWDFDV (SEQ ID NO: 164)	QANGYLN (SEQ ID NO: 140)	DGSKLER (SEQ ID NO: 141)	QVYEF (SEQ ID NO: 142)
DYFMH (SEQ ID NO: 159)	WINPKTGQPNNPRQFQG (SEQ ID NO: 138)	QRTDYWDFDV (SEQ ID NO: 164)	QANGYLN (SEQ ID NO: 140)	DGSKLER (SEQ ID NO: 141)	QVYEF (SEQ ID NO: 142)
DYFIH	WINPKTGQPNNPRQFQG	QRSDYWDFDV	QANGYLN	DASKLER	QVYEF

(SEQ ID NO: 137)	(SEQ ID NO: 138)	(SEQ ID NO: 139)	(SEQ ID NO: 140)	(SEQ ID NO: 165)	(SEQ ID NO: 142)
DYFIH (SEQ ID NO: 137)	WINPKTGQPNNPRQFQG (SEQ ID NO: 138)	QRSDYWDFDV (SEQ ID NO: 139)	QANGYLN (SEQ ID NO: 140)	DGSNLER (SEQ ID NO: 166)	QVYEF (SEQ ID NO: 142)
DYFIH (SEQ ID NO: 137)	WINPKTGQPNNPRQFQG (SEQ ID NO: 138)	QRSDYWDFDV (SEQ ID NO: 139)	QANGYLN (SEQ ID NO: 140)	DGSKLET (SEQ ID NO: 167)	QVYEF (SEQ ID NO: 142)
DYFIH (SEQ ID NO: 137)	WINPKTGQPNNPRQFQG (SEQ ID NO: 138)	QRSDYWDFDV (SEQ ID NO: 139)	QANGYLN (SEQ ID NO: 140)	DASNLER (SEQ ID NO: 168)	QVYEF (SEQ ID NO: 142)
DHFIH (SEQ ID NO: 153)	WINPKTGQPNNPRQFQG (SEQ ID NO: 138)	QRSDYWDFDV (SEQ ID NO: 139)	QANGYLN (SEQ ID NO: 140)	DGSKLER (SEQ ID NO: 141)	QVYEF (SEQ ID NO: 142)
DYFIH (SEQ ID NO: 137)	WINPKTGQPNNPRQFQG (SEQ ID NO: 138)	QRSDYWDFDV (SEQ ID NO: 154)	QANGYLN (SEQ ID NO: 140)	DGSKLER (SEQ ID NO: 141)	QVYEF (SEQ ID NO: 142)
DYFIH (SEQ ID NO: 137)	WINPKTGQPNNPRQFQG (SEQ ID NO: 138)	QRSDYWDFDV (SEQ ID NO: 154)	QATGYLN (SEQ ID NO: 570)	DGSKLER (SEQ ID NO: 141)	QVYEF (SEQ ID NO: 142)

Таблица III

Определения (Чотиа) CDR антител

VH-CDR1	VH-CDR2	VH-CDR3	VL-CDR1	VL-CDR2	VL-CDR3
GYNIRDY (SEQ ID NO: 143)	PKTG (SEQ ID NO: 144)	RSDYWDFD (SEQ ID NO: 145)	NGY (SEQ ID NO: 146)	DGS (SEQ ID NO: 147)	YE (SEQ ID NO: 148)
GYNIRDY (SEQ ID NO: 143)	PKWG (SEQ ID NO: 169)	RSDYWDFD (SEQ ID NO: 145)	NGY (SEQ ID NO: 146)	DGS (SEQ ID NO: 147)	YE (SEQ ID NO: 148)
GYNIRDY (SEQ ID NO: 143)	PKGG (SEQ ID NO: 170)	RSDYWDFD (SEQ ID NO: 145)	NGY (SEQ ID NO: 146)	DGS (SEQ ID NO: 147)	YE (SEQ ID NO: 148)
GYNIRDY (SEQ ID NO: 143)	PKAG (SEQ ID NO: 171)	RSDYWDFD (SEQ ID NO: 145)	NGY (SEQ ID NO: 146)	DGS (SEQ ID NO: 147)	YE (SEQ ID NO: 148)
GYNIRDY (SEQ ID NO: 143)	PKHG (SEQ ID NO: 172)	RSDYWDFD (SEQ ID NO: 145)	NGY (SEQ ID NO: 146)	DGS (SEQ ID NO: 147)	YE (SEQ ID NO: 148)
GYNIRDY (SEQ ID NO: 143)	PKTG (SEQ ID NO: 144)	RTDYWDFD (SEQ ID NO: 173)	NGY (SEQ ID NO: 146)	DGS (SEQ ID NO: 147)	YE (SEQ ID NO: 148)
GYNIRDY (SEQ ID NO: 143)	PKTG (SEQ ID NO: 144)	RSDYWDFD (SEQ ID NO: 145)	NGY (SEQ ID NO: 146)	DAS (SEQ ID NO: 174)	YE (SEQ ID NO: 148)
GYNIRDY (SEQ ID NO: 459)	PKTG (SEQ ID NO: 144)	RSDYWDFD (SEQ ID NO: 145)	NGY (SEQ ID NO: 146)	DGS (SEQ ID NO: 147)	YE (SEQ ID NO: 148)
GYNISDY (SEQ ID NO: 460)	PKTG (SEQ ID NO: 144)	RSDYWDFD (SEQ ID NO: 145)	NGY (SEQ ID NO: 146)	DGS (SEQ ID NO: 147)	YE (SEQ ID NO: 148)
GYNIRDH (SEQ ID NO: 461)	PKTG (SEQ ID NO: 144)	RSDYWDFD (SEQ ID NO: 145)	NGY (SEQ ID NO: 146)	DGS (SEQ ID NO: 147)	YE (SEQ ID NO: 148)
GYNIRDY (SEQ ID NO: 143)	PKTG (SEQ ID NO: 144)	RSDFWDFD (SEQ ID NO: 156)	NGY (SEQ ID NO: 146)	DGS (SEQ ID NO: 147)	YE (SEQ ID NO: 148)

Таблица IV

Определения (IMGT) CDR антител

VH-CDR1	VH-CDR2	VH-CDR3	VL-CDR1	VL-CDR2	VL-CDR3
GYNIRDYF (SEQ ID NO: 149)	INPKTGQP (SEQ ID NO: 150)	ARQRSYWDFDV (SEQ ID NO: 151)	GY (SEQ ID NO: 152)	DGS (SEQ ID NO: 147)	QVYEF (SEQ ID NO: 142)
GYNIRDYF (SEQ ID NO: 149)	INPKWGQP (SEQ ID NO: 175)	ARQRSYWDFDV (SEQ ID NO: 151)	GY (SEQ ID NO: 152)	DGS (SEQ ID NO: 147)	QVYEF (SEQ ID NO: 142)
GYNIRDYF (SEQ ID NO: 149)	INPKGGQP (SEQ ID NO: 176)	ARQRSYWDFDV (SEQ ID NO: 151)	GY (SEQ ID NO: 152)	DGS (SEQ ID NO: 147)	QVYEF (SEQ ID NO: 142)
GYNIRDYF (SEQ ID NO: 149)	INPKAGQP (SEQ ID NO: 177)	ARQRSYWDFDV (SEQ ID NO: 151)	GY (SEQ ID NO: 152)	DGS (SEQ ID NO: 147)	QVYEF (SEQ ID NO: 142)
GYNIRDYF (SEQ ID NO: 149)	INPKHGQP (SEQ ID NO: 178)	ARQRSYWDFDV (SEQ ID NO: 151)	GY (SEQ ID NO: 152)	DGS (SEQ ID NO: 147)	QVYEF (SEQ ID NO: 142)
GYNIRDYF (SEQ ID NO: 149)	INPKTGQP (SEQ ID NO: 150)	ARQRTDYWDFDV (SEQ ID NO: 179)	GY (SEQ ID NO: 152)	DGS (SEQ ID NO: 147)	QVYEF (SEQ ID NO: 142)
GYNIRDYF (SEQ ID NO: 149)	INPKTGQP (SEQ ID NO: 150)	ARQRSYWDFDV (SEQ ID NO: 151)	GY (SEQ ID NO: 152)	DAS (SEQ ID NO: 180)	QVYEF (SEQ ID NO: 142)
GKIRDYF (SEQ ID NO: 462)	INPKTGQP (SEQ ID NO: 150)	ARQRSYWDFDV (SEQ ID NO: 151)	GY (SEQ ID NO: 152)	DGS (SEQ ID NO: 147)	QVYEF (SEQ ID NO: 142)
GYNISDYF (SEQ ID NO: 463)	INPKTGQP (SEQ ID NO: 150)	ARQRSYWDFDV (SEQ ID NO: 151)	GY (SEQ ID NO: 152)	DGS (SEQ ID NO: 147)	QVYEF (SEQ ID NO: 142)
GYNIRDHF (SEQ ID NO: 464)	INPKTGQP (SEQ ID NO: 150)	ARQRSYWDFDV (SEQ ID NO: 151)	GY (SEQ ID NO: 152)	DGS (SEQ ID NO: 147)	QVYEF (SEQ ID NO: 142)
GYNIRDYF (SEQ ID NO: 149)	INPKTGQP (SEQ ID NO: 150)	ARQRSDFWDFDV (SEQ ID NO: 158)	GY (SEQ ID NO: 152)	DGS (SEQ ID NO: 147)	QVYEF (SEQ ID NO: 142)

Таблица V

Определения (Кабат) CDR антител

VH-CDR1	VH-CDR2	VH-CDR3	VL-CDR1	VL-CDR2	VL-CDR3
DYFIH (SEQ ID NO: 137)	WINPKTGQFNNPRQFQG (SEQ ID NO: 138)	QRSYWDFDV (SEQ ID NO: 139)	QANGYLN (SEQ ID NO: 140)	DGSKLER (SEQ ID NO: 141)	QVYEF (SEQ ID NO: 142)
DHFIH (SEQ ID NO: 153)	WINPKTGQFNNPRQFQG (SEQ ID NO: 138)	QRSYWDFDV (SEQ ID NO: 139)	QANGYLN (SEQ ID NO: 140)	DGSKLER (SEQ ID NO: 141)	QVYEF (SEQ ID NO: 142)

Таблица VI

Определения (Чотиа) CDR антител

VH-CDR1	VH-CDR2	VH-CDR3	VL-CDR1	VL-CDR2	VL-CDR3
GYNIRDY (SEQ ID NO: 143)	PKTG (SEQ ID NO: 144)	RSYWDFD (SEQ ID NO: 145)	NGY (SEQ ID NO: 146)	DGS (SEQ ID NO: 147)	YE (SEQ ID NO: 148)
GKIRDH (SEQ ID NO: 457)	PKTG (SEQ ID NO: 144)	RSYWDFD (SEQ ID NO: 145)	NGY (SEQ ID NO: 146)	DGS (SEQ ID NO: 147)	YE (SEQ ID NO: 148)

Определения (IMGT) CDR антител

VH-CDR1	VH-CDR2	VH-CDR3	VL-CDR1	VL-CDR2	VL-CDR3
GYNIRDYF (SEQ ID NO: 149)	INPKTGQP (SEQ ID NO: 150)	ARQRSDYWDFDV (SEQ ID NO: 151)	GY (SEQ ID NO: 152)	DGS (SEQ ID NO: 147)	QVYEF (SEQ ID NO: 142)
GYKIRDHF (SEQ ID NO: 458)	INPKTGQP (SEQ ID NO: 150)	ARQRSDYWDFDV (SEQ ID NO: 151)	GY (SEQ ID NO: 152)	DGS (SEQ ID NO: 147)	QVYEF (SEQ ID NO: 142)

В объем настоящего изобретения входят антитела против gp120 или связывающие gp120 их фрагменты, которые содержат шесть CDR каждого из антител, описанных в данном изобретении (см., например, таблицы I - VII). В некоторых вариантах реализации одно или более из данных антител против gp120 или связывающих gp120 их фрагментов также содержат триптофан (W) или фенилаланин (F) в положении 74a по Кабату, аспарагиновую кислоту (D) в положении 74b по Кабату, фенилаланин (F) в положении 74c по Кабату и аспарагиновую кислоту (D) в положении 74d по Кабату. Должно быть очевидно, что в объем настоящего изобретения также входят антитела против gp120 или связывающие gp120 их фрагменты, содержащие области CDR согласно любому другому определению CDR (например, определению Онеггер (Honegger), улучшенному определению Чотиа, определению AbM, контактному определению, см., например, www.bioinf.org.uk/ATs/#cdrdef) антител против ВИЧ, описанных в данном изобретении. В некоторых случаях антитела против gp120 или связывающие gp120 фрагменты, описанные в данном изобретении, обладают улучшенной способностью к уничтожению инфицированных ВИЧ-1 целевых CD4 Т-клеток по сравнению с антителом А и/или антителом В. В некоторых вариантах реализации антитела, содержащие VH и VL, содержащие последовательности аминокислот, представленные в SEQ ID NO: 477 и 278, соответственно, или HC и LC, содержащие последовательности аминокислот, представленные в SEQ ID NO: 529 и 103, соответственно, обладают улучшенной способностью к уничтожению инфицированных ВИЧ-1 целевых CD4 Т-клеток по сравнению с антителом А и/или антителом В. В некоторых случаях у антител против gp120 или связывающих gp120 фрагментов, описанных в данном изобретении, EC₅₀ составляет от 0,05 до 2 мкг/мл в анализах АЗКЦ опосредованного НК-клетками уничтожения инфицированных ВИЧ клеток (например, инфицированных ВИЧ-1-клеток). В некоторых случаях у антител против gp120 или связывающих gp120 фрагментов, описанных в данном изобретении, EC₅₀ составляет от 0,05 до 1,5 мкг/мл. В некоторых случаях у антител против gp120 или связывающих gp120 фрагментов, описанных в данном изобретении, EC₅₀ составляет от 0,05 до 1,0 мкг/мл. В некоторых случаях у антител против gp120 или связывающих gp120 фрагментов, описанных в данном изобретении, EC₅₀ составляет от 0,05 до 0,85 мкг/мл. В некоторых случаях у антител против gp120 или связывающих gp120 фрагментов, описанных в данном изобретении, EC₅₀ составляет от 0,05 до 0,75 мкг/мл. В некоторых случаях у антител против gp120 или связывающих gp120 фрагментов, описанных в данном изобретении, EC₅₀ составляет от 0,05 до 0,5 мкг/мл. В некоторых случаях у антител против gp120 или связывающих gp120 фрагментов, описанных в данном изобретении, EC₅₀ составляет от 0,05 до 0,3 мкг/мл. В некоторых случаях у антител против gp120 или связывающих gp120 фрагментов, описанных в данном изобретении, EC₅₀ составляет от 0,07 до 0,2 мкг/мл.

Последовательности аминокислот варибельной области тяжелой цепи (VH) и варибельной области легкой цепи (VL) типичных антител согласно настоящему изобретению представлены в таблицах VIII и IX, соответственно. Также включены последовательности аминокислот VH и VL контролей, используемых в некоторых способах анализа согласно настоящему изобретению (например, антитела С и антитела D).

Последовательности VH

SEQ ID NO	Название	Последовательность аминокислот варибельной области тяжелой цепи (VH)
181	C	QVRLSQSGGQMKKPGDSMRISCRASGYEFINCPINWIRLAPGKRPEW MGWMKPRWGAVSYARQLQGRVTMTRDMYSETAFLELRSLTSDDTAVY FCTRGKYCTARDYYNWDFEHWGQGTPTVTVSS
182	A-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQW VGWINPKTGQPNNPRQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKALRSDD TAVYFCARQRSYWDFDVGSGTQVTVSS
183	D-1	QVRLSQSGGQMKKPGDSMRISCRASGYEFINCPINWIRLAPGKRPEW MGWMKPRHGAVSYARQLQGRVTMTRDMYSETAFLELRSLTSDDTAVY FCTRGKYCTARDYYNWDFEHWGQGTPTVTVSS
184	1v2-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQW VGWINPKTGQPNNPRQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKALRSDD TAVYFCARQRSYWDFDVGSGTQVTVSS
185	1.2.1-1	QVQLLQSGAEVKKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQW VGWINPKTGQPNNPRQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKALRSDD TAVYFCARQRSYWDFDVGSGTMVTVSS
186	1.3.1-1	QVSLLQSGAAVTKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQW VGWINPKTGQPNNPRQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKALRSDD TAVYFCARQRSYWDFDVGSGTQVTVSS
187	1.4.1-1	QVQLVQSGAAVTKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQW VGWINPKTGQPNNPRQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKALRSDD TAVYFCARQRSYWDFDVGSGTQVTVSS
188	1.5.1-1	QVQLVQSGAAVTKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQW VGWINPKTGQPNNPRQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKALRSDD TAVYFCARQRSYWDFDVGSGTQVTVSS
189	1.6.1-1	QVQLLQSGAEVTKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQW VGWINPKTGQPNNPRQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKALRSDD TAVYFCARQRSYWDFDVGSGTQVTVSS

190	1.7.1-1	QVQLLQSGAEVKKPGASVRVSCEASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQW VGWINPKTGQPNNPRQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKALRSDD TAVYFCARQRSDYWDFDVWGSQTQVTVSS
191	1.8.1-1	QVQLVQSGAEVTKPGASVRVSCEASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQW VGWINPKTGQPNNPRQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKALRSDD TAVYFCARQRSDYWDFDVWGSQTQVTVSS
192	1.9.1-1	QVQLVQSGAEVKKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQW VGWINPKTGQPNNPRQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKALRSDD TAVYFCARQRSDYWDFDVWGSQTQVTVSS
193	1.10.1-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCEASGYNIRDYFMHWWRQAPGQGLQW VGWINPKTGQPNNPRQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKALRSDD TAVYFCARQRSDYWDFDVWGSQTQVTVSS
194	1.11.1-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCEASGYNIRDYFMHWWRQAPGQGLQW VGWINPKTGQPNNPRQFQGRVSLTRHASWDFDTFSAYMDLKALRSDD TAVYFCARQRSDYWDFDVWGSQTQVTVSS
195	1.15.1-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCEASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQW VGWINPKWGQPNNPRQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKALRSDD TAVYFCARQRSDYWDFDVWGSQTQVTVSS
196	1.16.1-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCEASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQW VGWINPKGGQPNNPRQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKALRSDD TAVYFCARQRSDYWDFDVWGSQTQVTVSS
197	1.17.1-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCEASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQW VGWINPKAGQPNNPRQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKALRSDD TAVYFCARQRSDYWDFDVWGSQTQVTVSS
198	1.18.1-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCEASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQW VGWINPKHGQPNNPRQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKALRSDD TAVYFCARQRSDYWDFDVWGSQTQVTVSS
199	1.19.1-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCEASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQW VGWINPKTGQPNNPRQFQGRVTLTRHASWDFDTFSFYMDLKALRSDD TAVYFCARQRSDYWDFDVWGSQTQVTVSS
200	1.20.1-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCEASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQW VGWINPKTGQPNNPRQFQGRVTMTRHASWDFDTFSFYMDLKALRSDD TAVYFCARQRSDYWDFDVWGSQTQVTVSS
201	1.21.1-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCEASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQW VGWINPKTGQPNNPRQFQGRVSLTRDASWDFDTFSFYMDLKALRSDD TAVYFCARQRSDYWDFDVWGSQTQVTVSS
202	1.22.1-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCEASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQW VGWINPKTGQPNNPRQFQGRVSLTRHASTFSFYMDLKALRSDDTAVY FCARQRSDYWDFDVWGSQTQVTVSS
203	1.24.1-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCEASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQW VGWINPKTGQPNNPRQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFSMDLKALRSDD TAVYFCARQRSDYWDFDVWGSQTQVTVSS
204	1.25.1-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCEASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQW

	1	VGWINPKTGQPNNPRQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLSRLRSDD TAVYFCARQRSYWDFDVWGSQTQVTVSS
205	1.26.1- 1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQW VGWINPKTGQPNNPRQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKALRSDD TATYFCARQRSYWDFDVWGSQTQVTVSS
206	1.27.1- 1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQW VGWINPKTGQPNNPRQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKALRSDD TAVYFCARQRTDYWDFDVWGSQTQVTVSS
207	1.28.1- 1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQW VGWINPKTGQPNNPRQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKALRSDD TATYFCARQRTDYWDFDVWGSQTQVTVSS
208	1.29.1- 1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQW VGWINPKTGQPNNPRQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKALRSDD TAVYFCARQRSYWDFDVWGSQTQVTVSS
209	1.30.1- 1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQW VGWINPKTGQPNNPRQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKALRSDD TAVYFCARQRSYWDFDVWGSQTMVTVSS
210	1.12.15 -1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHVVQRQAPGQGLQW VGWINPKTGQPNNPRQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKALRSDD TAVYFCARQRSYWDFDVWGSQTQVTVSS
211	1.13.15 -1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCASGYNIRDYFMHVVQRQAPGQGLQW VGWINPKTGQPNNPRQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKALRSDD TAVYFCARQRSYWDFDVWGSQTQVTVSS
212	1.14.15 -1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCASGYNIRDYFMHVVQRQAPGQGLQW VGWINPKTGQPNNPRQFQGRVSLTRHASWDFDTFSAYMDLKALRSDD TAVYFCARQRSYWDFDVWGSQTQVTVSS
213	1.31.1- 1	QVQLVQSGAEVTKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQW VGWINPKTGQPNNPRQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKALRSDD TATYFCARQRSYWDFDVWGSQTQVTVSS
214	1.32.1- 1	QVQLVQSGAEVTKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQW VGWINPKTGQPNNPRQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKALRSDD TAVYFCARQRTDYWDFDVWGSQTQVTVSS
215	1.33.1- 1	QVQLVQSGAEVKKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQW VGWINPKTGQPNNPRQFQGRVTLTRHASWDFDTFSFYMDLKALRSDD TATYFCARQRSYWDFDVWGSQTQVTVSS
216	1.34.1- 1	QVQLVQSGAEVKKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQW VGWINPKTGQPNNPRQFQGRVTLTRHASWDFDTFSFYMDLKALRSDD TAVYFCARQRTDYWDFDVWGSQTQVTVSS
217	1.35.1- 1	QVQLVQSGAEVKKPGASVRVSCASGYNIRDYFMHWWRQAPGQGLQW VGWINPKTGQPNNPRQFQGRVTMTRHASWDFDTFSFYMDLSRLRSDD TATYFCARQRTDYWDFDVWGSQTMVTVSS
218	1.36.1- 1	QVQLVQSGAEVKKPGASVRVSCASGYNIRDYFMHWWRQAPGQGLQW VGWINPKTGQPNNPRQFQGRVTMTRHASWDFDTFSAYMDLSRLRSDD TATYFCARQRTDYWDFDVWGSQTMVTVSS
219	1.37.51 -1	QVQLVQSGAEVKKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQW VGWINPKTGQPNNPRQFQGRVSLTRHASWDFDTYSFYMDLSRLRSDD TAVYFCARQRSYWDFDVWGSQTMVTVSS
220	B-1	QVHLSQSGAAVTKPGASVRVSCASGYKISDHFHWWRQAPGQGLQW

		VGWINPKTGQPNNPRQFQGRVSLTRQASWDFDTYSFYMDLKAVRSDD TAIFYFCARQRSDFWDFDVWGSQTQVTVSS
221	1.41.5-1	QVQLVQSGAEVKKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWQAPGQGLQW VGWINPKTGQPNNPRQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKALRSDD TAVYFCARQRSYDFWDFDVWGGTMVTVSS
465	2.2.1-1	QVHLSQSGAAVTKPGASVRVSCASGYKIRDHFIHWWQAPGQGLQW VGWINPKTGQPNNPRQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKAVRSDD TAIFYFCARQRSYDFWDFDVWGSQTQVTVSS
466	2.3.1-1	QVHLSQSGAAVTKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWQAPGQGLQW VGWINPKTGQPNNPRQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKAVRSDD TAIFYFCARQRSYDFWDFDVWGSQTQVTVSS
467	1.42.1-1	QVHLLQSGAAVTKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWQAPGQGLQW VGWINPKTGQPNNPRQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKALRSDD TAVYFCARQRSYDFWDFDVWGSQTQVTVSS
468	1.43.1-1	QVQLSQSGAAVTKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWQAPGQGLQW VGWINPKTGQPNNPRQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKALRSDD TAVYFCARQRSYDFWDFDVWGSQTQVTVSS
469	1.44.1-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCASGYKIRDYFIHWWQAPGQGLQW VGWINPKTGQPNNPRQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKALRSDD TAVYFCARQRSYDFWDFDVWGSQTQVTVSS
470	1.45.1-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCASGYNISDYFIHWWQAPGQGLQW VGWINPKTGQPNNPRQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKALRSDD TAVYFCARQRSYDFWDFDVWGSQTQVTVSS
471	1.46.1-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCASGYNIRDHFIHWWQAPGQGLQW VGWINPKTGQPNNPRQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKALRSDD TAVYFCARQRSYDFWDFDVWGSQTQVTVSS
472	1.47.1-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWQAPGQGLQW VGWINPKTGQPNNPRQFQGRVSLTRQASWDFDTFSFYMDLKALRSDD TAVYFCARQRSYDFWDFDVWGSQTQVTVSS
474	1.49.1-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWQAPGQGLQW VGWINPKTGQPNNPRQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKAVRSDD TAVYFCARQRSYDFWDFDVWGSQTQVTVSS
475	1.50.1-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWQAPGQGLQW VGWINPKTGQPNNPRQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKALRSDD TAIFYFCARQRSYDFWDFDVWGSQTQVTVSS
476	1.51.1-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWQAPGQGLQW VGWINPKTGQPNNPRQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKALRSDD TAVYFCARQRSDFWDFDVWGSQTQVTVSS
477	1.52.64-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWQAPGQGLQW VGWINPKTGQPNNPRQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKALRSDD TAVYFCARQRSYDFWDFDVWGSQTQVTVSS
478	2.4.1-1	QVHLSQSGAAVTKPGASVRVSCASGYKIRDHFIHWWQAPGQGLQW VGWINPKTGQPNNPRQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKAVRSDD TAIFYFCARQRSYDFWDFDVWGSQTQVTVSS

Последовательности VL

222	C	EIVLTQSPGTLSPGETAII SCRTSQYGS LAWYQQRPGQAP RLVIYSGSTRAAGI PDRFSGSRWGP DYNLTI SNLESGDFGVY YCQQYEFFGQGTKVQVDIK
223	A-1	DIQMTQSPSSLSASVGD TVTITCQANGYLNWYQQRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYNLTINNLPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLК
224	D-1	SLTQSPGTLSPGETAII SCRTSQYGS LAWYQQRPGQAPRL VIYSGSTRAAGI PDRFSGSRWGP DYNLTI SNLESGDFGVYYC QQYEFFGQGTKVQVDIK
225	1.1.2-1	DIQMTQSPSSLSASVGD TVTITCQANGYLNWYQQRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYNLTINNLPEDIATYFC QVYEFVVPGTKVDIK
226	1.1.3-1	EIQMTQSPSSLSASVGD TVTITCQANGYLNWYQQRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYNLTINNLPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLК
227	1.1.4-1	DIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCQANGYLNWYQQRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYNLTINNLPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLК
228	1.1.5-1	DIQMTQSPSSLSASVGD TVTITCQANGYLNWYQQRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYNLTINNLPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLК
229	1.1.6-1	DIQMTQSPSSLSASVGD TVTITCQANGYLNWYQQRGKAPKL LIYDASKLERGVPSRFSGRRWGQEYNLTINNLPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLК
230	1.1.7-1	DIQMTQSPSSLSASVGD TVTITCQANGYLNWYQQRGKAPKL LIYDGSNLERGVPSRFSGRRWGQEYNLTINNLPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLК
231	1.1.8-1	DIQMTQSPSSLSASVGD TVTITCQANGYLNWYQQRGKAPKL LIYDASNLERGVPSRFSGRRWGQEYNLTINNLPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLК
232	1.1.9-1	DIQMTQSPSSLSASVGD TVTITCQANGYLNWYQQRGKAPKL LIYDGSKLETGVPSRFSGRRWGQEYNLTINNLPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLК
233	1.1.10-1	DIQMTQSPSSLSASVGD TVTITCQANGYLNWYQQRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYTLTINNLPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLК
234	1.1.11-1	DIQMTQSPSSLSASVGD TVTITCQANGYLNWYQQRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGSRWGQEYTLTINNLPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLК
235	1.1.12-1	DIQMTQSPSSLSASVGD TVTITCQANGYLNWYQQRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYNLTISSLPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLК
236	1.1.13-1	DIQMTQSPSSLSASVGD TVTITCQANGYLNWYQQRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGSRWGQEYTLTISSLPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLК
237	1.1.14-1	DIQMTQSPSSLSASVGD TVTITCQANGYLNWYQQRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGSGTDFTF TINNLPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLК
238	1.1.15-1	DIQMTQSPSSLSASVGD TVTITCQANGYLNWYQQRGKAPKL

		LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYNLTINNLPEDIATYFC QVYEFFVPGTRLDLK
239	1.1.16-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYNLTINNLPEDIATYFC QVYEFVGPTRLDLK
240	1.1.17-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYNLTINNLPEDIATYFC QVYEFFGPGTRLDLK
241	1.1.18-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYNLTINNLPEDIATYFC QVYEFVSPGTRLDLK
242	1.1.19-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYNLTINNLPEDIATYFC QVYEFVTPGTRLDLK
243	1.1.20-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYNLTINNLPEDIATYFC QVYEFVVPGTNLDLK
244	1.1.21-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYNLTINNLPEDIATYFC QVYEFVGPGTNLDLK
245	1.1.22-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYNLTINNLPEDIATYFC QVYEFVSPGTNLDLK
246	1.1.23-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYNLTINNLPEDIATYFC QVYEFVTPGTNLDLK
247	1.1.24-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYNLTINNLPEDIATYFC QVYEFVVPGTRVDLK
248	1.1.25-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYNLTINNLPEDIATYFC QVYEFVVPGTINVDLK
249	1.1.26-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYNLTINNLPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDIK
250	1.1.27-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYNLTINNLPEDIATYFC QVYEFVVPGTRVDIK
251	1.1.28-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYNLTINNLPEDIATYFC QVYEFVVPGTINVDIK
252	1.1.29-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYNLTINNLPEDIATYFC QVYEFVGPGTINVDIK
253	1.1.30-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYNLTINNLPEDIATYFC QVYEFVTPGTINVDIK

254	1.1.31-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYTLTISSLQPEDIATYFC QVYEFVVPGTNLDLK
255	1.1.32-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYTLTISSLQPEDIATYFC QVYEFVTPGTRLDLK
256	1.1.33-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSNLERGVPSRFSGRRWGQEYTLTISSLQPEDIATYFC QVYEFVVPGTNLDIK
257	1.1.34-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSNLERGVPSRFSGRRWGQEYTLTISSLQPEDIATYFC QVYEFVTPGTRLDIK
258	1.1.35-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVITITCQANGYLNWYQOKPGKAPKL LIYDGSNLETGVPSRFSGSRWGQEYTLTISSLQPEDIATYFC QVYEFVGPGTNLDIK
259	1.1.36-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVITITCQANGYLNWYQOKPGKAPKL LIYDGSNLETGVPSRFSGSRWGQEYTLTISSLQPEDIATYFC QVYEFVTPGTNLDIK
260	1.1.37-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYTF TINNLQPEDIATYFC QVYEFVVPGTNLDLK
261	1.1.38-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYSLTINNLQPEDIATYFC QVYEFVVPGTNLDLK
262	1.1.39-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYSFTINNLQPEDIATYFC QVYEFVVPGTNLDLK
263	1.1.40-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYALTINNLQPEDIATYFC QVYEFVVPGTNLDLK
264	1.1.41-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYAFTINNLQPEDIATYFC QVYEFVVPGTNLDLK
265	1.1.42-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYHLTINNLQPEDIATYFC QVYEFVVPGTNLDLKR
266	1.1.43-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYHFTINNLQPEDIATYFC QVYEFVVPGTNLDLK
267	1.1.44-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYQLTINNLQPEDIATYFC QVYEFVVPGTNLDLK
268	1.1.45-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYQFTINNLQPEDIATYFC QVYEFVVPGTNLDLK
269	1.1.46-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYNLKINNLQPEDIATYFC

		QVYEFVVPGTRLDLK
270	1.1.47-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYNFKINNLQPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLK
271	1.1.48-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYNLAINNLQPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLK
272	1.1.49-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYNFAINNLQPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLK
273	1.37.51-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCQANGYLNWYQOKPGKAPKL LIYDGSKLETGVPSRFSGSRWGQEYTLTINNLQPEDIATYFC QVYEFFGPGTRLDLK
274	1.8.52-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCQANGYLNWYQOKPGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYTLTINNLQPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLK
275	1.1.54-1	DIQMTQSPSSLSASVGDSTATITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYTLTINNLQPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLK
276	B-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYNLTINNLQPEDVATYFC QVYEFIVPGTRLDLK
277	2.1.2-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYHLTINNLQPEDVATYFC QVYEFIVPGTRLDLK
278	1.1.64-1	DIQMTQSPSSLSASVGDSTATITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYNLTINNLQPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLK
279	1.1.67-1	DIQMTQSPSSLSASVGDSTATITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYNLTINNLQPEDIATYFC QVYEFFGPGTRLDLK
280	1.1.72-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYHLTINNLQPEDIATYFC QVYEFFGPGTRLDLK
281	1.1.75-1	DIQMTQSPSSLSASVGDSTATITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYHLTINNLQPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLK
282	1.1.78-1	DIQMTQSPSSLSASVGDSTATITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYHLTINNLQPEDIATYFC QVYEFFGPGTRLDLK
283	1.41.81-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITCQANGYLNWYQOKPGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYNLTINNLQPEDIATYFC QVYEFFGPGTRLDLK
284	1.1.82-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGSRWGQEYNLTISLQPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLK
285	1.41.83-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCQANGYLNWYQOKPGKAPKL

		LIYDGSKLERGVPSRFSGSRWGQEYNLTISLQPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLK
286	1.1.84-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGSRWGQEYNLTISLQPEDIATYFC QVYEFFGPGTRLDLK
287	1.41.85-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCQANGYLNWYQOKPGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGSRWGQEYNLTISLQPEDIATYFC QVYEFFGPGTRLDLK
288	1.41.86-1	DIQMTQSPSSLSASVGDRTATITCQANGYLNWYQOKPGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYNLTINNLQPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLK
289	1.41.87-1	DIQMTQSPSSLSASVGDRTATITCQANGYLNWYQOKPGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYNLTINNLQPEDIATYFC QVYEFFGPGTRLDLK
290	1.1.88-1	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGSRWGQEYNLTISLQPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLK
291	1.41.89-1	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQANGYLNWYQOKPGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGSRWGQEYNLTISLQPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLK
292	1.1.90-1	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGSRWGQEYNLTISLQPEDIATYFC QVYEFFGPGTRLDLK
293	1.41.91-1	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQANGYLNWYQOKPGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGSRWGQEYNLTISLQPEDIATYFC QVYEFFGPGTRLDLK
294	1.41.92-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITCQANGYLNWYQOKPGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYHLTINNLQPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLK
295	1.41.93-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITCQANGYLNWYQOKPGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYHLTINNLQPEDIATYFC QVYEFFGPGTRLDLK
296	1.1.94-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGSRWGQEYHLTISLQPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLK
297	1.41.95-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCQANGYLNWYQOKPGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGSRWGQEYHLTISLQPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLK
298	1.1.96-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGSRWGQEYHLTISLQPEDIATYFC QVYEFFGPGTRLDLK
299	1.41.97-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCQANGYLNWYQOKPGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGSRWGQEYHLTISLQPEDIATYFC QVYEFFGPGTRLDLK
300	1.41.98-1	DIQMTQSPSSLSASVGDRTATITCQANGYLNWYQOKPGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYHLTINNLQPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLK

301	1.41.99-1	DIQMTQSPSSLSASVGD TATITCQANGYLNWYQQKPGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYHLTINNLPEDIATYFC QVYEFFGPGTRLDLK
302	1.1.100-1	DIQMTQSPSSLSASVGD RATITCQANGYLNWYQQRRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYHLTISSLQPED IATYFC QVYEFVVPGTRLDLK
303	1.41.101-1	DIQMTQSPSSLSASVGD RATITCQANGYLNWYQQKPGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYHLTISSLQPED IATYFC QVYEFVVPGTRLDLK
304	1.1.102-1	DIQMTQSPSSLSASVGD RATITCQANGYLNWYQQRRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYHLTISSLQPED IATYFC QVYEFFGPGTRLDLK
305	1.41.103-1	DIQMTQSPSSLSASVGD RATITCQANGYLNWYQQKPGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYHLTISSLQPED IATYFC QVYEFFGPGTRLDLK
306	1.1.110-1	DIQMTQSPSSLSASVGD T V TITCQANGYLNWYQQRRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGTRRGQDYIFSINNLPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLK
307	1.1.111-1	DIQMTQSPSSLSASVGD T V TITCQANGYLNWYQQRRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRFQDYILTINNLPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLK
308	1.1.112-1	DIQMTQSPSSLSASVGD T V TITCQANGYLNWYQQRRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRFQKYQLSINNLPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLK
309	1.1.113-1	DIQMTQSPSSLSASVGD TATITCQANGYLNWYQQRRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRFQDYILTINNLPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLK
310	2.1.3-1	DIQMTQSPSSLSARVGD T V TITCQANGYLNWYQQRRGKAPKL LIYDGSKLERGVPARFSGRRFQDYILTINNLPEDVATYFC QVYEFIVPGTRLDLK
311	2.1.4-1	DIQMTQSPSSLSARVGD TATITCQANGYLNWYQQRRGKAPKL LIYDGSKLERGVPARFSGRRFQDYILTINNLPEDVATYFC QVYEFIVPGTRLDLK
479	3.1.8-1	DIQMTQSPSSLSARVGD TATITCQANGYLNWYQQRRGKAPKL LIYDGSKLERGVPARFSGRRWGQEYNLTINNLPEDVATYFC QVYEFIVPGTRLDLK
480	3.1.9-1	DIQMTQSPSSLSARVGD TATITCQANGYLNWYQQRRGKAPKL LIYDGSKLERGVPARFSGRRWGQEYNLTINNLPEDVATYFC QVYEFFGPGTRLDLK
481	1.1.115-1	DIQMTQSPSSLSASVGD T V TITCQANGYLNWYQQRRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYILTINNLPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLK
482	3.1.10-1	DIQMTQSPSSLSARVGD T V TITCQANGYLNWYQQRRGKAPKL LIYDGSKLERGVPARFSGRRWGQEYILTINNLPEDVATYFC QVYEFIVPGTRLDLK
483	1.1.116-1	DIQMTQSPSSLSASVGD TATITCQANGYLNWYQQRRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYILTINNLPEDIATYFC

		QVYEFVVPGTRLDLK
484	3.1.11-1	DIQMTQSPSSLSARVGD TATITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGV PARFSGRRWGQEYILTINNLPEDVATYFC QVYEFIVPGTRLDLK
485	1.1.117-1	DIQMTQSPSSLSASVGD TATITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYILTINNLPEDIATYFC QVYEFFGPGTRLDLK
486	3.1.12-1	DIQMTQSPSSLSARVGD TATITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGV PARFSGRRWGQEYILTINNLPEDVATYFC QVYEFFGPGTRLDLK
487	1.1.118-1	DIQMTQSPSSLSASVGD RATITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGSRWGQEYILTISLQPEDVATYFC QVYEFFGPGTRLDLK
488	3.1.13-1	DIQMTQSPSSLSARVGD RATITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGV PARFSGSRWGQEYILTISLQPEDVATYFC QVYEFFGPGTRLDLK
489	3.1.14-1	DIQMTQSPSSLSARVGD T V TITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGV PARFSGRRWGQEYTLTINNLPEDVATYFC QVYEFIVPGTRLDLK
491	3.1.5-1	DIQMTQSPSSLSARVGD TATITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGV PARFSGRRWGQEYTLTINNLPEDVATYFC QVYEFIVPGTRLDLK
492	3.1.15-1	DIQMTQSPSSLSARVGD TATITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGV PARFSGRRWGQEYTLTINNLPEDVATYFC QVYEFFGPGTRLDLK
493	1.1.119-1	DIQMTQSPSSLSASVGD RATITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGSRWGQEYTLTISLQPEDVATYFC QVYEFFGPGTRLDLK
494	3.1.7-1	DIQMTQSPSSLSARVGD RATITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGV PARFSGSRWGQEYTLTISLQPEDVATYFC QVYEFFGPGTRLDLK
495	3.1.16-1	DIQMTQSPSSLSARVGD TATITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGV PARFSGRRWGQEYHLTINNLPEDVATYFC QVYEFIVPGTRLDLK
496	3.1.17-1	DIQMTQSPSSLSARVGD TATITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGV PARFSGRRWGQEYHLTINNLPEDVATYFC QVYEFFGPGTRLDLK
497	3.1.18-1	DIQMTQSPSSLSARVGD RATITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGV PARFSGSRWGQEYHLTISLQPEDVATYFC QVYEFFGPGTRLDLK
498	1.1.120-1	DIQMTQSPSSLSASVGD TATITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQDYILTINNLPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLK
499	3.1.19-1	DIQMTQSPSSLSARVGD TATITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGV PARFSGRRWGQDYILTINNLPEDVATYFC QVYEFIVPGTRLDLK
500	1.1.121-1	DIQMTQSPSSLSASVGD TATITCQANGYLNWYQORRGKAPKL

		LIYDGSKLERGVPSRFSGRRFGQEYILTINNLPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLК
501	3.1.20-1	DIQMTQSPSSLSARVGDТATITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPARFSGRRFGQEYILTINNLPEDVATYFC QVYEFIVPGTRLDLК
502	1.1.122-1	DIQMTQSPSSLSASVGDТATITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYVLTINNLPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLК
503	1.1.123-1	DIQMTQSPSSLSASVGDТATITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYLLTINNLPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLК
504	1.1.124-1	DIQMTQSPSSLSASVGDТATITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYMLTINNLPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLК
505	1.1.125-1	DIQMTQSPSSLSASVGDТATITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYALTINNLPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLК
506	1.1.126-1	DIQMTQSPSSLSASVGDТATITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYSLTINNLPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLК
507	1.1.127-1	DIQMTQSPSSLSASVGDТATITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYFLTINNLPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLК
508	1.1.128-1	DIQMTQSPSSLSASVGDТATITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGTRWGQEYILTINNLPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLК
509	1.1.129-1	DIQMTQSPSSLSASVGDТATITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRRGQEYILTINNLPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLК
510	1.1.130-1	DIQMTQSPSSLSASVGDТATITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRYGQEYILTINNLPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLК
511	1.1.131-1	DIQMTQSPSSLSASVGDТATITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGTRWGQDYILTINNLPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLК
512	1.1.132-1	DIQMTQSPSSLSARVGDТVTITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYNLTINNLPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLК
513	1.1.133-1	DIQMTQSPSSLSASVGDТVTITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPARFSGRRWGQEYNLTINNLPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLК
514	1.1.134-1	DIQMTQSPSSLSASVGDТVTITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYNLTINNLPEDVATYFC QVYEFVVPGTRLDLК
515	1.1.135-1	DIQMTQSPSSLSASVGDТVTITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYNLTINNLPEDIATYFC QVYEFIVPGTRLDLК
569	1.1.138-1	DIQMTQSPSSLSASVGDТVTITCQATGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYNLTINNLPEDIATYFC QVYEFVVPGTRLDLК
516	1.1.104-1	DIQMTQSPSSLSASVGDТATITCQANGYLNWYQORRGKAPKL LIYDGSKLERGVPSRFSGRRWGQEYTLTINNLPEDIATYFC QVYEFFGPGTRLDLК

В некоторых вариантах реализации антитела против gp120 или связывающие gp120 фрагменты, описанные в данном изобретении, содержат VH, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности аминокислот, выбранной из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 181 - 221 и 465 - 478, и VL, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности аминокислот, выбранной из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 222 - 311, 479 - 516 и 569. В некоторых вариантах реали-

зации антитела против gp120 или связывающие gp120 фрагменты, описанные в данном изобретении, содержат VH, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 181 - 221 и 465 - 478, и VL, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 222 - 311, 479-516 и 569.

При сравнении полинуклеотидной и полипептидной последовательностей две последовательности называют "идентичными", если последовательность нуклеотидов или аминокислот в двух последовательностях одинакова при выравнивании для максимального соответствия, как описано ниже. Сравнения между двумя последовательностями обычно проводят путем сравнения последовательностей в окне сравнения, чтобы определить и сравнить локальные участки подобия последовательностей. "Окно сравнения" в данном изобретении относится к фрагменту из по меньшей мере приблизительно 20 смежных положений, обычно от 30 до приблизительно 75, от 40 до приблизительно 50, в котором последовательность можно сравнить с эталонной последовательностью из такого же количества смежных положений после оптимального выравнивания двух указанных последовательностей.

Выравнивание последовательностей для сравнения можно осуществить, применяя программу Megalign из пакета программного обеспечения для биоинформатики Lasergene (DNASTAR, Inc., Мэдисон, Висконсин), используя параметры по умолчанию. Данная программа реализует несколько схем выравнивания, описанных в следующих ссылочных материалах: Dayhoff, M.O. (1978) A model of evolutionary change in proteins - Matrices for detecting distant relationships. В Dayhoff, M.O. (ред.), A Atlas of Protein Sequence and Structure, National Biomedical Research Foundation, Вашингтон, округ Колумбия, том 5, прил. 3, стр. 345 - 358; Hein J. (1990), Unified Approach to Alignment and Phylogenesis, стр. 626-645, Methods in Enzymology, том 183, Academic Press, Inc., Сан-Диего, Калифорния; Higgins, D.G. и Sharp, P.M. (1989) CABIOS 5: 151-153; Myers, E.W. и Muller W. (1988) CABIOS 4:11-17; Robinson, E.D. (1971) Comb. Theor 77: 105; Santou, N. Nes, M. (1987) Mol. Biol. Evol. 4:406-425; Sneath, P.H.A. и Sokal, R.R. (1973) Numerical Taxonomy - the Principles and Practice of Numerical Taxonomy, Freeman Press, Сан-Франциско, Калифорния; Wilbur, W.J. и Lipman, D.J. (1983) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80:726-730.

В качестве альтернативы, выравнивание последовательностей для сравнения можно осуществить с помощью алгоритма локальной идентичности Смита и Уотермана (1981) Add. APL. Math 2:482, с помощью алгоритма выравнивания областей гомологии Нидлмана и Вунша (1970), J. Mol. Biol. 48:443, с помощью способа поиска сходства по Пирсону-Липману (1988), Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 2444, с помощью компьютеризированных реализаций данных алгоритмов (GAP, BESTFIT, BLAST, FASTA и TFASTA в пакете программного обеспечения Wisconsin Genetics, Genetics Computer Group (GCG), 575 Science Dr., Мэдисон, Висконсин), или путем визуального анализа.

Одним примером алгоритмов, которые подходят для определения процента идентичности последовательностей и подобия последовательностей, являются алгоритмы BLAST и BLAST 2.0, которые описаны в Altschul и др. (1977) Nucl. Acids Res. 25:3389-3402 и Altschul и др. (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410,

соответственно. BLAST и BLAST 2.0 можно применять, например, с параметрами, описанными в данном изобретении, чтобы определить процент идентичности последовательностей для полинуклеотидов и полипептидов, описанных в данном изобретении. Программное обеспечение для проведения анализа BLAST общедоступно через Национальный центр биотехнологической информации.

В одном наглядном примере совокупные баллы можно рассчитать, применяя, для последовательностей нуклеотидов, параметры M (поощрительный балл для пары совпадающих остатков; всегда >0) и N (штрафной балл для несовпадающих остатков; всегда <0). Удлинение совпадений слов в каждом направлении останавливают, когда: кумулятивный балл выравнивания уменьшается на величину X от максимально достигнутого значения; кумулятивный балл снижается до нуля или ниже, вследствие накопления одного или более выравниваний остатков с отрицательными баллами; или достигается конец последовательности. Параметры алгоритма BLAST W, T и X определяют чувствительность и скорость выравнивания. В программе BLASTN (для последовательностей нуклеотидов) используют в качестве параметров по умолчанию длину слова (W), равную 11, и ожидание (E), равное 10, и выравнивания с использованием матрицы весов BLOSUM62 (см. Henikoff и Henikoff (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 10915), (B), равное 50, ожидание (E), равное 10, M=5, N=-4 и сравнение обеих цепей.

Для последовательностей аминокислот матрицу весов можно применять для расчета кумулятивного балла. Удлинение совпадений слов в каждом направлении останавливают, когда: кумулятивный балл выравнивания уменьшается на величину X от максимально достигнутого значения; кумулятивный балл снижается до нуля или ниже, вследствие накопления одного или более выравниваний остатков с отрицательными баллами; или достигается конец последовательности. Параметры алгоритма BLAST W, T и X определяют чувствительность и скорость выравнивания.

В одном подходе "процент идентичности последовательностей" определяют путем сравнения двух оптимально выровненных последовательностей в окне сравнения из по меньшей мере 20 положений, причем часть последовательности полинуклеотида или полипептида в окне сравнения может содержать вставки или делеции (т.е. гэпы) 20 процентов или менее, обычно от 5 до 15 процентов или от 10 до 12 процентов по сравнению с эталонными последовательностями (которые не содержат вставки или делеции) для выравнивания двух последовательностей. Процент рассчитывают путем определения количества положений, в которых встречаются идентичные основания нуклеиновых кислот или аминокислотные

остатки в обеих последовательностях, с получением количества совпадающих положений, деления количества совпадающих положений на общее количество положений в эталонной последовательности (т.е. размер окна) и умножения результатов на 100 с получением процента идентичности последовательностей.

В объем настоящего изобретения входят антитела против gp120 или связывающие gp120 их фрагменты, которые содержат VH любого из антител, описанных в данном изобретении. В некоторых вариантах реализации антитело против gp120 или связывающий gp120 его фрагмент содержит VH любого одного из антитела А-1, антитела 1.1.64-1, антитела 1.90-1, антитела 2.2.1-1, антитела 2.3.1-1, антитела 3.1.5-1, антитела 2.2.5-1, антитела 2.3.5-1, антитела 1.1.119-1, антитела 1.1.104-1, антитела 1.52.64-1, антитела 2.4.1-1, антитела 1.1.54-1 или антитела 2-1. В некоторых вариантах реализации антитело против gp120 или связывающий gp120 его фрагмент содержит VH антитела 1.52.64-1.

В объем настоящего изобретения входят антитела против gp120 или связывающие gp120 их фрагменты, которые содержат VL любого из антител, описанных выше. В некоторых вариантах реализации антитело против gp120 или связывающий gp120 его фрагмент содержит VL любого одного из антитела А-1, антитела 1.1.64-1, антитела 1.1.90-1, антитела 2.2.1-1, 2.3.1-1, антитела 3.1.5-1, антитела 2.2.5-1, антитела 2.3.5-1, антитела 1.1.119-1, антитела 1.1.104-1, антитела 1.52.64-1, антитела 2.4.1-1, антитела 1.1.54-1 или антитела В-1-1. Также в объем настоящего изобретения входят антитела против gp120 или связывающие gp120 их фрагменты, которые содержат VH и VL любого из антител, описанных в данном изобретении. В некоторых вариантах реализации антитело против gp120 или связывающий gp120 его фрагмент содержит VH и VL любого одного из антитела А-1, антитела 1.1.64-1, антитела 1.1.90-1, антитела 2.2.1-1, антитела 2.3.1-1, антитела 3.1.5-1, антитела 2.2.5-1, антитела 2.3.5-1, антитела 1.1.119-1, антитела 1.1.104-1, антитела 1.52.64-1, антитела 2.4.1-1, антитела 1.1.54-1 или антитела В-1. Также в объем настоящего изобретения входят антитела, содержащие области CDR любой из указанных выше последовательностей VL и/или VH.

В некоторых случаях антитела против gp120 или связывающие gp120 их фрагменты содержат, дополнительно к последовательности аминокислот VH любого из антител, описанных в данном изобретении, константную область тяжелой цепи, содержащую представленную ниже последовательность аминокислот с от 0 до 10 (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10) заменами аминокислот:

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT
 VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLAGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPE
 VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL
 LPLPEEKTKISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV
 LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFNCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 437);

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT
 VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLAGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPE
 VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL
 LPLPEEKTKISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV
 LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFNCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 438);

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT
 VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPE
 VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL
 LPAPEEKTKISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV
 LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFNCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 439);

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT
 VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLAGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPE
 VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL
 LPAPEEKTKISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV
 LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFNCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 440);

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT
 VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPE
 VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL
 LPLPEEKTKISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV
 LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFNCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 441);

or

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT
 VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE
 VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPPEEQYNSTLRVVSILTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL
 LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV
 LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFNCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 442).

В некоторых вариантах реализации антигена против gp120 или связывающие gp120 их фрагменты содержат последовательность аминокислот VH, представленную в SEQ ID NO: 477, и константную область тяжелой цепи, содержащую последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO: 438 с от 0 до 10 (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10) заменами аминокислот.

Последовательности аминокислот тяжелой цепи и легкой цепи типичных антител согласно настоящему изобретению представлены в табл. X и XI, соответственно. Последовательности аминокислот тяжелой и легкой цепей контрольных антител, которые применяют во множестве способов анализа в настоящем описании (например, антигена С и антигена D-1), также представлены.

Последовательности тяжелой цепи

SEQ ID NO	Название	Последовательность аминокислот тяжелой цепи
1	C	QVRLSQSGGQMKKPGDSMRI SCRASGYEFINCPINWIRLAPGKRPEWGMGMMKPRWGAVSYA RQLQGRVTMTRDMYSETAFLELRSLTSDDTAVYFCTRGKYCTARDYYNWD FEHWGQGT PVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
2	A-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQVWGWINPKTGQPNNP RQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKAALRSDDTAVYFCARQRSYDFDVGSGTQVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLAGP DVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPLPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK
3	A	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQVWGWINPKTGQPNNP RQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKAALRSDDTAVYFCARQRSYDFDVGSGTQVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK
4	D-1	QVRLSQSGGQMKKPGDSMRI SCRASGYEFINCPINWIRLAPGKRPEWGMGMMKPRHGAVSYA RQLQGRVTMTRDMYSETAFLELRSLTSDDTAVYFCTRGKYCTARDYYNWD FEHWGQGT PVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLA

		<p> GPDVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPLPEEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK </p>
5	1v2-1	<p> QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQVWGWINPKTGQPNNP RQFQGRVSLTRHASWDFDFTYSFYMDLKAALRSDDTAVYFCARQRSDYWDFDVWGS GTQVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCTPCPAPELLAGP DVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPLPEEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFCSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK </p>
6	1.2.1 -1	<p> QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQVWGWINPKTGQPNNP RQFQGRVSLTRHASWDFDFTFSFYMDLKAALRSDDTAVYFCARQRSDYWDFDVWGS GTMTVVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCTPCPAPELLAGP DVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPLPEEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFCSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK </p>
7	1.3.1 -1	<p> QVSLVQSGAAVTKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQVWGWINPKTGQPNNP RQFQGRVSLTRHASWDFDFTFSFYMDLKAALRSDDTAVYFCARQRSDYWDFDVWGS GTQVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCTPCPAPELLAGP DVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPLPEEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFCSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK </p>
8	1.4.1 -1	<p> QVQLVQSGAAVTKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQVWGWINPKTGQPNNP RQFQGRVSLTRHASWDFDFTFSFYMDLKAALRSDDTAVYFCARQRSDYWDFDVWGS GTQVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCTPCPAPELLAGP DVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPLPEEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFCSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK </p>
9	1.5.1 -1	<p> QVQLVQSGAAVTKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQVWGWINPKTGQPNNP RQFQGRVSLTRHASWDFDFTFSFYMDLKAALRSDDTAVYFCARQRSDYWDFDVWGS GTQVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCTPCPAPELLAGP DVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPLPEEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFCSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK </p>
10	1.6.1 -1	<p> QVQLLQSGAEVTKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQVWGWINPKTGQPNNP RQFQGRVSLTRHASWDFDFTFSFYMDLKAALRSDDTAVYFCARQRSDYWDFDVWGS GTQVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCTPCPAPELLAGP DVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST </p>

		YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPPLPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSHYTTQKSLSLSPGK
11	1.7.1 -1	QVQLLQSGAEVKKPGASVRVSCVCEASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQVWGWINPKTGQPNNP RQFQGRVSLTRHASWDFDTSFYMDLKAALRSDDTAVYFCARQRSYWDYDFVWGSQTQVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCTPCPAPPELLAGP DVFLEPPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPPLPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSHYTTQKSLSLSPGK
12	1.8.1 -1	QVQLVQSGAEVTKPGASVRVSCVCEASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQVWGWINPKTGQPNNP RQFQGRVSLTRHASWDFDTSFYMDLKAALRSDDTAVYFCARQRSYWDYDFVWGSQTQVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCTPCPAPPELLAGP DVFLEPPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPPLPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSHYTTQKSLSLSPGK
13	1.9.1 -1	QVQLVQSGAEVKKPGASVRVSCVCKASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQVWGWINPKTGQPNNP RQFQGRVSLTRHASWDFDTSFYMDLKAALRSDDTAVYFCARQRSYWDYDFVWGSQTQVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCTPCPAPPELLAGP DVFLEPPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPPLPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSHYTTQKSLSLSPGK
14	1.10. 1-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCVCEASGYNIRDYFMHWRQAPGQGLQVWGWINPKTGQPNNP RQFQGRVSLTRHASWDFDTSFYMDLKAALRSDDTAVYFCARQRSYWDYDFVWGSQTQVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCTPCPAPPELLAGP DVFLEPPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPPLPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSHYTTQKSLSLSPGK
15	1.11. 1-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCVCEASGYNIRDYFMHWRQAPGQGLQVWGWINPKTGQPNNP RQFQGRVSLTRHASWDFDTSFYMDLKAALRSDDTAVYFCARQRSYWDYDFVWGSQTQVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCTPCPAPPELLAGP DVFLEPPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPPLPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSHYTTQKSLSLSPGK
16	1.15. 1-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCVCEASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQVWGWINPKWQPNNP RQFQGRVSLTRHASWDFDTSFYMDLKAALRSDDTAVYFCARQRSYWDYDFVWGSQTQVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCTPCPAPPELLAGP DVFLEPPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPPLPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK

		NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK
17	1.16. 1-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCAESGYNIRDYFIHWWRQAPGGQLQVWGWINPKGGQPNNP RQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKLALRSDDTAVYFCARQSDYWDFDVWGSQTQVTVS SASTKGPSVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLAGP DVFLEPPPKKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPPLPEEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK
18	1.17. 1-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCAESGYNIRDYFIHWWRQAPGGQLQVWGWINPKAGQPNNP RQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKLALRSDDTAVYFCARQSDYWDFDVWGSQTQVTVS SASTKGPSVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLAGP DVFLEPPPKKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPPLPEEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK
19	1.18. 1-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCAESGYNIRDYFIHWWRQAPGGQLQVWGWINPKHGQPNNP RQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKLALRSDDTAVYFCARQSDYWDFDVWGSQTQVTVS SASTKGPSVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLAGP DVFLEPPPKKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPPLPEEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK
20	1.19. 1-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCAESGYNIRDYFIHWWRQAPGGQLQVWGWINPKTGQPNNP RQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKLALRSDDTAVYFCARQSDYWDFDVWGSQTQVTVS SASTKGPSVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLAGP DVFLEPPPKKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPPLPEEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK
21	1.20. 1-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCAESGYNIRDYFIHWWRQAPGGQLQVWGWINPKTGQPNNP RQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKLALRSDDTAVYFCARQSDYWDFDVWGSQTQVTVS SASTKGPSVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLAGP DVFLEPPPKKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPPLPEEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK
22	1.21. 1-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCAESGYNIRDYFIHWWRQAPGGQLQVWGWINPKTGQPNNP RQFQGRVSLTRDASWDFDTFSFYMDLKLALRSDDTAVYFCARQSDYWDFDVWGSQTQVTVS SASTKGPSVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLAGP DVFLEPPPKKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPPLPEEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGN

		VFSCSVLHEALHSHYTTQKSLSLSPGK
23	1.22. 1-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQWVGWINPKTGQPNNP RQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKLALRSDDTAVYFCARQRSYDWFDFVWGSQTQVTVSSAST KGPVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPCPAPELLAGPDVFL FPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPLPEEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SVLHEALHSHYTTQKSLSLSPGK
24	1.24. 1-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQWVGWINPKTGQPNNP RQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKLALRSDDTAVYFCARQRSYDWFDFVWGSQTQVTVS SASTKGPVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPCPAPELLAGP DVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPLPEEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSHYTTQKSLSLSPGK
25	1.25. 1-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQWVGWINPKTGQPNNP RQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKLALRSDDTAVYFCARQRSYDWFDFVWGSQTQVTVS SASTKGPVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPCPAPELLAGP DVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPLPEEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSHYTTQKSLSLSPGK
26	1.26. 1-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQWVGWINPKTGQPNNP RQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKLALRSDDTAVYFCARQRSYDWFDFVWGSQTQVTVS SASTKGPVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPCPAPELLAGP DVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPLPEEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSHYTTQKSLSLSPGK
27	1.27. 1-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQWVGWINPKTGQPNNP RQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKLALRSDDTAVYFCARQRSYDWFDFVWGSQTQVTVS SASTKGPVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPCPAPELLAGP DVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPLPEEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSHYTTQKSLSLSPGK
28	1.28. 1-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQWVGWINPKTGQPNNP RQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKLALRSDDTAVYFCARQRSYDWFDFVWGSQTQVTVS SASTKGPVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPCPAPELLAGP DVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPLPEEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSHYTTQKSLSLSPGK

29	1.29. 1-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSC EASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQVWGWINPKTGQPNNP RQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDL KALRSDDTAVYFCARQRS DYWDFD VVGSGTQVTVS SASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFP AVLQSS GLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTC PPAPELLAGP DVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP LPEEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKG FYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK
30	1.30. 1-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSC EASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQVWGWINPKTGQPNNP RQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDL KALRSDDTAVYFCARQRS DYWDFD VVGSGTMTVTVS SASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFP AVLQSS GLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTC PPAPELLAGP DVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP LPEEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKG FYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK
31	1.12. 15-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSC EASGYNIRDYFIHWVRQAPGQGLQVWGWINPKTGQPNNP RQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDL KALRSDDTAVYFCARQRS DYWDFD VVGSGTQVTVS SASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFP AVLQSS GLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTC PPAPELLAGP DVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP LPEEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKG FYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK
32	1.13. 15-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSC EASGYNIRDYFMHWVRQAPGQGLQVWGWINPKTGQPNNP RQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDL KALRSDDTAVYFCARQRS DYWDFD VVGSGTQVTVS SASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFP AVLQSS GLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTC PPAPELLAGP DVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP LPEEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKG FYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK
33	1.14. 15-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSC EASGYNIRDYFMHWVRQAPGQGLQVWGWINPKTGQPNNP RQFQGRVSLTRHASWDFDTFSAYMDL KALRSDDTAVYFCARQRS DYWDFD VVGSGTQVTVS SASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFP AVLQSS GLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTC PPAPELLAGP DVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP LPEEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKG FYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK
34	1.31. 1-1	QVQLVQSGAEVTKPGASVRVSC EASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQVWGWINPKTGQPNNP RQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDL KALRSDDTATYFCARQRS DYWDFD VVGSGTQVTVS SASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFP AVLQSS GLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTC PPAPELLAGP DVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP LPEEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKG FYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK
35	1.32.	QVQLVQSGAEVTKPGASVRVSC EASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQVWGWINPKTGQPNNP

	1-1	RQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKLALRSDDTAVYFCARQRTDYWDFDVGSGTQVTVS SASTKGPSVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPVAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPCPAPELLAGP DVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPLPEEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK
36	1.33. 1-1	QVQLVQSGAEVKKPGASVRVSCKASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQVWGWINPKTGQPNNP RQFQGRVTLTRHASWDFDTFSFYMDLKLALRSDDTAVYFCARQRSYWDFDVGSGTQVTVS SASTKGPSVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPVAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPCPAPELLAGP DVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPLPEEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK
37	1.34. 1-1	QVQLVQSGAEVKKPGASVRVSCKASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQVWGWINPKTGQPNNP RQFQGRVTLTRHASWDFDTFSFYMDLKLALRSDDTAVYFCARQRTDYWDFDVGSGTQVTVS SASTKGPSVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPVAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPCPAPELLAGP DVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPLPEEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK
38	1.35. 1-1	QVQLVQSGAEVKKPGASVRVSCKASGYNIRDYFMHWWRQAPGQGLQVWGWINPKTGQPNNP RQFQGRVTMTRHASWDFDTFSFYMDLSRLRSDDTAVYFCARQRTDYWDFDVGQGMVTVS SASTKGPSVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPVAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPCPAPELLAGP DVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPLPEEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK
39	1.36. 1-1	QVQLVQSGAEVKKPGASVRVSCKASGYNIRDYFMHWWRQAPGQGLQVWGWINPKTGQPNNP RQFQGRVTMTRHASWDFDTFSAYMDLSRLRSDDTAVYFCARQRTDYWDFDVGQGMVTVS SASTKGPSVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPVAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPCPAPELLAGP DVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPLPEEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK
40	1.37. 51-1	QVQLVQSGAEVKKPGASVRVSCKASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQVWGWINPKTGQPNNP RQFQGRVSLTRHASWDFDTYSFYMDLSRLRSDDTAVYFCARQRSYWDFDVGQGMVTVS SASTKGPSVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPVAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPCPAPELLAGP DVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPLPEEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK
41	A-2	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQVWGWINPKTGQPNNP RQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKLALRSDDTAVYFCARQRSYWDFDVGSGTQVTVS

		SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLAGP DVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPPLPEEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHNHYTQKSLSLSPGK
42	B-1	QVHLSQSGAAVTKPGASVRVSCASGYKISDHFHWWRQAPGQGLQWVGWINPKTGQPNNP RQFQGRVSLTRQASWDFDTYSFYMDLKAVRSDDTAIFYCARQRSDFWDFVWGS GTQVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLAGP DVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPPLPEEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSYHTQKSLSLSPGK
43	A-3	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQWVGWINPKTGQPNNP RQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKALRSDDTAVYFCARQRS DYWDFVWGS GTQVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP DVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSYHTQKSLSLSPGK
44	A-4	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQWVGWINPKTGQPNNP RQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKALRSDDTAVYFCARQRS DYWDFVWGS GTQVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLAGP DVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSYHTQKSLSLSPGK
45	A-5	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQWVGWINPKTGQPNNP RQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKALRSDDTAVYFCARQRS DYWDFVWGS GTQVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP DVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPPLPEEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSYHTQKSLSLSPGK
46	A-6	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQWVGWINPKTGQPNNP RQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKALRSDDTAVYFCARQRS DYWDFVWGS GTQVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST LRVVSILTTLVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSYHTQKSLSLSPGK
47	1.41. 5-1	QVQLVQSGAEVKKPGASVRVSCKASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQWVGWINPKTGQPNNP RQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKALRSDDTAVYFCARQRS DYWDFVWGGTMTVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSS

		GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLAGP DVFLFPPPKKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPPLPEEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSHYHTQKLSLSLSPGK
517	2.2.1 -1	QVHLSQSGAAVTKPGASVRVSCASGYKIRDFIHWWRQAPGQGLQVWGWINPKTGQPNNP RQFQGRVSLTRHASWDFDFTFSFYMDLKAVRSDDTAIFYCARQRSYDWFDFVWGS GTQVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLAGP DVFLFPPPKKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPPLPEEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSHYHTQKLSLSLSPGK
518	2.3.1 -1	QVHLSQSGAAVTKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQVWGWINPKTGQPNNP RQFQGRVSLTRHASWDFDFTFSFYMDLKAVRSDDTAIFYCARQRSYDWFDFVWGS GTQVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLAGP DVFLFPPPKKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPPLPEEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSHYHTQKLSLSLSPGK
519	1.42. 1-1	QVHLLQSGAAVTKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQVWGWINPKTGQPNNP RQFQGRVSLTRHASWDFDFTFSFYMDLKALRSDDTAVYFCARQRSYDWFDFVWGS GTQVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLAGP DVFLFPPPKKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPPLPEEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSHYHTQKLSLSLSPGK
520	1.43. 1-1	QVQLSQSGAAVTKPGASVRVSCASGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQVWGWINPKTGQPNNP RQFQGRVSLTRHASWDFDFTFSFYMDLKALRSDDTAVYFCARQRSYDWFDFVWGS GTQVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLAGP DVFLFPPPKKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPPLPEEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSHYHTQKLSLSLSPGK
521	1.44. 1-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCASGYKIRDYFIHWWRQAPGQGLQVWGWINPKTGQPNNP RQFQGRVSLTRHASWDFDFTFSFYMDLKALRSDDTAVYFCARQRSYDWFDFVWGS GTQVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLAGP DVFLFPPPKKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPPLPEEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSHYHTQKLSLSLSPGK
522	1.45. 1-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCASGYNISDYFIHWWRQAPGQGLQVWGWINPKTGQPNNP RQFQGRVSLTRHASWDFDFTFSFYMDLKALRSDDTAVYFCARQRSYDWFDFVWGS GTQVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLAGP

		DVFLFPPKPKDITLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPPLPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSHYTTQKSLSLSPGK
523	1.46.1-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCAESGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQVWGWINPKTGQPNRP RQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKAALRSDDTAVYFCARQRSYWDFDVGWGTQVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCTPCPAPPELLAGP DVFLFPPKPKDITLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPPLPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSHYTTQKSLSLSPGK
524	1.47.1-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCAESGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQVWGWINPKTGQPNRP RQFQGRVSLTRQASWDFDTFSFYMDLKAALRSDDTAVYFCARQRSYWDFDVGWGTQVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCTPCPAPPELLAGP DVFLFPPKPKDITLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPPLPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSHYTTQKSLSLSPGK
526	1.49.1-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCAESGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQVWGWINPKTGQPNRP RQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKAALRSDDTAVYFCARQRSYWDFDVGWGTQVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCTPCPAPPELLAGP DVFLFPPKPKDITLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPPLPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSHYTTQKSLSLSPGK
527	1.50.1-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCAESGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQVWGWINPKTGQPNRP RQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKAALRSDDTAIYFCARQRSYWDFDVGWGTQVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCTPCPAPPELLAGP DVFLFPPKPKDITLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPPLPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSHYTTQKSLSLSPGK
528	1.51.1-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCAESGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQVWGWINPKTGQPNRP RQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKAALRSDDTAVYFCARQRSDFWDFDVGWGTQVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCTPCPAPPELLAGP DVFLFPPKPKDITLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPPLPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSHYTTQKSLSLSPGK
529	1.52.64-1	QVQLLQSGAAVTKPGASVRVSCAESGYNIRDYFIHWWRQAPGQGLQVWGWINPKTGQPNRP RQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKAALRSDDTAVYFCARQRSYWDFDVGWGTQVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCTPCPAPPELLAGP DVFLFPPKPKDITLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
		YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPPLPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSHYTTQKSLSLSPGK
530	2.4.1-1	QVHLSQSGAAVTKPGASVRVSCAESGYKIRDYFIHWWRQAPGQGLQVWGWINPKTGQPNRP RQFQGRVSLTRHASWDFDTFSFYMDLKAALRSDDTAIYFCARQRSYWDFDVGWGTQVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCTPCPAPPELLAGP DVFLFPPKPKDITLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPPLPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVLHEALHSHYTTQKSLSLSPGK

Последовательности легкой цепи

SEQ ID NO	Название	Последовательность аминокислот легкой цепи
48	C	EIVLTQSPGTLTSLSPGETAII SCRTSQYGS LAWYQQRPGQAPRLVIYSGSTRAAGIPDRFS GSRWGPDYNLTI SNLESGDFGVYQCQYEFFGQGTKVQVDIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLK SGTASVVCLLNMFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
49	A-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYNLTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
50	D-1	SLTQSPGTLTSLSPGETAII SCRTSQYGS LAWYQQRPGQAPRLVIYSGSTRAAGIPDRFSGS RWGPDYNLTI SNLESGDFGVYQCQYEFFGQGTKVQVDIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSG TASVVCLLNMFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSSTLTLSKADYEKHK KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
51	1.1.3-1	EIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYNLTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
52	1.1.4-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYNLTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
53	1.1.5-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQKPKGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYNLTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
54	1.1.6-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDASKLERGVPSRFSGR RWGQEYNLTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
55	1.1.7-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSNLERGVPSRFSGR RWGQEYNLTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
56	1.1.8-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDASNLERGVPSRFSGR RWGQEYNLTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

		YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
57	1.1.9-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLETGVPSRFSGR RWGQEYNLTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
58	1.1.10-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYTLTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
59	1.1.11-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGS RWGQEYTLTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
60	1.1.12-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYNLTISLQPEDIAATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
61	1.1.13-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGS RWGQEYTLTISLQPEDIAATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
62	1.1.14-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGS GSGTDFTFITINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
63	1.1.15-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYNLTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
64	1.1.16-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYNLTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
65	1.1.17-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYNLTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
66	1.1.18-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYNLTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
67	1.1.19-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYNLTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
68	1.1.20-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYNLTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTNLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
69	1.1.21-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYNLTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTNLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
70	1.1.22-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYNLTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTNLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

		YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
71	1.1.23-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYNLTINNLPEDIATYFCQVYEFVTPGTNLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
72	1.1.24-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYNLTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTNRVLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
73	1.1.25-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYNLTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTNVDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
74	1.1.26-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYNLTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTNRDLIKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
75	1.1.27-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYNLTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTNRVDIKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
76	1.1.28-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYNLTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTNVDIKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
77	1.1.29-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYNLTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTNVDIKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
78	1.1.30-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYNLTINNLPEDIATYFCQVYEFVTPGTNVDIKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
79	1.1.31-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYTLTISSLPEDIATYFCQVYEFVTPGTNLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
80	1.1.32-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYTLTISSLPEDIATYFCQVYEFVTPGTNRDLIKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
81	1.1.33-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSNLERGVPSRFSGR RWGQEYTLTISSLPEDIATYFCQVYEFVVPGTNLDIKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
82	1.1.34-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSNLERGVPSRFSGR RWGQEYTLTISSLPEDIATYFCQVYEFVTPGTNRDLIKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
83	1.1.35-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVRTITTCQANGYLNWYQKPGKAPKLLIYDGSNLETGVPSRFSGS RWGQEYTLTISSLPEDIATYFCQVYEFVPGTNRDLIKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
84	1.1.36-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVRTITTCQANGYLNWYQKPGKAPKLLIYDGSNLETGVPSRFSGS RWGQEYTLTISSLPEDIATYFCQVYEFVTPGTNLDIKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

		YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
85	1.1.37-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYTFITINNLQPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEHKHV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
86	1.1.38-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYSLTINNLQPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEHKHV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
87	1.1.39-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYSFTINNLQPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEHKHV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
88	1.1.40-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYALTINNLQPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEHKHV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
89	1.1.41-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYAFITINNLQPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEHKHV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
90	1.1.42-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYHITINNLQPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEHKHV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
91	1.1.43-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYHFTINNLQPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEHKHV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
92	1.1.44-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYQITINNLQPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEHKHV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
93	1.1.45-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYQFTINNLQPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEHKHV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
94	1.1.46-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYNLKINNLQPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEHKHV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
95	1.1.47-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYNFKINNLQPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEHKHV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
96	1.1.48-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYNLAINNLQPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEHKHV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
97	1.1.49-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYNFAINNLQPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEHKHV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
98	1.37.51-1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLETGVPSRFSGR RWGQEYTLTINNLQPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEHKHV

		YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
99	1.8.52-1	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCQANGYLNWYQQKPGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYTLTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
100	1.1.54-1	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYTLTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
101	B-1	DIQMTQSPSSLSARVGDVTITCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPARFSGR RWGQEYNLTINNLPEDVATYFCQVYEFIVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
102	2.1.2-1	DIQMTQSPSSLSARVGDVTITCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPARFSGR RWGQEYHLTINNLPEDVATYFCQVYEFIVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
103	1.1.64-1	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYNLTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
104	1.1.67-1	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYNLTINNLPEDIATYFCQVYEFFGPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
105	1.1.72-1	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYHLTINNLPEDIATYFCQVYEFFGPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
106	1.1.75-1	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYHLTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
107	1.1.78-1	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYHLTINNLPEDIATYFCQVYEFFGPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
108	1.41.81-1	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCQANGYLNWYQQKPGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYNLTINNLPEDIATYFCQVYEFFGPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
109	1.1.82-1	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGS RWGQEYNLTISLQPEDATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
110	1.41.83-1	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCQANGYLNWYQQKPGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGS RWGQEYNLTISLQPEDATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
111	1.1.84-1	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGS RWGQEYNLTISLQPEDATYFCQVYEFFGPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
112	1.41.85-1	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCQANGYLNWYQQKPGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGS RWGQEYNLTISLQPEDATYFCQVYEFFGPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

		YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
113	1.41.86 -1	DIQMTQSPSSLSASVGD TATITCQANGYLNWYQQKPGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYNLTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLKADY EKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
114	1.41.87 -1	DIQMTQSPSSLSASVGD TATITCQANGYLNWYQQKPGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYNLTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLKADY EKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
115	1.1.88- 1	DIQMTQSPSSLSASVGD RATITCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGS RWGQEYNLTISLQPED IATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLKADY EKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
116	1.41.89 -1	DIQMTQSPSSLSASVGD RATITCQANGYLNWYQQKPGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGS RWGQEYNLTISLQPED IATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLKADY EKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
117	1.1.90- 1	DIQMTQSPSSLSASVGD RATITCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGS RWGQEYNLTISLQPED IATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLKADY EKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
118	1.41.91 -1	DIQMTQSPSSLSASVGD RATITCQANGYLNWYQQKPGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGS RWGQEYNLTISLQPED IATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLKADY EKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
119	1.41.92 -1	DIQMTQSPSSLSASVGD TVTITCQANGYLNWYQQKPGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYHLTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLKADY EKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
120	1.41.93 -1	DIQMTQSPSSLSASVGD TVTITCQANGYLNWYQQKPGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYHLTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLKADY EKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
121	1.1.94- 1	DIQMTQSPSSLSASVGD RVTTITCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGS RWGQEYHLTISLQPED IATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLKADY EKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
122	1.41.95 -1	DIQMTQSPSSLSASVGD RVTTITCQANGYLNWYQQKPGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGS RWGQEYHLTISLQPED IATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLKADY EKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
123	1.1.96- 1	DIQMTQSPSSLSASVGD RVTTITCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGS RWGQEYHLTISLQPED IATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLKADY EKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
124	1.41.97 -1	DIQMTQSPSSLSASVGD RVTTITCQANGYLNWYQQKPGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGS RWGQEYHLTISLQPED IATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLKADY EKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
125	1.41.98 -1	DIQMTQSPSSLSASVGD TATITCQANGYLNWYQQKPGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYHLTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLKADY EKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
126	1.41.99 -1	DIQMTQSPSSLSASVGD TATITCQANGYLNWYQQKPGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYHLTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLKADY EKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

		YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
127	1.1.100 -1	DIQMTQSPSSLSASVGDRAITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGS RWGQEYHLTISSLQPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
128	1.41.10 1-1	DIQMTQSPSSLSASVGDRAITTCQANGYLNWYQKPGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGS RWGQEYHLTISSLQPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
129	1.1.102 -1	DIQMTQSPSSLSASVGDRAITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGS RWGQEYHLTISSLQPEDIATYFCQVYEFFGPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
130	1.41.10 3-1	DIQMTQSPSSLSASVGDRAITTCQANGYLNWYQKPGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGS RWGQEYHLTISSLQPEDIATYFCQVYEFFGPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
131	1.1.110 -1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGT RRGQDYIFSINNLQPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
132	1.1.111 -1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RFGQDYILTINNLQPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
133	1.1.112 -1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGS RFGQKQYLSINNLQPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
134	1.1.113 -1	DIQMTQSPSSLSASVGDATITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RFGQDYILTINNLQPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
135	2.1.3-1	DIQMTQSPSSLSARVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPARFSGR RFGQDYILTINNLQPEDVATYFCQVYEFIVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
136	2.1.4-1	DIQMTQSPSSLSARVGDATITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPARFSGR RFGQDYILTINNLQPEDVATYFCQVYEFIVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
531	3.1.8-1	DIQMTQSPSSLSARVGDATITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPARFSGR RWGQEYNLTINNLQPEDVATYFCQVYEFIVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
532	3.1.9-1	DIQMTQSPSSLSARVGDATITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPARFSGR RWGQEYNLTINNLQPEDVATYFCQVYEFFGPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
533	1.1.115 -1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYILTINNLQPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
534	3.1.10- 1	DIQMTQSPSSLSARVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPARFSGR RWGQEYILTINNLQPEDVATYFCQVYEFIVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

		YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
535	1.1.116 -1	DIQMTQSPSSLSASVGDATITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYILTINNLPEDIATYFCQVYEFVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
536	3.1.11- 1	DIQMTQSPSSLSARVGDATITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPARFSGR RWGQEYILTINNLPEDVATYFCQVYEFIVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
537	1.1.117 -1	DIQMTQSPSSLSASVGDATITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYILTINNLPEDIATYFCQVYEFFGPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
538	3.1.12- 1	DIQMTQSPSSLSARVGDATITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPARFSGR RWGQEYILTINNLPEDVATYFCQVYEFFGPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
539	1.1.118 -1	DIQMTQSPSSLSASVGDATITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGS RWGQEYILTISLQPEDVATYFCQVYEFFGPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
540	3.1.13- 1	DIQMTQSPSSLSARVGDATITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPARFSGS RWGQEYILTISLQPEDVATYFCQVYEFFGPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
541	3.1.14- 1	DIQMTQSPSSLSARVGDVTTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPARFSGR RWGQEYTLTINNLPEDVATYFCQVYEFIVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
542	3.1.5-1	DIQMTQSPSSLSARVGDATITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPARFSGR RWGQEYTLTINNLPEDVATYFCQVYEFIVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
543	3.1.15- 1	DIQMTQSPSSLSARVGDATITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPARFSGR RWGQEYTLTINNLPEDVATYFCQVYEFFGPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
544	1.1.119 -1	DIQMTQSPSSLSASVGDATITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGS RWGQEYTLTISLQPEDVATYFCQVYEFFGPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
545	3.1.7-1	DIQMTQSPSSLSARVGDATITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPARFSGS RWGQEYTLTISLQPEDVATYFCQVYEFFGPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
546	3.1.16- 1	DIQMTQSPSSLSARVGDATITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPARFSGR RWGQEYHLTINNLPEDVATYFCQVYEFIVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
547	3.1.17- 1	DIQMTQSPSSLSARVGDATITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPARFSGR RWGQEYHLTINNLPEDVATYFCQVYEFFGPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
548	3.1.18- 1	DIQMTQSPSSLSARVGDATITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPARFSGS RWGQEYHLTISLQPEDVATYFCQVYEFFGPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

		YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
549	1.1.120 -1	DIQMTQSPSSLSASVGDATITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQDYILTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
550	3.1.19- 1	DIQMTQSPSSLSARVGDATITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPARFSGR RWGQDYILTINNLPEDVATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
551	1.1.121 -1	DIQMTQSPSSLSASVGDATITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RFGQEYILTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
552	3.1.20- 1	DIQMTQSPSSLSARVGDATITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPARFSGR RFGQEYILTINNLPEDVATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
553	1.1.122 -1	DIQMTQSPSSLSASVGDATITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYVLTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
554	1.1.123 -1	DIQMTQSPSSLSASVGDATITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYLLTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
555	1.1.124 -1	DIQMTQSPSSLSASVGDATITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYMLTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
556	1.1.125 -1	DIQMTQSPSSLSASVGDATITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYALTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
557	1.1.126 -1	DIQMTQSPSSLSASVGDATITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYSLTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
558	1.1.127 -1	DIQMTQSPSSLSASVGDATITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYFLTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
559	1.1.128 -1	DIQMTQSPSSLSASVGDATITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGT RWGQEYILTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
560	1.1.129 -1	DIQMTQSPSSLSASVGDATITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RRGQEYILTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
561	1.1.130 -1	DIQMTQSPSSLSASVGDATITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RYGQEYILTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
562	1.1.131 -1	DIQMTQSPSSLSASVGDATITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGT RWGQDYILTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

		YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
563	1.1.132 -1	DIQMTQSPSSLSARVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYNLTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
564	1.1.133 -1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPARFSGR RWGQEYNLTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
565	1.1.134 -1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYNLTINNLPEDVATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
566	1.1.135 -1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYNLTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
568	1.1.138 -1	DIQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQATGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYNLTINNLPEDIATYFCQVYEFVVPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
567	1.1.104 -1	DIQMTQSPSSLSASVGDVATITTCQANGYLNWYQRRGKAPKLLIYDGSKLERGVPSRFSGR RWGQEYTLTINNLPEDIATYFCQVYEFFGPGTRLDLKRVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

В некоторых вариантах реализации антитела против gp120 или связывающие gp120 фрагменты, описанные в данном изобретении, содержат тяжелую цепь (HC), которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности аминокислот, выбранной из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 1 - 47 и 517 - 530, и легкую цепь (LC), которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности аминокислот, выбранной из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 48 - 136 и 531 - 567. В некоторых вариантах реализации антитела против gp120 или связывающие gp120 фрагменты, описанные в данном изобретении, содержат HC, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 1 - 47 и 517 - 530, и LC, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 48 - 136 и 531 - 567. В некоторых вариантах реализации антитела против gp120 или связывающие gp120 фрагменты, описанные в данном изобретении, содержат тяжелую цепь (HC), которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, например, на 100%, идентична последовательности аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 529, и легкую цепь (LC), которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, например, на 100%, идентична последовательности аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 103. В некоторых вариантах реализации антитела против gp120 или связывающие gp120 фрагменты, описанные в данном изобретении, содержат HC с последовательностью аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 529, и LC с последовательностью аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 103.

В объем настоящего изобретения входят антитела против gp120 или связывающие gp120 их фрагменты, которые содержат тяжелую цепь любого из антител, описанных в данном изобретении. В некоторых вариантах реализации антитело против gp120 или связывающий gp120 его фрагмент содержит тяжелую цепь любого одного из антитела А-1, антитела 1.1.64-1, антитела 1.1.90-1, антитела 2.2.1-1, антитела 2.3.1-1, антитела 3.1.5-1, антитела 2.2.5-1, антитела 2.3.5-1, антитела 1.1.119-1, антитела 1.1.104-1, антитела 1.52.64-1, антитела 2.4.1-1, антитела 1.1.54-1 или антитела В-1. В некоторых вариантах реализации антитело против gp120 или связывающий gp120 его фрагмент содержит тяжелую цепь антитела 1.52.64-1.

В объем настоящего изобретения входят антитела против gp120 или связывающие gp120 их фрагменты, которые содержат легкую цепь любого из антител, описанных в данном изобретении. В некоторых вариантах реализации антитело против gp120 или связывающий gp120 его фрагмент содержит легкую цепь любого одного из антитела А-1, антитела 1.1.64-1, антитела 1.1.90-1, антитела 2.2.1-1, антитела 2.3.1-1, антитела 3.1.5-1, антитела 2.2.5-1, антитела 2.3.5-1, антитела 1.1.119-1, антитела 1.1.104-1, антитела 1.52.64-1, антитела 2.4.1-1, антитела 1.1.54-1 или антитела В-1. В некоторых вариантах реализации антитело против gp120 или связывающий gp120 его фрагмент содержит легкую цепь антитела 1.52.64-1.

Также в объем настоящего изобретения входят антитела против gp120 или связывающие gp120 их фрагменты, которые содержат тяжелую и легкую цепь любого из антител, описанных в данном изобретении. В некоторых вариантах реализации антитело против gp120 или связывающий gp120 его фрагмент содержит тяжелую и легкую цепи любого одного из антитела А-1, антитела 1.1.64-1, антитела 1.1.90-1, антитела 2.2.1-1, антитела 2.3.1-1, антитела 3.1.5-1, антитела 2.2.5-1, антитела 2.3.5-1, антитела 1.1.119-1, антитела 1.1.104-1, антитела 1.52.64-1, антитела 2.4.1-1, антитела 1.1.54-1 или антитела В-1. В некоторых вариантах реализации антитело против gp120 или связывающий gp120 его фрагмент содержит тяжелую и легкую цепи антитела 1.52.64-1.

В объем настоящего изобретения входят антитела против gp120 или связывающие gp120 их фрагменты, которые содержат любую из замен в VH и/или VL аминокислот, представленных выше.

В некоторых вариантах реализации вариabельная область тяжелой цепи любого из антител против gp120 согласно настоящему изобретению связана с константной областью тяжелой цепи, содержащей домен CH1 и шарнирную область. В некоторых вариантах реализации вариabельная область тяжелой цепи любого из антител против gp120 согласно настоящему изобретению связана с константной областью тяжелой цепи, содержащей домен CH3. В некоторых вариантах реализации вариabельная область тяжелой цепи любого из антител против gp120 согласно настоящему изобретению связана с константной областью тяжелой цепи, содержащей домен CH1, шарнирную область, и домен CH2 из IgG4 и домен CH3 (например, из IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4). В некоторых случаях вариabельная область тяжелой цепи любого из антител против gp120 согласно настоящему изобретению связана с константной областью тяжелой цепи, содержащей домен CH1, шарнирную область, домен CH2 и домен CH3 из IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. В некоторых вариантах реализации вариabельная область тяжелой цепи любого из антител против gp120 согласно настоящему изобретению связана с константной областью тяжелой цепи, содержащей домен CH1, домен CH2 и домен CH3 из IgG1 (например, IgG1 человека, например, аллотипа IgG1m3) и шарнирную область IgG3 (например, "открытую" шарнирную область IgG3, обозначенную "IgG3 C-" в WO 2017/096221 (см., например, фиг. 2А данной публикации РСТ)). Ожидают, что у данной шарнирной области IgG3 выявят улучшенную гибкость плеча Fab и способность простирается на расстояние свыше 200Å, которого достаточно для взаимодействий внутри тримера. В некоторых вариантах реализации такое химерное антитело содержит одну или более дополнительных мутаций в константной области тяжелой цепи, которые повышают стабильность химерного антитела. В некоторых вариантах реализации константная область тяжелой цепи содержит замены, которые модифицируют свойства антитела (например, повышение эффекторной функции, улучшение фармакокинетики, повышение или снижение связывания с Fc-рецептором, повышение или снижение гликозилирования антитела, повышение или снижение связывания с C1q, увеличение времени полужизни).

В некоторых вариантах реализации антитело против gp120 представляет собой антитело IgG (например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4). В одном варианте реализации антитело представляет собой IgG1 человека. В другом варианте реализации антитело представляет собой IgG2 человека. В некоторых вариантах реализации антитело содержит химерную константную область тяжелой цепи (например, содержащую области CH1, шарнир и CH2 IgG4 человека и область CH3 IgG1 человека). В некоторых вариантах реализации антитело содержит VH, содержащую области CDR 1-3 VH, и VL, содержащую области CDR 1-3 VL, причем области CDR 1-3 VH и области CDR 1-3 VL имеют последовательности, представленные в: SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно, и антитело представляет собой IgG1 человека. В некоторых вариантах реализации антитела против gp120 или связывающие gp120 фрагменты содержат VH, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, например, на 100%, идентична последовательности аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 477, и VL, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, например, на 100%, идентична последовательности аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 278, и антитело представляет собой IgG1 человека.

Антитела IgG существуют в различных аллотипах и изоаллотипах. В некоторых вариантах реализации антитела согласно настоящему изобретению содержат тяжелую цепь IgG1 аллотипа G1m1; nG1m2; G1m3; G1m17.1; G1m17.1.2; G1m3.1 или G1m17. Каждый из данных аллотипов или изоаллотипов характеризуется следующими аминокислотными остатками в указанных положениях в константной области тяжелой цепи (Fc) IgG1 (нумерация EU): G1m1: D356, L358; nG1m1: E356, M358; G1m3: R214, E356, M358, A431; G1m17.1: K214, D356, L358, A431; G1m17.1.2: K214, D356, L358, G431; G1m3.1: R214, D356, L358, A431; и G1m17: K214, E356, M358, A431. В некоторых вариантах реализации антитело содержит VH, содержащую области CDR 1-3 VH, и VL, содержащую области CDR 1-3 VL, причем области CDR 1-3 VH и области CDR 1-3 VL имеют последовательности, представленные в: SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно, и антитело содержит тяжелую цепь IgG1 аллотипа G1m1; nG1m2; G1m3; G1m17.1; G1m17.1.2; G1m3.1 или G1m17. В некоторых вариантах реализации антитела против gp120 или связываю-

шие gp120 фрагменты содержат VH, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, например, на 100%, идентична последовательности аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 477, и VL, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, например, на 100%, идентична последовательности аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 278, и антитело содержит тяжелую цепь IgG1 аллотипа G1m1; nG1m2; G1m3; G1m17.1; G1m17.1.2; G1m3.1 или G1m17.

В одном варианте реализации любая из VH антитела против gp120, описанного в данном изобретении, непосредственно связана или связана посредством промежуточной последовательности аминокислот (например, линкера G-S) с последовательностью IgG1m3 дикого типа, представленной ниже (типичные определяющие аллотип остатки обозначены жирным шрифтом).

```
ASTKGPVSFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL
MISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTKSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNNHYTQKSLSLSPGK (SEQ
ID NO: 347).
```

В другом варианте реализации любая из VH антитела против gp120, описанного в данном изобретении, непосредственно связана или связана посредством промежуточной последовательности аминокислот (например, линкера G-S) с последовательностью IgG1m17 дикого типа, представленной ниже (типичные определяющие аллотип остатки обозначены жирным шрифтом).

IgG1m17:

```
ASTKGPVSFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL
MISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTKSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNNHYTQKSLSLSPGK (SEQ
ID NO: 348).
```

В некоторых вариантах реализации VH антитела против gp120, описанного в данном изобретении, непосредственно связана или связана посредством промежуточной последовательности аминокислот (например, линкера G-S), с последовательностью IgG1m17 с от 1 до 10 (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10) заменами аминокислот в SEQ ID NO: 348 (например, заменами, сделанными для улучшения эффективной функции и/или увеличения времени полужизни). Типичные замены аминокислот в Fc-области (например, IgG1, такого как IgG1m17) включают S239D, I332E, G236A, A330L, M428L, N434S; S239D, I332E, G236A, A330L; S239D, I332E M428L, N434S; S239D, I332E, A330L, M428L, N434S; F243L, R292P, Y300L, V305I, P396L, M428L, N434S; и S239D, I332E, G236A, A330L.

В некоторых вариантах реализации антитело против gp120 представляет собой антитело IgG1 человека/каппа человека. В некоторых вариантах реализации антитела согласно настоящему изобретению содержат легкую цепь каппа аллотипа, выбранного из Km1; Km1.2 или Km3. Для каждого из данных аллотипов характерны следующие аминокислотные остатки в указанных положениях в легкой цепи (нумерация EU): Km1: V153, L191; Km1.2: A153, L191; и Km3: A153, V191. В некоторых вариантах реализации антитело содержит VH, содержащую области CDR 1-3 VH, и VL, содержащую области CDR 1-3 VL, причем области CDR 1-3 VH и области CDR 1-3 VL имеют последовательности, представленные в: SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно, и содержит легкую цепь каппа аллотипа, выбранного из Km1; Km1.2 или Km3. В некоторых вариантах реализации антитело содержит VH, содержащую области CDR 1-3 VH, и VL, содержащую области CDR 1-3 VL, причем области CDR 1-3 VH и области CDR 1-3 VL имеют последовательности, представленные в: SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно, и содержит легкую цепь каппа аллотипа Km3. В некоторых вариантах реализации антитело содержит VH, содержащую области CDR 1-3 VH, и VL, содержащую области CDR 1-3 VL, причем области CDR 1-3 VH и области CDR 1-3 VL имеют последовательности, представленные в: SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно, и представляет собой антитело IgG1 человека/каппа человека, такое как IgG1 человека/Km3. В некоторых вариантах реализации антитела против gp120 или связывающие gp120 фрагменты содержат VH, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%,

по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, например, на 100%, идентична последовательности аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 477, и VL, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, например, на 100%, идентична последовательности аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 278, и представляет собой антитело IgG1 человека/каппа человека, такое как IgG1 человека/Km3.

В некоторых вариантах реализации антитело против gp120 согласно настоящему изобретению содержит легкую цепь каппа человека, содержащую одну из следующих последовательностей аминокислот, в которых типичные определяющие аллотип остатки обозначены жирным шрифтом:

Km1:

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN**VL**QSGNSQESVTEQDSKDSSTYS

LSSTLTLSKADYEKHK**LY**ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 349);

Km1,2:

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN**AL**QSGNSQESVTEQDSKDSSTYS

LSSTLTLSKADYEKHK**LY**ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 350); or

Km3:

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN**AL**QSGNSQESVTEQDSKDSSTYS

LSSTLTLSKADYEKHK**VY**ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 351).

В одном варианте реализации антитело против gp120 согласно настоящему изобретению содержит легкую цепь каппа человека, Km3. В конкретном варианте реализации VL антитела против gp120, описанного в данном изобретении, непосредственно связана или связана посредством промежуточной последовательности аминокислот (например, линкера G-S) с последовательностью Km3 человека дикого типа (SEQ ID NO: 351). В некоторых вариантах реализации VL антитела против gp120, описанного в данном изобретении, непосредственно связана или связана посредством промежуточной последовательности аминокислот (например, линкера G-S) с мутантной последовательностью Km3 человека, содержащей от 1 до 5 (т.е. 1, 2, 3, 4, 5) замен аминокислот в SEQ ID NO: 351.

В некоторых вариантах реализации антитело против gp120 представляет собой антитело IgG1 человека/лямбда человека. У каждого отдельного человека есть от семи до одиннадцати различных генов легкой цепи лямбда, которые кодируют легкие цепи, выбранные из лямбда 1, лямбда 2, лямбда 3, лямбда 4, лямбда 5, лямбда 6 и лямбда 7. В некоторых вариантах реализации антитела согласно настоящему изобретению содержат легкую цепь лямбда, выбранную из лямбда 1, лямбда 2, лямбда 3, лямбда 4, лямбда 5, лямбда 6 и лямбда 7. В некоторых вариантах реализации антитело, описанное в данном изобретении, содержит легкую цепь лямбда, содержащую одну из следующих последовательностей аминокислот, в которых типичные определяющие лямбда остатки обозначены жирным шрифтом:

лямбда 1:

GQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNKQYA
ASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO: 352);

лямбда 2:

GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNKQYA
ASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO: 353);

лямбда 3:

GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPAKAGVETTTTPSKQSNKQYA
NNKYAASSYLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO: 354);

или лямбда 7:

GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLVSDFYPGAVTVAWKADGSPVKVGVETTKPSKQSNKQYA
NNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCRVTHEGSTVEKTVAPAECS (SEQ ID NO: 355).

В одном варианте реализации антитело против gp120 представляет собой антитело IgG1m17 человека/Km3 человека. Константные области (легкой и/или тяжелой цепи) могут содержать от 1 до 10 (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10) замен аминокислот (например, замены, сделанные для улучшения эффекторной функции и/или увеличения времени полужизни). В некоторых вариантах реализации антитела афукозилированы. В некоторых вариантах реализации антитела содержат одну или более меток. В некоторых вариантах реализации одна или более меток включают авидиновую метку. В некоторых вариантах реализации антитело содержит VH, содержащую области CDR 1-3 VH, и VL, содержащую области CDR 1-3 VL, причем области CDR 1-3 VH и области CDR 1-3 VL имеют последовательности, представленные в: SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно, и представляет собой антитело IgG1m17 человека/Km3 человека. В некоторых вариантах реализации антитело содержит VH, содержащую области CDR 1-3 VH, и VL, содержащую области CDR 1-3 VL, причем области CDR 1-3 VH и области CDR 1-3 VL имеют последовательности, представленные в: SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно, и представляет собой антитело IgG1m17 человека/Km3 человека, в котором константная область тяжелой цепи содержит от 1 до 10 замен аминокислот. В некоторых вариантах реализации антитело содержит VH, содержащую области CDR 1-3 VH, и VL, содержащую области CDR 1-3 VL, причем области CDR 1-3 VH и области CDR 1-3 VL имеют последовательности, представленные в: SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно, и представляет собой антитело IgG1m17 человека/Km3 человека, в котором константная область тяжелой цепи содержит следующие замены аминокислот относительно SEQ ID NO: 348: S239D, I332E, G236A, A330L, M428L, N434S. В некоторых вариантах реализации антитела против gp120 или связывающие gp120 фрагменты содержат VH, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, например, на 100%, идентична последовательности аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 477, и VL, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, например, на 100%, идентична последовательности аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 278, и представляет собой антитело IgG1 человека/каппа человека, такое как IgG1 человека/Km3, в котором константная область тяжелой цепи содержит следующие замены аминокислот относительно SEQ ID NO: 348: S239D, I332E, G236A, A330L, M428L, N434S. В некоторых вариантах реализации данные замены улучшают эффекторную функцию. В некоторых вариантах реализации данные замены увеличивают время полужизни. В некоторых вариантах реализации данные замены улучшают эффекторную функцию и улучшают время полужизни.

В некоторых вариантах реализации антитело, которое связывается с gp120, содержит последовательность аминокислот VH антитела против gp120, описанного в данном изобретении, и VL антитела против gp120, описанного в данном изобретении. Примеры последовательностей аминокислот VH и VL антитела против gp120 включают последовательности, представленные в SEQ ID NO: 182 и 223, соответственно; SEQ ID NO: 182 и 275, соответственно; SEQ ID NO: 182 и 278, соответственно; SEQ ID NO: 182 и 292, соответственно; SEQ ID NO: 220 и 276, соответственно; SEQ ID NO: 465 и 276, соответственно;

SEQ ID NO: 466 и 276, соответственно; SEQ ID NO: 182 и 491, соответственно; SEQ ID NO: 465 и 491, соответственно; SEQ ID NO: 466 и 491, соответственно; SEQ ID NO: 182 и 493, соответственно; SEQ ID NO: 182 и 516, соответственно; SEQ ID NO: 182 и 276, соответственно; SEQ ID NO: 182 и 569, соответственно; SEQ ID NO: 477 и 223, соответственно; SEQ ID NO: 477 и 278, соответственно; SEQ ID NO: 477 и 292, соответственно; и последовательности SEQ ID NO: 478 и 276, соответственно. В некоторых вариантах реализации антитело содержит VH и VL, содержащие последовательности аминокислот, представленные в: SEQ ID NO: 477 и 278, соответственно. В некоторых вариантах реализации антитела представляет собой антитела IgG1m17 человека/Km3 человека. В некоторых вариантах реализации данные антитела содержат последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO: 348 и/или 351. В некоторых случаях данные антитела содержат до 10 (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10) замен аминокислот (например, замен, введенных для улучшения эффекторной функции и/или увеличения времени полужизни) в SEQ ID NO: 348 и/или 351, соответственно. В некоторых вариантах реализации антитело содержит VH, содержащую области CDR 1-3 VH, и VL, содержащую области CDR 1-3 VL, причем области CDR 1-3 VH и области CDR 1-3 VL имеют последовательности, представленные в: SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно, и содержит последовательность аминокислот, представленную в последовательностях SEQ ID NO: 348 и 351 с от 1 до 10 замен аминокислот в последовательности SEQ ID NO: 348 и/или 351. В некоторых вариантах реализации антитело содержит VH, содержащую области CDR 1-3 VH, и VL, содержащую области CDR 1-3 VL, причем области CDR 1-3 VH и области CDR 1-3 VL имеют последовательности, представленные в: SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно, и содержит последовательность аминокислот, представленную в последовательностях SEQ ID NO: 348 и 351 с от 1 до 10 замен в последовательности аминокислот внутри SEQ ID NO: 348. В некоторых вариантах реализации антитело содержит VH, содержащую области CDR 1-3 VH, и VL, содержащую области CDR 1-3 VL, причем области CDR 1-3 VH и области CDR 1-3 VL имеют последовательности, представленные в: SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно, и содержит последовательность аминокислот, представленную в последовательностях SEQ ID NO: 348 и 351, со следующими заменами аминокислот в SEQ ID NO: 348: S239D, I332E, G236A, A330L, M428L, N434S. В некоторых вариантах реализации антитело содержит VH, содержащую области CDR 1-3 VH, и VL, содержащую области CDR 1-3 VL, причем области CDR 1-3 VH и области CDR 1-3 VL имеют последовательности, представленные в: SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно, и представляет собой антитело человека IgGm17/Km3. В некоторых вариантах реализации антитело содержит VH, содержащую области CDR 1-3 VH, и VL, содержащую области CDR 1-3 VL, причем области CDR 1-3 VH и области CDR 1-3 VL имеют последовательности, представленные в: SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно, и антитело содержит легкую цепь каппа человека, содержащую последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO: 351, и тяжелую цепь IgG1 аллотипа с последовательностью аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 348. В некоторых вариантах реализации антитело содержит VH и VL, содержащие последовательности аминокислот, представленные в: SEQ ID NO: 477 и 278, соответственно, и содержит последовательность аминокислот, представленную в последовательностях SEQ ID NO: 348 и 351 с от 1 до 10 замен в последовательности аминокислот SEQ ID NO: 348 и/или 351. В некоторых вариантах реализации антитело содержит VH и VL, содержащие последовательности аминокислот, представленные в: SEQ ID NO: 477 и 278, соответственно, и содержит последовательность аминокислот, представленную в последовательностях SEQ ID NO: 348 и 351 с от 1 до 10 замен аминокислот в последовательности SEQ ID NO: 348. В некоторых вариантах реализации антитело содержит VH и VL, содержащие последовательности аминокислот, представленные в: SEQ ID NO: 477 и 278, соответственно, и содержит последовательность аминокислот, представленную в последовательностях SEQ ID NO: 348 и 351, со следующими заменами аминокислот в SEQ ID NO: 348: S239D, I332E, G236A, A330L, M428L, N434S. В некоторых вариантах реализации антитело содержит VH и VL, содержащие последовательности аминокислот, представленные в: SEQ ID NO: 477 и 278, соответственно, и представляет собой антитело человека IgGm17/Km3. В некоторых вариантах реализации антитело содержит VH и VL, содержащие последовательности аминокислот, представленные в: SEQ ID NO: 477 и 278, соответственно, и антитело содержит легкую цепь каппа человека, содержащую последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO: 351, и тяжелую цепь IgG1 аллотипа с последовательностью аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 348.

В некоторых вариантах реализации антитело, которое связывается с gp120, содержит последовательность аминокислот тяжелой цепи антитела против gp120, описанного в данном изобретении, и легкой цепи антитела против gp120, описанного в данном изобретении. Примеры последовательностей тяжелой цепи и легкой цепи антитела против gp120 включают последовательности, представленные в SEQ ID NO: 2 и 49, соответственно; SEQ ID NO: 2 и 100, соответственно; SEQ ID NO: 42 и 101, соответственно; SEQ ID NO: 2 и 103, соответственно; SEQ ID NO: 517 и 101, соответственно; SEQ ID NO: 518 и 101, соответственно; SEQ ID NO: 2 и 542, соответственно; SEQ ID NO: 517 и 542, соответственно; SEQ ID NO: 2 и 117, соответственно; SEQ ID NO: 518 и 542, соответственно; SEQ ID NO: 2 и 544, соответственно; SEQ ID NO: 2 и 567, соответственно; SEQ ID NO: 2 и 568, соответственно; SEQ ID NO: 529 и 49, соответственно; SEQ ID NO: 529 и 103, соответственно; SEQ ID NO: 529 и 117, соответственно; и последо-

вательности SEQ ID NO: 530 и 101, соответственно. В некоторых вариантах реализации антитела, которое связывается с gp120, содержит тяжелую цепь с последовательностью аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 529, и легкую цепь с последовательностью аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 103.

Антитела или антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, можно получить, например, путем получения и экспрессии нуклеиновых кислот, которые кодируют последовательности аминокислот антитела.

Мультиспецифические антитела.

В другом аспекте настоящего изобретения предложены мультиспецифические антитела. Мультиспецифические антитела представляют собой антитела, которые связывают два или более различных эпитопов (например, биспецифические антитела, трехвалентные антитела, четырехвалентные антитела). Антитела против gp120, описанные выше, могут составлять часть мультиспецифических антител. У мультиспецифических антител могут быть сайты связывания с по меньшей мере одним другим антигеном или одним другим эпитопом, который не связывается сайтом связывания антитела против gp120 мультиспецифического антитела. Содержащее антитело против gp120 мультиспецифическое антитело может содержать домен димеризации и три или более (например, три, четыре, пять, шесть) сайтов связывания антигена. Типичный домен димеризации содержит Fc-область (или состоит из нее). Содержащее антитело против gp120 мультиспецифическое антитело может содержать (или состоять из) от трех до приблизительно восьми (т.е. три, четыре, пять, шесть, семь, восемь) сайтов связывания антигена. Мультиспецифическое антитело необязательно содержит по меньшей мере одну полипептидную цепь (например, две полипептидные цепи, три полипептидные цепи), причем указанная(-ые) полипептидная(-ые) цепь(-и) содержит(-ат) три или более переменных доменов. Например, полипептидная(-ые) цепь(-и) может(-гут) содержать, например, VD1-(X1)_n-VD2-(X2)_n-Fc, или VD1-(X1)_n-VD2-(X2)_n-VD3-(X3)_n-Fc, где VD1 представляет собой первый переменный домен, VD2 представляет собой второй переменный домен, VD3 представляет собой третий переменный домен, Fc представляет собой полипептидную цепь Fc-области, X1, X2 и X3 представляет собой аминокислотный или пептидный спейсер, и n представляет собой 0 или 1. В некоторых случаях каждый из переменных доменов может представлять собой scFv. Мультиспецифические антитела можно легко получить путем рекомбинантной экспрессии нуклеиновой кислоты, кодирующей полипептидные цепи антитела.

Биспецифические антитела.

В одном аспекте мультиспецифическое антитело представляет собой биспецифическое антитело. Биспецифические антитела представляют собой антитела, которые обладают специфичностями связывания с двумя различными эпитопами. Биспецифическое антитело содержит два "плеча". Одно плечо биспецифического антитела связывает один эпитоп, а другое плечо - другой эпитоп. В одном варианте реализации одно плечо биспецифического антитела связывает первый антиген, а другое плечо биспецифического антитела связывает второй антиген. В другом варианте реализации два плеча биспецифического антитела связываются с двумя различными эпитопами одного и того же антигена (например, gp120).

В одном аспекте настоящего изобретения предложено биспецифическое антитело, которое специфично связывается с gp120 и специфично связывается со вторым антигеном. В некоторых вариантах реализации второй антиген представляет собой триггерную молекулу на лейкоците, чтобы сфокусировать и направить механизмы клеточной защиты на инфицированную клетку. В некоторых случаях второй антиген представляет собой молекулу T-клеточного рецептора (например, CD3, CD4); Fc-рецепторы для IgG (FcγR), такие как FcγRI (CD64), FcγRII (CD32), FcγRIII (CD16); CD89; антиген ВИЧ-1 (например, gp41); CCR5; представитель семейства KIR, такой как иммуноглобулин-подобный рецептор клеток-киллеров с тремя доменами Ig и длинным цитоплазматическим хвостом 1 (KIR3DL1), иммуноглобулин-подобный рецептор клеток-киллеров с тремя доменами Ig и длинным цитоплазматическим хвостом 1 (KIR3DL1), иммуноглобулин-подобный рецептор клеток-киллеров с двумя доменами Ig и длинным цитоплазматическим хвостом 1 (KIR2DL1), иммуноглобулин-подобный рецептор клеток-киллеров с двумя доменами Ig и длинным цитоплазматическим хвостом 2 (KIR2DL2), иммуноглобулин-подобный рецептор клеток-киллеров с двумя доменами Ig и длинным цитоплазматическим хвостом 3 (KIR2DL3); рецептор семейства NKG2, такой как лектин-подобный рецептор C1 клеток-киллеров (KLRC1), лектин-подобный рецептор C2 клеток-киллеров (KLRC2), лектин-подобный рецептор C3 клеток-киллеров (KLRC3), лектин-подобный рецептор C4 клеток-киллеров (KLRC4), лектин-подобный рецептор D1 клеток-киллеров (KLRD1), лектин-подобный рецептор K1 клеток-киллеров (KLRK1); запускающий естественную цитотоксичность рецептор, такой как запускающий естественную цитотоксичность рецептор 3 (NCR3 или NKp30), запускающий естественную цитотоксичность рецептор 2 (NCR2 или NK-p44), запускающий естественную цитотоксичность рецептор 1 (NCR1 или NK-p46), CD226 (DNAM-1), молекулу цитотоксических и регуляторных T-клеток (CRTAM или CD355); представитель семейства SLAM, такой как представитель 1 семейства сигнальных молекул активации лимфоцитов (SLAMF1), CD48 (SLAMF2), антиген лимфоцитов 9 (LY9 или SLAMF3), CD244 (2B4 или SLAMF4), CD84 (SLAMF5), представитель 6 семейства SLAM (SLAMF6 или NTB-A), представитель 7 семейства SLAM (SLAMF7 или CRACC); CD27 (TNFRSF7), семафорин 4D (SEMA4D или CD100), или CD160 (NK1). В некоторых вариантах реализации второе плечо биспецифического антитела связывает отличный эпитоп gp120.

В дополнительном варианте реализации молекула биспецифического антитела согласно настоящему изобретению включает антитело с двойным переменным доменом (DVD-Ig), где каждая легкая цепь и тяжелая цепь содержит два переменных домена, расположенных последовательно через короткую пептидную связь (Wu и др., *Generation and Characterization of a Dual Variable Domain Immunoglobulin (DVD-Ig™) Molecule*, в *Antibody Engineering*, Springer Berlin Heidelberg (2010)). В некоторых вариантах реализации биспецифическое антитело представляет собой связанный химической связью биспецифический фрагмент (Fab')₂. В других вариантах реализации биспецифическое антитело включает тандемные диатела тандаб (tandab, т.е. слияние двух одноцепочечных диател с получением четырехвалентного биспецифического антитела, которое содержит два сайта связывания с каждым из целевых антигенов). В некоторых вариантах реализации биспецифическое антитело представляет собой флекситело (flexibody), которое представляет собой комбинацию фрагментов scFv с диателом с получением поливалентной молекулы. В еще одном варианте реализации биспецифическое антитело содержит молекулу "dock and lock" на основе "домена димеризации и стыковки" в протеинкиназе А, которая, когда ее используют с фрагментами Fab, может позволить получить трехвалентный биспецифический связывающий белок, состоящий из двух идентичных фрагментов Fab, связанных с отличным фрагментом Fab. В другом примере биспецифические антитела согласно настоящему изобретению содержат "молекулу Scorpion", содержащую, например, два scFv, слитых с обоими концами Fab-плеча человека. В еще одном варианте реализации биспецифическое антитело согласно настоящему изобретению включает диатело.

Примеры классов биспецифических антител включают, но не ограничены перечисленными: IgG-подобные молекулы с комплементарными доменами СН₃, чтобы ускорить гетеродимеризацию; слитые с IgG молекулы, в которых полноразмерные антитела IgG слиты с дополнительным фрагментом Fab или частями фрагмента Fab; слитые с Fc молекулы, в которых одноцепочечные молекулы Fv или стабилизированные диатела слиты с константными доменами тяжелой цепи, областями Fc или их частями; слитые с Fab молекулы, в которых различные Fab-фрагменты слиты друг с другом; рекомбинантные IgG-подобные молекулы с двойной специфичностью, в которых каждая из двух сторон молекулы содержит фрагмент Fab или часть фрагмента Fab из по меньшей мере двух различных антител; антитела на основе scFv и диатела и антитела из тяжелых цепей (например, доменные антитела, нанотела), в которых различные одноцепочечные молекулы Fv, или различные диатела, или различные антитела из тяжелых цепей (например, доменные антитела, нанотела) слиты друг с другом или с другим белком или молекулой носителя.

Примеры Fab-слитых биспецифических антител включают, но не ограничены перечисленными: F(ab)₂ (Medarex/AMGEN), антитела двойного действия (Dual-Action) или бис-Fab (Bis-Fab) (Genentech), Dock-and-Lock (DNL) (ImmunoMedics), бивалентные биспецифические антитела (Biotecol) и Fab-Fv (UCB-Celltech).

Примеры антител на основе scFv, на основе диател и доменных антител включают, но не ограничены перечисленными: привлекающий Т-клетки биспецифический активатор (BITE) (Micromet), тандемное диатело (Тандаб) (Affimed), технологию переориентирующегося антитела с двойной аффинностью (DART) (MacroGenics), одноцепочечное диатело (Academic), TCR-подобные антитела (AIT, Рецептор Logics), слитый белок сывороточного альбумина человека и ScFv (Merrimack) и COMBODY (Epigen Biotech), нанотела с двойной специфичностью (Ablunx), и доменные антитела, содержащие только тяжелую цепь, с двойной специфичностью.

Антигенсвязывающие фрагменты.

В объем настоящего изобретения входят антигенсвязывающие фрагменты антител против gp120, описанных в данном изобретении. Антигенсвязывающие фрагменты антител (например, scFv, sc(Fv)₂, Fab, F(ab)₂, Fab', F(ab')₂, F_{ab} и Fv) можно получить, например, с помощью рекомбинантных способов или путем протеолитического расщепления интактных антител. Например, фрагменты антитела можно получить путем обработки полноразмерного антитела ферментом, таким как папаин, пепсин или плазмин. В результате расщепления папаином полноразмерных антител образуются фрагменты F(ab)₂ или Fab; расщепление пепсином полноразмерных антител приводит к образованию F(ab')₂ или Fab'; и расщепление плазмином полноразмерных антител приводит к образованию фрагментов F_{ab}.

В качестве альтернативы, фрагменты антитела можно получить рекомбинантным способом. Например, нуклеиновые кислоты, кодирующие интересующие фрагменты антител, можно сконструировать, внедрить в вектор экспрессии и экспрессировать в подходящих клетках-хозяевах. См., например, Co, M.S. и др., *J. Immunol*, 152:2968-2976 (1994); Better, M. и Horwitz, A.H., *Methods in Enzymology*, 178:476-496 (1989); Plueckthun, A. и Skerra, A., *Methods in Enzymology*, 178:476-496 (1989); Lamoyi, E., *Methods in Enzymology*, 121:652-663 (1989); Rousseaux, J. и др., *Methods in Enzymology*, (1989) 121:663-669 (1989); и Bird, R.E. и др., *ТIВТЕСН*, 9:132-137 (1991)). Фрагменты антител могут экспрессироваться в *E. coli* и секретируются из нее, таким образом, позволяя легко получать большие количества данных фрагментов. Фрагменты антитела можно выделить из фаговых библиотек антител. В качестве альтернативы, фрагменты Fab'-SH можно непосредственно выделить из *E. coli* и химическим способом соединить с получением фрагментов F(ab)₂ (Carte и др., *Bio/Technology*, 10:163-167 (1992)). В соответствии с другим подходом, фрагменты F(ab')₂ можно выделить непосредственно из культуры рекомбинантных клеток-хозяев.

Фрагменты Fab и F(ab')₂ с увеличенным временем полужизни *in vivo*, содержащие остатки эпитопа связывания рецептора реутилизации, описаны в патенте США номер 5869046.

Миниантитела.

Также в объем настоящего изобретения входят миниантитела, которые связывают gp120. Миниантитела включают диатела, одноцепочечное (scFv) и одноцепочечное (Fv)₂ (sc(Fv)₂).

"Диатело" представляет собой бивалентное минитело, сконструированное путем слияния генов (см., например, Holliger, P. и др., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 90:6444-6448 (1993); EP 404097; WO 93/11161). Диатела представляют собой димеры, состоящие из двух полипептидных цепей. Домены VL и VH каждой полипептидной цепи диатела связаны линкерами. Количество аминокислотных остатков, которые составляют линкер, может составлять от 2 до 12 остатков (например, 3-10 остатков или пять или приблизительно пять остатков). Линкеры полипептидов в диателе обычно слишком короткие, чтобы позволить VL и VH связаться друг с другом. Таким образом, VL и VH, кодируемые в виде одной полипептидной цепи, не могут образовывать одноцепочечный фрагмент варибельной области, но вместо этого образуют димер с отличным одноцепочечным фрагментом варибельной области. В результате, диатело содержит две антигенсвязывающие области.

scFv представляет собой антитело из одноцепочечного полипептида, полученное путем соединения VH и VL с помощью линкера (см., например, Huston и др., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 85:5879-5883 (1988); и Plickthun, "The Pharmacology of Monoclonal Antibodies" том 113, ред. Resenbург и Moore, Springer Verlag, Нью-Йорк, стр. 269-315, (1994)). Порядок VH и VL, которые будут соединять, особо не ограничен, и их можно располагать в любом порядке. Примеры расположений включают: [VH] линкер [VL]; или [VL] линкер [VH]. Область V цепи H и область V цепи L в scFv может происходить из любого антитела против gp120 или его антигенсвязывающего фрагмента, описанного в данном изобретении.

sc(Fv)₂ представляет собой минитело, в котором два VH и два VL связаны линкером с образованием одной цепи (Hudson и др., J. Immunol. Methods, (1999), 231: 177-189). sc(Fv)₂ можно получить, например, путем соединения фрагментов scFv с помощью линкера. sc(Fv)₂ согласно настоящему изобретению включают антитела, в которых предпочтительно две VH и две VL расположены в следующем порядке: VH, VL, VH и VL ([VH] линкер [VL] линкер [VH] линкер [VL]), начиная с N-конца одноцепочечного полипептида; тем не менее, порядок двух VH и двух VL не ограничен указанным выше расположением, и они могут располагаться в любом порядке. Примеры расположений перечислены ниже:

[VL] линкер [VH] линкер [VH] линкер [VL] [VH] линкер [VL] линкер [VL] линкер [VH] [VH] линкер [VH] линкер [VL] линкер [VL] [VL] линкер [VL] линкер [VH] линкер [VH] [VL] линкер [VH] линкер [VL] линкер [VH].

Обычно, необходимо три линкера, если соединяют четыре варибельные области антитела; используемые линкеры могут быть идентичными или различными. Нет определенного ограничения на линкеры, которые соединяют области VH и VL миниантител. В некоторых вариантах реализации линкер представляет собой пептидный линкер. Любой произвольный одноцепочечный пептид, содержащий приблизительно от трех до 25 остатков (например, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18), можно применять в качестве линкера. Примеры таких пептидных линкеров включают: Ser; Gly Ser; Gly Gly Ser; Ser Gly Gly; Gly Gly Gly Ser (SEQ ID NO: 427); Ser Gly Gly Gly (SEQ ID NO: 428); Gly Gly Gly Gly Ser (SEQ ID NO: 429); Ser Gly Gly Gly Gly (SEQ ID NO: 430); Gly Gly Gly Gly Gly Ser (SEQ ID NO: 431); Ser Gly Gly Gly Gly Gly (SEQ ID NO: 432); Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ser (SEQ ID NO: 433); Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly (SEQ ID NO: 434); (Gly Gly Gly Gly Ser)_n (SEQ ID NO: 435), где n представляет собой целое число, равное единице или более; и (Ser Gly Gly Gly Gly)_n (SEQ ID NO: 436), где n представляет собой целое число, равное единице или более.

В некоторых вариантах реализации линкер представляет собой линкер на основе синтетического соединения (химический перекрестно сшивающий агент). Примеры перекрестно сшивающих агентов, которые доступны на рынке, включают N-гидроксисукцинимид (NHS), дисукцинимидилсуберат (DSS), бис(сульфосукцинимидил)суберат (BS3), дитиобис(сукцинимидилпропионат) (DSP), дитиобис(сульфосукцинимидилпропионат) (DTSSP), бис(сукцинимидилсукцинат) этиленгликоля (EGS), бис(сульфосукцинимидилсукцинат) этиленгликоля (сульфо-EGS), дисукцинимидилтарtrat (DST), дисульфосукцинимидилтарtrat (сульфо-DST), бис[2-(сукцинимидооксикарбонилокси)этил]сульфон (BSO-COES) и бис[2-(сульфосукцинимидооксикарбонилокси)этил]сульфон (сульфо-BSOCOES).

Последовательность аминокислот VH или VL в миниантителах может содержать модификации, такие как замены, делеции, добавления и/или вставки. Например, модификация может быть в одной или более областях CDR антитела против gp120 или его антигенсвязывающего фрагмента. В некоторых вариантах реализации модификация включает одну, две или три замены аминокислот в одном или более CDR домена VH и/или VL минитела против gp120. Такие замены вводят, чтобы улучшить связывание и/или функциональную активность минитела против gp120. В других вариантах реализации одну, две или три аминокислоты в областях CDR антитела против gp120 или его антигенсвязывающего фрагмента можно удалить или вставить при условии, что присутствует активность связывания gp120 и/или функциональная активность, когда VH и VL соединены.

В некоторых вариантах реализации антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, описанные в

данном изобретении, не содержат сигнальный пептид. В некоторых вариантах реализации антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, содержат N-концевой сигнальный пептид. Сигнальный пептид может представлять собой эндогенный сигнальный пептид (например, из нативного белка иммуноглобулина или белка иммуноглобулина дикого типа), или из гетерологичного полипептида (например, отличного от иммуноглобулина белка). В некоторых вариантах реализации гетерологичный сигнальный пептид получен из секретируемого белка, например, белка сыворотки, иммуноглобулина или цитокина. В некоторых вариантах реализации сигнальный пептид получен из сигнального пептида сывороточного альбумина (например, с последовательностью аминокислот KWVT-FISLLFLFSSAYS (SEQ ID NO: 620). В некоторых вариантах реализации сигнальный пептид содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из MDPKGSLSWRILLFSLAFELSYG (SEQ ID NO: 621), MSVPTQVLGLLLLWLTDARC (SEQ ID NO: 622), METDTLLLWVLLLWVPGSTG (SEQ ID NO: 623), MKWVTFISLLFLFSSAYS (SEQ ID NO: 624), MRCLAFLGLLVLPWGAIG (SEQ ID NO: 625), и MDPKGSLSWRLLLFLSLAFELSYG (SEQ ID NO: 626). Сигнальный пептид можно разработать таким образом, чтобы он отщеплялся, например, после секреции из клетки, с образованием зрелого слитого белка. Модифицированный сигнальный пептид сывороточного альбумина человека для секреции белков из клеток, которые могут найти применение для экспрессии слитых белков согласно настоящему изобретению, описаны, например, в Attallah и др., *Protein Expr Purif.* (2017) 132:27-33. Дополнительное руководство по выбору последовательностей сигнальных пептидов для применения для экспрессии описанных в данном изобретении антител и их антигенсвязывающих фрагментов описано, например, в Kober и др., *Biotechnol Bioeng.* (2013) 110(4): 1164-73; Gibson и др., *Biotechnol Bioeng.* Сентябрь 2017 г.; 114(9): 1970-1977; Lin и др., *Biotechnol J.* Сентябрь 2017 г.; 12(9). doi: 10.1002/biot.201700268 (PMID 28727292); Ramezani и др., *Protein Expr Purif.* Июль 2017 г.; 135:24-32; и Naryadi и др., *PLoS One.* 23 февраля 2015 г.; 10(2):e0116878. При необходимости, тяжелая цепь и легкая цепь, или их антигенсвязывающие фрагменты, могут содержать одинаковые или различные сигнальные пептиды, когда они экспрессируются в виде отдельных белков.

Модификации Fc.

В некоторых вариантах реализации антитела согласно настоящему изобретению содержат одну или более модификаций последовательности аминокислот в константной области тяжелой цепи (Fc) по сравнению с последовательностью аминокислот IgG1m17 (т.е. SEQ ID NO: 348). В некоторых вариантах реализации антитела согласно настоящему изобретению содержат одну или более модификаций последовательности аминокислот в константной области тяжелой цепи (Fc) по сравнению с другими антителами против ВИЧ, такими как антитело А или антитело В. В некоторых вариантах реализации данные модификации повышают стабильность или повышают аффинность связывания модифицированного антитела по сравнению с антителом А или антителом В. В некоторых вариантах реализации данные модификации повышают стабильность или повышают эффекторную функцию модифицированного антитела по сравнению с антителом А или антителом В. В некоторых вариантах реализации некоторые из данных модификаций улучшают фармакокинетику антитела по сравнению с антителом А или антителом В. В некоторых вариантах реализации некоторые из данных модификаций увеличивают время полужизни антитела по сравнению с антителом А или антителом В. В других вариантах реализации некоторые из данных модификации повышают эффекторную функцию антитела и улучшают фармакокинетику антитела по сравнению с антителом А или антителом В. В других вариантах реализации некоторые из данных модификации повышают эффекторную функцию антитела и увеличивают время полужизни антитела по сравнению с антителом А или антителом В. В некоторых вариантах реализации антитело содержит VH, содержащую области CDR 1-3 VH, и VL, содержащую области CDR 1-3 VL, причем области CDR 1-3 VH и области CDR 1-3 VL имеют последовательности, представленные в: SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно, и содержит константную область тяжелой цепи с одной или более модификациями последовательности аминокислот по сравнению с SEQ ID NO: 348. В некоторых вариантах реализации антитела против gp120 или связывающие gp120 фрагменты содержат VH, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, например, на 100%, идентична последовательности аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 477, и VL, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, например, на 100%, идентична последовательности аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 278. В некоторых вариантах реализации антитело содержит VH и VL, содержащие последовательности аминокислот, представленные в: SEQ ID NO: 477 и 278, соответственно, и содержит константную область тяжелой цепи с одной или более модификациями последовательности аминокислот по сравнению с SEQ ID NO: 348. В некоторых вариантах реализации данные замены улучшают эффекторную функцию. В некоторых вариантах реализации данные замены увеличивают время полужизни. В некоторых вариантах реализации данные замены улучшают эффекторную функцию и увеличивают время полужизни.

В некоторых вариантах реализации одна или более модификаций выбраны из следующих замен аминокислот Fc (нумерация EU) или их комбинации: L234F; L235E; G236A; S239D; F243L; D265E; D265A; S267E; H268F; R292P; N297Q; N297A; S298A; S324T; I332E; S239D; A330L; L234F; L235E; P331S; F243L; Y300L; V305I; P396L; S298A; E333A; K334A; E345R; L235V; F243L; R292P; Y300L; P396L; M428L; E430G; N434S; G236A, S267E, H268F, S324T, и I332E; G236A, S239D, и I332E; S239D, A330L, I332E; L234F, L235E, и P331S; F243L, R292P, Y300L, V305I, и P396L; G236A, H268F, S324T, и I332E; S239D, H268F, S324T, и I332E; S298A, E333A, и K334A; L235V, F243L, R292P, Y300L, и P396L; S239D, I332E; S239D, S298A, и I332E; G236A, S239D, I332E, M428L, и N434S; G236A, S239D, A330L, I332E, M428L, и N434S; S239D, I332E, G236A и A330L; M428L и N434S; M428L, N434S; G236A, S239D, A330L, и I332E; и G236A и I332E. В некоторых вариантах реализации одну, две, три, четыре или более замен аминокислот вводят в Fc-область, чтобы изменить (например, повысить) эффекторную функцию антитела. Например, данные замены находятся в положениях, выбранных из группы, состоящей из аминокислотных остатков 236, 239, 330 и 332 (согласно нумерации EU). В данных положениях можно заменить аминокислотный остаток на отличный аминокислотный остаток, так что у антитела улучшится эффекторная функция. В некоторых вариантах реализации антитело содержит VH, содержащую области CDR 1-3 VH, и VL, содержащую области CDR 1-3 VL, причем области CDR 1-3 VH и области CDR 1-3 VL имеют последовательности, представленные в: SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно, и содержит константную область тяжелой цепи со следующими модификациями (нумерация EU) по сравнению с SEQ ID NO: 348: S239D, I332E, G236A, A330L, M428L, N434S. В некоторых вариантах реализации антитела против gp120 или связывающие gp120 фрагменты содержат VH, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, например, на 100%, идентична последовательности аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 477, и VL, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, например, на 100%, идентична последовательности аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 278, и содержат константную область тяжелой цепи со следующими модификациями (нумерация EU) по сравнению с SEQ ID NO: 348: S239D, I332E, G236A, A330L, M428L, N434S. В некоторых вариантах реализации антитело содержит VH и VL, содержащие последовательности аминокислот, представленные в: SEQ ID NO: 477 и 278, соответственно, и содержит константную область тяжелой цепи со следующими модификациями (нумерация EU) по сравнению с SEQ ID NO: 348: S239D, I332E, G236A, A330L, M428L, N434S. В некоторых вариантах реализации данные замены улучшают эффекторную функцию. В некоторых вариантах реализации данные замены увеличивают время полужизни. В некоторых вариантах реализации данные замены улучшают эффекторную функцию и увеличивают время полужизни.

В некоторых случаях антитела согласно настоящему изобретению содержат мутации, которые повышают или улучшают эффекторную функцию путем усиления связывания Fc с активирующими FcγR. В некоторых случаях антитела согласно настоящему изобретению содержат мутации, которые увеличивают фармакокинетическое время полужизни антитела.

Мутации, которые увеличивают время полужизни антитела, известны в данной области. В одном варианте реализации константная область антитела, описанная в данном изобретении, содержит замену метионина на тирозин в положении 252 (нумерация EU), замену серина на треонин в положении 254 (нумерация EU) и замену треонина на глутаминовую кислоту в положении 256 (нумерация EU). См., например, патент США № 7658921. Данный тип мутанта, названный "мутантом YTE", проявляет в четыре раза большее время полужизни по сравнению с вариантом дикого типа того же антитела (Dall'Acqua и др., *J Biol Chem*, 281: 23514-24 (2006); Robbie и др., *Antimicrob Agents Chemotherap.*, 57(12):6147-6153 (2013)). В некоторых вариантах реализации антитело содержит константный домен IgG, содержащий одну, две, три или более замен аминокислотных остатков в положениях 251 - 257, 285 - 290, 308 - 314, 385 - 389 и 428 - 436 (нумерация EU). В других вариантах реализации антитело, описанное в данном изобретении, содержит мутации T250Q и M428L (нумерация EU). В других вариантах реализации антитело, описанное в данном изобретении (например, дуотела (Duobody®)), содержит мутации H433K и N434F (нумерация EU).

Конъюгированные антитела.

Любое из антител, описанных в данном изобретении, может представлять собой конъюгированное антитело, которое связано с различными молекулами, включая макромолекулярные вещества, такие как полимеры (например, полиэтиленгликоль (ПЭГ), полиэтиленимин (ПЭИ), модифицированный ПЭГ (ПЭИ-ПЭГ), полиглутаминовая кислота (ПГК) (сополимеры с N-(2-гидроксипропил)метакриламидом (ГПМА)), гиалуроновая кислота, радиоактивные материалы (например, ⁹⁰Y, ¹³¹I, ¹²⁵I, ³⁵S, ³H, ¹²¹In, ⁹⁹Tc), флуоресцентные вещества (например, флуоресцеин и родамин), люминесцентные вещества (например, люминол), квантовые точки, гаптены, ферменты (например, глюкозооксидаза), хелаты металлов, биотин,

авидин и лекарственные средства.

В некоторых вариантах реализации антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, конъюгированы с цитотоксическим агентом, например, для доставки к инфицированным ВИЧ клеткам и их уничтожения. В различных вариантах реализации цитотоксический агент представляет собой низкомолекулярное органическое соединение или ингибиторную нуклеиновую кислоту, например, короткую ингибиторную РНК (миРНК), микроРНК. В некоторых вариантах реализации антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, конъюгированы с цитотоксическим агентом, выбранным из группы, состоящей из монOMETИЛАУРИСТАТИНА E (ММАЕ), монOMETИЛАУРИСТАТИНА F (ММАF), калихеамицина, ансамитоцина, майтансина или их аналога (например, мертанзина/эмтанзина (DM1), равтанзина/соравтанзина (DM4)), антрацилина (например, доксорубицина, даунорубицина, эпирубицина, идарубицина), пирролобензодиазепина (PBD), перекрестно сшивающего ДНК агента SC-DR002 (D6.5), дуокармицина, ингибиторов микротрубочек (MTI) (например, таксана, алкалоида барвинка, эпотилона), пирролобензодиазепина (PBD) или его димера, дуокармицина (A, B1, B2, C1, C2, D, SA, CC-1065) и экзотоксина *Pseudomonas*.

Описанные выше конъюгированные антитела можно получить путем осуществления химической модификации антител или более низкомолекулярных их форм, описанных в данном изобретении. Способы модификации антител хорошо известны в данной области (например, US 5057313 и US 5156840).

Нуклеиновые кислоты.

В настоящем изобретении также предложен полинуклеотид или полинуклеотиды, кодирующие антитело или антигенсвязывающий фрагмент, описанный в данном изобретении, векторы, содержащие такие полинуклеотиды, и клетки-хозяева (например, клетки млекопитающих, включая клетки хомяка или клетки человека, клетки растений, клетки дрожжей, бактериальные клетки, включая клетки *E. coli*), содержащие такие полинуклеотиды или векторы экспрессии. В данном изобретении предложены полинуклеотиды, содержащие последовательность(-и) нуклеотидов, кодирующую(-ие) любое из антител, предложенных в данном изобретении, а также вектор(ы), содержащий(-е) такие полинуклеотидные последовательности, например, векторы экспрессии для их эффективной экспрессии в клетках-хозяевах, например, клетках млекопитающих.

В другом аспекте настоящего изобретения предложены полинуклеотиды или молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие антитело или его антигенсвязывающий фрагмент согласно настоящему изобретению. В некоторых вариантах реализации молекулы нуклеиновых кислот кодируют легкую цепь антитела (или ее фрагмент) или тяжелую цепь антитела (или ее фрагмент), или обе, согласно настоящему изобретению. В других вариантах реализации нуклеиновая кислота представляет собой ДНК, кДНК или мРНК. В некоторых других вариантах реализации молекула нуклеиновой кислоты кодон-оптимизирована для повышения экспрессии в клетке-хозяине.

В одном аспекте настоящего изобретения предложены полинуклеотиды, содержащие последовательности нуклеотидов, кодирующие VH, VL или VH и VL антител или антигенсвязывающих фрагментов, которые связываются с gp120. В некоторых случаях VH и VL содержат аминокислоты, представленные, соответственно, в последовательностях SEQ ID NO: 182 и 275; 182 и 278; 182 и 279; 182 и 280; 182 и 281; 182 и 282; 182 и 292; 182 и 304; 182 и 307; 182 и 309; 220 и 310; или 220 и 311.

В другом аспекте в данном изобретении предложены полинуклеотиды, содержащие последовательность нуклеотидов, кодирующую области CDR, легкую цепь или тяжелую цепь антитела, описанного в данном изобретении. Указанные полинуклеотиды могут содержать последовательности нуклеотидов, кодирующие легкую цепь или переменный домен легкой цепи, содержащий области CDR VL антител, описанных в данном изобретении (см., например, таблицы выше). Указанные полинуклеотиды могут содержать последовательности нуклеотидов, кодирующие тяжелую цепь или переменный домен тяжелой цепи, содержащий области CDR VH антител, описанных в данном изобретении (см., например, таблицы выше). В одном варианте реализации полинуклеотид, описанный в данном изобретении, кодирует переменную область легкой цепи или легкую цепь с областями CDR VL, содержащими последовательность аминокислот, представленную в последовательностях SEQ ID NO: 140, 141 и 142, соответственно. В другом варианте реализации полинуклеотид, описанный в данном изобретении, кодирует переменную область тяжелой цепи или тяжелую цепь с областями CDR VH, содержащими последовательность аминокислот, представленную в последовательностях SEQ ID NO: 137, 138 и 139, соответственно. В одном варианте реализации полинуклеотид, описанный в данном изобретении, кодирует домен VL, содержащий последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO: 275, 278, 279, 280, 281, 282, 292, 304, 307, 309, 310 или 311. В другом варианте реализации полинуклеотид, описанный в данном изобретении, кодирует домен VH, содержащий последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO: 182 или 220. В еще одном варианте реализации полинуклеотид, описанный в данном изобретении, кодирует легкую цепь, содержащую последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO: 49, 100, 101, 103, 104, 105, 106, 107, 117, 129, 132, 134, 135 или 136. В другом варианте реализации полинуклеотид, описанный в данном изобретении, кодирует тяжелую цепь, содержащую последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO: 2 или 42. В одном варианте реализации полинуклеотид, описанный в данном изобретении, кодирует домен VL, содержащий последовательность аминокислот,

представленную в SEQ ID NO: 278. В другом варианте реализации полинуклеотид, описанный в данном изобретении, кодирует домен VH, содержащий последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO: 477. В еще одном варианте реализации полинуклеотид, описанный в данном изобретении, кодирует легкую цепь, содержащую последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO: 103. В другом варианте реализации полинуклеотид, описанный в данном изобретении, кодирует тяжелую цепь, содержащую последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO: 529.

В некоторых вариантах реализации нуклеиновая кислота или нуклеиновые кислоты кодируют VH, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 181 - 221 и 465 - 478, и идентичную по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или на 100% последовательности нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 572 - 581; и кодируют VL, выбранную из группы, состоящей из

последовательностей SEQ ID NO: 222 - 311, 479 - 516 и 569, и идентичную по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или на 100% последовательности нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 582 - 595.

В некоторых вариантах реализации нуклеиновая кислота или нуклеиновые кислоты кодируют HC, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 1 - 47 и 517 - 530, и идентичную по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или на 100% последовательности нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 596 - 605; и кодируют LC, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 48 - 136 и 531 - 567, и идентичную по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или на 100% последовательности нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 606 - 619.

В некоторых вариантах реализации в молекуле или молекулах нуклеиновых кислот смещены кодоны, чтобы повысить экспрессию в желательной клетке-хозяине, например, в клетках человека, клетках млекопитающих, клетках дрожжей, клетках растений, клетках насекомого или бактериальных клетках, например, клетках *E. coli*. Соответственно, предложены полинуклеотиды, кодирующие антитело или антигенсвязывающий фрагмент, описанный в данном изобретении, причем в указанных полинуклеотидах смещены кодоны, содержатся замены гетерологичных сигнальных последовательностей и/или удалены элементы нестабильности мРНК. Способы получения нуклеиновых кислот со смещенными кодонами можно осуществить путем модификации способов, описанных, например, в патентах США № 5965726; 6174666; 6291664; 6414132 и 6794498. Использование предпочтительных кодонов для экспрессии антитела или антигенсвязывающих фрагментов в желательных клетках-хозяевах предложено, например, на kazusa.or.jp/codon/ и genscript.com/tools/codon-frequency-table.

Примеры полинуклеотидов, кодирующих VH и VL антител против gp120 и антигенсвязывающих фрагментов, описанных в данном изобретении, со смещенными кодонами для улучшенной экспрессии в клетке-хозяине из млекопитающего, представлены в таблицах XII и XIII. Примеры полинуклеотидов, кодирующих HC и LC антител против gp120 и антигенсвязывающих фрагментов, описанных в данном изобретении, со смещенными кодонами для улучшенной экспрессии в клетке-хозяине из млекопитающего, представлены в таблицах XIV и XV.

При необходимости в некоторых вариантах реализации 3'-конец полинуклеотида или полинуклеотидов, кодирующих антитела или антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, содержит множество последовательно расположенных стоп-кодонов, например, два или более последовательно расположенных стоп-кодона TAG ("янтарь"), TAA ("охрана") или TGA ("опал" или "умбра"). Множество последовательно расположенных стоп-кодонов могут быть одинаковыми или различными. В вариантах реализации, в которых полинуклеотид представляет собой мРНК, 3'-конец полинуклеотида может содержать поли(A)-хвост.

Также в объем настоящего изобретения входят полинуклеотиды, кодирующие антитело против gp120 или его антигенсвязывающий фрагмент, антитело против CD3 или его антигенсвязывающий фрагмент, антитело против CD16 или его антигенсвязывающий фрагмент или антитело против CD89 или его антигенсвязывающий фрагмент, которые оптимизированы, например, путем оптимизации кодонов, замены сигнальных последовательностей на гетерологичные и удаления элементов нестабильности мРНК. Способы получения оптимизированных нуклеиновых кислот можно осуществить с помощью модификаций способов, описанных, например, в патентах США № 5965726; 6174666; 6291664; 6414132 и 6794498.

В некоторых вариантах реализации один или более полинуклеотидов, кодирующих антитела или антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, находятся в составе или инкапсулированы в липидную наночастицу (ЛНЧ). В данном изобретении термин "липидная наночастица" относится к одной или более сферических наночастиц со средним диаметром от приблизительно 10 до приблизительно 1000 нанометров, которые содержат твердый матрикс липидной сердцевины, который может растворять липофильные молекулы. В некоторых вариантах реализации липидная сердцевина стабилизирована поверхностно-активными веществами (например, эмульгаторами), и может содержать один или более триглицеридов (например, тристеарин), диглицеридов (например, глицеринбегенат), моноглицеридов (например, глицеринмоностеарат), жирных кислот (например, стеариновую кислоту), стероидов (например, холестерин) и восков (например, цетилпальмитат), включая их комбинации. Липидные наночастицы описаны, например, в Pettrilli и др., Curr Pharm Biotechnol. 15:847-55, 2014; и в патентах США № 6217912; 6881421; 7402573; 7404969; 7550441; 7727969; 8003621; 8691750; 8871509; 9017726; 9173853; 9220779; 9227917 и 9278130, каждый из которых полностью включен в данное изобретение посредством ссылки. Инкапсулированные в ЛНЧ молекулы мРНК, кодирующие нейтрализующее антитело широкого спектра действия, описаны, например, в Pardi и др., Nat Commun. (2017) 8:14630. В некоторых вариантах реализации один или более полинуклеотидов, кодирующих антитела или антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, находятся в составе или инкапсулированы в ЛНЧ, состоящую из ионизируемого катионного липида/фосфатидилхолина/холестерина/ПЭГ-липиды, например, в молярных соотношениях, приблизительно равных 50:10:38,5:1,5 моль моль⁻¹, соответственно.

Таблица XII

Полинуклеотиды, кодирующие вариабельные области тяжелой цепи (VH)

SEQ ID NO:	Полинуклеотидная последовательность, кодирующая VH
572	CAGGTGCAGTTGTTGCAGTCTGGCGCCGCTGTACAAAGCCTGGCGCTTCTGTAGAGTGTCTGCGAGGCCCTCCGGCTACAACATCAGAGACTACTTCATCCACTGGTGGCGGCAGGCTCCAGGACAGGGATTGCAATGGGTCGGATGGATCAACCCTAAGACCGGCCAGCCTAACAAACCTAGACAGTTCCAGGGCAGAGTGTCCCTGACCAGACACGCCTCTTGGGACTTCGACACCTTCAGCTTCTACATGGACCTGAAGGCCCTGAGATCCGACGATACCGCCGTGACTTCTGCGCCAGACAGAGAAGCGACTACTGGGATTTTCGATGTGTGGGGCTCTGGCACCCAAGTGACCGTGTCTCT
573	CAGGTGCAGTCTGCTGCAGTCTGGCGCCGCTGTGACAAAACCAGGCGCTTCTGTGGGGTGTCTGCGAGGCCAGCGGCTACAACATCCGGGACTACTTCATTCCTGCTGGTGGCGCCAGGCCCTGGACAGGGACTGCAGTGGGTGGGATGGATCAACCCCAAGACCGGCCAGCCAAACAACCCAGACAGTTCCAGGGCAGAGTGTCCCTGACCAGACACGCCAGTGGGACTTCGACACCTTCAGCTTCTACATGGACCTGAAGGCCCTGCGGAGCGACGATACCGCCGTGACTTCTGCGCCAGACAGAGAAGCGACTACTGGGATTTTCGACGTGTGGGGCAGCGGCACCCAAGTGACCGTGTCTCT
574	CAGGTGCAGTTGTTGCAGTCTGGCGCCGCTGTACAAAGCCTGGCGCTTCTGTAGAGTGTCTGCGAGGCCCTCCGGCTACAACATCAGAGACTACTTCATCCACTGGTGGCGGCAGGCTCCAGGACAGGGATTGCAATGGGTCGGATGGATCAACCCTAAGACCGGCCAGCCTAACAAACCTAGACAGTTCCAGGGCAGAGTGTCCCTGACCAGACACGCCTCTTTCGACTTCGACACCTTCAGCTTCTACATGGACCTGAAGGCCCTGAGATCCGACGATACCGCCGTGACTTCTGCGCCAGACAGAGAAGCGACTACTGGGACTTTCGATGTGTGGGGCTCTGGCACCCAAGTGACCGTGTCTCT
575	CAGGTGCAGTCTGCTGCAGTCTGGCGCCGCTGTGACAAAACCAGGCGCTTCTGTGGGGTGTCTGCGAGGCCAGCGGCTACAACATCCGGGACTACTTCATTCCTGCTGGTGGCGCCAGGCCCTGGACAGGGACTGCAGTGGGTGGGATGGATCAACCCCAAGACCGGCCAGCCAAACAACCCAGACAGTTCCAGGGCAGAGTGTCCCTGACCAGACACGCCAGTTCGACTTCGACACCTTCAGCTTCTACATGGACCTGAAGGCCCTGCGGAGCGACGATACCGCCGTGACTTCTGCGCCAGACAGAGAAGCGACTACTGGGATTTTCGACGTGTGGGGCAGCGGCACCCAAGTGACCGTGTCTCT
576	CAGGTCCACTTGTCTCAATCTGGCGCCGCTGTGACAAAAGCCTGGCGCTTCTGTGAGAGTGTCTGCGAGGCCCTCCGGCTACAAGATCCGGGACCACTTTATCCACTGGTGGCGACAGGCTCCAGGACAGGGATTGCAATGGGTCGGATGGATCAACCCTAAGACCGGCCAGCCTAACAAACCTAGACAGTTCCAGGGCAGAGTGTCCCTGACCAGACACGCCTCTTGGGACTTCGACACCTTCAGCTTCTACATGGACCTGAAGGCCCTGCGGAGCGACGACACCGCTATCTACTTTTGGCGCCAGACAGAGATCCGACTACTGGGATTTTCGATGTGTGGGGCTC

	TGGCACCCAAGTGACCGTGTCTCT
577	CAGGTCCACCTGTCTCAATCTGGCGCCGCTGTACAAAACCAGGCGCCTCTGTTAGAGTGTCTTGCAGGCCCAGCGGCTACAAGAT CAGGGACCCTTTATTTACTGGTGGCGCCAGGCTCCAGGACAGGGACTTCAATGGGTCGGATGGATCAACCCTAAGACCGGCCAGC CTAACAAACCCAGACAGTTCAGGGCAGAGTGTCTCTGACAAGACACGCCAGCTGGGACTTCGACACCTTCAGCTTCTACATGGAC CTGAAGGCCGTGCGGAGCGACGACACCGCCATCTATTTTTGCGCCAGACAGAGAAGCGACTACTGGGATTTTCGATGTGTGGGGCAG CGGCACCCAAGTGACAGTCTCTTCT
578	CAGGTCCACTTGTCTCAATCTGGCGCCGCTGTGACAAAGCCTGGCGCTTCTGTGACAGTGTCTTGCAGGCCCCTGGCTACAAGAT COGGGACCCTTTATCCACTGGTGGCGACAGGCTCCAGGACAGGGATTGCAGTGGGTCGGATGGATCAACCCTAAGACCGGCCAGC CTAACAAACCTAGACAGTTCAGGGCAGAGTGTCCCTGACCAGACACGCCCTTTTCGACTTCGACACCTTCAGCTTCTACATGGAC CTGAAGGCCGTGCGGAGCGACGACACCGCTATCTACTTTTTGCGCCAGACAGAGATCCGACTACTGGGACTTCGATGTGTGGGGCTC TGGCACCCAAGTGACCGTGTCTCT
579	CAGGTCCACCTGTCTCAATCTGGCGCCGCTGTACAAAACCAGGCGCCTCTGTTAGAGTGTCTTGCAGGCCCAGCGGCTACAAGAT CAGGGACCCTTTATTTACTGGTGGCGCCAGGCTCCAGGACAGGGACTTCAATGGGTCGGATGGATCAACCCTAAGACCGGCCAGC CTAACAAACCCAGACAGTTCAGGGCAGAGTGTCTCTGACAAGACACGCCAGCTTCGACTTCGACACCTTCAGCTTCTACATGGAC CTGAAGGCCGTGCGGAGCGACGACACCGCCATCTATTTTTGCGCCAGACAGAGAAGCGACTACTGGGATTTTCGATGTGTGGGGCAG CGGCACCCAAGTGACAGTCTCTTCT
580	CAGGTCCACTTGTCTCAATCTGGCGCCGCTGTGACAAAGCCTGGCGCTTCTGTGACAGTGTCTTGCAGGCCCCTGGCTACAACAT COGGGACTACTTTATCCACTGGTGGCGGCAGGCTCCAGGACAGGGATTGCAATGGGTCGGATGGATCAACCCTAAGACCGGCCAGC CTAACAAACCTAGACAGTTCAGGGCAGAGTGTCCCTGACCAGACACGCCCTTTGGGACTTCGACACCTTCAGCTTCTACATGGAC CTGAAGGCCGTGCGGAGCGACGACACCGCTATCTACTTTTTGCGCCAGACAGAGATCCGACTACTGGGATTTTCGATGTGTGGGGCTC TGGCACCCAAGTGACCGTGTCTCT
581	CAGGTCCACCTGTCTCAATCTGGCGCCGCTGTACAAAACCAGGCGCCTCTGTTAGAGTGTCTTGCAGGCCCAGCGGCTACAACAT COGGGACTACTTTATTTACTGGTGGCGCCAGGCTCCAGGACAGGGACTTCAATGGGTCGGATGGATCAACCCTAAGACCGGCCAGC CTAACAAACCCAGACAGTTCAGGGCAGAGTGTCTCTGACAAGACACGCCAGCTGGGACTTCGACACCTTCAGCTTCTACATGGAC
	CTGAAGGCCGTGCGGAGCGACGACACCGCCATCTATTTTTGCGCCAGACAGAGAAGCGACTACTGGGATTTTCGATGTGTGGGGCAG CGGCACCCAAGTGACAGTCTCTTCT

Таблица XIII

Полинуклеотиды, кодирующие переменные области легкой цепи (VL)

SEQ ID NO:	Полинуклеотидная последовательность, кодирующая VL
582	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCTTCCCTTTATCCGCTAGCGTCCGGCGATACCGTGACCATCACATGCCAAGCTAACGGCTACCT CAACTGGTACCAGCAGCGGAGGGGAAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGGCTCCAAAGCTGGAGAGGGGAGTGCCTTCCCGGT TCAGCGGAAGGAGGTGGGGACAAGAATACAATTTAACCATCAACAATTTACAGCCCGAGGACATCGCTACCTACTTCTGCCAAGTT TACGAGTTCGTGGTGCCCGGCACCTCGTCTGGATCTGAAG
583	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGATACCGTGACCATTACCTGCCAGGCCAACGGCTACCT GAACTGGTATCAGCAGCGGAGAGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGGCAGCAAGCTGGAAAGAGGGCTGCCAGCAGAT TCAGCGGCAGAAGATGGGGCCAGGAGTACAACCTGACCATCAACAACCTGCAGCCCGAGGATATCGCCACATACTTTTGGCAGGTG TACGAGTTCGTGGTGCCCGGCACACGGCTGGACCTGAAA
584	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCTGTCTGCCTCTGTGGGCGATACCGCTACCATCACCTGTCAGGCCAACGGCTACCT GAACTGGTATCAGCAGAGAAGAGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGGCTCCAAACTGGAAAGAGGGCTGCCCTCTCGGT TCTCTGGCAGAAGATGGGGCCAAAGAGTACAACCTGACCATCAACAACCTGCAGCCTGAGGATATCGCCACATACTTTTGGCAGGTG TACGAGTTCGTGGTGCCCTGGCACAAGACTGGACCTGAAG
585	GATATTCAGATGACACAGAGCCCCAGTAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGACACCGCAACCATCACCTGTCAGGCCAACGGCTATCT GAACTGGTATCAACAGAGGAGGGGCAAGGCCCCCAAGCTCCTGATATACGACGGCAGCAAGCTGGAGAGGGGGCTTCCAGCCGCT TCAGCGGCAGGAGGTGGGGCCAGGAGTACAACCTTACAATCAACAACCTGCAGCCCGAGGACATCGCCACCTATTTTGGCAGGTG TACGAGTTCGTGGTGCCCGGCACAGGCTGGACCTGAAG
586	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCTGTCTGCCTCTGTGGGCGACAGAGCTACCATCACCTGTCAGGCCAACGGCTACCT

	GAAC TGGTATCAGCAGAGAAGAGGCAAGGCCCTAAGCTGCTGATCTACGACGGCTCCAACTGGAAAGAGGCGTGCCCTCCAGAT TCTCCGGCTCTAGATGGGGCCAAGAGTACAACCTGACCATCTCCAGCCTCCAGCCTGAGGATATCGCCACATACTTTTGCCAGGTG TACGAGTTCTTCGGCCCTGGCACCAGACTGGACCTGAAG
587	GATATTCAGATGACACAGAGCCCCAGTAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGACAGAGCAACCATCACCTGTCAGGCCAACGGCTATCT GAAC TGGTATCAACAGAGAAGGGGCAAGGCCCTAAGCTCCTGATATACGACGGCAGCAAGCTGGAGAGGGGCGTTCCCGCCGCT TCAGCGGCTCAAGTGGGGCCAGGAGTACAACCTTACAATCTCATCCCTGCAGCCGAGGACATCGCCACCTATTTCTGCCAAGTT TACGAGTTCTTCGGACCCGGCACCAGGCTGGACCTGAAG
588	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCTCTGTCTGCCAGAGTGGGCGACACCGTGACAATCACCTGTCAGGCCAACGGCTACCT GAAC TGGTATCAGCAGAGAAGAGGCAAGGCCCTAAGCTGCTGATCTACGACGGCTCCAACTGGAAAGAGGCGTGCCCGCTAGAT TCTCCGGCAGAAGATGGGGCCAAGAGTACAACCTGACCATCAACAACCTGCAGCCTGAGGACGTGGCCACATACTTTTGCCAGGTG TACGAGTTTCATCGTCCCGGCACCAGACTGGACCTGAAG
589	GATATTCAGATGACACAGAGCCCCAGTAGCCTGAGCGCCCGCTGGGCGACACCGTGACCATCACCTGTCAGGCCAACGGCTATCT GAAC TGGTATCAACAGAGGAGGGGCAAGGCCCTAAGCTCCTGATATACGACGGCAGCAAGCTGGAGAGGGGCGTTCCCGCAGCCT TCAGCGGCAGGAGTGGGGCCAGGAGTACAACCTTACAATCAACAACCTGCAGCCGAGGACGTGCGCCACCTATTTCTGCCAAGTT TACGAGTTTCATCGTCCCGGCACCAGGCTGGACCTGAAG
590	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCTCTGTCTGCCTCTGTGGGCGATACCGCTACCATCACCTGTCAGGCCAACGGCTACCT GAAC TGGTATCAGCAGAGAAGAGGCAAGGCCCTAAGCTGCTGATCTACGACGGCTCCAACTGGAAAGAGGCGTGCCCTCTCGGT TCTCTGGCAGAAGATGGGGCCAAGAGTACACCCTGACCATCAACAACCTGCAGCCTGAGGATATCGCCACATACTTTTGCCAGGTG TACGAGTTCTTCGGCCCTGGCACCAGACTGGACCTGAAG
591	GACATCCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGAGATACCGCCACAATTACCTGTCAGGCCAACGGCTACCT GAAC TGGTATCAGCAGCGGAGAGGCAAGGCCCTAAGCTGCTGATCTACGACGGCAGCAAGCTGGAAAGAGGCGTGCCCGCAGAT TCAGCGGCAGAAGATGGGGCCAAGAGTACACCCTGACCATCAACAACCTGCAGCCTGAGGATATTGCCACATACTTTTGCCAGGTG TACGAGTTCTTCGGCCCTGGCACCAGACTGGACCTGAAG
592	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCTCTGTCTGCCTCTGTGGGCGACAGAGTACCATCACCTGTCAGGCCAACGGCTACCT GAAC TGGTATCAGCAGAGAAGAGGCAAGGCCCTAAGCTGCTGATCTACGACGGCTCCAACTGGAAAGAGGCGTGCCCTCCAGAT TCTCCGGCTCTAGATGGGGCCAAGAGTACACCCTGACCATCTCTAGCCTGCAGCCTGAGGATATCGCCACATACTTTTGCCAGGTG TACGAGTTCTTCGGCCCTGGCACCAGACTGGACCTGAAG
593	GACATCCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCTCTGTGGGCGATAGAGCCACAATCACCTGTCAGGCCAACGGCTACCT GAAC TGGTATCAGCAGAGAAGAGGCAAGGCCCTAAGCTGCTGATCTACGACGGCAGCAACTGGAAAGAGGCGTGCCCGCAGAT TCAGCGGCTCTAGATGGGGCCAAGAGTACACCCTGACCATCTCTAGCCTGCAGCCTGAGGATATCGCCACATACTTTTGCCAGGTG TACGAGTTCTTCGGCCCTGGCACCAGACTGGACCTGAAA
594	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCTCTGTCTGCCAGAGTGGGCGATACCGCTACCATCACCTGTCAGGCCAACGGCTACCT GAAC TGGTATCAGCAGAGAAGAGGCAAGGCCCTAAGCTGCTGATCTACGACGGCTCCAACTGGAAAGAGGCGTGCCCGCTAGAT TCTCCGGCAGAAGATGGGGCCAAGAGTACACCCTGACCATCAACAACCTGCAGCCTGAGGACGTGGCCACATACTTTTGCCAGGTG TACGAGTTTCATCGTCCCGGCACCAGACTGGACCTGAAG
595	GATATTCAGATGACACAGAGCCCCAGTAGCCTGAGCGCCCGCTGGGCGACACCGCGACCATCACCTGTCAGGCCAACGGCTATCT GAAC TGGTATCAACAGAGGAGGGGCAAGGCCCTAAGCTCCTGATATACGACGGCAGCAAGCTGGAGAGGGGCGTTCCCGCAGCCT TCAGCGGCAGGAGTGGGGCCAGGAGTACAACCTTACAATCAACAACCTGCAGCCGAGGACGTGCGCCACCTATTTCTGCCAAGTT TACGAGTTTCATCGTCCCGGCACCAGGCTGGACCTGAAG

Полинуклеотиды, кодирующие тяжелую цепь (НС)

SEQ ID NO:	ПОЛИНУКЛЕОТИДНАЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ, КОДИРУЮЩАЯ НС
596	CAGGTGCAGTTGTTGCAGTCTGGCGCCGCTGTACAAAGCCTGGCGCTTCTGTAGAGTGTCTGCGAGGCCTCCGGCTACAACATC AGAGACTACTTTCATCCACTGGTGGCGCCAGGCTCCAGGACAGGGATTGCAATGGGTCGGATGGATCAACCCTAAGACCGGCCAGCCT AACAACCCCTAGACAGTTCAGGGCAGAGTGTCCCTGACCAGACACGCCCTTTGGGACTTCGACACCTTCAGCTTCTACATGGACCTG AAGGCCCTGAGATCCGACGATACCGCCGTGACTTCTGCGCCAGACAGAGAAGCGACTACTGGGATTTTCGATGTGTGGGGCTCTGGC ACCCAAGTGACCGTGTCCCTGTCTTACCAAGGGACCCCTCTGTGTCCCTCTGGCTCCTCCAGCAAGTCTACCTCTGGTGGAAAC GCTGCTCTGGGCTGCTGGTCAAGGATTACTTTCCCTGAGCCTGTGACAGTGTCTGGAACTCTGGTGTCTGACCTCCGGCTGCAC ACATTTCCAGCTGTGCTGCAGTCTCCGGCCTGTACTCTGTCTCTGTCTGTCGACCGTGCCTCTAGCTCTCTGGGCACCCAGACC TACATCTGCAACGTGAACCAAGCCTTCCAACACCAAGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAGTCTGCGACAAGACCCACACCTGT CCTCCATGTCTGCTCCAGAAGTGTGGCTGGCCCGATGTCTTTCTGTTCCTCCAAAGCCTAAGGACACCCCTGATGATCTCTCGG ACCCCTGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCTCAGGAGGATCCCGAAGTGAAGTTCATTTGGTACGTGGACGGCTGGAAGTG CACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACCTACAGAGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGCACCAAGGATTGG CTGAACGCCAAGAGTACAAGTGAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTCTGCCTGAGGAAAAGACCATCTCTAAGGCTAAGGGCCAG CCTCGCGAGCCTCAGGTTTACACACTGCCTCCATCTCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCACTGACCTGCCTCGTGAAGGGC TTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAATGGCCAGCCTGAGAACAACCTACAAGACAACCCCTCTGTGTGGACTCC GACGGCTCATTTCTTCTGTACTCCAAGCTGACAGTGGACAAGTCTCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCTTGTAGTGTGCTGCAC GAGGCCCTGCACCTCCACTATACCCAGAAGTCTCTGTCTCTGAGCCCCGGCAA
597	CAGGTGCAGTCTGTCAGTCTGGCGCCGCTGTGACAAAACCAGGCGCTTCTGTGCGGGTGTCTGCGAGGCCAGCGGCTACAACATC CGGGACTACTTTCATTCACTGGTGGCGCCAGGCCCTGGACAGGACTGCAGTGGTGGGATGGATCAACCCCAAGACCGGCCAGCCC AACAACCCAGACAGTTCAGGGCAGAGTGTCCCTGACCAGACACGCCAGCTGGGACTTCGACACCTTCAGCTTCTACATGGACCTG AAGGCCCTGCGGAGCGACGATACCGCCGTGACTTCTGCGCCAGACAGAGAAGCGACTACTGGGATTTTCGACGTGTGGGCAGCGGC ACCCAAGTGACCGTGTCTATCTGCTAGCACCAGGGCCCGCAGCGTGTTCCTCTGGCCCTAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACA GCGGCCCTGGGCTGCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAGCCGCTGACCGTGTCTGGAACTCTGGCGCTGTGACAAGCGGCTGCAC ACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCCTGTACTCTCTGACAGCGTCTGTGACAGTGCACAGCAGCTCTCTGGGCACCCAGACC TACATCTGCAACGTGAACCAAGCCAGCAACACCAAGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAGAGTGTGCGACAAGACCCACACCTGT CCCCCTGTCTGCCCCGAACTGTGGCTGGCCCTGACGTGTTCTGTTCCTCCCAAGCCCAAGGACACCCCTGATGATCAGCCGG ACCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCCAGGAGGCCCTGAAGTGAAGTTCATTTGGTACGTGGACGGCTGGAAGTG CACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACAGCCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGTGCACCAAGGACTGG
	CTGAACGCCAAGAGTACAAGTGAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCCTGCCCGAGGAAAAGACCATCTCTAAGGCCAAGGGACAG CCCCGCGAGCCCAAGTGTACACACTGCCTCCAAGCCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTCGTGAAGGC TTCTACCCAGCGACATTTGCCGTGGAATGGGAGAGCAACGGCCAGCCGAGAAACAACCTACAAGACCACCCCCCTGTGTGGACAGC GACGGCTCATTTCTTCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTCAGCTGTAGCGTGTGTGCAT GAGGCTCTGCACAGCCACTACACGCAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA
598	CAGGTGCAGTTGTTGCAGTCTGGCGCCGCTGTACAAAGCCTGGCGCTTCTGTAGAGTGTCTGCGAGGCCTCCGGCTACAACATC AGAGACTACTTTCATCCACTGGTGGCGCCAGGCTCCAGGACAGGGATTGCAATGGGTCGGATGGATCAACCCTAAGACCGGCCAGCCT AACAACCCCTAGACAGTTCAGGGCAGAGTGTCCCTGACCAGACACGCCCTTTTCGACTTCGACACCTTCAGCTTCTACATGGACCTG AAGGCCCTGAGATCCGACGATACCGCCGTGACTTCTGCGCCAGACAGAGAAGCGACTACTGGGACTTCGATGTGTGGGGCTCTGGC ACCCAAGTGACCGTGTCCCTGTCTTACCAAGGGACCCCTCTGTGTTCCCTCTGGCTCCTCCAGCAAGTCTACCTCTGGTGGAAAC GCTGCTCTGGGCTGCTGGTCAAGGATTACTTTCCCTGAGCCTGTGACAGTGTCTGGAACTCTGGTGTCTGACCTCCGGCTGCAC ACATTTCCAGCTGTGCTGCAGTCTCCGGCCTGTACTCTGTCTCTGTCTGTCGACCGTGCCTTCTAGCTCTCTGGGCACCCAGACC TACATCTGCAACGTGAACCAAGCCTTCCAACACCAAGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAGTCTGCGACAAGACCCACACCTGT CCTCCATGTCTGCTCCAGAAGTGTGGCTGGCCCGATGTCTTTCTGTTCCTCCAAAGCCTAAGGACACCCCTGATGATCTCTCGG ACCCCTGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCTCAGGAGGATCCCGAAGTGAAGTTCATTTGGTACGTGGACGGCTGGAAGTG CACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACCTACAGAGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGCACCAAGGATTGG CTGAACGCCAAGAGTACAAGTGAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTCTGCCTGAGGAAAAGACCATCTCTAAGGCTAAGGGCCAG CCTCGCGAGCCTCAGGTTTACACACTGCCTCCATCTCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCACTGACCTGCCTCGTGAAGGGC TTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAATGGCCAGCCTGAGAACAACCTACAAGACAACCCCTCTGTGTGGACTCC GACGGCTCATTTCTTCTGTACTCCAAGCTGACAGTGGACAAGTCTCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCTTGTAGTGTGCTGCAC GAGGCCCTGCACCTCCACTATACCCAGAAGTCTCTGTCTCTGAGCCCCGGCAA
599	CAGGTGCAGTCTGTCAGTCTGGCGCCGCTGTGACAAAACCAGGCGCTTCTGTGCGGGTGTCTGCGAGGCCAGCGGCTACAACATC CGGGACTACTTTCATTCACTGGTGGCGCCAGGCCCTGGACAGGACTGCAGTGGTGGGATGGATCAACCCCAAGACCGGCCAGCCC AACAACCCAGACAGTTCAGGGCAGAGTGTCCCTGACCAGACACGCCAGCTTCGACTTCGACACCTTCAGCTTCTACATGGACCTG AAGGCCCTGCGGAGCGACGATACCGCCGTGACTTCTGCGCCAGACAGAGAAGCGACTACTGGGATTTTCGACGTGTGGGCAGCGGC ACCCAAGTGACCGTGTCTATCTGCTAGCACCAGGGCCCGCAGCGTGTTCCTCTGGCCCTAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACA GCGGCCCTGGGCTGCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAGCCGCTGACCGTGTCTGGAACTCTGGCGCTGTGACAAGCGGCTGCAC GAGGCCCTGCACCTCCACTATACCCAGAAGTCTCTGTCTCTGAGCCCCGGCAA

	<p>ACCTTTCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCTGTACTCTCTGAGCAGCGTCTGACAGTGCCAGCAGCTCTCTGGCACCAGACC TACATCTGCAACGTGAACCAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGT CCCCCTTGCTCTGCCCCGAACTGCTGGCTGGCCCTGACGTGTTCTGTTCCCCCAAGCCAAAGGACACCCTGATGATCAGCCGG ACCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCACGAGGACCCCTGAAAGTGAAGTTCATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAAGTG CACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGCTGCACCAGGACTGG CTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCCTGCCCGAGGAAAAGACCATCTCTAAGGCCAAGGGACAG CCCCGCGAGCCCGAGTGTACACACTGCCCTCCAAGCCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTCGTGAAGGC TTCTACCCAGCGACATGCGGTGGAATGGGAGAGCAACGCCAGCCGAGCCGAGAACAACCTACAAGACCACCCCTCTGTGTTGACAGC GACGGCTCATTTCTCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCCGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTAGCTGTAGCGTGTTCGAT GAGGCTCTGCACAGCCACTACACGAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA</p>
<p>600</p>	<p>CAGGTCCACTTGTCTCAATCTGGCGCCGCTGTGACAAAGCCTGGCGCTTCTGTGACAGTGTCTTGGCAGGCCTCTGGCTACAAGATC CGGGACCACTTTATCCACTGGTGGCGACAGGCTCCAGGACAGGGATTGACAGTGGGTGGATGGATCAACCCTAAGACCGGCCAGCCT AACAAACCTAGACAGTTCAGGGCAGAGTGTCCCTGACCAGACACGCCCTTTGGGACTTCGACACCTTCAGCTTCTACATGGACCTG AAGGCCGTGCGGAGCGACGACACCCGTATCTACTTTTGGCCAGACAGAGATCCGACTACTGGGATTCGATGTGTGGGCTCTGGC ACCAAGTGACCGTGTCTCTGCTTCTACCAAGGACCCCTCTGTGTTCCCTCTGGCTCCTTCCAGCAAGTCTACCTCTGGTGGAAAC GCTGCTCTGGGTGCTGCTGGTCAAGGATTACTTTCTGAGCCTGTGACAGTGTCTGGAACCTCTGGTGTCTGACCTCCGGCGTGCAC ACATTTCCAGCTGTGTGTCAGTCTCCGGCTGTACTCTCTGTCTCTGTGACCGTGCCTTCTAGCTCTCTGGCACCAGACC TACATCTGCAACGTGAACCAAGCCTTCCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAGTCTGCGACAAGACCCACACCTGT CCTCCATGTCTGTCCAGAACTGCTGGCTGGCCCCGATGCTTTCTGTTCCCTCCAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCTCTCGG ACCCCTGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCTCACGAGGATCCCGAAGTGAAGTTCATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAAGTG CACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACTACAGAGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGCACCAGGATTGG CTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCCTGTGCTGAGGAAAAGACCATCTCTAAGGCTAAGGGCCAG CCTCGCAGCCCTCAGTGTACACACTGCCCTCCAATCTCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCTGACTGACCTGCTCTGAAAGGC TTCTACCCCTCCGATATCGCGTGGAAATGGGAGTCCAATGGCCAGCCTGAGAACAACCTACAAGACAACCCCTCTGTGTTGACTCC GACGGCTCATTTCTCTGTACTCCAAGCTGACAGTGGACAAGTCTCCGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCTTGTAGTGTGTGCAC GAGGCCCTGCACCTCCACTATACCCAGAAGTCCCTGTCTCTGTCCCTGGCAA</p>
<p>601</p>	<p>CAGGTCCACTTGTCTCAATCTGGCGCCGCTGTGACAAAGCCTGGCGCTTCTGTGACAGTGTCTTGGCAGGCCTCTGGCTACAAGATC AGGGACCACTTTATCCACTGGTGGCGCCAGGCTCCAGGACAGGGACTTCAATGGGTGGATGGATCAACCCTAAGACCGGCCAGCCT AACAAACCCAGACAGTTCAGGGCAGAGTGTCTGACAAAGACACGCCAGCTGGGACTTCGACACCTTCAGCTTCTACATGGACCTG AAGGCCGTGCGGAGCGACGACACCCGTATCTACTTTTGGCCAGACAGAGAAGCGACTACTGGGATTCGATGTGTGGGCGAGCGGC ACCAAGTGACAGTCTCTCTGCTAGCACCAAGGGCCCGAGCGTGTCCCTCTGGCCCTAGCAGCAAGACACATCTGGCGGAACA GCCGCCCTGGGTGCTCTGTAAGGACTACTTTCCGAGCCGTGACCGTGTCTGGAACCTCTGGCGCTCTGACAAGCGGCGTGCAC ACTTTCCAGCCGTGTGTCAGAGCAGCGGCTGTACTCTCTGAGCAGCGTCTGACAGTGCACAGCAGCTCTCTGGCACCAGACC TACATCTGCAACGTGAACCAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGT CCCCCTTGCTCTGCCCCGAACTGCTGGCTGGCCCTGACGTGTTCTGTTCCCCCAAGCCAAAGGACACCCTGATGATCAGCCGG ACCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCACGAGGACCCCTGAAGTGAAGTTCATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAAGTG CACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGTGCACCAGGACTGG CTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCCTGCCCGAGGAAAAGACCATCTCTAAGGCCAAGGGACAG CCCCGCGAGCCCGAGTGTACACACTGCCCTCCAAGCCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTCGTGAAGGC TTCTACCCAGCGACATGCGGTGGAATGGGAGAGCAACGCCAGCCGAGCCGAGAACAACCTACAAGACCACCCCTCTGTGTTGACAGC GACGGCTCATTTCTCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCCGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTAGCTGTAGCGTGTTCGAT GAGGCTCTGCACAGCCACTACACGAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA</p>
<p>602</p>	<p>CAGGTCCACTTGTCTCAATCTGGCGCCGCTGTGACAAAGCCTGGCGCTTCTGTGACAGTGTCTTGGCAGGCCTCTGGCTACAAGATC CGGGACCACTTTATCCACTGGTGGCGACAGGCTCCAGGACAGGGATTGACAGTGGGTGGATGGATCAACCCTAAGACCGGCCAGCCT AACAAACCTAGACAGTTCAGGGCAGAGTGTCCCTGACCAGACACGCCCTTTTCGACTTCGACACCTTCAGCTTCTACATGGACCTG AAGGCCGTGCGGAGCGACGACACCCGTATCTACTTTTGGCCAGACAGAGATCCGACTACTGGGATTCGATGTGTGGGCTCTGGC ACCAAGTGACCGTGTCTCTGCTTCTACCAAGGACCCCTCTGTGTTCCCTCTGGCTCCTTCCAGCAAGTCTACCTCTGGTGGAAAC GCTGCTCTGGGTGCTGCTGGTCAAGGATTACTTTCTGAGCCTGTGACAGTGTCTGGAACCTCTGGTGTCTGACCTCCGGCGTGCAC ACATTTCCAGCTGTGTGTCAGTCTCCGGCTGTACTCTCTGTCTCTGTGACCGTGCCTTCTAGCTCTCTGGCACCAGACC TACATCTGCAACGTGAACCAAGCCTTCCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAGTCTGCGACAAGACCCACACCTGT CCTCCATGTCTGTCCAGAACTGCTGGCTGGCCCCGATGCTTTCTGTTCCCTCCAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCTCTCGG ACCCCTGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCTCACGAGGATCCCGAAGTGAAGTTCATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAAGTG CACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACTACAGAGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGCACCAGGATTGG</p>

	<p>CTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTCTGCCTGAGGAAAAGACCATCTCTAAGGCTAAGGGCCAG CCTCGCGAGCCTCAGGTTTACACACTGCCTCCATCTCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCACTGACCTGCCTCGTGAAGGGC TTCTACCCTTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAATGGCCAGCCTGAGAACAACATAAGACAACCCCTCCTGTGTGGACTCC GACGGCTCATTCTTCCGTACTCCAAGCTGACAGTGGACAAGTCTCGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCTTGTAGTGTGCTGCAC GAGGCCCTGCACTCCCCTATATACCCAGAAGTCCCTGTCTCTGTCCCCTGGCAAA</p>
<p>603</p>	<p>CAGGTCCACCTGTCTCAATCTGGCGCCGCTGTTACAAAACCAGGGCCCTCTGTTAGAGTGTCTTGGGAGGCCAGCGGCTACAAGATC AGGGACCCTTTATTCACTGGTGGCCAGGCTCCAGGACAGGACTTCAATGGGTGGATGGATCAACCCTAAGACCGGCCAGCCT AACAAACCCAGACAGTTCAGGGCAGAGTGTCTCTGACAAGACACGCCAGCTTCGACTTCGACACCTTCAGCTTCTACATGGACCTG AAGGCCGTGGGAGCGACGACACCGCCATCTATTTTTGCGCCAGACAGAGAAGCGACTACTGGGATTTTCGATGTGTGGGCAGCGGC ACCCAAGTGACAGTCTTCTGTCTAGCACCAGGGCCCCAGCGTGTTCCTCTGGCCCTAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACA GCCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAGCCCCGTGACCGTGTCTGGAACCTCTGGCGCTCTGACAAGCGGCGTGCAC ACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCCTGTACTCTCTGAGCAGCGTCTGACAGTGGCCAGCAGCTCTCTGGGCACCCAGACC TACATCTGCAACGTGAACCAAGCCAGCAACCAAGGTGGACAAGAGTGAACCCAAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGT CCCCTTGTCTTCCCGGAACTGCTGGCTGGCCCTGACGTGTTCCCTGTTCCCGGAAAGCCCAAGGACACCCCTGATGATCAGCCGG ACCCCGAAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTCAATTGGTACGTGGACGCGGTGGAAGTG CACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGTGCACCAGGACTGG CTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCCTGCCCGAGGAAAAGACCATCTCTAAGGCCAAGGGACAG CCCCAGGAGCCAGGTGTACACACTGCCTCCAAGCCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTCGTGAAGGC TTCTACCCAGCGACATTTCCGTGGAATGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACATAAGACCACCCCCCTGTGTGGACAGC GACGGCTCATTCTTCCGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTAGCTGTAGCGTGTTCGAT GAGGCTCTGCACAGCCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA</p>
<p>604</p>	<p>CAGGTCCACTTGTCTCAATCTGGCGCCGCTGTGACAAAGCCTGGCGCTTCTGTGAGAGTGTCTTGGGAGGCCCTCCGGCTACAACATC CGGGACTACTTTATCCACTGGTGGCGCAGGCTCCAGGACAGGATTGCAATGGGTGGATGGATCAACCCTAAGACCGGCCAGCCT AACAAACCTAGACAGTTCAGGGCAGAGTGTCCCTGACCAGACACGCCCTTTGGGACTTCGACACCTTCAGCTTCTACATGGACCTG AAGGCCGTGGGAGCGACGACACCGCTATCTACTTTTGGCCAGACAGAGATCCGACTACTGGGATTTTCGATGTGTGGGCTCTGGC ACCCAAGTGACCGTGTCTCTGCTTCTACCAAGGACCCTCTGTGTTCCCTCTGGCTCCTTCCAGCAAGTCTACCTCTGGTGGAAAC GTGCTCTGGGCTGCCTGGTCAAGGATTACTTTCTGAGCCTGTGACAGTGTCTGGAACCTGGTGTCTGACCTCCGGCGTGCAC</p>
	<p>ACATTTCCAGCTGTGCTGCAGTCCCTCCGGCCTGTACTCTCTGTCTCTGTCTGACCGTGCCTTCTAGCTCTCTGGGCACCCAGACC TACATCTGCAACGTGAACCAAGCCTTCCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAAGTCTGCGACAAGACCCACACCTGT CCTCCATGTCTGTCCAGAACTGCTGGCTGGCCCCGATGTCTTTCTGTTCCTTCCAAGCCTAAGGACACCCCTGATGATCTCTCGG ACCCTTGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCTCACGAGGATCCCGAAGTGAAGTCAATTGGTACGTGGACGGCCGTGGAAGTG CACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACCTACAGAGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGCACCAGGATTGG CTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCCTGTGCCTGAGGAAAAGACCATCTCTAAGGCTAAGGGCCAG CCTGCGAGCCTCAGGTTTACACACTGCCTCCATCTCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCACTGACCTGCCTCGTGAAGGGC TTCTACCCTTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAATGGCCAGCCTGAGAACAACATAAGACAACCCCTCCTGTGTGGACTCC GACGGCTCATTCTTCTGTACTCCAAGCTGACAGTGGACAAGTCTCGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCTTGTAGTGTGCTGCAC GAGGCCCTGCACTCCCCTATATACCCAGAAGTCCCTGTCTCTGTCCCCTGGCAAA</p>
<p>605</p>	<p>CAGGTCCACCTGTCTCAATCTGGCGCCGCTGTTACAAAACCAGGGCCCTCTGTTAGAGTGTCTTGGGAGGCCAGCGGCTACAACATC CGGGACTACTTTATTCACTGGTGGCCAGGCTCCAGGACAGGACTTCAATGGGTGGATGGATCAACCCTAAGACCGGCCAGCCT AACAAACCCAGACAGTTCAGGGCAGAGTGTCTCTGACAAGACACGCCAGCTGGGACTTCGACACCTTCAGCTTCTACATGGACCTG AAGGCCGTGGGAGCGACGACACCGCCATCTATTTTTGCGCCAGACAGAGAAGCGACTACTGGGATTTTCGATGTGTGGGCAGCGGC ACCCAAGTGACAGTCTTCTGTCTAGCACCAGGGCCCCAGCGTGTTCCTCTGGCCCTAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACA GCCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAGCCCCGTGACCGTGTCTGGAACCTCTGGCGCTCTGACAAGCGGCGTGCAC ACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCCTGTACTCTCTGAGCAGCGTCTGACAGTGGCCAGCAGCTCTCTGGGCACCCAGACC TACATCTGCAACGTGAACCAAGCCAGCAACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAAGAGTTCGACAAGACCCACACCTGT CCCCTTGTCTTCCCGGAACTGCTGGCTGGCCCTGACGTGTTCCCTGTTCCCGGAAAGCCCAAGGACACCCCTGATGATCAGCCGG ACCCCGAAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCACGAGGACCCCTGAAGTGAAGTCAATTGGTACGTGGACGGCCGTGGAAGTG CACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGTGCACCAGGACTGG CTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCCTGCCCGAGGAAAAGACCATCTCTAAGGCCAAGGGACAG CCCCAGGAGCCAGGTGTACACACTGCCTCCAAGCCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTCGTGAAGGC TTCTACCCAGCGACATTTCCGTGGAATGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACATAAGACCACCCCCCTGTGTGGACAGC GACGGCTCATTCTTCTGTACTCCAAGCTGACAGTGGACAAGTCCCGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCTTGTAGTGTGCTGCAC GAGGCTCTGCACAGCCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA</p>

Полинуклеотиды, кодирующие легкую цепь (LC)

SEQ ID NO:	ПОЛИНУКЛЕОТИДНАЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ, КОДИРУЮЩАЯ LC
606	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCTTCCCTCTTATCCGCTAGCGTGGCGGATACCGTGACCATCACATGCCAAGCTAACGGCTACCTC AACTGGTACCAGCAGCGGAGGGGAAAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGGCTCCAAGCTGGAGAGGGGAGTGCCTTCCCGGTTT AGCGGAAGGAGGTGGGGACAAGAATACAATTTAACCATCAACAATTTACAGCCCGAGGACATCGCTACCTACTTCTGCCAAGTTTAC GAGTTCGTGGTGGCCGGCAGCTCGTCTGGATCTGAAGAGGACCGTGGCCGCCCCCTCCGTGTTCATCTTTCCCTTCCGACGAGCAG CTGAAGTCCGGCACCCTCCGTGGTGTGTACTGAACAACCTTACCCCTCGTGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAAGTGGACAACGCT TTACAGTCCGGCAACTCCCAAGAATCCGTGACCGAGCAAGATAGCAAGGACTCCACCTACTCCCTTCCAGCAGCTTTAACTTTATCC AAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCTTGTGAGGTGACCCACCAAGGTCTGTCTCCCTCCCGGTGACAAAGTCTTCAATCGG GGCAGTGT
607	GACATCCAGATGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGATACCGTGACCATTACCTGCCAGGCCAACGGCTACCTG AACTGGTATCAGCAGCGGAGAGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGGCAGCAAGCTGGAAGAGGGCTGCCAGCAGATTC AGCGGCAGAAGATGGGGCCAGGAGTACAACCTGACCATCAACAACCTGCAGCCCGAGGATATCGCCACATACTTTTGCCAGGTGTAC GAGTTCGTGGTGGCCGGCACACGGCTGGACCTGAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAG TTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGTGGATAACGCC CTCCAATCGGGTAACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGC AAAGCAGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCTGCGAAGTACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCAAAAGAGCTTCAACAGG GGAGAGTGT
608	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCTCTGTCTGCCTCTGTGGGCGATACCGTACCATCACCTGTCAGGCCAACGGCTACCTG AACTGGTATCAGCAGAGAAGAGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGGCTCCAAGCTGGAAGAGGGCTGCCCTCTCGGTTT TCTGGCAGAAGATGGGGCCAAGAGTACAACCTGACCATCAACAACCTGCAGCCTGAGGATATCGCCACATACTTTTGCCAGGTGTAC GAGTTCGTGGTGGCCGGCAGACTGGACCTGAAGAGAACCGTGGCCGCTCCTTCCGTGTTCATCTTCCACCATCTGACGAGCAG CTGAAGTCTGGCACCCTTCTGTCTGTGTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCCTCGGGAAGCCAAAGGTGCAGTGGAAAGTGGACAATGCC CTGCAGTCCGGCAACTCCCAAGAGTCTGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACTTACCTACAGCCTGTCTCCACACTGACCCTGTCT AAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCTGCGAAGTACCCATCAGGGACTGTCTAGCCCGGTGACCAAGTCTTCAACAGA GGCAGTGT
609	GATATTCAGATGACACAGAGCCCCAGTAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGACACCGCAACCATCACCTGTCAGGCCAACGGCTATCTG AACTGGTATCAACAGAGGAGGGGCAAGGCCCCCAAGCTCCTGATATACGACGGCAGCAAGCTGGAGAGGGGCGTTCCAGCCGCTTC AGCGGCAGGAGGTGGGGCCAGGAGTACAACCTTACAATCAACAACCTGCAGCCCGAGGACATCGCCACCTATTTCTGCCAAGTTTAC GAGTTCGTGGTGGCCGGCAGCAGGCTGGACCTGAAGCGGACCGTGGCCGCCCCAGCGTGTTCATCTTCCCTCCAGCAGCAGCAGCAG CTGAAGTCTGGCACCCTCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAAGTGGACAACGCC CTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGAACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCACCTGACCCTGAGC AAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCTGCGAAGTACCCATCAGGGACTGTCTAGCCCGGTGACCAAGTCTTCAACAGG GGCAGTGT
610	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCTCTGTCTGCCTCTGTGGGCGACAGAGCTACCATCACCTGTCAGGCCAACGGCTACCTG AACTGGTATCAGCAGAGAAGAGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGGCTCCAAGCTGGAAGAGGGCTGCCCTCCAGATTC TCCGGCTTAGATGGGGCCAAGAGTACAACCTGACCATCTCCAGCCTCCAGCCTGAGGATATCGCCACATACTTTTGCCAGGTGTAC GAGTTCCTCGGCCCTGGCACCAGACTGGACCTGAAGAGAACAGTGGCCGCTCCTTCCGTGTTCATCTTCCACCATCTGACGAGCAG CTGAAGTCTGGCACCCTTCTGTCTGTGTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCCTCGGGAAGCCAAAGGTGCAGTGGAAAGTGGACAATGCT CTCCAGTCCGGCAACTCCCAAGAGTCTGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACTTACCTACAGCCTGTCTCCACACTGACCCTGTCT AAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCTGCGAAGTACCCATCAGGGACTGTCTAGCCCGGTGACCAAGTCTTCAACAGG GGCAGTGT
611	GATATTCAGATGACACAGAGCCCCAGTAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGACAGAGCAACCATCACCTGTCAGGCCAACGGCTATCTG AACTGGTATCAACAGAGAAGGGGCAAGGCCCCCAAGCTCCTGATATACGACGGCAGCAAGCTGGAGAGGGGCGTTCCAGCCGCTTC AGCGGCTCAAGTGGGGCCAGGAGTACAACCTTACAATCTCATCCCTGCAGCCCGAGGACATCGCCACCTATTTCTGCCAAGTTTAC GAGTTCCTCGGACCCGGCACCAGGCTGGACCTGAAGCGGACCGTGGCCGCCCCAGCGTGTTCATCTTCCCTCCAGCAGCAGCAGCAG CTGAAGTCTGGCACCCTTCTGTCTGTGTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCCTCGGGAAGCCAAAGGTGCAGTGGAAAGTGGACAATGCT CTCCAGTCCGGCAACTCCCAAGAGTCTGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACTTACCTACAGCCTGTCTCCACACTGACCCTGTCT AAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCTGCGAAGTACCCATCAGGGACTGTCTAGCCCGGTGACCAAGTCTTCAACAGG GGCAGTGT
612	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCTCTGTCTGCCAGAGTGGGCGACACCGTGACAATCACCTGTCAGGCCAACGGCTACCTG AACTGGTATCAGCAGAGAAGAGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGGCTCCAAGCTGGAAGAGGGCTGCCCGCTAGATTC TCCGGCAGAAGATGGGGCCAAGAGTACAACCTGACCATCAACAACCTGCAGCCTGAGGACGTGGCCACATACTTTTGCCAGGTGTAC GAGTTCATCTGTGGCCGGCACCAGACTGGACCTGAAGAGAACAGTTGCCGCTCCTTCCGTGTTCATCTTCCACCTTCCGACGAGCAG

	CTGAAGTCTGGCACAGCTTCTGTCTGTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCTCGGGAAGCCAAGGTGCAGTGGAAAGTGGACAATGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAAGAGTCTGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACTCTACCTACAGCCTGTCTCCCACTGACCCTGTCTAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCATCAGGGACTGTCTAGCCCCGTGACCAAGTCTTCAACAGAGCGGAGTGT
613	GATATTCAGATGACACAGAGCCCCAGTAGCCTGAGCGCCCGCTGGGCGACACCGTGACCATCACCTGTGAGGCCAACGGCTATCTGAACCTGGTATCAACAGAGGAGGGGCAAGGCCCCCAAGCTCTGTATATACGACGGCAGCAAGCTGGAGAGGGGCGTTCCCGCACGCTTACAGCGGCAGGAGTGGGGCCAGGAGTACAACCTTACAATCAACAACCTGCAGCCCGAGGACGTCGCCACCTATTTCTGCCAAGTTTACGAGTTTCATCGTGCCCGGCACCAGGCTGGACCTGAAGCGGACCGTGGCCGCCCCAGCGTGTTCATCTTCCCTCCAGCGACGAGCAGCTGAAGTCTGGCACCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAAGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCACCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGACTGTCTAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACCGGGCGGAGTGC
614	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCTGTCTGCCTCTGTGGGCGATACCGCTACCATCACCTGTGAGGCCAACGGCTACCTGAACCTGGTATCAGCAGAGAAGAGGCCAAGGCCCTAAGCTGCTGATCTACGACGGCTCCAACCTGGAAAGAGGCGTGCCCTCTCGGTTCTCTGGCAGAAGATGGGGCCAAAGGTACACCCTGACCATCAACAACCTGCAGCCTGAGGATATCGCCACATACTTTTCCAGGTGTACGACTTCTTCCGCCCTGCCACCAGACTGGACCTCAAGACAACAGTGGCCCTCTTCCCTCTTCATCTTCCACCATCTGACGAGCACCTGAAGTCTGGCACCCTTCTGTCTGTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCCTGGGAAGCCAAGGTGCAGTGGAAAGTGGACAATGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAAGAGTCTGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACTCTACCTACAGCCTGTCTCCACTGACCTGTCTAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCATCAGGGACTGTCTAGCCCCGTGACCAAGTCTTCAACAGAGCGGAGTGT
615	GACATCCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCTGGGAGATACCGCCACAATTACCTGTGAGGCCAACGGCTACCTGAACCTGGTATCAGCAGCGGAGAGGCCAAGGCCCTAAGCTGCTGATCTACGACGGCTCCAACCTGGAAAGAGGCGTGCCCGCAGCAGATTCAGCGGCAGAAGATGGGGCCAAAGGTACACCCTGACCATCAACAACCTGCAGCCTGAGGATATTCGCACATACTTTTCCAGGTGTACGAGTTCTTCGGCCCTGGCACCAGACTGGACCTGAAGAGAACAGTGGCCGCTCCTAGCGTGTTCATCTTCCACCTTCCGACGAGCAGCTGAAGTCTGGCAGCAGCTTCTGTCTGTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCAGAGAAGCCAAGGTGCAGTGGAAAGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAATAGCCAAGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCTACCTACTCTGTGAGCAGCACCTGACACTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGCCTTCTAGCCCTGTGACCAAGAGCTTCAACCGGGCGGAGTGT
616	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCTGTCTGCCTCTGTGGGCGACAGAGCTACCATCACCTGTGAGGCCAACGGCTACCTGAACCTGGTATCAGCAGAGAAGAGGCCAAGGCCCTAAGCTGCTGATCTACGACGGCTCCAACCTGGAAAGAGGCGTGCCCTCCAGATTCCTCGGCTCTAGATGGGGCCAAAGGTACACCCTGACCATCTTAGCCTGCAGCCTGAGGATATCGCCACATACTTTTCCAGGTGTACGAGTTCTTCGGCCCTGGCACCAGACTGGACCTGAAGAGAACAGTGGCCGCTCCTTCCGTGTTCATCTTCCACCATCTGACGAGCAGCTGAAGTCTGGCACCCTTCTGTCTGTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCCTGGGAAGCCAAGGTGCAGTGGAAAGTGGACAATGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAAGAGTCTGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACTCTACCTACAGCCTGTCTCCACTGACCTGTCTAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCATCAGGGACTGTCTAGCCCCGTGACCAAGTCTTCAACAGAGCGGAGTGT
617	GACATCCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCTCTGTGGGCGATAGAGCCACAATCACCTGTGAGGCCAACGGCTACCTGAACCTGGTATCAGCAGAGAAGAGGCCAAGGCCCTAAGCTGCTGATCTACGACGGCTCCAACCTGGAAAGAGGCGTGCCAAGCAGATTCAGCGGCTTAGATGGGGCCAAAGGTACACCCTGACCATCTTAGCCTGCAGCCTGAGGATATCGCCACATACTTTTCCAGGTGTACGAGTTCTTCGGCCCTGGCACCAGACTGGACCTGAAACGTACCGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGGCTCTGTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAGCAGACTACGAGAAGCACAAGTCTACGCCTGCGAAGTGACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTACAAAGAGCTTCAACAGGGAGAGTGT
618	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCTGTCTGCCAGATGGGCGATACCGCTACCATCACCTGTGAGGCCAACGGCTACCTGAACCTGGTATCAGCAGAGAAGAGGCCAAGGCCCTAAGCTGCTGATCTACGACGGCTCCAACCTGGAAAGAGGCGTGCCCGCTAGATTCCTCGGCAGAAGATGGGGCCAAAGGTACACCCTGACCATCAACAACCTGCAGCCTGAGGACGTTGCCACATACTTTTCCAGGTGTACGAGTTTCATCGTGCCCGGCACCAGACTGGACCTGAAGAGAACAGTGGCCGCTCCTTCCGTGTTCATCTTCCACCTTCCGACGAGCAGCTGAAGTCTGGCAGCAGCTTCTGTCTGTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCCTGGGAAGCCAAGGTGCAGTGGAAAGTGGACAATGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAAGAGTCTGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACTCTACCTACAGCCTGTCTCCACTGACCTGTCTAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCATCAGGGACTGTCTAGCCCCGTGACCAAGTCTTCAACAGAGCGGAGTGT
619	GATATTCAGATGACACAGAGCCCCAGTAGCCTGAGCGCCCGCTGGGCGACACCGCGACCATCACCTGTGAGGCCAACGGCTATCTGAACCTGGTATCAACAGAGGAGGGGCAAGGCCCCCAAGCTCTGTATATACGACGGCAGCAAGCTGGAGAGGGGCGTTCCCGCACGCTTACAGCGGCAGGAGTGGGGCCAGGAGTACACCCTTACAATCAACAACCTGCAGCCCGAGGACGTCGCCACCTATTTCTGCCAAGTTTACGAGTTTCATCGTGCCCGGCACCAGGCTGGACCTGAAGCGGACCGTGGCCGCCCCAGCGTGTTCATCTTCCCTCCAGCGACGAGCAGCTGAAGTCTGGCACCAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAAGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCACCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGACTGTCTAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACCGGGCGGAGTGC

Векторы и клетки-хозяева.

В объем настоящего изобретения также входят векторы, содержащие нуклеиновую(-ые) кислоту(-ы), описанную(-ые) в данном изобретении. Вектор может быть любого типа, например, рекомбинантный вектор, такой как вектор экспрессии. Векторы включают, но не ограничены перечисленными: плазмиды,

космиды, бактериальные искусственные хромосомы (BAC), дрожжевые искусственные хромосомы (YAC) и векторы, полученные из бактериофагов или вирусов растений или животных (включая человека). Векторы могут содержать точку начала репликации, узнаваемую предполагаемой клеткой-хозяином, и, в случае векторов экспрессии, промотор и другие регуляторные области, узнаваемые клеткой-хозяином. В дополнительных вариантах реализации вектор содержит полинуклеотид, кодирующий антиген согласно настоящему изобретению, функционально связанный с промотором, и необязательно дополнительные регуляторные элементы. Некоторые векторы способны к автономной репликации в хозяине, в которого их внедрили (например, векторы, содержащие бактериальную точку начала репликации, могут реплицироваться в бактериях). Другие векторы можно встроить в геном хозяина после внедрения в хозяина, и, благодаря этому, они реплицируются вместе с геномом хозяина. Векторы включают, но не ограничены векторами, подходящими для рекомбинантного получения антител, описанных в данном изобретении.

Выбор вектора зависит от того, каким рекомбинантным процедурам следуют, и от используемого хозяина. Внедрение векторов в клетки-хозяева можно осуществить путем, среди прочего, кальций-фосфатной трансфекции, вирусной инфекции, опосредованной DEAE-декстраном трансфекции, трансфекции липофектаминол или электропорации. Векторы могут быть автономно реплицирующиеся или могут реплицироваться вместе с хромосомой, в которую их встроили. В некоторых вариантах реализации векторы содержат один или более селективных маркеров. Выбор маркеров может зависеть от выбранных клеток-хозяев. Они включают, но не ограничены перечисленными: канамицин, неомицин, пурамицин, гигромицин, зеоцин, ген тимидинкиназы из вируса простого герпеса (HSV-TK) и ген дигидрофолатредуктазы из мыши (*dhfr*). Векторы, содержащие одну или более молекул нуклеиновых кислот, кодирующих антигена, описанные в данном изобретении, функционально связанных с одной или более молекулами нуклеиновых кислот, кодирующими белки или пептиды, которые можно применять для выделения антител, также входят в объем настоящего изобретения. Данные белки или пептиды включают, но не ограничены перечисленными: глутатион-S-трансферазу, связывающий мальтозу белок, связывающий металл полигистидин, зеленый флуоресцентный белок, люциферазу и бета-галактозидазу.

В других вариантах реализации вектор, который применяют, представляет собой pcDNATM3.1+ (ThermoFisher, Массачусетс).

В настоящем изобретении также предложены клетки-хозяева, содержащие нуклеиновую кислоту или вектор, описанный в данном изобретении. Можно применять любую из различных клеток-хозяев. В одном варианте реализации клетка-хозяин представляет собой прокариотическую клетку, например, *E. coli*. В другом варианте реализации клетка-хозяин представляет собой эукариотическую клетку, например, клетку дрожжей, клетку растений (например, клетку табака) или клетку млекопитающего, такую как клетка яичника китайского хомячка (CHO) (например, CHO-S®, CHO-K1, CHO-K1a, CHO DG44, ExpiCHOTM), клетки COS, клетки ВНК, клетки NSO или клетки меланомы Bowes. Примеры человеческих клеток-хозяев представляют собой, среди прочих, клетки HeLa, 911, AT1080, A549, 293 и HEK293 (например, HEK293E, HEK293T, Expi293TM). Кроме того, антигена (например, scFv) можно экспрессировать в клетке дрожжей, такой как *Pichia* (см., например, Powers и др., *J Immunol Methods*. 251:123-35 (2001)), *Hansenula* или *Saccharomyces*. Получение антитела в трансгенных растениях табака и культивируемых клетках растений описано, например, в Sacks и др., *Plant Biotechnol J.* (2015) 13(8): 1094-105; Klimyuk и др., *Curr Top Microbiol Immunol.* (2014) 375:127-54 и Cramer и др., *Curr Top Microbiol Immunol.* (1999) 240:95-118.

В некоторых вариантах реализации клетка-хозяин преимущественно сialiрует сайты N-связанного гликозилирования в переменных областях антигенсвязывающего домена иммуноглобулина. В некоторых вариантах реализации полинуклеотиды, кодирующие антиген или его антигенсвязывающий фрагмент, описанный в данном изобретении, экспрессируются в клетке-хозяине, которая сialiрует по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95% или более сайтов N-связанного гликозилирования в переменных доменах (Fv, особенно VL) экспрессированных антител или их антигенсвязывающих фрагментов. В некоторых вариантах реализации клетка сialiрует по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95% или более сайтов N-связанного гликозилирования в VL экспрессированных антител или антигенсвязывающих фрагментов. В некоторых вариантах реализации в сайтах N-связанного гликозилирования в VL занятость сиаловой кислотой (например, гликана, содержащего один или два остатка сиаловой кислоты на конце) составляет по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90% или более. В данном изобретении "занятость" относится к проценту времени, в течение которого гликан присоединен к предсказанному сайту гликозилирования аминокислоты. В некоторых вариантах реализации аспарагин в VL в положении

аминокислоты 72 согласно нумерации по Кабату (N72) сиалилирован. В некоторых вариантах реализации сиалилированные сайты N-связанного гликозилирования в VL содержат от 1 до 5 остатков сиаловой кислоты, например, от 1 до 4 остатков сиаловой кислоты, например, от 1 до 3 остатков сиаловой кислоты, например, от 1 до 2 остатков сиаловой кислоты. Человеческие клетки-хозяева и клетки-хозяева из хомья преимущественно сиалилируют с помощью N-ацетилнейраминовой кислоты (НАНК). В некоторых вариантах реализации VL сиалилированы или преимущественно сиалилированы N-ацетилнейраминовой кислотой (НАНК). Мышиные клетки-хозяева преимущественно сиалилируют с помощью N-гликолилнейраминовой кислоты (НГНК). В некоторых вариантах реализации VL сиалилированы или преимущественно сиалилированы N-гликолилнейраминовой кислотой (НГНК). В некоторых вариантах реализации остатки сиаловой кислоты присутствуют в двухантенных структурах. В некоторых вариантах реализации остатки сиаловой кислоты присутствуют в сложных структурах N-связанных гликанов (например, могут содержать почти любое количество сахаридов другого типа, включая более чем два исходных N-ацетилглюкозамина). В некоторых вариантах реализации остатки сиаловой кислоты присутствуют в гибридных структурах N-связанных гликанов (например, могут содержать остатки маннозы на одной стороне ветви, тогда как на другой стороне N-ацетилглюкозамин дает начало сложной ветви).

Термин "молекула нуклеиновой кислоты" относится к полимерной форме нуклеотидов, и в его объем входит как смысловая, так и антисмысловая цепи РНК, кДНК, геномной ДНК и синтетических форм и смешанных полимеров указанных выше молекул. В данном изобретении термин молекула нуклеиновой кислоты может быть взаимозаменяемым с термином полинуклеотид. В некоторых вариантах реализации нуклеотид относится к рибонуклеотиду, дезоксинуклеотиду или модифицированной форме любого типа нуклеотида, и их комбинации. Указанные термины также включают, но не ограничены одно- и двухцепочечными формами ДНК. Кроме того, полинуклеотид, например, кДНК или мРНК, может содержать встречающиеся в природе и/или модифицированные нуклеотиды, связанные друг с другом встречающимися в природе и/или не встречающимися в природе нуклеотидными связями. Молекулы нуклеиновых кислот можно модифицировать химическим или биохимическим способом, или они могут содержать неприродные или дериватизированные нуклеотидные основания, что легко поймут специалисты в данной области. Такие модификации включают, например, метки, метилирование, замену одного или более встречающихся в природе нуклеотидов на аналог, межнуклеотидные модификации, такие как незаряженные связи (например, метилфосфонаты, фосфотриэфиры, фосфорамидаты, карбаматы и т.д.), заряженные связи (например, фосфоротиоаты, фосфородитиоаты и т.д.), подвешенные молекулы (например, полипептиды), интеркаляторы (например, акридин, псорален и т.д.), хелаторы, алкилаторы и модифицированные связи (например, альфааномерные нуклеиновые кислоты и т.д.). Предполагается, что в объем указанного выше термина также входит любая топологическая конформация, включая одноцепочечную, двухцепочечную, частично дуплексную, триплексную, шпилечную, кольцевую и запертую конформации. При упоминании последовательности нуклеиновой кислоты, в объем изобретения входит ее комплемент, если не указано иное. Таким образом, следует понимать, что при упоминании молекулы нуклеиновой кислоты с определенной последовательностью, в объем изобретения входит комплементарная ей цепь с комплементарной ей последовательностью. В объем данного термина также входят кодон-оптимизированные нуклеиновые кислоты.

Термин "функционально связанный" относится к двум или более элементам последовательности нуклеиновой кислоты, которые обычно физически связаны и находятся в функциональной взаимосвязи друг с другом. Например, промотор функционально связан с кодирующей последовательностью, если промотор способен инициировать или регулировать транскрипцию или экспрессию кодирующей последовательности, в указанном случае следует понимать, что кодирующая последовательность находится "под контролем" промотора.

"Замена" в данном изобретении означает замену одной или более аминокислот или нуклеотидов на отличные аминокислоты или нуклеотиды, соответственно.

"Изолированная" нуклеиновая кислота относится к молекуле нуклеиновой кислоты, которую отделили от компонента ее природного окружения. Изолированная нуклеиновая кислота включает молекулу нуклеиновой кислоты, содержащуюся в клетках, которые обычно содержат указанную молекулу нуклеиновой кислоты, но указанная молекула нуклеиновой кислоты присутствует вне хромосомы или в положении на хромосоме, которое отлично от ее природного положения на хромосоме. "Изолированная нуклеиновая кислота, кодирующая антитело или его фрагмент", относится к одной или более молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим тяжелую и легкую цепи антитела (или их фрагменты), включая такие(-ую) молекулы(-у) нуклеиновых(-ой) кислот(ы) в одном векторе или в отдельных векторах, и такие(-ая) молекулы(-а) нуклеиновых(-ой) кислот(ы) присутствует в одном или более положений в клетке-хозяине.

Термин "вектор" в данном изобретении относится к молекуле нуклеиновой кислоты, способной размножить другую нуклеиновую кислоту, с которой она связана. В объем данного термина входит вектор в виде самореплицирующейся структуры нуклеиновой кислоты, а также вектор, встроенный в геном клетки-хозяина, в которую его внедрили. Некоторые векторы подходят для доставки молекулы нуклеи-

новой кислоты или полинуклеотида согласно настоящему изобретению. Некоторые векторы способны направлять экспрессию нуклеиновых кислот, с которыми они функционально связаны. Такие векторы в данном изобретении называют векторами экспрессии.

Термины "клетка-хозяин", "линия клеток-хозяев" и "культура клеток-хозяев" используют взаимозаменяемо, и они относятся к клеткам, в которые внедрили экзогенную нуклеиновую кислоту, включая потомство таких клеток. Клетки-хозяева включают "трансформанты" и "трансформированные клетки", которые включают первичную трансформированную клетку и потомство, происходящее из нее, независимо от количества пассажей. Потомство может быть не полностью идентично исходной клетке по содержанию нуклеиновых кислот, но может содержать мутации. Мутантное потомство, которое осуществляет такую же функцию или биологическую активность, на основании которой прошла скрининг или селекцию исходная трансформированная клетка, входит в объем настоящего изобретения.

"Вариант" полинуклеотида, как данный термин используют в данном изобретении, представляет собой полинуклеотид, который обычно отличается от полинуклеотида, конкретно описанного в данном изобретении, одной или более заменами, делециями, добавлениями и/или вставками. Такие варианты могут встречаться в природе или могут быть получены синтетическим способом, например, путем модификации одной или более полинуклеотидных последовательностей согласно настоящему изобретению и оценки одной или более биологических активностей кодируемого полипептида, описанного в данном изобретении, и/или с применением любой из множества методик, хорошо известных в данной области.

Термин "вариант" также может относиться к любой встречающейся в природе или сконструированной молекуле, содержащей одну или более мутаций нуклеотида или аминокислоты.

Дополнительно предложен химерный антигенный рецептор (CAR), содержащий антигенсвязывающий фрагмент антитела, описанный в данном изобретении. В некоторых вариантах реализации CAR экспрессирован на Т-клетке или НК-клетке. Дополнительно предложена CAR-Т-клетка, содержащая CAR, описанный в данном изобретении. В некоторых вариантах реализации Т-клетка представляет собой CD4+ Т-клетку, CD8+ Т-клетку или их комбинацию. В некоторых вариантах реализации клетку вводят субъекту. В некоторых вариантах реализации клетка аутологичная. В некоторых вариантах реализации клетка аллогенная.

Способы получения антител.

Моноспецифические антитела, которые связываются с gp120, и биспецифические антитела, которые связываются с gp120 и CD3 человека (например, CD3ε человека или CD3δ человека) или с gp120 и CD89 можно получить с помощью любого способа синтеза антител, известного в данной области, например, путем химического синтеза или с помощью методик рекомбинантной экспрессии.

Способы получения моноспецифических антител очень хорошо известны в данной области. Способы получения биспецифических антител описаны, например, в патентах США № 5731168; 5807706; 5821333 и публикациях заявок на патент США № 2003/020734 и 2002/0155537. Биспецифические четырехвалентные антитела и способы их получения описаны, например, в WO 02/096948 и WO 00/44788, описания обеих из которых полностью включены в данное изобретение посредством ссылки. Кроме того, другие публикации, относящиеся к получению биспецифических антител, включают WO 91/00360, WO 92/08802, WO 92/05793 и WO 93/17715; Tutt и др., J. Immunol. 147:60-69 (1991); патенты США № 4474893; 4714681; 4925648; 5573920; 5601819 и 9212230; и Kostelny и др., J. Immunol. 148:1547-1553(1992).

Другим типичным способом получения биспецифических антител является способ с применением технологии выступы-во-впадины (Ridgway и др., Protein Eng., 9:617-621 (1996); WO 2006/028936). Проблема ошибочного спаривания тяжелых цепей Ig, которая является главным препятствием при получении биспецифических антител, уменьшается при использовании данной технологии посредством мутирования выбранных аминокислот, образующих поверхность контакта доменов CH3 в IgG. В положениях в домене CH3, в которых две тяжелые цепи напрямую взаимодействуют, в последовательность одной тяжелой цепи вводят аминокислоту с малой боковой цепью (впадиной) и в положение соответствующего взаимодействующего остатка на другой тяжелой цепи вводят аминокислоту с большой боковой цепью (выступом). В некоторых случаях антитела согласно настоящему изобретению содержат цепи иммуноглобулина, в которых домены CH3 были модифицированы путем мутирования выбранных аминокислот, которые взаимодействуют на поверхности контакта между двумя полипептидами, для того чтобы преимущественно образовывалось биспецифическое антитело. Биспецифические антитела могут состоять из цепей иммуноглобулина одного подкласса или различных подклассов. В одном случае биспецифическое антитело, которое связывается с gp120 и CD3, содержит мутацию T366W (нумерация EU) в "цепи выступов" и мутации T366S, L368A, Y407V (нумерация EU) в "цепи впадин". В некоторых вариантах реализации дополнительный межцепочечный дисульфидный мостик вводят между доменами CH3, например, путем введения мутации Y349C в "цепи выступов" и мутации E356C или мутации S354C в "цепи впадин". В некоторых вариантах реализации мутации R409D, K370E вводят в "цепь выступов" и мутации D399K, E357K - в "цепь впадин". В других вариантах реализации мутации Y349C, T366W вводят в одну из цепей и мутации E356C, T366S, L368A, Y407V - в противоположную цепь. В некоторых вариантах реализации мутации Y349C, T366W вводят в одну цепь и мутации S354C, T366S, L368A, Y407V - в про-

твояположную цепь. В некоторых вариантах реализации мутации Y349C, T366W вводят в одну цепь и мутации S354C, T366S, L368A, Y407V - в противоположную цепь. В других дополнительных вариантах реализации мутации Y349C, T366W вводят в одну цепь и мутации S354C, T366S, L368A, Y407V - в противоположную цепь (все с нумерацией EU).

Другим типичным способом получения биспецифических антител является применение платформы привлекающих Т-клетки биспецифических активаторов (BiTE®). BiTE получают путем генетического соединения первой scFv (например, scFv, которая связывает gp120) со второй scFv (например, scFv, которая связывает CD3 человека) посредством гибкого пептидного линкера (например, GGGGS (SEQ ID NO: 429)). См., например, Staerz и др., *Nature*, 314:628-631 (1985); Mack и др., *PNAS*, 92:7021-7025 (1995); Huehls и др., *Immunol. Cell Biol.*, 93:290-296 (2015).

Другим типичным способом получения биспецифических антител является применение платформы переориентирующегося антитела с двойной аффинностью (DART). Данная технология основана на формате диатела по Holliger и др. (*PNAS*, 90:6444-6448 (1993)) и дополнительно улучшена для стабильности и оптимального спаривания цепей VH и VL (Johnson и др., *J Mol. Biol.*, 399:436-449 (2010); Sung и др., *J Clin Invest.*, 125(11): 4077-4090 (2015)).

Еще другим типичным способом получения биспецифических антител является применение платформы Трифункциональных гибридных антител -Триомаб®. В данной платформе используют химерную конструкцию, состоящую из половины двух полноразмерных антител различных изотипов IgG2a мыши и IgG2b крысы. Данная технология основана на видоспецифичном спаривании тяжелой/легкой цепей. См., Lindhofer и др., *J Immunol.*, 155:219-225 (1995).

Дополнительным типичным способом получения биспецифических антител является применение платформы Тандаб®. Данная технология основана на концепции диатела, но разработанного в виде одной полипептидной цепи VH1-VL2-VH2-VL1, содержащей короткие линкеры для предотвращения межцепочечного спаривания. Димеризация голова-к-хвосту данной одной цепи приводит к образованию четырехвалентного гомодимера (Kirguyanov и др., *J Mol. Biol.*, 293:41-56(1999)).

Еще одним способом получения биспецифических антител является технология CrossMab. CrossMab представляют собой химерные антитела, состоящие из половин двух полноразмерных антител. Для правильного спаривания цепей в них объединили две технологии: (i) выступ-во-впадину, которая способствует правильному спариванию между двумя тяжелыми цепями; и (ii) обмен между тяжелой и легкой цепями одного из двух Fab, чтобы ввести асимметрию, которая позволяет избежать ошибочного спаривания легких цепей. См., Ridgway и др., *Protein Eng.*, 9:617-621 (1996); Schaefer и др., *PNAS*, 108:11187-11192 (2011). В CrossMab можно объединить два или более антиген-связывающих доменов для нацеливания на две или более мишеней или для введения бивалентности к одной мишени, как в формате 2:1.

Антитела согласно настоящему изобретению можно получить в бактериальных или эукариотических клетках. Антитела также можно получить в эукариотических клетках, таких как линии трансформированных клеток (например, линии клеток на основе CHO или происходящие из CHO (например, CHO-S, CHO DG44, ExpiCHO™, CHOZN® ZFN-модифицированная линия клеток GS-/- CHO, CHO-K1, CHO-K1a), 293E, 293T, COS, NIH3T3). Кроме того, антитела (включая фрагменты антитела, например, фрагменты Fab, scFv) можно экспрессировать в клетке дрожжей, такой как *Pichia* (см., например, Powers и др., *J Immunol Methods*. 251:123-35 (2001)), *Hansenula* или *Saccharomyces*. В одном варианте реализации антитела, описанные в данном изобретении, получают в линии клеток CHO, например, линии клеток CHO-S, CHO DG44, ExpiCHO™, CHOZN®, CHO-K1 или CHO-K1a. Для получения интересующего антитела полинуклеотид, кодирующий антитело, конструируют, внедряют в вектор экспрессии, а затем экспрессируют в подходящих клетках-хозяевах. Применяют стандартные методики молекулярной биологии для получения рекомбинантного вектора экспрессии, трансформирования клеток-хозяев, селекции трансформантов, культивирования клеток-хозяев и выделения антитела.

Если антитело нужно экспрессировать в бактериальных клетках (например, *E. coli*), вектор экспрессии должен обладать свойствами, которые позволяют амплификацию вектора в бактериальных клетках. Кроме того, если в качестве хозяина используют *E. coli*, такую как JM109, DH5α, HB101 или XL1-Blue, то вектор должен содержать промотор, например, промотор lacZ (Ward и др., 341:544-546 (1989)), промотор araB (Better и др., *Science*, 240:1041-1043 (1988)) или промотор T7, который может позволить эффективную экспрессию в *E. coli*. Примеры таких векторов включают, например, векторы серин M13, векторы серин pUC, pBR322, pBluescript, pCR-Script, pGEX-5X-1 (Pharmacia), "QIAexpress system" (QIAGEN), pEGFP и pET (при использовании данного вектора экспрессии хозяином предпочтительно является BL21, экспрессирующая РНК-полимеразу T7). Вектор экспрессии может содержать сигнальную последовательность для секреции антитела. Для продукции в периплазму *E. coli*, можно использовать сигнальную последовательность *pelB* (Lei и др., *J. Bacteriol.*, 169:4379 (1987)) в качестве сигнальной последовательности для секреции антитела. Для экспрессии в бактериях можно использовать способы с применением хлорида кальция или способы электропорации, чтобы ввести вектор экспрессии в бактериальную клетку.

Если антитело нужно экспрессировать в клетках животного, таких как клетки CHO, CHO-S, CHO

DG44, CHOZN®, ExpiCHO™, CHO-K1, CHO-K1a, COS и NIH3T3, вектор экспрессии содержит промотор, необходимый для экспрессии в данных клетках, например, промотор SV40 (Mulligan и др., *Nature*, 277:108 (1979)), промотор MMLV-LTR, промотор EF1 α (Mizushima и др., *Nucleic Acids Res.*, 18:5322 (1990)) или промотор CMV. Вдобавок к последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей иммуноглобулин или его домен, рекомбинантные векторы экспрессии могут нести дополнительные последовательности, такие как последовательности, которые регулируют репликацию вектора в клетках-хозяевах (например, точки начала репликации), и гены селективируемых маркеров. Ген селективируемого маркера облегчает селекцию клеток-хозяев, в которые внедрили вектор (см., например, патенты США № 4399216, 4634665 и 5179017). Например, обычно ген селективируемого маркера придает устойчивость к лекарственным средствам, таким как G418, гигромицин или метотрексат, клетке-хозяину, в которую внедрили вектор. Примеры векторов с селективируемыми маркерами включают pMAM, pDR2, pBK-RSV, pBK-CMV, pOPRSV и pOP13.

В одном варианте реализации антитела получают в клетках млекопитающих. Примеры клеток-хозяев из млекопитающих для экспрессии антитела включают клетки яичника китайского хомячка (клетки CHO, включая, например, клетки CHO-S, CHO DG44, ExpiCHO™, CHOZN®, CHO-K1 или CHO-K1a) (включая dhfr⁻ клетки CHO, описанные в Urlaub и Chasin (1980) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216-4220, используемые с селективируемым маркером DHFR, например, как описано в Kaufman и Sharp (1982) *Mol. Biol.* 159:601-621), клетки эмбриональной почки человека 293 (например, 293, 293E, 293T), клетки COS, клетки NIH3T3, В-клетки человека, линии лимфоцитарных клеток, например, клетки миеломы NS0 и клетки SP2, и клетку из трансгенного животного, например, трансгенного млекопитающего. Например, в некоторых вариантах реализации клетка представляет собой эпителиальную клетку молочной железы.

В типичной системе экспрессии антител рекомбинантные векторы экспрессии, кодирующие тяжелую цепь антитела и легкую цепь антитела согласно настоящему изобретению, внедряют в клетки dhfr⁻ CHO с помощью опосредованной фосфатом кальция трансфекции. В конкретном варианте реализации клетки dhfr⁻ CHO представляют собой клетки линии DG44, такие как DG44i (см., например, DeGouaz и др., *Biochem Biophys Res Commun.*, 340(4): 1069-77 (2006)). В рекомбинантных векторах экспрессии каждый из генов тяжелой и легкой цепи антитела функционально связан с энхансерными/промоторными регуляторными элементами (например, полученными из SV40, CMV, аденовируса и тому подобных, например, с регуляторным элементом энхансер CMV/промотор AdMLP или с регуляторным элементом энхансер SV40/промотор AdMLP), чтобы запускать высокие уровни транскрипции генов. Рекомбинантные векторы экспрессии также могут нести ген DHFR, который позволяет селекцию клеток CHO, которые были трансфицированы вектором, путем селекции метотрексатом/амплификации. Прошедшие селекцию трансформированные клетки-хозяева культивируют, чтобы позволить экспрессию тяжелой и легкой цепей антитела и выделение антитела из культуральной среды.

Антитела также можно получить с помощью трансгенного животного. Например, в патенте США номер 5849992 описан способ экспрессии антитела в молочной железе трансгенного млекопитающего. Конструируют трансген, который содержит специфичный для молока промотор и нуклеиновые кислоты, кодирующие интересующее антитело и сигнальную последовательность для секреции. Молоко, продуцированное самками таких трансгенных млекопитающих, содержит секретированное с ним интересующее антитело. Антитело можно очистить из молока или, для некоторых применений, использовать напрямую.

Также предложены животные, содержащие одну или более нуклеиновых кислот, описанных в данном изобретении.

Антитела согласно настоящему изобретению можно выделить из внутренней или наружной среды (такой как культуральная среда) клетки-хозяина и очистить с получением по существу чистых и гомогенных антител. Способы выделения и очистки, обычно применяемые для очистки антитела, можно применять для выделения и очистки антител, и они не ограничены каким-либо конкретным способом. Антитела можно выделить и очистить с помощью подходящей селекции и комбинирования, например, колонной хроматографии, фильтрации, ультрафильтрации, высаливания, преципитации растворителем, экстрагирования растворителем, дистилляции, иммунопреципитации, электрофореза в полиакриламидном геле с ДСН, изоэлектрического фокусирования, диализа и перекристаллизации. Хроматография включает, например, аффинную хроматографию, ионообменную хроматографию, гидрофобную хроматографию, гель-фильтрацию, хроматографию с обращенными фазами и адсорбционную хроматографию (*Strategies for Protein Purification and Characterization: A Laboratory Course Manual*. Ред. Daniel R. Marshak и др., Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1996). Хроматографию можно осуществить, применяя жидкофазную хроматографию, такую как высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) и жидкостная хроматография быстрого разрешения (ЖХБР). Колонки, применяемые для аффинной хроматографии, включают колонку с белком А и колонку с белком G. Примеры колонок с применением белка А включают Huperg D, POROS и сефарозу FF (GE Healthcare Biosciences). В объем настоящего изобретения также входят антитела, которые очистили до высокой степени чистоты с применением данных способов очистки.

Фармацевтические композиции.

В объем настоящего изобретения также входят фармацевтические композиции, содержащие анти-тело, описанное в данном изобретении, или полинуклеотид, кодирующий антигено, описанное в данном изобретении, и фармацевтически приемлемый разбавитель, носитель или вспомогательное вещество. В некоторых вариантах реализации фармацевтическая композиция содержит терапевтически эффективное количество антигена или полинуклеотида.

Различные фармацевтически приемлемые разбавители, носители и вспомогательные вещества и методики получения и применения фармацевтических композиций будут известны специалистам в данной области в свете настоящего описания. Примеры фармацевтических композиций и фармацевтически приемлемых разбавителей, носителей и вспомогательных веществ также описаны в Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20^{ое} изд. (Lippincott, Williams & Wilkins 2003); Loyd V. Allen Jr (редактор), "Remington: The Science and Practice of Pharmacy," 22^{ое} издание, 2012 г., Pharmaceutical Press; Brunton, Knollman и Hilal-Dandan, "Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics", 13^{ое} издание, 2017 г., McGraw-Hill Education/Medical; McNally и Hastedt (редакторы), "Protein Formulation and Delivery", 2^{ое} издание, 2007, CRC Press; Banga, "Therapeutic Peptides and Proteins: Formulation, Processing, and Delivery Systems", 3^е издание, 2015 г., CRC Press; Lars Hovgaard, Frokjaer и van de Weert (редакторы), "Pharmaceutical Formulation Development of Peptides and Proteins", 2^{ое} издание, 2012 г., CRC Press; Carpenter и Manning (редакторы), "Rational Design of Stable Protein Formulations: Theory and Practice", 2002 г., Springer (Pharmaceutical Biotechnology (книга 13)); Meyer (редактор), "Therapeutic Protein Drug Products: Practical Approaches to Formulation in the Laboratory, Manufacturing, and the Clinic", 2012 г., Woodhead Publishing; и Shire, "Monoclonal Antibodies: Meeting the Challenges in Manufacturing, Formulation, Delivery and Stability of Final Drug Product", 2015 г., Woodhead Publishing.

В некоторых вариантах реализации каждый носитель, разбавитель или вспомогательное вещество является "приемлемым" в том смысле, что он совместим с другими ингредиентами фармацевтической композиции и не вреден для субъекта. Часто фармацевтически приемлемый носитель представляет собой водный pH-буферный раствор. Некоторые примеры материалов, которые могут служить в качестве фармацевтически-приемлемых носителей, разбавителей или вспомогательных веществ, включают: стерильную воду; буферы, например, фосфатно-солевой буферный раствор; сахара, такие как лактоза, глюкоза, трегалоза и сахароза; крахмалы, такие как кукурузный крахмал и картофельный крахмал; целлюлозу и ее производные, такие как карбоксиметилцеллюлоза натрия, этилцеллюлоза и ацетат целлюлозы; измельченный в порошок трагакант; солод; желатин; тальк; вспомогательные вещества, такие как масло какао и суппозиторные воски; масла, такие как арахисовое масло, хлопковое масло, сафлоровое масло, кунжутное масло, оливковое масло, кукурузное масло и соевое масло; гликоли, такие как пропиленгликоль; полиолы, такие как глицерин, сорбит, маннит и полиэтиленгликоль; эфиры, такие как этилолеат и этиллаурат; агар; буферные вещества, такие как гидроксид магния и гидроксид алюминия; альгиновую кислоту; апирогенную воду; изотонический солевой раствор; раствор Рингера; этиловый спирт; растворы фосфатного буфера; аминокислоты (например, заряженные аминокислоты, включая, без ограничения, аспарат, аспарагин, глутамат, глутамин, гистидин, лизин); и другие нетоксичные совместимые вещества, используемые в фармацевтических составах. Смачивающие агенты, эмульгаторы и лубриканты, такие как лаурилсульфат натрия и стеарат магния, а также красящие агенты, разделительные агенты, покрывающие агенты, подслащивающие, ароматизирующие и отдушивающие агенты, консерванты и антиоксиданты также могут присутствовать в композициях.

Состав и способы доставки фармацевтических композиций, как правило, будут приспособлены для места и заболевания, от которого лечат. Примеры составов включают, но не ограничены составами, подходящими для парентерального введения, например, внутривенного, интраартериального, внутримышечного или подкожного введения, включая составы, инкапсулированные в мицеллы, липосомы или капсулы для высвобождения лекарственного средства (активные агенты содержатся внутри биосовместимого покрытия, разработанного для медленного высвобождения); проглатываемые составы; составы для топического применения, такие как кремы, мази и гели; и другие составы, такие как ингаляторы, аэрозоли и спреи.

Способы применения.

В настоящем изобретении предложены способы лечения или предотвращения ВИЧ-инфекции или сходных заболеваний или расстройств у нуждающегося в этом субъекта (например, человека), включающие предоставление нуждающемуся в этом субъекту эффективного количества антигена или антигенов, описанных в данном изобретении, или полинуклеотида, кодирующего антигено или антигена. В данном изобретении термин "эффективное количество" в контексте введения терапии субъекту относится к количеству терапии, которое приводит к желательному профилактическому или терапевтическому эффекту. Полинуклеотид может присутствовать в векторе, например, вирусном векторе. В некоторых вариантах реализации сходное заболевание или расстройство вызвано инфекцией ВИЧ. В других вариантах реализации оно представляет собой синдром приобретенного иммунодефицита (СПИД). В некоторых вариантах реализации субъект представляет собой вирусологически отрицательное инфицированное ВИЧ млекопитающее, тогда как в других вариантах реализации субъект представляет собой не получавшее

лечение инфицированное ВИЧ млекопитающее. В некоторых вариантах реализации у не получавшего лечение субъекта вирусная нагрузка составляет от 10^3 до 10^5 копий/мл, и в некоторых вариантах реализации у вирусологически угнетенного субъекта вирусная нагрузка составляет < 50 копий/мл. В другом варианте реализации субъект представляет собой млекопитающее, например, человека. В некоторых вариантах реализации у субъекта была диагностирована инфекция ВИЧ, например, ВИЧ-1 или ВИЧ-2, или сходное заболевание или расстройство, например, СПИД, или считают, что у него есть риск развития инфекции ВИЧ, например, ВИЧ-1 или ВИЧ-2, или сходного заболевания или расстройства, например, СПИД. Субъекты, имеющие риск развития связанных с ВИЧ заболеваний или расстройств, включают пациентов, у которых был контакт с инфицированным индивидом или которые контактировали с ВИЧ другим образом. Введение профилактического агента может происходить перед проявлением симптомов, характерных для связанного с ВИЧ заболевания или расстройства, так что заболевание или расстройство предотвращается или, в качестве альтернативы, задерживается его прогрессирование. В некоторых вариантах реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит области CDR VH и области CDR VL, имеющие последовательности, представленные в SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно. В некоторых вариантах реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит области CDR VH и области CDR VL, имеющие последовательности, представленные в SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно, и содержит VH, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, например, на 100%, идентична последовательности аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 477, и VL, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, например, на 100%, идентична последовательности аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 278. В некоторых вариантах реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит последовательность VH, представленную в SEQ ID NO: 477, и последовательность VL, представленную в SEQ ID NO: 278. В некоторых вариантах реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит области CDR VH и области CDR VL, имеющие последовательности, представленные в SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно, и содержит тяжелую цепь, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, например, на 100%, идентична последовательности аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 529, и легкую цепь, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, например, на 100%, идентична последовательности аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 103. В некоторых вариантах реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит последовательность тяжелой цепи, представленную в SEQ ID NO: 529, и последовательность легкой цепи, представленную в SEQ ID NO: 103.

Также предложены способы предотвращения или ингибирования повышения титра вируса ВИЧ, репликации вируса, пролиферации вируса или количества ДНК вируса ВИЧ, ДНК провируса ВИЧ или белка вируса ВИЧ у субъекта (например, у человека). В одном варианте реализации способ включает предоставление нуждающемуся в этом субъекту некоторого количества антитела или антител (или их антигенсвязывающих фрагментов), описанных в данном изобретении, или полинуклеотида, кодирующего антитело или антитела (или их антигенсвязывающие фрагменты), эффективного для предотвращения повышения титра ВИЧ, репликации вируса или количества белка ВИЧ одного или более штаммов или изолятов ВИЧ у субъекта. В некоторых вариантах реализации способ дополнительно включает измерение количества ДНК или белка вируса или провируса ВИЧ в один или более моментов времени, например, до и после предоставления субъекту антитела или антител согласно настоящему изобретению. Способы и биомаркеры для определения количества ДНК или белка вируса или провируса ВИЧ у субъекта известны и доступны в данной области и описаны, например, в Siliciano, J.D. и др., *Curr Opin HIV AIDS*, 5(6):491-7 (2010), и Rouzioux, C. и др., *Curr Opin HIV AIDS*, 8(3): 170-5 (2013).

В некотором аспекте антитело или антитела согласно настоящему изобретению можно применять, например, в способах ингибирования некоторых вирусов, таких как изоляты ВИЧ, описанные в данном изобретении, профилактического ингибирования или предотвращения инфекций некоторыми вирусами, такими как изоляты ВИЧ, описанные в данном изобретении, детектирования некоторых вирусов, таких как как изоляты ВИЧ, описанные в данном изобретении, в образце, ингибирования некоторых вирусов, таких как как изоляты ВИЧ, описанные в данном изобретении, или диагностики некоторых вирусов, таких как как изоляты ВИЧ, описанные в данном изобретении.

Для лечения *in vivo* млекопитающего субъекта, например, людей, субъекту можно вводить или пре-

доставить фармацевтическую композицию, содержащую антитело или антитела, описанные в данном изобретении. При применении для терапии *in vivo* антитело или антитела, описанные в данном изобретении, обычно вводят или предоставляют пациенту в терапевтически эффективных количествах (т.е., количествах, которые устраняют или снижают вирусную нагрузку и/или резервуар вируса у пациента). Антитела вводят или предоставляют млекопитающему субъекту, например, человеку, в соответствии с известными способами, такими как, но не ограничиваясь внутривенным введением, например, в виде болюса или непрерывной инфузии в течение некоторого периода времени, внутримышечным, интраперитонеальным, внутриспинномозговым, подкожным, внутрисуставным, внутрисиновиальным, интраклеточным, пероральным, топическим или ингаляционным путями. Антитела можно вводить парентерально, когда это возможно, в область целевой клетки, или внутривенно. В одном варианте реализации введение антитела или антител субъекту осуществляют внутривенным путем. В другом варианте реализации введение антитела или антител субъекту осуществляют подкожным путем. В дополнительных вариантах реализации фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению вводят субъекту системно, парентерально или местно.

В некоторых вариантах реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения ВИЧ-инфекции, включающий введение нуждающемуся в этом человеку терапевтически эффективного количества антитела или антител, описанных в данном изобретении. В некоторых вариантах реализации в настоящем изобретении предложен способ предотвращения ВИЧ-инфекции, включающий введение нуждающемуся в этом человеку терапевтически эффективного количества антитела или антител, описанных в данном изобретении.

Комбинированная терапия.

В некоторых вариантах реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения (например, включая длительное или продолжительное подавление) или предотвращения ВИЧ-инфекции у субъекта-человека, у которого есть ВИЧ-инфекция или риск ее развития. Способ включает введение субъекту-человеку терапевтически эффективного количества антитела или антител, описанных в данном изобретении, или их фармацевтической композиции, в комбинации с терапевтически эффективным количеством одного или более (например, одного, двух, трех, одного или двух, или от одного до трех) дополнительных терапевтических агентов. В некоторых вариантах реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит области CDR VH и области CDR VL, имеющие последовательности, представленные в SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно. В некоторых вариантах реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит области CDR VH и области CDR VL, имеющие последовательности, представленные в SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно, и содержит VH, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, например, на 100%, идентична последовательности аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 477, и VL, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, например, на 100%, идентична последовательности аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 278. В некоторых вариантах реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит последовательность VH, представленную в SEQ ID NO: 477, и последовательность VL, представленную в SEQ ID NO: 278. В некоторых вариантах реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит области CDR VH и области CDR VL, имеющие последовательности, представленные в SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно, и содержит тяжелую цепь, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, например, на 100%, идентична последовательности аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 529, и легкую цепь, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, например, на 100%, идентична последовательности аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 103. В некоторых вариантах реализации антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит последовательность тяжелой цепи, представленную в SEQ ID NO: 529, и последовательность легкой цепи, представленную в SEQ ID NO: 103. В одном варианте реализации предложен способ лечения ВИЧ-инфекции у субъекта-человека с инфекцией или риском развития инфекции, указанный способ включает введение субъекту-человеку терапевтически эффективного количества антитела или антител, описанных в данном изобретении, или их фармацевтически приемлемой соли в комбинации с терапевтически эффективным количеством одного или более (например, одного, двух, трех, одного или двух, или от одного до трех) дополнительных терапевтических агентов. В некоторых вариантах реализации после одного или более введений антитела или его антигенсвязывающих

фрагментов, необязательно с одним или более дополнительными терапевтическими агентами, субъект не проявляет симптомы ВИЧ или СПИД в отсутствие антиретровирусной терапии (АРТ) в течение по меньшей мере 6 месяцев, по меньшей мере 1 года, по меньшей мере 2 лет, по меньшей мере 3 лет или более. В некоторых вариантах реализации после одного или более введений связывающей молекулы, у субъекта вирусная нагрузка в копиях/мл крови составляет менее 500, например, менее 400, менее 300, менее 200, менее 100, менее 50 в отсутствие антиретровирусной терапии (АРТ) в течение по меньшей мере 6 месяцев, по меньшей мере 1 года, по меньшей мере 2 лет, по меньшей мере 3 лет или более.

Множество клинических исследований на данный момент показали, что лечение инфицированных ВИЧ индивидов отдельно нейтрализующими антителами широкого спектра действия (bNAbs) приводит к временному подавлению чувствительных вирусов с последующим быстрым размножением устойчивых вирусов, множество из которых оказались редкими предсуществующими вариантами вируса.

Ранее было показано, что антитело А и антитело В нейтрализуют 96% из 118 вирусов из разных клад, что исследовали *in vitro* (Scheid и др., *Science*, 333: 1633-1637 (2011)). Клинические исследования показали, что у множества инфицированных ВИЧ пациентов, которые получают лечение антителом, выявляли редкие и предсуществующие устойчивые клоны, даже если их изоляты ВИЧ из плазмы оказались чувствительными к антителу (Caskey и др., *Nature*, 522:487-491 (2016); Scheid и др., *Nature*, 535:556-560 (2016)). Данные результаты привели к предположению, что антитело А может быть широкого действия, когда его исследуют против изолятов ВИЧ, собранных из различных пациентов (ширина у разных пациентов), но несмотря на это, оно не может нейтрализовать 100% изолятов вируса внутри одного пациента (ширина у одного пациента).

Антитело, известное как 10-1074, часть линии PGT121, и полученное из того же донора и с аналогичной шириной нейтрализации, также исследовали в клинических испытаниях (Mouquet и др., *PNAS*, 109:E3268-3277 (2012); Caskey и др., *Nature Medicine*, 23:185-191 (2017)). Изначально показали, что 10-1074 нейтрализует приблизительно 66% из 60 исследованных вирусов с IC₅₀ ниже 50 мкг/мл (Mouquet и др., *PNAS* (выше)). Испытания 10-1074 показали, что у множества пациентов, получивших терапию 10-1074, присутствовали устойчивые клоны, даже когда изоляты ВИЧ из плазмы оказались чувствительными к указанному антителу (Caskey и др. *Nature Medicine* (выше)). Данный результат указывает на то, что у большинства пациентов могут присутствовать редкие предсуществующие варианты вируса, которые устойчивы к 10-1074. У данных устойчивых к 10-1074 вариантов выявили сопоставимую устойчивость разных клад к PGT121, что согласуется с близким эволюционным родством между 10-1074 и PGT121. Тем не менее, почти все из устойчивых вирусов, выделенных во время клинического испытания 10-1074, были чувствительны к нейтрализации антителом А (Caskey и др. (выше)). Данный результат указывает на то, что комбинированная терапия антителами с применением комплементарных bNAbs может позволить более полный охват вирусов одного пациента.

Применяя комбинации bNAbs, можно добиться полного охвата вирусов одного пациента. В некоторых вариантах реализации комбинированная терапия включает антитело, содержащее такие же CDR, VH, VL, VN и VL, тяжелую, легкую, или тяжелую и легкую цепи любого из антител, описанных в данном изобретении, и другое антитело bNAbs против ВИЧ (т.е., нейтрализующее антитело, которое нейтрализует множество штаммов вируса ВИЧ-1). Различные bNAbs известны в данной области, и их можно применять в настоящем изобретении. Примеры включают, но не ограничены антителами, описанными в патенте США № 8673307, 9493549, 9783594, WO 2014/063059, WO 2012/158948, WO 2015/117008, и PCT/US 2015/41272 и WO 2017/096221, включая антитела 12A12, 12A21, NH45-46, bANC131, 8ANC134, IB2530, INC9, 8ANC195, 8ANC196, 10-259, 10-303, 10-410, 10-847, 10-996, 10-1074, 10-1121, 10-1130, 10-1146, 10-1341, 10-1369 и 10-1074GM. Дополнительные примеры включают антитела, описанные в Klein и др., *Nature*, 492(7427): 118-22 (2012), Horwitz и др., *Proc Natl Acad Sci USA*, 110(41): 16538-43 (2013), Scheid и др., *Science*, 333 : 1633-1637 (2011), Scheid и др., *Nature*, 458:636-640 (2009), Eroshkin и др., *Nucleic Acids Res.*, 42 (номер в базе данных): D1 133-9 (2014), Mascola и др., *Immunol Rev.*, 254(1):225-44 (2013), такие как 2F5, 4E10, M66.6, CAP206-CH12, 10E81 (все из которых связывают MPER из gp41); PG9, PG16, CH01-04 (все из которых связывают V1V2-гликан), 2G12 (которое связывается с гликаном внешнего домена); b12, HJ16, CH103-106, VRC01-03, VRC-PG04, 04b, VRC-CH30-34, 3BNC62, 3BNC89, 3BNC91, 3BNC95, 3BNC104, 3BNC176 и 8ANC131 (все из которых связываются с сайтом связывания CD4).

В некоторых вариантах реализации антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, комбинируют или вводят совместно со вторым антителом или его антигенсвязывающим фрагментом (например, вторым неконкурирующим нейтрализующим антителом широкого спектра действия (bNAbs)), которое связывается с эпитопом или участком gp120, выбранным из группы, состоящей из: (i) третьей варибельной петли (V3) и/или области с высоким содержанием маннозы, содержащей гликан олигоманнозного типа в положении N332; (ii) второй варибельной петли (V2) и/или вершины примера Env; (iii) стыка gp120 и gp41 или (iv) безмольной поверхности gp120. Описанные выше эпитопы или области gp120, которые связывают нейтрализующие антитела широкого спектра действия, описаны, например, в McCoy, *Retrovirology* (2018) 15:70; Sok and Burton, *Nat Immunol.* 2018 19(11): 1179-1188; Possas и др., *Expert Opin Ther Pat.* Июль 2018 г.; 28(7):551-560; и Stephenson и Barouch, *Curr*

HIV/AIDS Rep (2016) 13:31-37, которые настоящим полностью включены в данное изобретение посредством ссылки во всех отношениях.

В некоторых вариантах реализации антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, комбинируют или вводят совместно со вторым антителом или его антигенсвязывающим фрагментом (например, вторым неконкурирующим нейтрализующим антителом широкого спектра действия (bNAbs)), которое связывается с эпитопом или участком gp120 в третьей вариабельной петле (V3) и/или области с высоким содержанием маннозы, содержащей гликан олигоманнозного типа в положении N332, и содержит области VH и VL из антитела, выбранного из группы, состоящей из GS-9722, PGT-121.60, PGT-121.66, PGT-121, PGT-122, PGT-123, PGT-124, PGT-125, PGT-126, PGT-128, PGT-130, PGT-133, PGT-134, PGT-135, PGT-136, PGT-137, PGT-138, PGT-139, 10-1074, VRC24, 2G12, BG18, 354BG8, 354BG18, 354BG42, 354BG33, 354BG129, 354BG188, 354BG411, 354BG426, DH270.1, DH270.6, PGDM12, VRC41.01, PGDM21, PCDN-33A, BF520.1 и VRC29.03, или конкурирует с ними. Дополнительные нейтрализующие антитела широкого спектра действия, которые связываются с gp120 в третьей вариабельной петле (V3) и/или области с высоким содержанием маннозы, содержащей гликан олигоманнозного типа в положении N332, и которые можно применять в качестве второго антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, описаны, например, в WO 2012/030904; WO 2014/063059; WO 2016/149698; WO 2017/106346; WO 2018/075564, WO 2018/125813 и WO 2018/237148, содержания которых настоящим полностью включены в данное изобретение посредством ссылки во всех отношениях.

В некоторых вариантах реализации комбинированная терапия включает антитело, содержащее такие же CDR, VH, VL, VH и VL, тяжелую, легкую или тяжелую и легкую цепи, как и любое из антител, описанных в данном изобретении, и другое антитело против ВИЧ (например, GS-9722, PGT-121.60, PGT-121.66, PGT-121, PGT-122, PGT-123, PGT-124, PGT-133 или PGT-134), содержащее такие же CDR, VH, VL, VH и VL, тяжелую, легкую или тяжелую и легкую цепи, как и любое из антител из табл. 1 и 2 в US 2017/0190763 A1. Данные улучшенные или оптимизированные варианты PGT121 обладают улучшенными подобными лекарственным средствам свойствами, пониженной иммуногенностью, повышенной АЗКЦ и подходящими фармакокинетическими свойствами. Было показано, что такие антитела связываются с гликопротеином оболочки ВИЧ, экспрессированным на поверхности вириона или инфицированных клеток, и опосредуют как непосредственную нейтрализацию вируса, так и эффективное уничтожение данных клеток посредством НК, моноцитов и МПКК. Данное свойство позволяет антителам лечить ВИЧ-инфекции путем нейтрализации вируса, и также уничтожения и устранения латентно инфицированных ВИЧ клеток у инфицированных индивидов, потенциально приводя к стерилизующему лечению ВИЧ.

В одном варианте реализации комбинированная терапия включает антитело, содержащее такие же CDR, VH, VL, VH и VL, тяжелую, легкую или тяжелую и легкую цепи, как и любое из антител, описанных в данном изобретении, и антитело, содержащее такие же CDR, VH, VL, VH и VL, тяжелую, легкую или тяжелую и легкую цепи, как и антитело с указанными ниже последовательностями:

Тяжелая цепь (VH подчеркнута)	<u>QMQLQESGPGLVKPSSETLSLTCVSGASISDSYWSWIRRSPGKGLEWIGYVH</u> <u>KSGDNTYNPSLKSRVHLSLDTSKNQVSLSLTGVTAAADSGKYCARTLHGRR</u> <u>YGIVAFNEWFTYFYMDVWGTGTQVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA</u> <u>ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS</u> <u>LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLAGPDVFLFPP</u> <u>KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY</u> <u>NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPLPEEKTKAKAGQPREPQV</u> <u>YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS</u> <u>DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFVLSLHEALHSHYTKQSLSLSPGK (SEQ</u> <u>ID NO: 443)</u>
CDR1 тяжелой цепи, по Кабату	DSYWS (SEQ ID NO: 444)
CDR2 тяжелой цепи, по Кабату	YVHKSGDNTYNPSLKS (SEQ ID NO: 445)
CDR3 тяжелой цепи, по Кабату	TLHGRRYIGIVAFNEWFTYFYMDV (SEQ ID NO: 446)
Легкая цепь (VL подчеркнута)	<u>SDISVAPGETARISCGEKLGSRAVQWYQHRAGQAPSLIYNNQDRPSGIPER</u> <u>FSGSPDSRPGTTATLITVSEAGDEADYCHIWDSRVPTKWWFGGGTTLTVL</u> <u>GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAG</u> <u>VETTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRYSQVTHEGSTVEKTVAPTE</u> <u>CS (SEQ ID NO: 447)</u>
CDR1 легкой цепи, по Кабату	GEKSLGSRAVQ (SEQ ID NO: 448)

CDR2 легкой цепи, по Кабату	NNQDRPS (SEQ ID NO: 449)
CDR3 легкой цепи, по Кабату	HIWDSRVPTKWV (SEQ ID NO: 450)

В одном варианте реализации комбинированная терапия включает антитело, содержащее такие же CDR, VH, VL, VH и VL, тяжелую, легкую или тяжелую и легкую цепи, как и любое из антител, описанных в данном изобретении, и антитело, содержащее такие же CDR, VH, VL, VH и VL, тяжелую, легкую или тяжелую и легкую цепи, как и другие дополнительные антитела против ВИЧ, такие как описанные в US 2017/0190763. В некоторых вариантах реализации дополнительные антитела против ВИЧ включают антитело, содержащее VH (или тяжелой) и VL (или легкой) цепей, представленных ниже.

Тяжелая цепь (VH подчеркнута):

QMQLQESGPGLVKPSETLSLTCSSVSGASISDSYWSWIRRS PGKGLEWIGYVHKSGDNTYNPSLK
SRVHLSLDTSKNQVSLSLTGVTAAADSGKYCARTLHGRR IYGIVAFNEWFTYFYMDVWGTGTQV
TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
 GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLAGPDVFL
 LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
 LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV
 KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCSVLHEALH
 SHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 454)

Легкая цепь (VL подчеркнута):

SDISVAPGETARISCGEKSLGSRVQWYQHRAGQAPSLIIYNNQDRPSGIPERFSGSPDY
RPGTTATLTITTSVEAGDEADYYCHIWDSRVPTKWVFGGGTTLTVLGQPKAAPSVTLFPPS
 SEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLT
 PEQWKSHRYSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO: 455)

В одном варианте реализации комбинированная терапия включает антитело, содержащее такие же CDR, VH, VL, VH и VL, тяжелую, легкую или тяжелую и легкую цепи, как и любое из антител, описанных в данном изобретении, и антитело, содержащее такие же CDR, VH, VL, VH и VL, тяжелую, легкую или тяжелую и легкую цепи, как и другое антитело против ВИЧ, тяжелая цепь которого имеет последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO: 40, и легкая цепь которого имеет последовательность аминокислот, представленную ниже.

Легкая цепь (VL подчеркнута):

SDISVAPGETARISCGEKSLGSRVQWYQHRAGQAPSLIIYNNQDRPSGIPERFSGSPDF
RPGTTATLTITTSVEAGDEADYYCHIWDSRVPTKWVFGGGTTLTVLGQPKAAPSVTLFPPS
 SEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLT
 PEQWKSHRYSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO: 456)

В одном варианте реализации комбинированная терапия включает антитело, содержащее такие же CDR, VH, VL, VH и VL, тяжелую, легкую или тяжелую и легкую цепи, как и любое из антител, описанных в данном изобретении, и антитело, содержащее такие же CDR, VH, VL, VH и VL, тяжелую, легкую или тяжелую и легкую цепи, как и антитела, описанные ниже.

Обозначение клона	PGT121.42 hlgG1/h лямбда
Тяжелая цепь (VH подчеркнута)	<u>QMQLQESGPGLVKPSSETLSLTCVSGASISDSYWSWIRRSPGKGLEWIGYVH</u> <u>KSGDNTYNPSLKSRVHLSLDTSKNQVLSLSSVTAADSGKYKARTLHGRRRI</u> <u>YGIVAFNEWFTYFYMDVWVGKGTQVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA</u> ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELAGPDVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPLPEEKTIISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDL DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFVLSHESLHSHYTKQSLSLSPGK (SEQ ID NO: 451)
CDR1 тяжелой цепи, по Кабату	DSYWS (SEQ ID NO: 444)
CDR2 тяжелой цепи, по Кабату	YVHKSGDNTYNPSLKS (SEQ ID NO: 445)
CDR3 тяжелой цепи, по Кабату	TLHGRRRIYGIVAFNEWFTYFYMDV (SEQ ID NO: 446)
Легкая цепь (VL подчеркнута)	<u>SDISVAPGETARISCGEKSLGSRVQWYQHRAGQAPSLIINQDRPSGIPER</u> <u>FSGSPDSPFGTTATLTITSEAGDEADYCHIWDSDRVPTKWWFVGGGTTTLTVL</u> <u>GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAG</u> <u>VETTTSPKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSQRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTE</u> <u>CS (SEQ ID NO: 452)</u>
CDR1 легкой цепи, по Кабату	GEKSLGSRVQ (SEQ ID NO: 448)
CDR2 легкой цепи, по Кабату	NNQDRPS (SEQ ID NO: 449)
CDR3 легкой цепи, по Кабату	HIWDSRVPTKVV (SEQ ID NO: 450)

В некоторых вариантах реализации антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, комбинируют или вводят совместно со вторым антителом или его антигенсвязывающим фрагментом (например, вторым неконкурирующим нейтрализующим антителом широкого спектра действия (bNAbs)), которое связывается с эпитопом или участком gp120 во второй вариационной петле (V2) и/или верхушке тримера Env, и содержит области VH и VL из антитела, выбранного из группы, состоящей из PG9, PG16, PGC14, PGG14, PGT-142, PGT-143, PGT-144, PGT-145, CH01, CH59, PGDM1400, CAP256, CAP256-VRC26.08, CAP256-VRC26.09, CAP256-VRC26.25, PCT64-24E и VRC38.01, или конкурирует с ними. Дополнительные нейтрализующие антитела широкого спектра действия, которые связываются с gp120 во второй вариационной петле (V2) и/или верхушке тримера Env, и которые можно применять в качестве второго антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, описаны, например, в WO 2010/107939; WO 2012/030904; WO 2018/075564 и WO 2018/125813, содержания которых настоящим полностью включены в данное изобретение посредством ссылки во всех отношениях.

В некоторых вариантах реализации антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, комбинируют или вводят совместно со вторым антителом или его антигенсвязывающим фрагментом (например, вторым неконкурирующим нейтрализующим антителом широкого спектра действия (bNAbs)), которое связывается с эпитопом или участком gp120 на стыке gp120 и gp41, и содержит области VH и VL из антитела, выбранного из группы, состоящей из PGT-151, CAP248-2B, 35022, 8ANC195, ACS202, VRC34 и VRC34.01, или конкурирует с ними. Дополнительные нейтрализующие антитела широкого спектра действия, которые связываются с gp120 на стыке gp120 и gp41 и которые можно применять в качестве второго антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, описаны, например, в WO 2011/038290; WO 2012/030904 и WO 2017/079479, содержания которых настоящим полностью включены в данное изобретение посредством ссылки во всех отношениях.

В некоторых вариантах реализации антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, комбинируют или вводят совместно со вторым антителом или его антигенсвязывающим фрагментом (например, вторым неконкурирующим нейтрализующим антителом широкого спектра действия (bNAbs)), которое связывается с эпитопом или участком безмолвной поверхности gp120 и содержит области VH и VL из антитела, выбранного из группы, состоящей из VRC-PG05 и SF12, или конкурирует с ними. См., например, Schoofs и др., "Broad and Potent Neutralizing Antibodies Recognize the Silent Face of the HIV Envelope", Immunity (2019) 14 мая. pii: S1074-7613(19)30194-3 (PMID 31126879).

В некоторых вариантах реализации антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, комбинируют или вводят совместно со вторым антителом или его антигенсвязывающим фрагментом (например, вторым неконкурирующим нейтрализующим антителом широкого спектра действия (bNAbs)), которое связывается с эпитопом или участком безмолвной поверхности gp120 и содержит области VH и VL из антитела, выбранного из группы, состоящей из VRC-PG05 и SF12, или конкурирует с ними. См., например, Schoofs и др., "Broad and Potent Neutralizing Antibodies Recognize the Silent Face of the HIV Envelope", Immunity (2019) 14 мая. pii: S1074-7613(19)30194-3 (PMID 31126879).

вающим фрагментом (например, вторым неконкурирующим нейтрализующим антителом широкого спектра действия (bNAb)), которое связывается с эпитопом или участком gp41 в околочембранном регионе (MPER). Дополнительные нейтрализующие антитела широкого спектра действия, которые связываются с gp41 в MPER и которые можно применять в качестве второго антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, описаны, например, в WO 2011/034582; WO 2011/038290; WO 2011/046623 и WO 2013/070776, содержания которых настоящим полностью включены в данное изобретение посредством ссылки во всех отношениях.

В некоторых вариантах реализации антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, комбинируют или вводят совместно со вторым антителом или его антигенсвязывающим фрагментом (например, вторым неконкурирующим нейтрализующим антителом широкого спектра действия (bNAb)), которое связывается с эпитопом или участком gp41 в околочембранном регионе (MPER) и содержит области VH и VL из антитела, выбранного из группы, состоящей из 10E8, 10E8v4, 10E8-5R-100cF, 4E10, DH511.11P, 2F5, 7b2 и LN01, или конкурирует с ними.

В некоторых вариантах реализации антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, комбинируют или вводят совместно со вторым антителом или его антигенсвязывающим фрагментом (например, вторым неконкурирующим нейтрализующим антителом широкого спектра действия (bNAb)), которое связывается с эпитопом или участком пептида слияния gp41 и содержит области VH и VL из антитела, выбранного из группы, состоящей из VRC34 и ACS202, или конкурирует с ними.

Дополнительные нейтрализующие антитела широкого спектра действия, которые можно применять в качестве второго терапевтического агента в комбинированной терапии, описаны, например, в патентах США № 8673307; 9493549; 9783594; и WO 2012/154312; WO 2012/158948; WO 2013/086533; WO 2013/142324; WO 2014/063059; WO 2014/089152, WO 2015/048462; WO 2015/103549; WO 2015/117008; WO 2016/014484; WO 2016/154003; WO 2016/196975; WO 2016/149710; WO 2017/096221; WO 2017/133639; WO 2017/133640, содержания которых настоящим полностью включены в данное изобретение посредством ссылки во всех отношениях. Дополнительные примеры включают антитела, описанные в Sajadi и др., *Cell*. (2018) 173(7):1783-1795; Sajadi и др., *J Infect Dis*. (2016) 213(1): 156-64; Klein и др., *Nature*, 492(7427): 118-22 (2012), Horwitz и др., *Proc Natl Acad Sci USA*, 110(41): 16538-43 (2013), Scheid и др.,

Science, 333 : 1633-1637 (2011), Scheid и др., *Nature*, 458:636-640 (2009), Eroshkin и др., *Nucleic Acids Res.*, 42 (номер в базе данных):D1 133-9 (2014), Mascola и др., *Immunol Rev.*, 254(1):225-44 (2013), такие как 2F5, 4E10, M66.6, CAP206-CH12, 10E8, 10E8v4, 10E8-5R-100cF, DH511.11P, 7b2 и LN01 (все из которых связывают MPER из gp41); PG9, PG16, CH01-04 (все из которых связывают V1V2-гликан), 2G12 (которое связывается с гликаном внешнего домена), содержания которых настоящим полностью включены в данное изобретение посредством ссылки во всех отношениях.

Типичные последовательности аминокислот VH и VL антитела против gp120 согласно настоящему изобретению, которые применяют в комбинированной терапии, включают последовательности, представленные в SEQ ID NO: 182 и 275, соответственно; SEQ ID NO: 182 и 278, соответственно; SEQ ID NO: 182 и 279, соответственно; SEQ ID NO: 182 и 280, соответственно; SEQ ID NO: 182 и 281, соответственно; SEQ ID NO: 182 и 282, соответственно; SEQ ID NO: 182 и 292, соответственно; SEQ ID NO: 182 и 304, соответственно; SEQ ID NO: 182 и 307, соответственно; SEQ ID NO: 182 и 309, соответственно; SEQ ID NO: 182 и 310, соответственно; SEQ ID NO: 220 и 310, соответственно; SEQ ID NO: 477 и 223, соответственно; SEQ ID NO: 477 и 278, соответственно; SEQ ID NO: 477 и 292, соответственно; и SEQ ID NO: 220 и 311, соответственно. В некоторых вариантах реализации последовательности аминокислот VH и VL антитела против gp120, применяемого в комбинированной терапии, представляют собой последовательности, представленные в SEQ ID NO: 477 и 278, соответственно. В некоторых вариантах реализации плечо биспецифического антитела, которое связывается с gp120, содержит последовательность аминокислот тяжелой цепи антитела против gp120, описанного в данном изобретении. В некоторых вариантах реализации плечо биспецифического антитела, которое связывается с gp120, содержит последовательность аминокислот легкой цепи антитела против gp120, описанного в данном изобретении. Типичные последовательности тяжелой цепи и легкой цепи антитела против gp120 согласно настоящему изобретению, которые применяют в комбинированной терапии, включают последовательности, представленные в SEQ ID NO: 2 и 49, соответственно; SEQ ID NO: 2 и 100, соответственно; SEQ ID NO: 42 и 101, соответственно; SEQ ID NO: 2 и 103, соответственно; SEQ ID NO: 2 и 104, соответственно; SEQ ID NO: 2 и 105, соответственно; SEQ ID NO: 2 и 106, соответственно; SEQ ID NO: 2 и 107, соответственно; SEQ ID NO: 2 и 117, соответственно; SEQ ID NO: 2 и 129, соответственно; SEQ ID NO: 2 и 132, соответственно; SEQ ID NO: 2 и 134, соответственно; SEQ ID NO: 2 и 569, соответственно; SEQ ID NO: 42 и 135, соответственно; SEQ ID NO: 529 и 49, соответственно; SEQ ID NO: 529 и 103, соответственно; SEQ ID NO: 529 и 117, соответственно; и SEQ ID NO: 42 и 136, соответственно. В некоторых вариантах реализации последовательности тяжелой цепи и легкой цепи антитела против gp120, применяемых в комбинированной терапии, представляют собой последовательности, представленные в SEQ ID NO: 529 и 103, соответственно.

В одном варианте реализации предложены фармацевтические композиции, содержащие антитело, описанное в данном изобретении, или его фармацевтическую композицию, в комбинации с одним или более (например, одним, двумя, тремя, одним или двумя, или от одного до трех) дополнительными терапевтическими агентами, и фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель или вспомогательное вещество.

В некоторых вариантах реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения ВИЧ-инфекции, включающий введение нуждающемуся в этом пациенту терапевтически эффективного количества антитела, описанного в данном изобретении, или его фармацевтической композиции, в комбинации с терапевтически эффективным количеством одного или более дополнительных терапевтических агентов, которые подходят для лечения ВИЧ-инфекции.

В некоторых вариантах реализации антитело, описанное в данном изобретении, или его фармацевтическую композицию комбинируют с одним, двумя, тремя, четырьмя или более дополнительными терапевтическими агентами. В некоторых вариантах реализации антитело, описанное в данном изобретении, или его фармацевтическую композицию комбинируют с двумя дополнительными терапевтическими агентами. В других вариантах реализации антитело, описанное в данном изобретении, или его фармацевтическую композицию комбинируют с тремя дополнительными терапевтическими агентами. В дополнительных вариантах реализации антитело, описанное в данном изобретении, или его фармацевтическую композицию комбинируют с четырьмя дополнительными терапевтическими агентами. Указанные один, два, три, четыре или более дополнительных терапевтических агентов могут представлять собой различные терапевтические агенты, выбранные из одного класса терапевтических агентов, и/или их можно выбрать из различных классов терапевтических агентов.

В некоторых вариантах реализации антитело, описанное в данном изобретении, вводят с одним или более дополнительными терапевтическими агентами. Совместное введение антитела, описанного в данном изобретении, с одним или более дополнительными терапевтическими агентами, как правило, относится к одновременному или последовательному введению соединения, описанного в данном изобретении, и одного или более дополнительных терапевтических агентов, так что терапевтически эффективные количества антитела, описанного в данном изобретении, и одного или более дополнительных терапевтических агентов одновременно присутствуют в организме пациента. При последовательном введении, комбинацию можно вводить двумя или более введениями.

Совместное введение включает введение разовых доз антител, описанных в данном изобретении, до или после введения разовых доз одного или более дополнительных терапевтических агентов. Например, антитело, описанное в данном изобретении, можно вводить в течение секунд, минут или часов с момента введения одного или более дополнительных терапевтических агентов. В некоторых вариантах реализации разовую дозу антитела, описанного в данном изобретении, вводят первой, с последующим введением в течение секунд или минут разовой дозы одного или более дополнительных терапевтических агентов. В качестве альтернативы, разовую дозу одного или более дополнительных терапевтических агентов вводят первой, с последующим введением разовой дозы антитела, описанного в данном изобретении, в течение секунд или минут. В других вариантах реализации разовую дозу антитела, описанного в данном изобретении, вводят первой, с последующим введением, через несколько часов (например, 1-12 ч), разовой дозы одного или более дополнительных терапевтических агентов. В других дополнительных вариантах реализации разовую дозу одного или более дополнительных терапевтических агентов вводят первой, с последующим введением, через несколько часов (например, 1-12 ч), разовой дозы антитела, описанного в данном изобретении.

В некоторых вариантах реализации антитело, описанное в данном изобретении, комбинируют с одним или более дополнительными терапевтическими агентами в единой лекарственной форме для одновременного введения пациенту, например, в виде твердой лекарственной формы для перорального введения.

В некоторых вариантах реализации антитело согласно настоящему изобретению включают в состав в виде жидкости, которая необязательно может содержать дополнительный(-ые) терапевтический(-е) агент(ы), пригодный(-е) для лечения ВИЧ. В некоторых вариантах реализации указанная жидкость может содержать другой активный ингредиент для лечения ВИЧ, такой как другое антитело против ВИЧ или его антигенсвязывающий фрагмент, ингибитор протеаз ВИЧ, нуклеозидный или нуклеотидный ингибитор обратной транскриптазы ВИЧ, нуклеозидный или нуклеотидный ингибитор обратной транскриптазы ВИЧ, ингибитор интегразы ВИЧ, ингибитор некаталитического участка интегразы ВИЧ (или аллостерический ингибитор), фармакокинетический энхансер и их комбинации.

В некоторых вариантах реализации дополнительный терапевтический агент представляет собой обращаемый латентность агент (LRA), например, агонист Toll-подобного рецептора (TLR), например, агонист TLR1 (№ гена в NCBI: 7096), TLR2 (№ гена в NCBI: 7097), TLR3 (№ гена в NCBI: 7098), TLR4 (№ гена в NCBI: 7099), TLR5 (№ гена в NCBI: 7100), TLR6 (№ гена в NCBI: 10333), TLR7 (№ гена в NCBI: 51284), TLR8 (№ гена в NCBI: 51311), TLR9 (№ гена в NCBI: 54106) и/или TLR10 (№ гена в NCBI: 81793). В некоторых вариантах реализации LRA представляет собой агонист TLR7. В других вариантах реализации дополнительный терапевтический агент представляет собой обращаемый латентность агент

(LRA), например, агонист TLR8. Примеры агонистов TLR включают, но не ограничены весатоломодом. Дополнительные примеры включают, но не ограничены соединениями, описанными в патенте США № 8367670, и соединениями, описанными в публикации заявки на патент США № 2016/0289229. В одном варианте реализации антитело согласно настоящему изобретению можно комбинировать с агонистом TLR7, таким как весатоломод. В другом варианте реализации антитело согласно настоящему изобретению можно комбинировать с агонистом TLR8, например, GS-9688. В одном варианте реализации дополнительный терапевтический агент представляет собой модулятор TLR. Модуляторы TLR могут включать модуляторы TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, TLR11, TLR12 и TLR13. Примеры модуляторов TLR3 включают ринтатолимод, поли-ICLC, RIBOXXON®, Ароххим, RIBOXXIM®, IPH-33, MCT-465, MCT-475 и ND-1.1. Типичные модуляторы TLR7 включают GS-9620, GSK-2245035, имихимод, резиквимод, DSR-6434, DSP-3025, LMO-4200, MCT-465, MEDI-9197, 3M-051, SB-9922, 3M-052, лимтоп (Limtop), TMX-30X, TMX-202, RG-7863, RG-7795 и соединения, описанные в US20100143301 (Gilead Sciences), US20110098248 (Gilead Sciences) и US20090047249 (Gilead Sciences). Типичные модуляторы TLR8 включают GS-9688, мотоломод, резиквимод, 3M-051, 3M-052, MCT-465, LMO-4200, VTX-763, VTX-1463 и соединения, описанные в US 20140045849 (Janssen), US 20140073642 (Janssen), WO 2014/056953 (Janssen), WO 2014/076221 (Janssen), WO 2014/128189 (Janssen), US 20140350031 (Janssen), WO 2014/023813 (Janssen), US 20080234251 (Array Biopharma), US 20080306050 (Array Biopharma), US 20100029585 (Ventirx Pharma), US 20110092485 (Ventirx Pharma), US 20110118235 (Ventirx Pharma), US 20120082658 (Ventirx Pharma), US 20120219615 (Ventirx Pharma), US 20140066432 (Ventirx Pharma), US 20140088085 (Ventirx Pharma), US 20140275167 (Novira Therapeutics) и US 20130251673 (Novira Therapeutics). Типичные модуляторы TLR9 включают BB-001, BB-006, CYT-003, LMO-2055, LMO-2125, LMO-3100, IMO-8400, LR-103, LMO-9200, агатолимод, DIMS-9054, DV-1079, DV-1179, AZD-1419, лефтолимод (MGN-1703), литенимод и CYT-003-QbG10.

В некоторых вариантах реализации дополнительный терапевтический агент представляет собой агонист геликазы 58 с DExD/H-боксом (DDX58; также известной как RIG-I, RIG1, RIGI, RLR-1, SGMRT2; № гена в NCBI: 23586). Типичный агонист RIG-I представляет собой KIN1148, описанный в Неманн и др., *J Immunol*, 1 мая 2016 г., 196 (приложение 1) 76.1. Дополнительные агонисты RIG-I описаны, например, в Elion и др., *Cancer Res.* (2018) 78(21):6183-6195; и Liu и др., *J Virol.* (2016) 90(20):9406-19. Агонисты RIG-I доступны для приобретения, например, у Invivogen (invivogen.com).

В некоторых вариантах реализации такие составы подходят для введения раз в день.

В некоторых вариантах реализации дополнительный терапевтический агент может представлять собой агент против ВИЧ. В некоторых случаях дополнительный терапевтический агент может представлять собой ингибиторы протеазы ВИЧ, нуклеозидные или нуклеотидные ингибиторы обратной транскриптазы ВИЧ, нуклеозидные или нуклеотидные ингибиторы обратной транскриптазы ВИЧ, ингибиторы интегразы ВИЧ, ингибиторы некаталитического участка интегразы ВИЧ (или аллостерические ингибиторы), ингибиторы проникновения ВИЧ, ингибиторы созревания ВИЧ, ингибиторы капсида ВИЧ, ингибиторы Tat или Rev ВИЧ, иммуномодуляторы (например, иммуностимуляторы), иммунотерапевтические агенты, конъюгаты антител с лекарственными средствами, модификаторы генов, средства редактирования генов (такие как CRISPR/Cas9, нуклеазы с цинковыми пальцами, хоминг-нуклеазы, синтетические нуклеазы, TALEN), клеточную терапию (такую как терапия Т-клетками с химерным антигенным рецептором, CAR-T, и Т-клетками со сконструированными Т-клеточными рецепторами, TCR-T, терапия аутологичными Т-клетками), обращающие латентность агенты, соединения, которые нацелены на капсид ВИЧ, иммунологические методы лечения, ингибиторы фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K), антитела против ВИЧ, биспецифические антитела и "подобные антителам" терапевтические белки, ингибиторы матриксного белка р17 ВИЧ, антагонисты IL-13, модуляторы пептидил-пролил-цис-транс-изомеразы А, ингибиторы протеиндисульфидизомеразы, антагонисты рецептора C5a комплемента, ингибитор ДНК-метилтрансферазы, модуляторы гена vif ВИЧ, антагонисты димеризации Vif, ингибиторы фактора инфекционности вируса ВИЧ-1, ингибиторы белка TAT, модуляторы Nef ВИЧ-1, модуляторы тирозинкиназы Иск, ингибиторы киназы 3 смешанной линии дифференцировки (MLK-3), ингибиторы сплайсинга ВИЧ-1, ингибиторы белка Rev, антагонисты интегрин, ингибиторы нуклеопротеина, модуляторы фактора сплайсинга, модуляторы белка 1, содержащего домен СОММ, ингибиторы рибонуклеазы Н ВИЧ, модуляторы ретроциклина, ингибиторы CDK-9, ингибиторы специфичного для дендритных клеток захватывающего ICAM-3 неинтегрин 1, ингибиторы белка GAG ВИЧ, ингибиторы белка POL ВИЧ, модуляторы фактора Н комплемента, ингибиторы убиквитинлигазы, ингибиторы дезоксицитидинкиназы, ингибиторы циклин-зависимых киназ, стимуляторы пропротеинконвертазы PC9, ингибиторы АТР-зависимой РНК-геликазы DDX3X, ингибиторы иницирующего комплекса обратной транскриптазы, ингибиторы G6PD и NADH-оксидазы, средства, улучшающие фармакокинетику, генотерапию ВИЧ, вакцины от ВИЧ и их комбинации.

В некоторых вариантах реализации дополнительный терапевтический агент выбран из группы, состоящей из комбинированных лекарственных средств от ВИЧ, других лекарственных средств для лечения ВИЧ, ингибиторов протеазы ВИЧ, ингибиторов обратной транскриптазы ВИЧ, ингибиторов интегразы

зы ВИЧ, ингибиторов некаталитического участка интегразы ВИЧ (или аллостерических ингибиторов), ингибиторов проникновения (слияния) ВИЧ, ингибиторов созревания ВИЧ, обращающих латентность агентов, ингибиторов капсида, иммунологических методов лечения, ингибиторов РІЗК, антител против ВИЧ, и биспецифических антител и "подобных антителам" терапевтических белков, и их комбинаций.

Комбинированные лекарственные средства.

В некоторых вариантах реализации антитела или антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, комбинируют с комбинированным лекарственным средством от ВИЧ. В некоторых вариантах реализации антитела или его антигенсвязывающий фрагмент содержит области CDR VH и области CDR VL, имеющие последовательности, представленные в SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно. В некоторых вариантах реализации антитела или его антигенсвязывающий фрагмент содержит области CDR VH и области CDR VL, имеющие последовательности, представленные в SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно, и содержит VH, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, например, на 100%, идентична последовательности аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 477, и VL, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, например, на 100%, идентична последовательности аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 278. В некоторых вариантах реализации антитела или его антигенсвязывающий фрагмент содержит последовательность VH, представленную в SEQ ID NO: 477, и последовательность VL, представленную в SEQ ID NO: 278. В некоторых вариантах реализации антитела или его антигенсвязывающий фрагмент содержит области CDR VH и области CDR VL, имеющие последовательности, представленные в SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно, и содержит тяжелую цепь, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, например, на 100%, идентична последовательности аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 529, и легкую цепь, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, например, на 100%, идентична последовательности аминокислот, представленной в SEQ ID NO: 103. В некоторых вариантах реализации антитела или его антигенсвязывающий фрагмент содержит последовательность тяжелой цепи, представленную в SEQ ID NO: 529, и последовательность легкой цепи, представленную в SEQ ID NO: 103. Примеры комбинированных лекарственных средств, которые можно применять с антителом согласно настоящему изобретению, включают Атрипла® (эфавиренз, дизопроксилфумарат тенофовира и эмтрицитабин); Комплера® (Эвиплера®; рилпивирин, дизопроксилфумарат тенофовира и эмтрицитабин); Стрибилд® (элвитегравир, кобицистат, дизопроксилфумарат тенофовира и эмтрицитабин); Трувада® (дизопроксилфумарат тенофовира и эмтрицитабин; TDF+FTC); Дескови® (алафенамид тенофовира и эмтрицитабин); Офесей® (алафенамид тенофовира, эмтрицитабин и рилпивирин); Дженвоя® (алафенамид тенофовира, эмтрицитабин, кобицистат и элвитегравир); дарунавир, полуфумарат алафенамида тенофовира, эмтрицитабин и кобицистат; эфавиренз, ламивудин и дизопроксилфумарат тенофовира; ламивудин и дизопроксилфумарат тенофовира; тенофовир и ламивудин; алафенамид тенофовира и эмтрицитабин; полуфумарат алафенамида тенофовира и эмтрицитабин; полуфумарат алафенамида тенофовира, эмтрицитабин и рилпивирин; полуфумарат алафенамида тенофовира, эмтрицитабин, кобицистат и элвитегравир; Комбивир® (зидовудин и ламивудин; AZT+3TC); Эпзиком® (Ливекса®; абакавир сульфат и ламивудин; ABC+3TC); Калетра® (Алувиа®; лопинавир и ритонавир); Триумек® (долутегравир, абакавир и ламивудин); Трививир® (абакавир сульфат, зидовудин и ламивудин; ABC+AZT+3TC); атазанавир и кобицистат; сульфат атазанавира и кобицистат; сульфат атазанавира и ритонавир; дарунавир и кобицистат; долутегравир и рилпивирин; долутегравир и гидрохлорид рилпивирин; долутегравир, сульфат абакавира и ламивудин; ламивудин, невирапин и зидовудин; ралтегравир и ламивудин; доравирин, ламивудин и дизопроксилфумарат тенофовира; доравирин, ламивудин и дизопроксил тенофовира; долутегравир + ламивудин, ламивудин + абакавир + зидовудин, ламивудин + абакавир, ламивудин + дизопроксилфумарат тенофовира, ламивудин + зидовудин + невирапин, лопинавир + ритонавир, лопинавир + ритонавир + абакавир + ламивудин, лопинавир + ритонавир + зидовудин + ламивудин, тенофовир + ламивудин и дизопроксилфумарат тенофовира + эмтрицитабин + гидрохлорид рилпивирин, лопинавир, ритонавир, зидовудин и ламивудин; Васс-4x и ромидепсин; и APH-0812.

Другие лекарственные средства от ВИЧ.

Примеры других лекарственных средств для лечения ВИЧ, которые можно комбинировать с антителом согласно настоящему изобретению, включают ацеманнан, алиспоривир, BanLec, деферипрон, Га-

мимун, метенкефалин, налтрексон, Проластин, REP 9, RPI-MN, VSSP, Hiviral, SB-728-T, 1,5-декаффеоилхинную (dicaffeoylquinic) кислоту, rHIV7-shl-TAR-CCR5RZ, генотерапию AAV-eCD4-Ig, генотерапию MazF, BlockAide, ABX-464, AG-1105, APH-0812, BIT-225, CYT-107, HGTV-43, HPH-116, HS-10234, IMO-3100, IND-02, MK-1376, MK-2048, MK-4250, MK-8507, MK-8591, NOV-205, PA-1050040 (PA-040), PGN-007, SCY-635, SB-9200, SCB-719, TR-452, TEV-90110, TEV-90112, TEV-90111, TEV-90113, RN-18, ImmuGlo и VIR-576.

Ингибиторы протеаз ВИЧ.

В некоторых вариантах реализации антитела или антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, комбинируют с ингибитором протеаз ВИЧ. Примеры ингибиторов протеаз ВИЧ, которые можно комбинировать с антителом согласно настоящему изобретению, включают ампренавир, атазанавир, брекканавир, дарунавир, фосампренавир, фосампренавир кальция, индинавир, сульфат индинавира, лопинавир, нелфинавир, мезилат нелфинавира, ритонавир, саквинавир, мезилат саквинавира, типранавир, DG-17, ТМВ-657 (PPL-100), Т-169, BL-008, МК-8122, ТМВ-607 и ТМС-310911.

Ингибиторы обратной транскриптазы ВИЧ.

В некоторых вариантах реализации антитела или антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, комбинируют с нуклеозидным или нуклеотидным ингибитором. Примеры нуклеозидных или нуклеотидных ингибиторов обратной транскриптазы ВИЧ, которые можно комбинировать с антителом согласно настоящему изобретению, включают дапивирин, делавирдин, мезилат делавирдина, доравирин, эфавиренз, этравирин, лентинан, невирапин, рилпивирин, АСС-007, АС-292, КМ-023, РС-1005 и элсульфавирин (VM-1500).

В некоторых вариантах реализации антитела или антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, комбинируют с нуклеозидным или нуклеотидным ингибитором ВИЧ. Примеры нуклеозидных или нуклеотидных ингибиторов обратной транскриптазы ВИЧ, которые можно комбинировать с антителом согласно настоящему изобретению, включают адефовир, дипивоксил адефовира, азвудин, эмтрицитабин, тенофовир, алафенамид тенофовира, фумарат алафенамида тенофовира, полуфумарат алафенамида тенофовира, дизопроксил тенофовира, дизопроксилфумарат тенофовира, полуфумарат дизопроксила тенофовира, VIDEX® и VIDEX ЕС® (диданозин, ddl), абакавир, сульфат абакавира, аловудин, априцитабин, ценсабудин, диданозин, элвудитабин, фестинавир, фосалвудина тидоксил, СМХ-157, дапивирин, доравирин, этравирин, OCR-5753, оротат дизопроксила тенофовира, фозивудина тидоксил, ламивудин, фосфазид, ставудин, зальцитабин, зидовудин, эталафенамид ровафовира (GS-9131), GS-9148, МК-8504, МК-8591, МК-858, VM-2500 и КР-1461.

Ингибиторы интегразы ВИЧ.

В некоторых вариантах реализации антитела или антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, комбинируют с ингибитором интегразы ВИЧ. Примеры ингибиторов интегразы ВИЧ, которые можно комбинировать с антителом согласно настоящему изобретению, включают элвитегравир, куркумин, производные куркумина, цикориевую кислоту, производные цикориевой кислоты, 3,5-декаффеоилхинную кислоту, производные 3,5-декаффеоилхинной кислоты, ауринтрикарбоновую кислоту, производные ауринтрикарбоновой кислоты, феноэтиловый сложный эфир кофеиновой кислоты, производные феноэтилового сложного эфира кофеиновой кислоты, тирфостин, производные тирфостина, кверцетин, производные кверцетина, ралтегравир, долутегравир, JTK-351, биктегравир, AVX-15567, каботегравир (длительного действия, инъеклируемый), производные дикетохинолина-4-1, ингибитор интегразы-LEDGF, LEDGIN, M-522, M-532, NSC-310217, NSC-371056, NSC-48240, NSC-642710, NSC-699171, NSC-699172, NSC-699173, NSC-699174, стилбенедисульфоновую кислоту, Т-169, VM-3500 и каботегравир.

В некоторых вариантах реализации антитела или антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, комбинируют с ингибитором некаталитического участка интегразы ВИЧ (или аллостерическим ингибитором) (NCINI). Примеры ингибиторов некаталитического участка интегразы ВИЧ (или аллостерических ингибиторов) (NCINI), которые можно комбинировать с антителом согласно настоящему изобретению, включают CX-05045, CX-05168 и CX-14442.

Ингибиторы проникновения ВИЧ.

В некоторых вариантах реализации антитела или антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, комбинируют с ингибитором проникновения ВИЧ. Примеры ингибиторов проникновения (слияния) ВИЧ, которые можно комбинировать с антителом согласно настоящему изобретению, включают ценикривирок, ингибиторы CCR5, ингибиторы gp41, ингибиторы присоединения CD4, ингибиторы gp120 и ингибиторы CXCR4.

В некоторых вариантах реализации антитела или антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, комбинируют с ингибитором CCR5. Примеры ингибиторов CCR5, которые можно комбинировать с антителом согласно настоящему изобретению, включают аплавирок, викривирок, маравирок, ценикривирок, леронлимаб (PRO-140), адаптавир (RAP-101), нифевирок (TD-0232), биспецифические антитела против GP120/CD4 или CCR5, В-07, МВ-66, полипептид С25Р, TD-0680 и vMIP (хаимипу (Haimipu)).

В некоторых вариантах реализации антитела или антигенсвязывающие фрагменты, описанные в

данном изобретении, комбинируют с ингибитором gp41. Примеры ингибиторов gp41, которые можно комбинировать с антителом согласно настоящему изобретению, включают албувиртид, энфувиртид, BMS-986197, энфувиртид класса BioBetter, биоаналог энфувиртида, ингибиторы слияния ВИЧ-1 (P26-Varc), ITV-1, ITV-2, ITV-3, ITV-4, тример PIE-12 и сифувиртид.

В некоторых вариантах реализации антитела или антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, комбинируют с ингибитором присоединения к CD4. Примеры ингибиторов присоединения к CD4, которые можно комбинировать с антителом согласно настоящему изобретению, включают ибализумаб и аналоги CADA.

В некоторых вариантах реализации антитела или антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, комбинируют с ингибитором gp120. Примеры ингибиторов gp120, которые можно комбинировать с антителом согласно настоящему изобретению, включают Radha-108 (рецептол), 3B3-PE38, VanLec, нанолекарство на основе бентонита, трометамин фостемсавира, IQP-0831 и BMS-663068.

В некоторых вариантах реализации антитела или антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, комбинируют с ингибитором CXCR4. Примеры ингибиторов CXCR4, которые можно комбинировать с антителом согласно настоящему изобретению, включают плериксафор, ALT-1188, пептид N15 и vMIP (Haimipu).

В некоторых вариантах реализации антитела или антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, комбинируют с ингибитором созревания ВИЧ. Примеры ингибиторов созревания ВИЧ, которые можно комбинировать с антителом согласно настоящему изобретению, включают BMS-955176, GSK-3640254 и GSK-2838232.

Обращающие латентность агенты.

В некоторых вариантах реализации антитела или антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, комбинируют с обращающими латентность агентами (LRA). Примеры обращающих латентность агентов, которые можно комбинировать с антителом согласно настоящему изобретению, включают агонисты Toll-подобного рецептора (TLR) (включая агонисты TLR7, например, GS-9620 и агонисты TLR8, например, GS-9688), ингибиторы деацетилаз гистонов (HDAC), ингибиторы протеасомы, такие как велкейд, активаторы протеинкиназы C (PKC), ингибиторы Smyd2, ингибиторы BET-бромодомен-содержащего белка 4 (BRD4), иономицин, антагонисты IAP (ингибитор белков апоптоза, такие как APG-1387, LBW-242), миметики SMAC (включая TL32711, LCL161, GDC-0917, HGS1029, AT-406), PMA, SAHA (суберанилогидроксамовая кислота, или субероил, анидид и гидроксамовая кислота), NIZ-985, модулирующие IL-15 антитела (включая IL-15, слитые белки IL-15 и агонисты рецепторов IL-15, например, ALT-803), JQ1, дисульфiram, амфотерицин В и ингибиторы убиквитина, такие как аналоги ларгазола, APH-0812 и GSK-343. Примеры ингибиторов HDAC включают ромидепсин, вориностат и панобиностат. Примеры активаторов PKC включают индолактамы, простратин, ингенол В и DAG-лактоны.

Агонисты Toll-подобного рецептора (TLR).

В различных вариантах реализации антитела или антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, комбинируют с агонистом Toll-подобного рецептора (TLR), например, агонистом TLR1 (№ гена в NCBI: 7096), TLR2 (№ гена в NCBI: 7097), TLR3 (№ гена в NCBI: 7098), TLR4 (№ гена в NCBI: 7099), TLR5 (№ гена в NCBI: 7100), TLR6 (№ гена в NCBI: 10333), TLR7 (№ гена в NCBI: 51284), TLR8 (№ гена в NCBI: 51311), TLR9 (№ гена в NCBI: 54106), и/или TLR10 (№ гена в NCBI: 81793). Примеры агонистов TLR7, которые можно совместно вводить, включают, без ограничения: AL-034, DSP-0509, GS-9620 (весатолимод), LHC-165, TMX-101 (имихимод), GSK-2245035, резиквимод, DSR-6434, DSP-3025, IMO-4200, MCT-465, MEDI-9197, 3M-051, SB-9922, 3M-052, Лимтоп, TMX-30X, TMX-202, RG-7863, RG-7854, RG-7795 и соединения, описанные в US 20100143301 (Gilead Sciences), US 20110098248 (Gilead Sciences), и US 20090047249 (Gilead Sciences), US 20140045849 (Janssen), US 20140073642 (Janssen), WO 2014/056953 (Janssen), WO 2014/076221 (Janssen), WO 2014/128189 (Janssen), US 20140350031 (Janssen), WO 2014/023813 (Janssen), US 20080234251 (Array Biopharma), US 20080306050 (Array Biopharma), US 20100029585 (Ventirx Pharma), US 20110092485 (Ventirx Pharma), US 20110118235 (Ventirx Pharma), US 20120082658 (Ventirx Pharma), US 20120219615 (Ventirx Pharma), US 20140066432 (Ventirx Pharma), US 20140088085 (Ventirx Pharma), US 20140275167 (Novira Therapeutics) и US 20130251673 (Novira Therapeutics). Агонист TLR7/TLR8, который можно совместно вводить, представляет собой NKTR-262, телратолимод и BDB-001. Примеры агонистов TLR8, которые можно совместно вводить, включают, без ограничения: E-6887, IMO-4200, IMO-8400, IMO-9200, MCT-465, MEDI-9197, мотолимод, резиквимод, GS-9688, VTX-1463, VTX-763, 3M-051, 3M-052 и соединения, описанные в US 20140045849 (Janssen), US 20140073642 (Janssen), WO 2014/056953 (Janssen), WO 2014/076221 (Janssen), WO 2014/128189 (Janssen), US 20140350031 (Janssen), WO 2014/023813 (Janssen), US 20080234251 (Array Biopharma), US 20080306050 (Array Biopharma), US 20100029585 (Ventirx Pharma), US 20110092485 (Ventirx Pharma), US 20110118235 (Ventirx Pharma), US 20120082658 (Ventirx Pharma), US 20120219615 (Ventirx Pharma), US 20140066432 (Ventirx Pharma), US 20140088085 (Ventirx Pharma), US 20140275167 (Novira Therapeutics), и US 20130251673 (Novira Therapeutics). Пример агонистов TLR9, которые можно совместно вводить, включают, без ограничения: AST-008, кобитолимод, CMP-001, IMO-2055, IMO-2125, литенимод, MGN-1601, BB-001, BB-006, IMO-3100, IMO-8400, IR-103, IMO-9200, агато-

лиמוד, DIMS-9054, DV-1079, DV-1179, AZD-1419, лефитолиמוד (MGN-1703), CYT-003, CYT-003-QbG10, тилсотолиמוד и PUL-042. Примеры агониста TLR3 включают ринтатолиמוד, поли-ICLC, RI-BOXXON®, Ароххim, RIBOXXIM®, IPH-33, MCT-465, MCT-475 и ND-1.1. Примеры агониста TLR4 включают G-100 и GSK-1795091.

Ингибиторы деацетилаз гистонов (HDAC).

В различных вариантах реализации антитела или антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, комбинируют с ингибитором деацетилаз гистонов, например, деацетилазы гистона 9 (HDAC9, HD7, HD7b, HD9, HDAC, HDAC7, HDAC7B, HDAC9B, HDAC9FL, HDRP, MITR; ген ID: 9734). Примеры ингибиторов HDAC включают, без ограничения: абексинонат, АСУ-241, AR-42, ВЕВТ-908, белинонат, СКД-581, CS-055 (HBI-8000), CUDC-907 (фимепинонат), энтинонат, гивинонат, моцетинонат, панобинонат, праинонат, квизинонат (JNJ-26481585), ресминонат, риколинонат, ромидепсин, SHP-141, вальпроевая кислота (VAL-001), воринонат, тиностамустин, реметинонат, энтинонат.

Ингибиторы капсида.

В некоторых вариантах реализации антитела или антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, комбинируют с ингибитором капсида. Примеры ингибиторов капсида, которые можно комбинировать с антителом согласно настоящему изобретению, включают ингибиторы полимеризации капсида или разрушающие капсид соединения, ингибиторы нуклеокапсида р7 ВИЧ (NCp7), такие как азодикарбонамид, ингибиторы капсидного белка р24 ВИЧ, GS-6207, AVI-621, AVI-101, AVI-201, AVI-301 и серия AVI-CAN1-15.

Иммунологические методы лечения.

В некоторых вариантах реализации антитела или антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, комбинируют с иммунологическим методом лечения. Примеры иммунологических методов лечения, которые можно комбинировать с антителом согласно настоящему изобретению, включают модуляторы Toll-подобных рецепторов (TLR) (например, агонисты), такие как агонисты TLR 1, TLR 2, TLR 3, TLR 4, TLR 5, TLR 6, TLR 7, TLR 8, TLR 9, TLR 10, TLR 11, TLR 12 и/или TLR 13; модуляторы белка 1 запрограммированной гибели клетки (PD-1); модуляторы лиганда 1 запрограммированной гибели (PD-L1); агонисты IL-15 (например, ALT-803); дермавир; интерлейкин-7; плаквенил (гидрохлорохин); пролейкин (альдеслейкин, IL-2); интерферон альфа; интерферон альфа-2b; интерферон альфа-n3; пегилированный интерферон альфа; интерферон гамма; гидроксимочевину; мофетил микофенолата (MPA) и эфирное производное мофетил микофенолата (MMF); рибавирин; ринтатолиמוד, полимер полиэтиленимин (PEI); гепон; IL-12; WF-10; VGV-1; MOR-22; BMS-936559; CYT-107, слитый белок интерлейкин-15/Fc, AM-0015, ALT-803, NIZ-985, NKTR-255, нормферон, пегинтерферон альфа-2a, пегинтерферон альфа-2b, рекомбинантный интерлейкин-15, RPI-MN, GS-9620, GS-9688, модуляторы STING, модуляторы RIG-I, модуляторы NOD2, SB-9200 и IR-103.

В некоторых вариантах реализации антитела или антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, комбинируют с агонистом TLR. Примеры агонистов TLR включают, без ограничения: весатолиמוד (GS-9620), лефитолиמוד, тилсотолиמוד, ринтатолиמוד, DSP-0509, AL-034, G-100, кобитолиמוד, AST-008, мотолиמוד, GSK-1795091, GSK-2245035, VTX-1463, GS-9688, LHC-165, BDB-001, RG-7854 и телратолиמוד.

Модуляторы рецепторного белка иммунных контрольных точек.

В различных вариантах реализации антитела или антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, комбинируют с одним или более блокаторами или ингибиторами белков или рецепторов ингибиторных иммунных контрольных точек и/или с одним или более стимуляторами, активаторами или агонистами одного или более стимулирующих белков или рецепторов иммунных контрольных точек. Блокирование или ингибирование ингибиторных иммунных контрольных точек может положительно регулировать активацию Т-клеток или НК-клеток и предотвращать ускользание от иммунного ответа инфицированных клеток. Активация или стимуляция стимулирующих иммунных контрольных точек может усилить действие ингибиторов иммунных контрольных точек при противоинфекционной терапии. В различных вариантах реализации белки или рецепторы иммунных контрольных точек регулируют ответы Т-клеток (например, см. обзор в Ху и др., *J Exp Clin Cancer Res.* (2018) 37:110). В различных вариантах реализации белки или рецепторы иммунных контрольных точек регулируют ответы НК-клеток (например, см. обзор в Davis и др., *Semin Immunol.* (2017) 31:64-75 и Chiossone и др., *Nat Rev Immunol.* (2018) 18(11):671-688).

Примеры белков или рецепторов иммунных контрольных точек включают, без ограничения: CD27, CD70; CD40, CD40LG; CD47, CD48 (SLAMF2), содержащий трансмембранный домен и домен иммуноглобулина белок 2 (TMIGD2, CD28H), CD84 (LY9B, SLAMF5), CD96, CD 160, MS4A1 (CD20), CD244 (SLAMF4); CD276 (B7H3); содержащий домен V-set ингибитор 1 активации Т-клеток (VTCN1, B7H4); содержащий V-set иммунорегуляторный рецептор (VSIR, B7H5, VISTA); представитель суперсемейства иммуноглобулинов 11 (IGSF11, VSIG3); лиганд 1 рецептора 3 цитотоксичности естественной клетки-киллера (NCR3LG1, B7H6); HERV-H LTR-связывающий белок 2 (HHLA2, B7H7); индуцируемый костимулятор Т-клеток (ICOS, CD278); лиганд индуцируемого костимулятора Т-клеток (ICOSLG, B7H2); представитель 4 суперсемейства рецепторов TNF (TNFRSF4, OX40); представитель 4 суперсемейства

TNF (TNFSF4, OX40L); TNFRSF8 (CD30), TNFSF8 (CD30L); TNFRSF10A (CD261, DR4, TRAILR1), TNFRSF9 (CD137), TNFSF9 (CD137L); TNFRSF10B (CD262, DR5, TRAILR2), TNFRSF10 (TRAIL); TNFRSF14 (HVEM, CD270), TNFSF14 (HVEM); CD272 (B- и Т-лимфоцитарный аттенуатор (BTLA)); TNFRSF17 (BCMA, CD269), TNFSF13B (BAFF); TNFRSF18 (GITR), TNFSF18 (GITRL); подобная полипептиду МНС I класса последовательность А (MICA); подобная полипептиду МНС I класса последовательность В (MICB); CD274 (CD274, PDL1, PD-L1); запрограммированная гибель клетки 1 (PDCD1, PD1, PD-1); белок 4, ассоциированный с цитотоксическими Т-лимфоцитами (CTLA4, CD152); CD80 (B7-1), CD28; молекулу клеточной адгезии нектин 2 (NECTIN2, CD112); CD226 (DNAM-1); молекулу клеточной адгезии рецептор полиовируса (PVR) (PVR, CD155); родственный PVR содержащий домен иммуноглобулина белок (PVRIG, CD112R); Т-клеточный иммунорецептор с доменами Ig и ITIM (TIGIT); Т-клеточный содержащий домен иммуноглобулина и домен муцина белок 4 (TIMD4; TIM4); клеточный рецептор 2 вируса гепатита А (HAVCR2, TIMD3, TIM3); галектин 9 (LGALS9); ген активации лимфоцитов 3 (LAG3, CD223); представитель 1 семейства сигнальных молекул активации лимфоцитов (SLAMF1, SLAM, CD150); антиген лимфоцитов 9 (LY9, CD229, SLAMF3); представитель 6 семейства SLAM (SLAMF6, CD352); представитель 7 семейства SLAM (SLAMF7, CD319); связывающий UL16 белок 1 (ULBP1); связывающий UL16 белок 2 (ULBP2); связывающий UL16 белок 3 (ULBP3); ранний транскрипт 1E ретиноевой кислоты (RAET1E; ULBP4); ранний транскрипт 1G ретиноевой кислоты (RAET1G; ULBP5); ранний транскрипт 1L ретиноевой кислоты (RAET1L; ULBP6); ген активации лимфоцитов 3 (CD223); иммуноглобулин-подобный рецептор клеток-киллеров с тремя доменами Ig и длинным цитоплазматическим хвостом 1 (KIR, CD158E1); лектин-подобный рецептор C1 клеток-киллеров (KLRC1, NKG2A, CD159A); лектин-подобный рецептор K1 клеток-киллеров (KLRK1, NKG2D, CD314); лектин-подобный рецептор C2 клеток-киллеров (KLRC2, CD159c, NKG2C); лектин-подобный рецептор C3 клеток-киллеров (KLRC3, NKG2E); лектин-подобный рецептор C4 клеток-киллеров (KLRC4, NKG2F); иммуноглобулин-подобный рецептор клеток-киллеров с двумя доменами Ig и длинным цитоплазматическим хвостом 1 (KLR2DL1); иммуноглобулин-подобный рецептор клеток-киллеров с двумя доменами Ig и длинным цитоплазматическим хвостом 2 (KLR2DL2); иммуноглобулин-подобный рецептор клеток-киллеров с двумя доменами Ig и длинным цитоплазматическим хвостом 3 (KLR2DL3); иммуноглобулин-подобный рецептор клеток-киллеров с тремя доменами Ig и длинным цитоплазматическим хвостом 1 (KIR3DL1); лектин-подобный рецептор D1 клеток-киллеров (KLRD1) и представитель 7 семейства SLAM (SLAMF7).

В различных вариантах реализации антитела или антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, комбинируют с одним или более блокаторами или ингибиторами одного или более Т-клеточных белков или рецепторов ингибиторных иммунных контрольных точек. Примеры Т-клеточных белков или рецепторов ингибиторных иммунных контрольных точек включают, без ограничения: CD274 (CD274, PDL1, PD-L1); лиганд 2 белка 1 запрограммированной гибели клеток (PDCD1LG2, PD-L2, CD273); белок 1 запрограммированной гибели клеток (PDCD1, PD1, PD-1); белок 4, ассоциированный с цитотоксическими Т-лимфоцитами (CTLA4, CD152); CD276 (B7H3); содержащий домен V-set ингибитор 1 активации Т-клеток (VTCN1, B7H4); содержащий V-set иммунорегуляторный рецептор (VSIR, B7H5, VISTA); представитель суперсемейства иммуноглобулинов 11 (IGSF11, VSIG3); TNFRSF14 (HVEM, CD270), TNFSF14 (HVEM); CD272 (B- и Т-лимфоцитарный аттенуатор (BTLA)); родственный PVR содержащий домен иммуноглобулина белок (PVRIG, CD112R); Т-клеточный иммунорецептор с доменами Ig и ITLM (TIGIT); ген активации лимфоцитов 3 (LAG3, CD223); клеточный рецептор 2 вируса гепатита А (HAVCR2, TLMD3, TIM3); галектин 9 (LGALS9); иммуноглобулин-подобный рецептор клеток-киллеров с тремя доменами Ig и длинным цитоплазматическим хвостом 1 (KLR, CD158E1); иммуноглобулин-подобный рецептор клеток-киллеров с двумя доменами Ig и длинным цитоплазматическим хвостом 1 (KIR2DL1); иммуноглобулин-подобный рецептор клеток-киллеров с двумя доменами Ig и длинным цитоплазматическим хвостом 2 (KIR2DL2); иммуноглобулин-подобный рецептор клеток-киллеров с двумя доменами Ig и длинным цитоплазматическим хвостом 3 (KIR2DL3); и иммуноглобулин-подобный рецептор клеток-киллеров с тремя доменами Ig и длинным цитоплазматическим хвостом 1 (KIR3DL1). В различных вариантах реализации FLT3L-Fc слитые белки, гомодимеры, гетеродимеры, полинуклеотиды, векторы, ЛНЧ и/или фармацевтические композиции, описанные в данном изобретении, комбинируют с одним или более агонистами или активаторами одного или более Т-клеточных стимулирующих белков или рецепторов иммунных контрольных точек. Примеры Т-клеточных стимулирующих белков или рецепторов иммунных контрольных точек включают, без ограничения: CD27, CD70; CD40, CD40LG; индуцируемый костимулятор Т-клеток (ICOS, CD278); лиганд индуцируемого костимулятора Т-клеток (ICOSLG, B7H2); представитель 4 суперсемейства рецепторов TNF (TNFRSF4, OX40); представитель 4 суперсемейства TNF (TNFSF4, OX40L); TNFRSF9 (CD137), TNFSF9 (CD137L); TNFRSF18 (GITR), TNFSF18 (GITRL); CD80 (B7-1), CD28; молекулу клеточной адгезии нектин 2 (NECTIN2, CD112); CD226 (DNAM-1); CD244 (2B4, SLAMF4), молекулу клеточной адгезии рецептор полиовируса (PVR) (PVR, CD155). См., например, Ху и др., J Exp Clin Cancer Res. (2018) 37:110.

В различных вариантах реализации антитела или антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, комбинируют с одним или более блокаторами или ингибиторами одного или более

НК-клеточных белков или рецепторов ингибиторных иммунных контрольных точек. Примеры НК-клеточных белков или рецепторов ингибиторных иммунных контрольных точек включают, без ограничения: иммуноглобулин-подобный рецептор клеток-киллеров с тремя доменами Ig и длинным цитоплазматическим хвостом 1 (KIR, CD158E1); иммуноглобулин-подобный рецептор клеток-киллеров с двумя доменами Ig и длинным цитоплазматическим хвостом 1 (KIR2DL1); иммуноглобулин-подобный рецептор клеток-киллеров с двумя доменами Ig и длинным цитоплазматическим хвостом 2 (KIR2DL2); иммуноглобулин-подобный рецептор клеток-киллеров с двумя доменами Ig и длинным цитоплазматическим хвостом 3 (KIR2DL3); иммуноглобулин-подобный рецептор клеток-киллеров с тремя доменами Ig и длинным цитоплазматическим хвостом 1 (KIR3DL1); лектин-подобный рецептор C1 клеток-киллеров (KLRC1, NKG2A, CD159A); и лектин-подобный рецептор D1 клеток-киллеров (KLRD1, CD94). В различных вариантах реализации FLT3L-Fc слитые белки, гомодимеры, гетеродимеры, полинуклеотиды, векторы, ЛНЧ и/или фармацевтические композиции, описанные в данном изобретении, комбинируют с одним или более агонистом или активаторами одного или более НК-клеточных стимулирующих белков или рецепторов иммунных контрольных точек. Примеры НК-клеточных стимулирующих белков или рецепторов иммунных контрольных точек включают, без ограничения: CD16, CD226 (DNAM-1); CD244 (2B4, SLAMF4); лектин-подобный рецептор K1 клеток-киллеров (KLRK1, NKG2D, CD314); представитель 7 семейства SLAM (SLAMF7). См., например, Davis и др., *Semin Immunol.* (2017) 31:64-75; Fang и др., *Semin Immunol.* (2017) 31:37-54; и Chiossone и др., *Nat Rev Immunol.* (2018) 18(11):671-688.

В некоторых вариантах реализации один или более ингибиторов иммунных контрольных точек включает белковый (например, антитело или его фрагмент, или миметик антитела) ингибитор PD-L1 (CD274), PD-1 (PDCD1) или CTLA4. В некоторых вариантах реализации один или более ингибиторов иммунных контрольных точек включает низкомолекулярный органический ингибитор PD-L1 (CD274), PD-1 (PDCD1) или CTLA4.

Примеры ингибиторов CTLA4, которые можно совместно вводить, включают, без ограничения: ипилимумаб, тремелиумаб, BMS-986218, AGEN1181, AGEN1884, BMS-986249, MK-1308, REGN-4659, ADU-1604, CS-1002, BCD-145, APL-509, JS-007, BA-3071, ONC-392, AGEN-2041, JHL-1155, KN-044, CG-0161, ATOR-1144, PBI-5D3H5, BPI-002, а также мультиспецифические ингибиторы FPT-155 (CTLA4/PD-L1/CD28), PF-06936308 (PD-1/ CTLA4), MGD-019 (PD-1/CTLA4), KN-046 (PD-1/CTLA4), MEDI-5752 (CTLA4/PD-1), XmAb-20717 (PD-1/CTLA4) и АК-104 (CTLA4/PD-1).

Примеры ингибиторов PD-L1 (CD274) или PD-1 (PDCD1), которые можно совместно вводить, включают, без ограничения: пембролизумаб, ниволумаб, цемиплимаб, пидилизумаб, AMP-224, MEDI0680 (AMP-514), спартализумаб, атезолизумаб, авелумаб, дурвалумаб, BMS-936559, SK-301, PF-06801591, BGB-A317 (тислелизумаб), GLS-010 (WBP-3055), АК-103 (HX-008), АК-105, CS-1003, HLX-10, MGA-012, BI-754091, AGEN-2034, JS-001 (торипалимаб), JNJ-63723283, генолимизумаб (CBT-501), LZM-009, BCD-100, LY-3300054, SHR-1201, SHR-1210 (камрелизумаб), Sym-021, ABBV-181, PD1-PIK, BAT-1306, (MSB0010718C), CX-072, CBT-508, TSR-042 (достарлимаб), MSB-2311, JTX-4014, BGB-A333, SHR-1316, CS-1001 (WBP-3155, KN-035, IBI-308 (синтилимаб), HLX-20, KL-A167, STI-A1014, STI-A1015 (IMC-001), BCD-135, FAZ-053, TQB-2450, MDX1105-01, GS-4224, GS-4416, INCB086550, MAX10181, а также мультиспецифические ингибиторы FPT-155 (CTLA4/PD-L1/CD28), PF-06936308 (PD-1/CTLA4), MGD-013 (PD-1/LAG-3), FS-118 (LAG-3/PD-L1) MGD-019 (PD-1/CTLA4), KN-046 (PD-1/CTLA4), MEDI-5752 (CTLA4/PD-1), RO-7121661 (PD-1/TIM-3), XmAb-20717 (PD-1/CTLA4), АК-104 (CTLA4/PD-1), M7824 (PD-L1/TGF β -EC домен), CA-170 (PD-L1/VISTA), CDX-527 (CD27/PD-L1), LY-3415244 (TIM3/PDL1) и INBRX-105 (4-1BB/PDL1).

В некоторых вариантах реализации низкомолекулярный ингибитор CD274 или PDCD1 выбран из группы, состоящей из GS-4224, GS-4416, INCB086550 и MAX10181. В некоторых вариантах реализации низкомолекулярный ингибитор CTLA4 включает BPI-002.

В различных вариантах реализации антитела или антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, комбинируют с антителами против TIGIT, такими как BMS-986207, RG-6058, AGEN-1307.

Агонисты или активаторы представителей суперсемейства рецепторов TNF (TNFRSF).

В различных вариантах реализации антитела или антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, комбинируют с агонистом одного или более представителей суперсемейства рецепторов TNF (TNFRSF), например, с агонистом одного или более из TNFRSF1A (№ гена в NCBI: 7132), TNFRSF1B (№ гена в NCBI: 7133), TNFRSF4 (OX40, CD134; № гена в NCBI: 7293), TNFRSF5 (CD40; № гена в NCBI: 958), TNFRSF6 (FAS, № гена в NCBI: 355), TNFRSF7 (CD27, № гена в NCBI: 939), TNFRSF8 (CD30, № гена в NCBI: 943), TNFRSF9 (4-1BB, CD137, № гена в NCBI: 3604), TNFRSF10A (CD261, DR4, TRAILR1, № гена в NCBI: 8797), TNFRSF 10B (CD262, DR5, TRAILR2, № гена в NCBI: 8795), TNFRSF 10C (CD263, TRAILR3, № гена в NCBI: 8794), TNFRSF10D (CD264, TRAILR4, № гена в NCBI: 8793), TNFRSF11A (CD265, RANK, № гена в NCBI: 8792), TNFRSF11B (№ гена в NCBI: 4982), TNFRSF12A (CD266, № гена в NCBI: 51330), TNFRSF13B (CD267, № гена в NCBI: 23495), TNFRSF13C (CD268, № гена в NCBI: 115650), TNFRSF16 (NGFR, CD271, № гена в NCBI: 4804), TNFRSF17 (BCMA, CD269, № гена в NCBI: 608), TNFRSF 18 (GITR, CD357, № гена в NCBI: 8784), TNFRSF19 (№ гена в

NCBI: 55504), TNFRSF21 (CD358, DR6, № гена в NCBI: 27242) и TNFRSF25 (DR3, № гена в NCBI: 8718).

Примеры антител против TNFRSF4 (OX40), которые можно совместно вводить, включают, без ограничения: MEDI6469, MEDI6383, MEDI0562 (таволиксизумаб), MOXR0916, PF-04518600, RG-7888, GSK-3174998, INCAGN1949, BMS-986178, GBR-8383, ABBV-368 и антитела, описанные в WO 2016179517, WO 2017096179, WO 2017096182, WO 2017096281 и WO 2018089628.

Примеры антител против TNFRSF5 (CD40), которые можно совместно вводить, включают, без ограничения: RG7876, SEA-CD40, APX-005M и ABBV-428.

В некоторых вариантах реализации совместно вводят антитело против TNFRSF7 (CD27) варлилу-маб (CDX-1127).

Примеры антител против TNFRSF9 (4-1BB, CD137), которые можно совместно вводить, включают, без ограничения: урелумаб, утомилумаб (PF-05082566), AGEN2373 и ADG-106.

Примеры антител против TNFRSF18 (GITR), которые можно совместно вводить, включают, без ограничения: MEDI1873, FPA-154, INCAGN-1876, TRX-518, BMS-986156, MK-1248, GWN-323 и антитела, описанные в WO 2017096179, WO 2017096276, WO 2017096189 и WO 2018089628. В некоторых вариантах реализации совместно вводят антитело, или его фрагмент, нацеленное на оба TNFRSF4 (OX40) и TNFRSF18 (GITR). Такие антитела описаны, например, в WO 2017096179 и WO 2018089628.

Привлекающие естественные клетки-киллеры (NK) би- и триспецифические активаторы.

В различных вариантах реализации антитела или антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, комбинируют с привлекающим NK-клетки биспецифическим активатором (BiKE), или привлекающим NK-клетки триспецифическим активатором (TriKE) (например, не содержащим Fc), или биспецифическим антителом (например, содержащим Fc) против активирующего NK-клетки рецептора, например, CD16A, рецептора лектина типа C (CD94/NKG2C, NKG2D, NKG2E/Н и NKG2F), рецептора естественной цитотоксичности (NKp30, NKp44 и NKp46), рецептора клеток-киллеров, подобного лектину типа C (NKp65, NKp80), Fc-рецептора FcγR (который опосредует антителозависимую клеточную цитотоксичность), рецепторов семейства SLAM (например, 2B4, SLAMF6 и SLAMF7), иммуноглобулин-подобных рецепторов клеток-киллеров (KIR) (KIR-2DS и KIR-3DS), DNAM-1 и CD137 (41BB). Примеры направленных против CD16 биспецифических антител, BiKE или TriKE, которые можно совместно вводить, включают AFM26 (BCMA/CD16A) и AFM-13 (CD16/CD30). При необходимости, связывающие CD16 биспецифические молекулы могут содержать или не содержать Fc. BiKE и TriKE описаны, например, в Felices и др., *Methods Mol Biol.* (2016) 1441:333-346; Fang и др., *Semin Immunol.* (2017) 31:37-54. Примеры привлекающего NK-клетки триспецифического активатора (TRiKE) включают OXS-3550 и CD16-IL-15-B7H3 TriKe.

Ингибиторы фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K).

В некоторых вариантах реализации антитела или антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, комбинируют с ингибитором PI3K. Примеры ингибиторов PI3K, которые можно комбинировать с антителом согласно настоящему изобретению, включают иделалисиб, алпелисиб, бупарлисиб, CAI орат, копанлисиб, дувелисиб, гедатолисиб, нератиниб, панулисиб, перифозин, пиктилисиб, пиларалисиб, мезилат пуквитиниба, ригосертиб, ригосертиб натрия, сонолисиб, таселисиб, AMG-319, AZD-8186, BAY-1082439, CLR-1401, CLR-457, CUDC-907, DS-7423, EN-3342, GSK-2126458, GSK-2269577, GSK-2636771, INCB-040093, LY-3023414, MLN-1117, PQR-309, RG-7666, RP-6530, RV-1729, SAR-245409, SAR-260301, SF-1126, TGR-1202, UCB-5857, VS-5584, XL-765 и ZSTK-474.

Антагонисты альфа-4/бета-7.

В некоторых вариантах реализации антитела или антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, комбинируют с антагонистом альфа-4/бета-7. Примеры антагонистов интегрин альфа-4/бета-7, которые можно комбинировать с антителом согласно настоящему изобретению, включают PTG-100, TRK-170, абрилумаб, этролизумаб, каротеграет метил и ведолизумаб.

Примеры направленных против ВИЧ антител, биспецифических антител и "подобных антителам" терапевтических белков, которые можно комбинировать с антителом согласно настоящему изобретению, включают DART®, DUOBODIES®, BITE®, XmAb®, Тандаб®, производные Fab, bNAbs (нейтрализующие антитела широкого спектра действия против ВИЧ-1), BMS-936559, TMB-360 и антитела, нацеленные на gp120 или gp41 ВИЧ, привлекающие антитела молекулы, нацеленные на ВИЧ, моноклональные антитела против CD63, антитела против вируса GB типа C, биспецифические антитела против GP120/CD4 и CCR5, однодоменные антитела против nef, антитело против Rev, происходящие из верблюдов антитела против CD18, происходящие из верблюдов антитела против ICAM-1, DCVax-001, нацеленные на gp140 антитела, терапевтические антитела против gp41 ВИЧ, рекомбинантные МАТ человека (PGT-121), ибализумаб, Immuglo, MB-66. Примеры антител, нацеленных на ВИЧ таким образом, включают бавитуксимаб, UB-421, C2F5, 2G12, C4E10, C2F5+C2G12+C4E10, 8ANC195, 3-BNC-117, 3BNC117-LS, 3BNC60, D1D2, 10-1074, 10-1074-LS, GS-9722, DH411-2, BG18, PGT145, PGT121, PGT122, PGT-151, PGT-133, PGT-134, PGT-135, PGT-128, MDX010 (ипилилумаб), DH511, DH511-2, N6, N6LS, N49P6, N49P7, N49P7.1, N49P9, N49P11, N60P1.1, N60P25.1, N60P2.1, N60P31.1, N60P22, NIH 45-46, PG9, PG16, 2Dm2m, 4Dm2m, 6Dm2m, PGDM1400, MDX010 (ипилилумаб), VRC01, VRC-01-LS, A32, 7B2, 10E8,

VRC-07-523, VRC07-523LS, 10E8VLS, 3810109, 10E8v4, IMC-HIV, iMabm36, eCD4-Ig, IOMA, CAP256-VRC26.25, DRVIA7, VRC-HIVMAB080-00-AB, VRC-HIVMAB060-00-AB, P2G12, VRC07 и SF12. Примеры биспецифических и триспецифических антител против ВИЧ включают MGD014, ТМВ-биспецифическое, SAR-441236, VRC-01/PGDM-1400/10E8v4, 10E8.4/iMab, 10E8v4/PGT121-VRC01. Пример доставляемых *in vivo* bnAB, таких как AAV8-VRC07; мРНК, кодирующей антитело против ВИЧ VRC01; и сконструированных В-клеток, кодирующих 3BNC117, описаны в Hartweiger и др., J. Exp. Med. (2019), 1301.

Средства, улучшающие фармакокинетику.

В некоторых вариантах реализации антитела или антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, комбинируют со средством, улучшающим фармакокинетику. Примеры средств, улучшающих фармакокинетику, которые можно комбинировать с антителом согласно настоящему изобретению, включают кобицистат и ритонавир.

Дополнительные терапевтические агенты.

Примеры дополнительных терапевтических агентов, которые можно комбинировать с антителом согласно настоящему изобретению, включают соединения, описанные в WO 2004/096286 (Gilead Sciences), WO 2006/015261 (Gilead Sciences), WO 2006/110157 (Gilead Sciences), WO 2012/003497 (Gilead Sciences), WO 2012/003498 (Gilead Sciences), WO 2012/145728 (Gilead Sciences), WO 2013/006738 (Gilead Sciences), WO 2013/159064 (Gilead Sciences), WO 2014/100323 (Gilead Sciences), US 2013/0165489 (Университет штата Пенсильвания), US 2014/0221378 (Japan Tobacco), US 2014/0221380 (Japan Tobacco), WO 2009/062285 (Boehringer Ingelheim), WO 2010/130034 (Boehringer Ingelheim), WO 2013/006792 (Pharma Resources), US 20140221356 (Gilead Sciences), US 20100143301 (Gilead Sciences) и WO 2013/091096 (Boehringer Ingelheim).

Вакцины от ВИЧ.

В некоторых вариантах реализации антитела или антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, комбинируют с вакциной от ВИЧ. В различных вариантах реализации вакцина от ВИЧ вызывает Т-клеточный ответ. Примеры вакцин, которые можно комбинировать с описанными в данном изобретении антителами и их фрагментами, включают, без ограничения: вакцины на основе вирусного вектора (например, аренавирусов, аденовирусов, поксвирусов, рабдовирусов), а также вакцины на основе нуклеиновых кислот (например, ДНК, РНК и самореплицирующейся РНК). В некоторых вариантах реализации вакцина против ВИЧ содержит один или более полипептидных иммуногенов вакцины. Примеры вакцин от ВИЧ, которые можно комбинировать с антителом согласно настоящему изобретению, включают пептидные вакцины, рекомбинантные субъединичные белковые вакцины, живые векторные вакцины, ДНК-вакцины, вакцины на основе пептидов из CD4, комбинации вакцин, вакцины на основе аденовирусного вектора, вакцины на основе аденовируса шимпанзе (например, ChAdOX1, ChAd68, ChAd3 и т.д.), вакцины на основе вирусов Коксаки, вакцины на основе аденовируса гориллы, вакцины на основе аренавируса (LCMV, пичинде), вакцину на основе вируса кори, вакцину на основе вируса ветряной оспы, вакцины на основе вируса парагриппа 3 (PIV3) человека, вакцину на основе поксвируса (модифицированного вируса коровой оспы Анкара (MVA), штаммы NYVAC и ALVAC); вакцины на основе рабдовируса, такого как VSV и марабавирус; вакцины на основе альфавируса, такого как вирус леса Семлики, вирус венесуэльского энцефалита лошадей и вирус Синдбис; (см. Lauer, *Clinical and Vaccine Immunology*, (2017), DOI: 10.1128/CVI.00298-16); терапевтические вакцины на основе мРНК в составе ЛНЧ; вакцины на основе самореплицирующейся РНК/самоамплифицирующейся РНК в составе ЛНЧ, *rgp120* (AIDSVAX), ALVAC HIV (*vCP1521*)/AIDSVAX В/Е (*gp120*) (RV144), вакцину на основе мономерного *gp120* ВИЧ-1 подтипа С, Ремун, ITV-1, Contre Vir, Ad5-ENVA-48, DCVax-001 (CDX-2401), Vacc-4x, Vacc-C5, VAC-3S, рекомбинантный аденовирус 5 с мультикладной ДНК (*rAd5*), вакцину *rAd5 gag-pol env A/B/C*, Pennvax-G, Pennvax-GP, Pennvax-G/MVA-CMDR, вакцину HIV-TriMix-мРНК, HIV-LAMP-vax, Ad35, Ad35-GRIN, NAcGM3/VSSP ISA-51, вакцины с адьювантом поли-ICLC, TatImmune, GTU-multiHIV (FIT-06), *gp140*[Δ]V2.TVI+MF-59, вакцину на основе *gag* ВИЧ-1 *rVSVIN*, вакцину SeV-Gag, AT-20, DNK-4, *ad35-Grin/ENV*, TBC-M4, HIVAX, HIVAX-2, NYVAC-HIV-PT1, NYVAC-HIV-PT4, DNA-HIV-PT123, *rAAV1-PG9DP*, GOVX-B11, GOVX-B21, TVI-HIV-1, Ad-4 (*Ad4-env* кланды C+Ad4-mGag), Paxvax, EN41-UGR7C, EN41-FPA2, PreVaxTat, AE-H, MYM-V101, CombiHIVvac, ADVAX, MYM-V201, MVA-CMDR, ДНК-AdS *gag/pol/nef/nev* (HVTN505), MVATG-17401, ETV-01, CDX-1401, *rcAD26.MOS1.HIV-Env*, вакцину Ad26.Mod.HIV, Ad26.Mod.HIV + мозаичная вакцина MVA + *gp140*, AGS-004, AVX-101, AVX-201, PEP-6409, SAV-001, ThV-01, TL-01, TUTI-16, VGX-3300, IHV-001, и вакцины на основе подобной вирусу частицы, такие как псевдовирсионная вакцина, CombiVICHvac, вакцину на основе слитого LFn-p24 В/С, ДНК-вакцину на основе GTU, ДНК-вакцину на основе *gag/pol/nef/env* ВИЧ, вакцину от ВИЧ, направленную против ТАТ, вакцину на основе конъюгированных полипептидов, вакцины на основе дендритных клеток (например, такие как Дермавир), ДНК-вакцину на основе *gag*, GI-2010, вакцину на основе *gp41* ВИЧ-1, вакцину от ВИЧ (адьювант РІКА), гибридные пептидные вакцины I i-key/эпитоп МНС II класса, ITV-2, ITV-3, ITV-4, LIPO-5, мультикладную вакцину на основе Env, вакцину на основе MVA, Pennvax-GP, вакцину на основе вектора HCMV с удаленным *pp71* с *gag* ВИЧ, вакцину на основе рекомбинантного пептида (ВИЧ-инфекция), NCI, вакцину на основе *rgp160* ВИЧ, вакцину от ВИЧ RNac-

tive, SCB-703, вакцину Tat Oyi, TBC-M4, терапевтическую вакцину от ВИЧ, UBI gp120 HIV, Vacc-4x + ромидепсин, вакцину на основе варианта полипептида gp120, вакцину на основе rAd5 gag-pol env A/B/C, DNA.HTI и MVA.HTI, VRC-HIVDNA016-00-VP + VRC-HIVADV014-00-VP, INO-6145, JNJ-9220, gp145 C.6980; вакцину на основе 60-мера eOD-GT8, PD-201401, ДНК-вакцину на основе env (A, B, C, A/E)/gag (C), вакцину на основе белка gp120 (A,B,C,A/E), PDPHV-201401, Ad4-EnvCN54, вакцину EnvSeq-1 Envs HIV-1 (с адьювантом GLA-SE), HIV p24gag ргi, вакцину на основе плазмидной ДНК me-boost, вакцину на основе аренавирусного вектора (Vaxwave, TheraT), схему вакциноотерапии MVA-BN HIV-1, UBI gp120 HIV, профилактические вакцины на основе мРНК и TBL-1203HI.

Комбинированная терапия с противозачаточными средствами (контрацептивами).

В некоторых вариантах реализации антитела или антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, комбинируют со схемой приема противозачаточных средств или контрацептивов. Терапевтические агенты, применяемые в качестве противозачаточных средств (контрацептивов), которые можно комбинировать с антителом согласно настоящему изобретению, включают ацетат ципротерона, дезогестрел, диеногест, дроспиренон, валерат эстрадиола, этинилэстрадиол, этинодиол, этоноргестрел, левомефолат, левоноргестрел, линестрел, медроксипрогестерона ацетат, местранол, мифепристон, мизопростол, номегестрола ацетат, норэргестромин, норэтиндрон, норэтинодрел, норгестимат, ормелоксифен, ацетат сегестерона, ацетат улипристала и любые их комбинации.

В одном варианте реализации антитела, описанное в данном изобретении, или фармацевтически приемлемую соль указанного соединения, комбинируют с одним, двумя, тремя, четырьмя или более дополнительными терапевтическими агентами, выбранными из следующих: Атрипла® (эфавиренз, дизопроксилфумарат тенофовира и эмтрицитабин); Комплера® (Эвиллера®; рилпивирин, дизопроксилфумарат тенофовира и эмтрицитабин); Стрибилд® (элвитегравир, кобицистат, дизопроксилфумарат тенофовира и эмтрицитабин); Трувада® (дизопроксилфумарат тенофовира и эмтрицитабин; TDF + FTC); Дескови® (алафенамид тенофовира и эмтрицитабин); Одефсей® (алафенамид тенофовира, эмтрицитабин и рилпивирин); Дженвоя® (алафенамид тенофовира, эмтрицитабин, кобицистат и элвитегравир); адефовир; дипивоксил адефовира; кобицистат; эмтрицитабин; тенофовир; дизопроксил тенофовира; дизопроксилфумарат тенофовира; алафенамид тенофовира; полуфумарат алафенамида тенофовира; Триумек® (долутегравир, абакавир и ламивудин); долутегравир, сульфат абакавира и ламивудин; ралтегравир; ралтегравир и ламивудин; маравирик; энфувиртид; Алувиа® (Калетра®; лопинавир и ритонавир); Комбивир® (зидовудин и ламивудин; AZT+3TC); Эпзиком® (Ливекса®; сульфат абакавира и ламивудин; ABC+3TC); Тризивир® (сульфат абакавира, зидовудин и ламивудин; ABC+AZT+3TC); рилпивирин; гидрхлорид рилпивирин; сульфат атазанавира и кобицистат; атазанавир и кобицистат; дарунавир и кобицистат; атазанавир; сульфат атазанавира; долутегравир; элвитегравир; ритонавир; сульфат атазанавира и ритонавир; дарунавир; ламивудин; проластин; фосампренавир; фосампренавир кальция эфавиренз; этравирин; нелфинавир; мезилат нелфинавира; интерферон; диданозин; ставудин; индинавир; сульфат индинавира; тенофовир и ламивудин; зидовудин; невирапин; саквинавир; мезилат саквинавира; альдеслейкин; зальцитабин; типранавир; ампренавир; делавирдин; мезилат делавирдина; Radha-108 (рецептол); ламивудин и дизопроксилфумарат тенофовира; эфавиренз, ламивудин и дизопроксилфумарат тенофовира; фосфазид; ламивудин, невирапин и зидовудин; абакавир и сульфат абакавира.

В некоторых вариантах реализации антитела, описанное в данном изобретении, или его фармацевтическую композицию комбинируют с нуклеозидным или нуклеотидным ингибитором обратной транскриптазы ВИЧ и ненуклеозидным ингибитором обратной транскриптазы ВИЧ. В другом конкретном варианте реализации антитела, описанное в данном изобретении, или его фармацевтическую композицию комбинируют с нуклеозидным или нуклеотидным ингибитором обратной транскриптазы ВИЧ, и соединением, ингибирующим протеазу ВИЧ. В дополнительном варианте реализации антитела, описанное в данном изобретении, или его фармацевтическую композицию комбинируют с нуклеозидным или нуклеотидным ингибитором обратной транскриптазы ВИЧ, ненуклеозидным ингибитором обратной транскриптазы ВИЧ и энхансером фармакокинетики. В некоторых вариантах реализации антитела, описанное в данном изобретении, или его фармацевтическую композицию комбинируют с по меньшей мере одним нуклеозидным ингибитором обратной транскриптазы ВИЧ, ингибитором интегразы и энхансером фармакокинетики. В другом варианте реализации антитела, описанное в данном изобретении, или его фармацевтическую композицию комбинируют с двумя нуклеозидными или нуклеотидными ингибиторами обратной транскриптазы ВИЧ.

В некотором варианте реализации антитела, описанное в данном изобретении, или его фармацевтическую композицию комбинируют с сульфатом абакавира, тенофовиром, дизопроксилем тенофовира, дизопроксилфумаратом тенофовира, полуфумаратом дизопроксила тенофовира, алафенамидом тенофовира или полуфумаратом алафенамида тенофовира.

В другом варианте реализации антитела, описанное в данном изобретении, или его фармацевтическую композицию комбинируют с тенофовиром, дизопроксилем тенофовира, дизопроксилфумаратом тенофовира, алафенамидом тенофовира или полуфумаратом алафенамида тенофовира.

В еще одном варианте реализации антитела, описанное в данном изобретении, или его фармацевти-

ческую композицию комбинируют с первым дополнительным терапевтическим агентом, выбранным из группы, состоящей из сульфата абакавира, тенофовира, дизопроксила тенофовира, дизопроксилфумарата тенофовира, алафенамида тенофовира и полуфумарата алафенамида тенофовира, и вторым дополнительным терапевтическим агентом, выбранным из группы, состоящей из эмтрицитабина и ламивудина.

В другом варианте реализации антитело, описанное в данном изобретении, или его фармацевтическую композицию комбинируют с первым дополнительным терапевтическим агентом, выбранным из группы, состоящей из тенофовира, дизопроксила тенофовира, дизопроксилфумарата тенофовира, алафенамида тенофовира и полуфумарата алафенамида тенофовира, и вторым дополнительным терапевтическим агентом, причем второй дополнительный терапевтический агент представляет собой эмтрицитабин.

В некоторых вариантах реализации антитело, описанное в данном изобретении, или его фармацевтическую композицию комбинируют с первым дополнительным терапевтическим агентом (контрацептивами), выбранным из группы, состоящей из ацетата ципротерона, дезогестрела, диеногеста, дроспиренона, валерата эстрадиола, этинилэстрадиола, этинодиола, этногестрела, левомефолата, левоноргестрела, линестренола, ацетата медроксипрогестерона, местранола, мифепристона, мизопростола, ацетата номегестрела, норэллагестромина, норэтиндрона, норэтинодрела, норгестимата, ормелоксифена, ацетата сегестерона, ацетата улипристала и любой их комбинации.

Генотерапия и клеточная терапия.

В некоторых вариантах реализации антитела или антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, комбинируют с курсом генной или клеточной терапии. Генотерапия и клеточная терапия включают, без ограничения: генетическую модификацию для выключения гена; генетические подходы для непосредственного уничтожения инфицированных клеток; инфузию иммунных клеток, разработанных для замещения большей части собственной иммунной системы пациента, чтобы повысить иммунный ответ на инфицированные клетки, или активировать собственную иммунную систему пациента, чтобы уничтожить инфицированные клетки, или найти и уничтожить инфицированные клетки; генетические подходы для модификации активности клетки, чтобы дополнительно изменить эндогенную иммунологическую реактивность против инфекции. Примеры терапии дендритными клетками включают AGS-004. Агенты редактирования гена CCR5 включают SB-728T. Ингибиторы гена CCR5 включают Cal-1. В некоторых вариантах реализации экспрессирующие C34-CCR5/C34-CXCR4 CD4-положительные Т-клетки вводят совместно с описанными в данном изобретении антителами или их антигенсвязывающими фрагментами. В некоторых вариантах реализации антитела или антигенсвязывающие фрагменты вводят совместно с терапией трансдуцированными AGT-103 аутологичными Т-клетками или с генотерапией AAV-eCD4-Ig.

Средства редактирования генов.

В некоторых вариантах реализации антитела или антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, комбинируют со средством редактирования генов, например, с нацеленным на ВИЧ средством редактирования генов. В различных вариантах реализации систему редактирования генома можно выбрать из группы, состоящей из: комплекса CRISPR/Cas9, комплекса нуклеазы с цинковыми пальцами, комплекса TALEN, комплекса хоминг-эндонуклеаз и комплекса мегануклеазы. Типичная нацеленная на ВИЧ система CRISPR/Cas9 включает, без ограничения, EBT-101.

CAR-T-клеточная терапия.

В некоторых вариантах реализации антитела или антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, можно вводить совместно с популяцией иммунных эффекторных клеток, сконструированных для экспрессии химерного антигенного рецептора (CAR), причем CAR содержит домен, связывающий антиген ВИЧ. Антиген ВИЧ включает белок оболочки ВИЧ или его часть, gp120 или его часть, сайт связывания CD4 на gp120, индуцированный CD4 сайт связывания на gp120, N-гликан на gp120, V2 gp120, околочелюстной регион на gp41. Иммунная эффекторная клетка представляет собой Т-клетку или NK-клетку. В некоторых вариантах реализации Т-клетка представляет собой CD4+ Т-клетку, CD8+ Т-клетку или их комбинацию. Клетки могут быть аутологическими или аллогенными. Примеры CAR-T ВИЧ включают VC-CAR-T, CMV-N6-CART, терапию CART-клетками против CD4, аутологичными гематопозитическими стволовыми клетками, сконструированными генетическим способом для экспрессии CD4 CAR и пептида C46.

TCR-T-клеточная терапия.

В некоторых вариантах реализации антитела или антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, комбинируют с популяцией TCR-T-клеток. TCR-T-клетки сконструированы для нацеливания на происходящие из ВИЧ пептиды, присутствующие на поверхности инфицированных вирусом клеток.

В-клеточная терапия.

В некоторых вариантах реализации антитела или антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном изобретении, комбинируют с популяцией В-клеток, генетически модифицированных, чтобы экспрессировать нейтрализующие антитела широкого спектра действия, такие как 3BNC117 (Hartweg et al., J. Exp. Med. 2019, 1301, Moffett et al., Sci. Immunol. 4, eaax0644 (2019) 17 мая 2019 г.)

Наборы.

В объем настоящего изобретения также входят наборы, содержащие одно или более антител или антигенсвязывающих фрагментов, описанных в данном изобретении, или их конъюгаты. В одном случае, в настоящем изобретении предложена фармацевтическая упаковка или набор, содержащий один или более контейнеров (например, флаконов, ампул), наполненных одним или более ингредиентами фармацевтических композиций, описанных в данном изобретении, такими как одно или более антител, предложенных в данном изобретении. В некоторых случаях наборы содержат фармацевтическую композицию, описанную в данном изобретении. В одном варианте реализации предложены наборы, содержащие антитело, описанное в данном изобретении, или его фармацевтическую композицию, в комбинации с одним или более (например, одним, двумя, тремя, одним или двумя, или от одного до трех) дополнительными терапевтическими агентами (такими как агенты, описанные выше).

В некоторых вариантах реализации наборы содержат одну или более разовых доз антител или антигенсвязывающих фрагментов, или полинуклеотида или полинуклеотидов, в одном или более контейнерах. В некоторых вариантах реализации наборы содержат одну или более разовых доз антител или антигенсвязывающих фрагментов и второй агент (например, один или более дополнительных агентов) для лечения ВИЧ-инфекции в отдельных контейнерах. В некоторых вариантах реализации наборы дополнительно содержат одну или более разовых доз агониста Toll-подобного рецептора (TLR). В некоторых вариантах реализации агонист TLR представляет собой агонист TLR7 или агонист TLR8. В некоторых вариантах реализации агонист TLR7 выбран из группы, состоящей из весатолимода, имихимода и резиквимода. В некоторых вариантах реализации наборы содержат одну или более разовых доз антител или антигенсвязывающих фрагментов, описанных в данном изобретении, и одну или более разовых доз второго, третьего или четвертого антитела против ВИЧ, или их антигенсвязывающих фрагментов, причем второе, третье или четвертое антитела против ВИЧ, или их антигенсвязывающие фрагменты, связываются с эпитопами или участками gp120, выбранными из группы, состоящей из: (i) третьей вариабельной петли (V3) и/или участка с высоким содержанием маннозы, содержащего гликан олигоманнозного типа в положении N332; (ii) второй вариабельной петли (V2) и/или верхушки тримера Env; (iii) стыка gp120 и gp41 или (iv) безмолвной поверхности gp120. В некоторых вариантах реализации второе антитело против ВИЧ или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с третьей вариабельной петлей (V3) и/или участком с высоким содержанием маннозы, содержащим гликан олигоманнозного типа в положении N332. В некоторых вариантах реализации второе антитело против ВИЧ содержит области VH и VL из антитела, выбранного из группы, состоящей из GS-9722, PGT-121, PGT-122, PGT-123, PGT-124, PGT-125, PGT-126, PGT-128, PGT-130, PGT-133, PGT-134, PGT-135, PGT-136, PGT-137, PGT-138, PGT-139, 10-1074, VRC24, 2G12, BG18, 354BG8, 354BG18, 354BG42, 354BG33, 354BG129, 354BG188, 354BG411, 354BG426, DH270.1, DH270.6, PGDM12, VRC41.01, PGDM21, PCDN-33A, BF520.1 и VRC29.03, или конкурирует с ними. В некоторых вариантах реализации второе антитело против ВИЧ или его антигенсвязывающие фрагменты содержат области VH и VL из антитела, выбранного из группы, состоящей из GS-9722 и PGT-121, или конкурируют с ними. В некоторых вариантах реализации наборы содержат две или более разовых доз, причем разовые дозы одинаковы. В некоторых вариантах реализации наборы содержат две или более разовых дозы, причем разовые дозы различны.

Необязательно к такому(-им) контейнеру(-ам) может прилагаться уведомление в форме, предусмотренной правительственным органом, регулирующим производство, применение или реализацию фармацевтических средств или биологических продуктов, указанное уведомление отражает одобрение указанным органом производства, применения или реализации для введения человеку.

Примеры

Следующие примеры предложены для иллюстрирования различных вариантов реализации и не должны толковаться как ограничивающие объем настоящего изобретения. В тех случаях, когда упоминаются конкретные материалы, они упоминаются лишь с целью иллюстрирования и не предназначены для ограничения настоящего изобретения. Специалист в данной области может разработать эквивалентные средства или реактивы без процедуры изобретательского свойства, и не отклоняясь от объема настоящего изобретения.

Пример 1. Активность АЗКЦ антитела А.

АЗКЦ инфицированных ВИЧ целевых CD4⁺ Т-клеток антителами анализировали *in vitro*, применяя инфицированные ВИЧ клетки СЕМ.NKг.CCR5⁺Luc⁺ и первичные эффекторные НК-клетки человека из независимых здоровых доноров.

В исследовании использовали как чувствительные к PGT121, так и устойчивые к PGT121 вирусы и антитела, содержащие модификации в Fc (Fc-модифицированные) антитела А. В табл. 1 кратко представлены активность уничтожения и эффективность антител А, А-1, А-2, А-3, А-4, А-5 и А-6 при тестировании в присутствии 5 мг/мл IgG сыворотки человека и с применением первичных НК-клеток человека из трех независимых доноров-людей и клеток СЕМ.NKг.CCR5⁺Luc⁺, инфицированных изолятами вируса 92US712 или 92US657.

Таблица 1

Активность АЗКЦ								
Инфицированные 92US712 клетки								
	№:	A	A-2	A-1	A-3	A-4	A-5	A-6
E _{max} (%)	NK, донор 1	48	76	77	77	78	79	68
	NK, донор 2	7	60	62	59	61	61	54
	NK, донор 3	27	60	62	67	64	66	51
EC ₅₀ (мкг/мл)	NK, донор 1	2,23	0,18	0,19	0,07	0,20	0,19	0,27
	NK, донор 2	>100	0,08	0,09	0,08	0,13	0,08	0,54
	NK, донор 3	3,63	0,20	0,16	0,20	0,40	0,09	0,18
Инфицированные 92US712 клетки								
	№:	A	A-2	A-1	A-3	A-4	A-5	A-6
Инфицированные 92US657 клетки								
	№:	A	A-2	A-1	A-3	A-4	A-5	A-6
E _{max} (%)	NK, донор 1	2	59	58	49	52	58	54
	NK, донор 2	0	51	50	49	53	61	53
	NK, донор 3	0	56	52	56	50	61	52
EC ₅₀ (мкг/мл)	NK, донор 1	>100	0,54	0,74	0,68	0,60	0,57	3,93
	NK, донор 2	>100	0,81	0,55	0,67	1,21	0,83	1,21
	NK, донор 3	>100	1,13	0,37	1,39	1,64	0,76	3,21

EC₅₀ обозначена как >100 мкг/мл для ответов на дозу с E_{max} < 10%.

Для Fc-модифицированных антител выявили повышенное уничтожение инфицированных ВИЧ-1 целевых CD4 T-клеток по сравнению с антителом A in vitro первичными NK-клетками человека из независимых доноров и целевых клеток, инфицированных различными изолятами вируса (табл. 1). Антитело A опосредовало минимальное уничтожение (E_{max} < 10%) первичными NK-клетками из некоторых доноров, тогда как уничтожение NK-клетками из других доноров детектировалось. По сравнению с антителом A, для Fc-модифицированных антител выявили повышенную эффективность (EC₅₀) и максимальное уничтожение (E_{max}) инфицированных ВИЧ-1 клеток, что наблюдали в анализе АЗКЦ, проведенном с первичными NK-клетками человека из трех независимых здоровых доноров (табл. 1). Наблюдаемое повышение эффективности варьировалось от приблизительно 10 до 40 раз для доноров, у которых антитело A было активным. Панель из 22 культур инфицированных целевых клеток получали путем инфицирования СЕМ.NKt.CCR5⁺Luc⁺ клеток 22 уникальными вирусными клонами, устойчивыми к нейтрализации (например, уничтожению инфицированных клеток) посредством PGT121.60 (см. WO 2017/106346). Активность АЗКЦ и ширину для антитела A-1 и антитела PGT121.60 оценивали для данной панели инфицированных клеток-мишеней, применяя первичные эффекторные NK-клетки из здоровых доноров в отсутствие конкурирующей IgG сыворотки. 86% (19/22) культур инфицированных целевых клеток, устойчивых к АЗКЦ посредством PGT121.60, уничтожались антителом A-1 (E_{max} > 30%).

Антитело A-1 опосредовало АЗКЦ клеток, инфицированных штаммами ВИЧ, которые были устойчивы к PGT121.60. Результаты данной оценки кратко представлены в табл. 2.

Таблица 2
Уничтожение инфицированных клеток, устойчивых к PGT121.60, антителом А-1 и антителом PGT121.60. Количества представляют среднее Emax (%) АЗКЦ для двух доноров

Вирус	Emax (%) АЗКЦ	
	PGT121.60	Антитело А-1
VS001	1,0	26,8
VS002	2,0	22,9
VS003	3,0	44,4
VS004	4,0	31,7
VS007	9	45
VS008	22	60
VS010	10	69
VS011	8,0	34,6
VS017	9,0	40,5
VS023	10,0	0,8
VS026	11,0	31,3
VS029	12,0	1,5
VS030	13,0	39,3
VS032	14,0	29,1
VS033	15,0	31,1
VS034	16,0	40,6
VS038	17,0	36,1
VS042	18,0	39,6
VS044	19,0	31,4
VS046	20,0	41,9
VS049	21,0	7,8
VS052	22,0	34,0

Антитело-зависимую клеточную цитотоксичность также оценивали, применяя инфицированные ВИЧ первичные CD4⁺ Т-клетки в качестве клеток-мишеней и аутологичные первичные НК-клетки, моноциты и нейтрофилы в качестве эффекторных клеток.

НК-клетки, моноциты и CD4⁺ Т-клетки выделяли из МКПК, полученных из здоровых доноров, тогда как нейтрофилы выделяли из цельной крови здоровых доноров. Все CD4⁺ Т-клетки инфицировали путем центрифугирования в отсутствие активации Т-клеток, чтобы сохранить низкие уровни экспрессии антигена на поверхности клеток и потенциально имитировать уровни экспрессии антигена на латентно инфицированных CD4⁺ Т-клетках. Используемые изоляты вирусов были следующими: 8176, 92US076 (чувствительный к нейтрализации антителом А) и 8398 (устойчивый к нейтрализации антителом А). Анализ проводили в присутствии 1 мг/мл неспецифических IgG сыворотки человека, которые конкурировали с эффекторными МАТ за связывание FcγR. Антитело-зависимое уничтожение измеряли по уменьшению количества p24⁺ CD4 Т-клеток, применяя проточную цитометрию.

Значения AUC, EC₅₀ (мкг/мл) и Emax (%) для уничтожения представлены в табл. 3-11.

Таблица 3

AUC уничтожения НК-клетками

Вирус	Донор	AUC (НК)			
		A	A-1	1.52.64-1	PGT121.60
8176	0117	49	108	103	168
	3594	18	142	139	205
302076	0117	26	116	78	18
	3594	28	76	101	26
8398	0117	20	4	0	203
	3594	0	6	15	211

Таблица 4

EC₅₀ уничтожения НК-клетками

Вирус	Донор	EC ₅₀ (НК)			
		A	A-1	1.52.64-1	PGT121.60
8176	0117	>100	1,101	0,949	0,246
	3594	>100	0,518	1,350	0,051
302076	0117	>100	1,701	7,602	100,000
	3594	>100	2,613	3,114	72,050
8398	0117	>100	>100	>100	0,339
	3594	>100	>100	>100	0,220

Таблица 5

E_{max} уничтожения НК-клетками

Вирус	Донор	E _{max} (НК)			
		A	A-1	1.52.64-1	PGT121.60
8176	0117	<20	56	54	65
	3594	<20	62	69	62
302076	0117	<20	68	69	20
	3594	<20	49	64	45
8398	0117	<20	<20	<20	79
	3594	<20	<20	<20	81

Таблица 6

AUC уничтожения моноцитами

Вирус	Донор	AUC (моноциты)			
		A	A-1	1.52.64-1	PGT121.60
8176	0117	0	83	87	122
	3594	17	141	159	157
302076	0117	24	54	61	24
	3594	138	166	158	108
8398	0117	0	0	4	53
	3594	0	13	4	186

Таблица 7

EC50 уничтожения моноцитами

Вирус	Донор	EC50 (моноциты)			
		A	A-1	1.52.64-1	PGT121.60
8176	0117	>100	0,402	0,490	0,232
	3594	>100	0,309	0,202	0,010
302076	0117	10,570	6,514	7,236	>100
	3594	0,006	0,062	0,088	0,019
8398	0117	>100	>100	>100	0,728
	3594	>100	>100	>100	0,201

Таблица 8

E_{max} уничтожения моноцитами

Вирус	Донор	E _{max} (моноциты)			
		A	A-1	1.52.64-1	PGT121.60
8176	0117	<20	34	35	44
	3594	<20	47	57	40
302076	0117	24	46	47	20
	3594	33	49	54	30
8398	0117	<20	<20	<20	25
	3594	<20	<20	<20	67

Таблица 9

AUC уничтожения нейтрофилами

Вирус	Донор	AUC (нейтрофилы)			
		A	A-1	1.52.64-1	PGT121.60
8176	92132	41	74	89	125
	92602	21	47	45	71

Таблица 10

ЕС50 уничтожения нейтрофилами					
Вирус	Донор	ЕС50 (нейтрофилы)			
		А	А-1	1.52.64-1	PGT121.60
8176	92132	>100	0,231	0,307	0,012
	92602	>100	1,097	0,199	0,232

Таблица 11

Етах уничтожения нейтрофилами					
Вирус	Донор	Етах (нейтрофилы)			
		А	А-1	1.52.64-1	PGT121.60
8176	92132	<20	29	37	34
	92602	<20	23	<20	25

Результаты, представленные в табл. 3-11 демонстрируют, что, в соответствии с опосредованной НК АЗКЦ клеток СЕМ, для МАТ со сконструированными Fc (1.52.64-1, А-1 и PGT121.60) также выявили повышенное уничтожение инфицированных ВИЧ первичных CD4 Т-клеток НК-клетками, моноцитами и нейтрофилами по сравнению с таковым для антитела А.

Пример 2. Цикл производства антител.

Последовательности антитела А и антитела В сравнили с таковыми в зародышевой линии человека и выявили несколько мутаций, вставок и делеций как внутри, так и снаружи областей CDR. Вкратце, обнаружили непрерывный участок несовпадения с зародышевой линией в каркасной области 3 тяжелой цепи (НС FR3) в положениях 72 - 78 тяжелой цепи (НС). Обнаружили вставки четырех аминокислот между положениями 74 и 75 в FR3 НС. Делецию относительно зародышевой линии обнаружили в CDR L1 в положениях 27-30 легкой цепи (LC). Непрерывный участок несовпадения с зародышевой линией обнаружили в каркасной области 3 легкой цепи (LC FR3) в положениях 65-77. Связанный с N72 консенсусный мотив гликозилирования обнаружили в FR3 LC в положениях 72-74. Делецию относительно зародышевой линии обнаружили в CDR L3 в положении 92 - 95. Два остатка, которые высоко консервативны в легких цепях IgG человека (F98 и G99), были мутированы как в антителе А, так и в антителе В.

Проводили масс-спектрометрические исследования экспрессированного Ехр1СНО антитела А, чтобы определить, было ли гликозилирование в положениях 72 - 74 в LC. Проводили ускоренное стрессовое испытание и анализ эффективности, чтобы увидеть, присутствует ли какая-либо химическая неустойчивость (например, окисление, дезамидирование и т.д.) у антитела А или его вариантов. Вследствие высокого уровня соматической гипермутации, проводили картирование Т-клеточных эпитопов первичной последовательности, чтобы определить потенциально иммуногенные мотивы. Кроме того, осуществляли производственный цикл итерационной белковой инженерии для того, чтобы получить новые антитела без мотива гликозилирования N72 и/или с большим общим совпадением с зародышевой линией человека. Без привязки к каким-либо конкретным теориям, данный производственный цикл мог позволить получить новые антитела, которые обладают желательными свойствами, включая но не ограничиваясь перечисленными: сниженный риск иммуногенности, эффективность и ширину нейтрализации ВИЧ, равную или лучшую, чем у антитела А или антитела В, и/или улучшенные биофизические свойства и параметры разработки.

В табл. 12 представлены последовательности SEQ ID NO областей CDR VH и VL (согласно определению Кабата) антител против gp120, описанных в данном изобретении.

Таблица 12

Последовательности SEQ ID NO области CDR VH и VL антител

Название антитела	VHCDR1	VHCDR2	VHCDR3	VLCDR1	VLCDR2	VLCDR3
A-1	137	138	139	140	141	142
A	137	138	139	140	141	142
1v2-1	137	138	139	140	141	142
1.2.1-1	137	138	139	140	141	142
1.1.2-1	137	138	139	140	141	142
1.2.2-1	137	138	139	140	141	142
1.3.1-1	137	138	139	140	141	142
1.4.1-1	137	138	139	140	141	142
1.5.1-1	137	138	139	140	141	142
1.6.1-1	137	138	139	140	141	142
1.7.1-1	137	138	139	140	141	142

048133

1.8.1-1	137	138	139	140	141	142
1.9.1-1	137	138	139	140	141	142
1.10.1-1	159	138	139	140	141	142
1.11.1-1	159	138	139	140	141	142
1.15.1-1	137	160	139	140	141	142
1.16.1-1	137	161	139	140	141	142
1.17.1-1	137	162	139	140	141	142
1.18.1-1	137	163	139	140	141	142
1.19.1-1	137	138	139	140	141	142
1.20.1-1	137	138	139	140	141	142
1.21.1-1	137	138	139	140	141	142
1.22.1-1	137	138	139	140	141	142
1.24.1-1	137	138	139	140	141	142
1.25.1-1	137	138	139	140	141	142
1.26.1-1	137	138	139	140	141	142
1.27.1-1	137	138	164	140	141	142
1.28.1-1	137	138	164	140	141	142
1.29.1-1	137	138	139	140	141	142
1.30.1-1	137	138	139	140	141	142
1.1.3-1	137	138	139	140	141	142
1.1.4-1	137	138	139	140	141	142
1.1.5-1	137	138	139	140	141	142
1.1.6-1	137	138	139	140	165	142
1.1.7-1	137	138	139	140	166	142
1.1.8-1	137	138	139	140	168	142
1.1.9-1	137	138	139	140	167	142
1.1.10-1	137	138	139	140	141	142
1.1.11-1	137	138	139	140	141	142
1.1.12-1	137	138	139	140	141	142
1.1.13-1	137	138	139	140	141	142

048133

1.1.14-1	137	138	139	140	141	142
1.1.15-1	137	138	139	140	141	142
1.1.16-1	137	138	139	140	141	142
1.1.17-1	137	138	139	140	141	142
1.1.18-1	137	138	139	140	141	142
1.1.19-1	137	138	139	140	141	142
1.1.20-1	137	138	139	140	141	142
1.1.21-1	137	138	139	140	141	142
1.1.22-1	137	138	139	140	141	142
1.1.23-1	137	138	139	140	141	142
1.1.24-1	137	138	139	140	141	142
1.1.25-1	137	138	139	140	141	142
1.1.26-1	137	138	139	140	141	142
1.1.27-1	137	138	139	140	141	142
1.1.28-1	137	138	139	140	141	142
1.1.29-1	137	138	139	140	141	142
1.1.30-1	137	138	139	140	141	142
1.12.15-1	137	138	139	140	141	142
1.13.15-1	137	138	139	140	141	142
1.14.15-1	137	138	139	140	141	142
1.12.17-1	137	138	139	140	141	142
1.13.17-1	137	138	139	140	141	142
1.14.17-1	137	138	139	140	141	142
1.31.1-1	137	138	139	140	141	142
1.32.1-1	137	138	139	140	141	142
1.33.1-1	137	138	139	140	141	142
1.34.1-1	137	138	164	140	141	142
1.35.1-1	159	138	164	140	141	142
1.36.1-1	159	138	164	140	141	142
1.1.31-1	137	138	139	140	141	142

048133

1.31.31-1	137	138	139	140	141	142
1.32.31-1	137	138	139	140	141	142
1.33.31-1	137	138	139	140	141	142
1.34.31-1	137	138	164	140	141	142
1.35.31-1	159	138	164	140	141	142
1.36.31-1	159	138	164	140	141	142
1.1.32-1	137	138	139	140	141	142
1.31.32-1	137	138	139	140	141	142
1.32.32-1	137	138	139	140	141	142
1.33.32-1	137	138	139	140	141	142
1.34.32-1	137	138	164	140	141	142
1.35.32-1	159	138	164	140	141	142
1.36.32-1	159	138	164	140	141	142
1.1.33-1	137	138	139	140	166	142
1.31.33-1	137	138	139	140	166	142
1.32.33-1	137	138	139	140	166	142
1.33.33-1	137	138	139	140	166	142
1.34.33-1	137	138	164	140	166	142
1.35.33-1	159	138	164	140	166	142
1.36.33-1	159	138	164	140	166	142
1.1.34-1	137	138	139	140	166	142
1.31.34-1	137	138	139	140	166	142
1.32.34-1	137	138	139	140	166	142
1.33.34-1	137	138	139	140	166	142
1.34.34-1	137	138	164	140	166	142
1.35.34-1	159	138	164	140	166	142
1.36.34-1	159	138	164	140	166	142
1.1.35-1	137	138	139	140	166	142
1.31.35-1	137	138	139	140	166	142
1.32.35-1	137	138	139	140	166	142

048133

1.33.35-1	137	138	139	140	166	142
1.34.35-1	137	138	164	140	166	142
1.35.35-1	159	138	164	140	166	142
1.36.35-1	159	138	164	140	166	142
1.1.36-1	137	138	139	140	166	142
1.31.36-1	137	138	139	140	166	142
1.32.36-1	137	138	139	140	166	142
1.33.36-1	137	138	139	140	166	142
1.34.36-1	137	138	164	140	166	142
1.35.36-1	159	138	164	140	166	142
1.36.36-1	159	138	164	140	166	142
1.1.37-1	137	138	139	140	141	142
1.1.38-1	137	138	139	140	141	142
1.1.39-1	137	138	139	140	141	142
1.1.40-1	137	138	139	140	141	142
1.1.41-1	137	138	139	140	141	142
1.1.42-1	137	138	139	140	141	142
1.1.43-1	137	138	139	140	141	142
1.1.44-1	137	138	139	140	141	142
1.1.45-1	137	138	139	140	141	142
1.1.46-1	137	138	139	140	141	142
1.1.47-1	137	138	139	140	141	142
1.1.48-1	137	138	139	140	141	142
1.1.49-1	137	138	139	140	141	142
1.37.51-1	137	138	139	140	141	142
1.8.52-1	137	138	139	140	141	142
1.1.54-1	137	138	139	140	141	142
A-2	137	138	139	140	141	142
B-1	153	138	154	140	141	142
2.1.2-1	153	138	154	140	141	142

048133

1.1.64-1	137	138	139	140	141	142
1.1.67-1	137	138	139	140	141	142
1.1.72-1	137	138	139	140	141	142
1.1.75-1	137	138	139	140	141	142
1.1.78-1	137	138	139	140	141	142
A-3	137	138	139	140	141	142
A-4	137	138	139	140	141	142
A-5	137	138	139	140	141	142
A-6	137	138	139	140	141	142
1.41.5-1	137	138	139	140	141	142
1.41.81-1	137	138	139	140	141	142
1.1.82-1	137	138	139	140	141	142
1.41.83-1	137	138	139	140	141	142
1.1.84-1	137	138	139	140	141	142
1.41.85-1	137	138	139	140	141	142
1.41.86-1	137	138	139	140	141	142
1.41.87-1	137	138	139	140	141	142
1.1.88-1	137	138	139	140	141	142
1.41.89-1	137	138	139	140	141	142
1.1.90-1	137	138	139	140	141	142
1.41.91-1	137	138	139	140	141	142
1.41.92-1	137	138	139	140	141	142
1.41.93-1	137	138	139	140	141	142
1.1.94-1	137	138	139	140	141	142
1.41.95-1	137	138	139	140	141	142
1.1.96-1	137	138	139	140	141	142
1.41.97-1	137	138	139	140	141	142
1.41.98-1	137	138	139	140	141	142
1.41.99-1	137	138	139	140	141	142
1.1.100-1	137	138	139	140	141	142

048133

1.41.101-1	137	138	139	140	141	142
1.1.102-1	137	138	139	140	141	142
1.41.103-1	137	138	139	140	141	142
1.1.110-1	137	138	139	140	141	142
1.1.111-1	137	138	139	140	141	142
1.1.112-1	137	138	139	140	141	142
1.1.113-1	137	138	139	140	141	142
2.1.3-1	153	138	154	140	141	142
2.1.4-1	153	138	154	140	141	142
2.2.1-1	137	138	139	140	141	142
2.3.1-1	153	138	139	140	141	142
3.1.8-1	137	138	139	140	141	142
2.2.8-1	137	138	139	140	141	142
2.3.8-1	153	138	139	140	141	142
3.1.9-1	137	138	139	140	141	142
2.2.9-1	137	138	139	140	141	142
2.3.9-1	153	138	139	140	141	142
1.1.115-1	137	138	139	140	141	142
3.1.10-1	137	138	139	140	141	142
2.2.10-1	137	138	139	140	141	142
2.3.10-1	153	138	139	140	141	142
1.1.116-1	137	138	139	140	141	142
3.1.11-1	137	138	139	140	141	142
2.2.11-1	137	138	139	140	141	142
2.3.11-1	153	138	139	140	141	142
1.1.117-1	137	138	139	140	141	142
3.1.12-1	137	138	139	140	141	142
2.2.12-1	137	138	139	140	141	142
2.3.12-1	153	138	139	140	141	142
1.1.118-1	137	138	139	140	141	142

048133

3.1.13-1	137	138	139	140	141	142
2.2.13-1	137	138	139	140	141	142
2.3.13-1	153	138	139	140	141	142
3.1.14-1	137	138	139	140	141	142
2.2.14-1	137	138	139	140	141	142
2.3.14-1	153	138	139	140	141	142
3.1.5-1	137	138	139	140	141	142
2.2.5-1	137	138	139	140	141	142
2.3.5-1	153	138	139	140	141	142
3.1.15-1	137	138	139	140	141	142
2.2.15-1	137	138	139	140	141	142
2.3.15-1	153	138	139	140	141	142
1.1.119-1	137	138	139	140	141	142
3.1.7-1	137	138	139	140	141	142
2.2.7-1	137	138	139	140	141	142
2.3.7-1	153	138	139	140	141	142
3.1.2-1	137	138	139	140	141	142
2.2.2-1	137	138	139	140	141	142
2.3.2-1	153	138	139	140	141	142
3.1.16-1	137	138	139	140	141	142
2.2.16-1	137	138	139	140	141	142
2.3.16-1	153	138	139	140	141	142
3.1.17-1	137	138	139	140	141	142
2.2.17-1	137	138	139	140	141	142
2.3.17-1	153	138	139	140	141	142
3.1.18-1	137	138	139	140	141	142
2.2.18-1	137	138	139	140	141	142
2.3.18-1	153	138	139	140	141	142
1.1.120-1	137	138	139	140	141	142
3.1.19-1	137	138	139	140	141	142

2.2.19-1	137	138	139	140	141	142
2.3.19-1	153	138	139	140	141	142
1.1.121-1	137	138	139	140	141	142
3.1.20-1	137	138	139	140	141	142
2.2.20-1	137	138	139	140	141	142
2.3.20-1	153	138	139	140	141	142
1.1.122-1	137	138	139	140	141	142
1.1.123-1	137	138	139	140	141	142
1.1.124-1	137	138	139	140	141	142
1.1.125-1	137	138	139	140	141	142
1.1.126-1	137	138	139	140	141	142
1.1.127-1	137	138	139	140	141	142
1.1.128-1	137	138	139	140	141	142
1.1.129-1	137	138	139	140	141	142
1.1.130-1	137	138	139	140	141	142
1.1.131-1	137	138	139	140	141	142
1.1.132-1	137	138	139	140	141	142
1.1.133-1	137	138	139	140	141	142
1.1.134-1	137	138	139	140	141	142
1.1.135-1	137	138	139	140	141	142
1.1.138-1	137	138	139	570	141	142
1.42.1-1	137	138	139	140	141	142
1.43.1-1	137	138	139	140	141	142
1.44.1-1	137	138	139	140	141	142
1.45.1-1	137	138	139	140	141	142
1.46.1-1	153	138	139	140	141	142
1.47.1-1	137	138	139	140	141	142
1.49.1-1	137	138	139	140	141	142
1.50.1-1	137	138	139	140	141	142
1.51.1-1	137	138	154	140	141	142
1.1.104-1	137	138	139	140	141	142
3-1	137	138	139	140	141	142
1.52.1-1	137	138	139	140	141	142
1.52.64-1	137	138	139	140	141	142
1.52.90	137	138	139	140	141	142
2.4.1-1	153	138	139	140	141	142

В табл. 13 представлены последовательности SEQ ID NO VH, VL, тяжелой и легкой цепей антител против gp120, описанных в данном изобретении.

Таблица 13
 Последовательности SEQ ID NO VH, VL, тяжелой цепи (HC) и легкой цепи (LC) антител против gp120

Название антитела	VH	VL	HC	LC
B	181	222	1	48
A-1	182	223	2	49
A	182	223	3	49
C-1	183	224	4	50
1v2-1	184	223	5	49
1.2.1-1	185	223	6	49
1.1.2-1	182	225	2	50
1.2.2-1	185	225	6	50
1.3.1-1	186	223	7	49
1.4.1-1	187	223	8	49
1.5.1-1	188	223	9	49
1.6.1-1	189	223	10	49
1.7.1-1	190	223	11	49
1.8.1-1	191	223	12	49
1.9.1-1	192	223	13	49
1.10.1-1	193	223	14	49
1.11.1-1	194	223	15	49

048133

1.15.1-1	195	223	16	49
1.16.1-1	196	223	17	49
1.17.1-1	197	223	18	49
1.18.1-1	198	223	19	49
1.19.1-1	199	223	20	49
1.20.1-1	200	223	21	49
1.21.1-1	201	223	22	49
1.22.1-1	202	223	23	49
1.24.1-1	203	223	24	49
1.25.1-1	204	223	25	49
1.26.1-1	205	223	26	49
1.27.1-1	206	223	27	49
1.28.1-1	207	223	28	49
1.29.1-1	208	223	29	49
1.30.1-1	209	223	30	49
1.1.3-1	182	226	2	51
1.1.4-1	182	227	2	52
1.1.5-1	182	228	2	53
1.1.6-1	182	229	2	54
1.1.7-1	182	230	2	55
1.1.8-1	182	231	2	56
1.1.9-1	182	232	2	57
1.1.10-1	182	233	2	58
1.1.11-1	182	234	2	59
1.1.12-1	182	235	2	60
1.1.13-1	182	236	2	61
1.1.14-1	182	237	2	62
1.1.15-1	182	238	2	63
1.1.16-1	182	239	2	64
1.1.17-1	182	240	2	65

048133

1.1.18-1	182	241	2	66
1.1.19-1	182	242	2	67
1.1.20-1	182	243	2	68
1.1.21-1	182	244	2	69
1.1.22-1	182	245	2	70
1.1.23-1	182	246	2	71
1.1.24-1	182	247	2	72
1.1.25-1	182	248	2	73
1.1.26-1	182	249	2	74
1.1.27-1	182	250	2	75
1.1.28-1	182	251	2	76
1.1.29-1	182	252	2	77
1.1.30-1	182	253	2	78
1.12.15-1	210	238	31	63
1.13.15-1	211	238	32	63
1.14.15-1	212	238	33	63
1.12.17-1	210	240	31	65
1.13.17-1	211	240	32	65
1.14.17-1	212	240	33	65
1.31.1-1	213	223	34	49
1.32.1-1	214	223	35	49
1.33.1-1	215	223	36	49
1.34.1-1	216	223	37	49
1.35.1-1	217	223	38	49
1.36.1-1	218	223	39	49
1.1.31-1	182	254	2	79
1.31.31-1	213	254	34	79
1.32.31-1	214	254	35	79
1.33.31-1	215	254	36	79
1.34.31-1	216	254	37	79

048133

1.35.31-1	217	254	38	79
1.36.31-1	218	254	39	79
1.1.32-1	182	255	2	80
1.31.32-1	213	255	34	80
1.32.32-1	214	255	35	80
1.33.32-1	215	255	36	80
1.34.32-1	216	255	37	80
1.35.32-1	217	255	38	80
1.36.32-1	218	255	39	80
1.1.33-1	182	256	2	81
1.31.33-1	213	256	34	81
1.32.33-1	214	256	35	81
1.33.33-1	215	256	36	81
1.34.33-1	216	256	37	81
1.35.33-1	217	256	38	81
1.36.33-1	218	256	39	81
1.1.34-1	182	257	2	82
1.31.34-1	213	257	34	82
1.32.34-1	214	257	35	82
1.33.34-1	215	257	36	82
1.34.34-1	216	257	37	82
1.35.34-1	217	257	38	82
1.36.34-1	218	257	39	82
1.1.35-1	182	258	2	83
1.31.35-1	213	258	34	83
1.32.35-1	214	258	35	83
1.33.35-1	215	258	36	83
1.34.35-1	216	258	37	83
1.35.35-1	217	258	38	83
1.36.35-1	218	258	39	83

048133

1.1.36-1	182	259	2	84
1.31.36-1	213	259	34	84
1.32.36-1	214	259	35	84
1.33.36-1	215	259	36	84
1.34.36-1	216	259	37	84
1.35.36-1	217	259	38	84
1.36.36-1	218	259	39	84
1.1.37-1	182	260	2	85
1.1.38-1	182	261	2	86
1.1.39-1	182	262	2	87
1.1.40-1	182	263	2	88
1.1.41-1	182	264	2	89
1.1.42-1	182	265	2	90
1.1.43-1	182	266	2	91
1.1.44-1	182	267	2	92
1.1.45-1	182	268	2	93
1.1.46-1	182	269	2	94
1.1.47-1	182	270	2	95
1.1.48-1	182	271	2	96
1.1.49-1	182	272	2	97
1.37.51-1	219	273	40	98
1.8.52-1	191	274	12	99
1.1.54-1	182	275	2	100
A-2	182	223	41	49
B-1	220	276	42	101
2.1.2-1	220	277	42	102
1.1.64-1	182	278	2	103
1.1.67-1	182	279	2	104
1.1.72-1	182	280	2	105
1.1.75-1	182	281	2	106

048133

1.1.78-1	182	282	2	107
A-3	182	223	43	49
A-4	182	223	44	49
A-5	182	223	45	49
A-6	182	223	46	49
1.41.5-1	221	228	47	53
1.41.81-1	221	283	47	108
1.1.82-1	182	284	2	109
1.41.83-1	221	285	47	110
1.1.84-1	182	286	2	111
1.41.85-1	221	287	47	112
1.41.86-1	221	288	47	113
1.41.87-1	221	289	47	114
1.1.88-1	182	290	2	115
1.41.89-1	221	291	47	116
1.1.90-1	182	292	2	117
1.41.91-1	221	293	47	118
1.41.92-1	221	294	47	119
1.41.93-1	221	295	47	120
1.1.94-1	182	296	2	121
1.41.95-1	221	297	47	122
1.1.96-1	182	298	2	123
1.41.97-1	221	299	47	124
1.41.98-1	221	300	47	125
1.41.99-1	221	301	47	126
1.1.100-1	182	302	2	127
1.41.101-1	221	303	47	128
1.1.102-1	182	304	2	129
1.41.103-1	221	305	47	130
1.1.110-1	182	306	2	131

048133

1.1.111-1	182	307	2	132
1.1.112-1	182	308	2	133
1.1.113-1	182	309	2	134
2.1.3-1	220	310	42	135
2.1.4-1	220	311	42	136
2.2.1-1	465	276	517	101
2.3.1-1	466	276	518	101
3.1.8-1	182	479	2	531
2.2.8-1	465	479	517	531
2.3.8-1	466	479	518	531
3.1.9-1	182	480	2	532
2.2.9-1	465	480	517	532
2.3.9-1	466	480	518	532
1.1.115-1	182	481	2	533
3.1.10-1	182	482	2	534
2.2.10-1	465	482	517	534
2.3.10-1	466	482	518	534
1.1.116-1	182	483	2	535
3.1.11-1	182	484	2	536
2.2.11-1	465	484	517	536
2.3.11-1	466	484	518	536
1.1.117-1	182	485	2	537
3.1.12-1	182	486	2	538
2.2.12-1	465	486	517	538
2.3.12-1	466	486	518	538
1.1.118-1	182	487	2	539
3.1.13-1	182	488	2	540
2.2.13-1	465	488	517	540
2.3.13-1	466	488	518	540
3.1.14-1	182	489	2	541

048133

2.2.14-1	465	489	517	541
2.3.14-1	466	489	518	541
3.1.5-1	182	491	2	542
2.2.5-1	465	491	517	542
2.3.5-1	466	491	518	542
3.1.15-1	182	492	2	543
2.2.15-1	465	492	517	543
2.3.15-1	466	492	518	543
1.1.119-1	182	493	2	544
3.1.7-1	182	494	2	545
2.2.7-1	465	494	517	545
2.3.7-1	466	494	518	545
3.1.2-1	182	277	2	102
2.2.2-1	465	277	517	102
2.3.2-1	466	277	518	102
3.1.16-1	182	495	2	546
2.2.16-1	465	495	517	546
2.3.16-1	466	495	518	546
3.1.17-1	182	496	2	547
2.2.17-1	465	496	517	547
2.3.17-1	466	496	518	547
3.1.18-1	182	497	2	548
2.2.18-1	465	497	517	548
2.3.18-1	466	497	518	548
1.1.120-1	182	498	2	549
3.1.19-1	182	499	2	550
2.2.19-1	465	499	517	550
2.3.19-1	466	499	518	550
1.1.121-1	182	500	2	551
3.1.20-1	182	501	2	552

2.2.20-1	465	501	517	552
2.3.20-1	466	501	518	552
1.1.122-1	182	502	2	553
1.1.123-1	182	503	2	554
1.1.124-1	182	504	2	555
1.1.125-1	182	505	2	556
1.1.126-1	182	506	2	557
1.1.127-1	182	507	2	558
1.1.128-1	182	508	2	559
1.1.129-1	182	509	2	560
1.1.130-1	182	510	2	561
1.1.131-1	182	511	2	562
1.1.132-1	182	512	2	563
1.1.133-1	182	513	2	564
1.1.134-1	182	514	2	565
1.1.135-1	182	515	2	566
1.1.138-1	182	569	2	568
1.42.1-1	467	223	519	49
1.43.1-1	468	223	520	49
1.44.1-1	469	223	521	49
1.45.1-1	470	223	522	49
1.46.1-1	471	223	523	49
1.47.1-1	472	223	524	49
1.49.1-1	474	223	526	49
1.50.1-1	475	223	527	49
1.51.1-1	476	223	528	49
1.1.104-1	182	516	2	567
3-1	182	276	2	101
1.52.1-1	477	223	529	49
1.52.64-1	477	278	529	103
1.52.90	477	292	529	117
2.4.1-1	478	276	530	101

Пример 3. Анализ методом масс-спектрометрии.

Антитело А-1 временно экспрессировали в клетках ExpiCHO и очищали на белке А, используя стандартные способы. Образец денатурировали и восстанавливали, применяя 4 М гуанидина гидрохлорид и 50 мМ ДТТ (конечные концентрации) и грея в течение 20 минут при 60°C. Образец обессоливали в рабочем режиме по мере разделения восстановленных тяжелой и легкой цепей на колонке ВЕН С4 для обращенно-фазовой хроматографии перед впрыскиванием в источник гибридного время-пролетного масс-спектрометра SYNAPT G2Si Waters. Осуществляли деконволюцию пакетов пиков многозарядных белков, применяя алгоритм Максимально энтропийной деконволюции. Результаты показали, что легкая цепь антитела А была гликозилирована. Наблюдаемый масс-спектр легкой цепи выявил присутствие модификации GO-гликана с дополнительной связанной с гликаном гетерогенностью масс. Данное наблюдение согласуется с присутствием консенсусного мотива гликозилирования N72 в домене VL антитела (NLT) и с предыдущими кристаллическими структурами антитела А, выявившими гликозилирование в данном положении (Zhou и др., Immunity, 39:245-258 (2013); Klein и др., Cell, 153:126-138 (2013)).

Пример 4. Вызванная ускоренным стрессовым испытанием утрата эффективности.

Для того чтобы определить химическую неустойчивость, проводили ускоренное исследование термической стабильности (стрессовые испытания в различных условиях) для А-1. Антитело подвергали стрессовым испытаниям при рН 5,9 при 25 и 37 (стресс, подобный таковому при получении состава) и при рН 7,4 при 37°C (стресс, имитирующий физиологические условия). Образцы объединяли и замораживали в T0, дополнительно к 2, 4 и 6 неделям. Выбранные образцы подвергали скринингу на вызванную стрессом утрату эффективности перед осуществлением других способов. Анализ эффективности, используемый для подвергнутых стрессовым испытаниям образцов А-1, представлял собой репортерный анализ АЗКЦ, в котором использовали репортерную клетку, которая экспрессирует люциферазу, когда рецепторы FcγR3a на поверхности указанной клетки связывались посредством функциональных доменов Fc и Fab МАТ с целевой клеткой. Целевая клетка в анализе экспрессировала гликопротеин Env ВИЧ, с которым связывался Fab А-1. Люцифераза стехиометрически превращала избыток люминесцентного субстрата с образованием света, который измеряли в данном анализе. Кривые ответа указывали на эффективность антитела.

На фиг. 1 показано, что наиболее значительные утраты эффективности для А-1 происходили в условиях рН 5,9. Затем мы проводили пептидное картирование для различных условий стрессовых испытаний, чтобы определить вызванную стрессом химическую модификацию, приводящую к утрате активности рН 5,9. Мы дополнительно получали пептидные карты для образцов, подвергнутых стрессовым испытаниям при рН 7,4, чтобы определить модификации, к возникновению которых будет склонность при подобных физиологическим условиях.

Образцы антитела А-1 для различных условий стрессовых испытаний денатурировали, восстанавливали и алкилировали йодацетамидом перед расщеплением эндопептидазой Lys-C. Гидролизаты белков впоследствии анализировали с помощью обращенно-фазовой ЖХ/МС/МС на масс-спектрометре Q-Exactive HF Thermo. Пептидные карты анализировали, применяя программное обеспечение PeptideFinder и Xcalibur Thermo, тогда как перечни ионов дополнительно анализировали в Microsoft Excel. Поскольку результаты нашего репортерного анализа АЗКЦ показывали на наиболее значительную утрату эффективности при условиях с рН 5,9, мы провели поиск в перечнях ионов модификаций, происходящих с течением времени, но которые были уникальны для условий с рН 5,9. Наиболее значимой вызванной стрессом зависящей от времени модификацией, уникальной для условий с рН 5,9, было окисление триптофана 76 в тяжелой цепи МАТ, наблюдаемое на пептиде T55GQPNRQFQGR-VSLTRHASWDFDTFSFYMDLK88 (T55-K88) (SEQ ID NO: 630) как добавление кислорода (+15,99 Да), и дальнейшее превращение в кинуренин (+3,99 Да). Для относительного количественного анализа данных превращений интенсивности пиков из полученных в PeptideFinder перечней ионов для двух окисленных вариантов суммировали, а затем сравнивали с суммой всех интенсивностей пиков модифицированного и немодифицированного пептида T55-K88. Полученные суммированные результаты для окисленного пептида при различных стрессовых условиях представлены на фиг. 2. Именно на основании данных исследований мы выяснили, что окисление W74a (Кабат, вставка FR3) несло потенциальный риск для фармацевтической стабильности антитела А-1.

Дополнительно к значительному окислению в W74a тяжелой цепи, наблюдаемому при условиях с рН 5,9, приблизительно 8-9% дезамидирования в положении N26 легкой цепи наблюдали на конструкциях в T0, и процент далее повышался условиями инкубации с рН 7,4. Указанный процент дезамидирования отражает комбинацию аспарагина, дезамидированного с образованием аспарагиновой кислоты (+0,98 Да), изоаспарагиновой кислоты (+0,98) и аспартил сукцинимид (-17,03 Да), и его наблюдали на пептиде легкой цепи D₁IQMTQSPSSLSASVGDVTITTCQANGYLNWYQRRGK₃₈ (SEQ ID NO: 631). Результаты изображены на фиг. 3.

Хотя он является частью каркаса антитела, остаток тяжелой цепи W74a обнаружили внутри необычной вставки в каркас петли, которая образует часть паратопа антитела и, следовательно, непосредственно контактирует с gp120 ВИЧ (Lee и др. 2017. Immunity 46: 690-702). Остаток легкой цепи N26 является частью мотива риска дезамидирования NG в CDR1, который образован необычной делецией в зародышевой линии в антителе А-1. Подобно W74a, N26 образует часть паратопа, и предсказано, что она контактирует с элементами gp120 ВИЧ. На основании доступных структурных моделей мы затем разработали панель из 15 мутантов, разработанных таким образом, чтобы удалить сайт окисления W74a и мотив дезамидирования N26. Указанные мутации подвергали скринингу в анализе нейтрализации ВИЧ (см. пример 10), чтобы идентифицировать вариант, в котором удален W74a, но который оказывает минимальное влияние на эффективность или ширину нейтрализации антитела А-1.

Пример 5. Картирование Т-клеточного эпитопа.

Чтобы оценить иммуногенность и идентифицировать иммунодоминантные Т-клеточные эпитопы, анализ картирования Т-клеточных эпитопов Epi-Screen Antitope применяли для скрининга перекрывающихся 15-мерных пептидов, покрывающих всю последовательность LC и HC Fv антитела А. Фоновый уровень ответа доноров (n = 50 доноров) в анализе составлял 8%, и ответы >10% будут считать положительными в данном анализе. Результаты картирования Т-клеточных эпитопов на HC и LC антитела А позволили идентифицировать один пептид, GDTVITTCQANGYLN (SEQ ID NO: 320), содержащий пред-

полагаемый Т-клеточный эпитоп, с уровнем ответа доноров 18%, в легкой цепи антитела А.

Вычислительное предсказание корового 9-мера с применением алгоритма iTope Antitope выявило VTITCQANG (SEQ ID NO: 321) в качестве потенциального связывающего МНСII 9-мерного кора в пептиде, причем остаток V19 представлял собой якорное положение P1. С-конец данного эпитопа перекрывается с остатками не из зародышевой линии в CDR L1 которые, как известно, контактируют с антигеном gp120, что видно по кокристаллическим структурам. Для того чтобы избежать нарушения связывания антигена посредством обратной мутации к зародышевой линии CDR L1, данный эпитоп удаляли путем введения мутации V19A LC в положение якоря P1.

Пример 6. Определение характеристик антитела.

Сканирующий и комбинаторный мутагенез использовали для получения дополнительных антител, чтобы оценить биофизическое и функциональное влияние на антитело А обратных мутаций к зародышевой линии и удаления гликана. Одноточечный анализ ELISA при концентрации EC_{50} для антитела А-1 проводили для каждого из трех уникальных антигенов gp120 ВИЧ в 384-луночном формате и нормировали на контроли на данном планшете. Анализ методом дифференциальной сканирующей флуориметрии (ДСФ) проводили параллельно, чтобы оценить влияние мутаций на температуру плавления (T_m) Fab. Результаты представлены в табл. 14.

Таблица 14

Определение характеристик антитела посредством ELISA и ДСФ

Антитело	ELISA gp120 Bal (A ₄₅₀)	ELISA gp120 SHIV SF162 P3 (A ₄₅₀)	ELISA gp120 CAAN (A ₄₅₀)	ELISA BCA (A ₄₅₀)	ДСФ Tm Fab (°C)
A-1	0,91	0,94	1,06	0,06	79,69
1.2.2-1	0,91	0,97	0,80	0,06	79,65
1.2.1-1	0,93	1,02	1,01	0,07	79,35
1.3.1-1	0,97	1,13	0,94	0,06	77,85
1.4.1-1	1,04	1,19	0,96	0,06	78,90
1.5.1-1	0,92	1,15	1,07	0,06	82,02
1.6.1-1	0,95	1,10	0,90	0,06	78,27
1.7.1-1	0,98	1,08	1,04	0,06	79,56
1.8.1-1	0,86	0,94	0,90	0,06	78,77
1.9.1-1	1,08	1,23	0,98	0,06	82,40
1.10.1-1	0,95	1,03	0,94	0,06	78,23
1.11.1-1	0,93	0,57	0,75	0,09	71,14
1.15.1-1	0,87	1,24	1,38	0,06	71,14
1.16.1-1	0,92	0,90	0,87	0,07	72,77
1.17.1-1	0,84	0,31	0,70	0,06	71,27
1.18.1-1	0,97	1,36	1,18	0,07	71,39
1.19.1-1	0,85	0,96	0,93	0,06	80,03
1.20.1-1	0,89	0,91	0,80	0,06	77,78
1.21.1-1	0,87	0,82	0,77	0,07	78,28
1.22.1-1	1,03	0,78	0,87	0,06	77,15
1v2-1	1,03	1,29	1,00	0,08	79,28
1.24.1-1	0,98	1,09	0,90	0,06	75,02
1.25.1-1	1,07	1,03	1,16	0,06	77,16
1.26.1-1	0,81	0,94	1,00	0,06	78,54
1.27.1-1	0,86	0,86	0,86	0,07	75,28
1.28.1-1	1,05	0,99	0,99	0,06	76,03

1.29.1-1	1,03	0,98	1,08	0,06	80,04
1.30.1-1	0,81	1,03	1,05	0,06	79,17
1.1.2-1	0,95	1,01	0,93	0,06	78,54
1.1.3-1	0,97	0,97	1,00	0,07	79,29
1.1.4-1	0,96	1,07	1,09	0,06	79,42
1.1.5-1	0,90	0,93	0,90	0,06	78,41
1.1.6-1	0,91	0,41	0,46	0,07	78,92
1.1.7-1	0,95	1,02	1,00	0,06	78,89
1.1.8-1	1,01	0,37	0,50	0,06	79,40
1.1.9-1	0,98	1,09	0,93	0,07	77,81
1.1.10-1	0,94	1,02	1,10	0,06	78,89
1.1.11-1	0,92	0,93	1,03	0,06	78,64
1.1.12-1	1,05	1,13	1,02	0,06	78,52
1.1.13-1	0,94	0,97	1,11	0,06	78,77
1.1.14-1	Низкий выход/нет экспрессии				
1.1.15-1	0,93	0,79	0,79	0,06	79,02
1.1.16-1	1,06	1,05	0,99	0,06	80,77
1.1.17-1	1,02	1,07	0,90	0,06	85,20
1.1.18-1	0,92	0,94	0,92	0,06	80,66
1.1.19-1	1,03	1,12	1,05	0,06	80,36
1.1.20-1	0,94	1,01	0,95	0,07	77,90
1.1.21-1	0,98	1,03	0,99	0,06	81,78
1.1.22-1	0,88	1,04	1,02	0,06	80,53
1.1.23-1	0,90	1,07	0,95	0,06	81,66
1.1.24-1	0,88	0,97	0,98	0,06	80,15

048133

1.1.25-1	0,90	1,01	0,92	0,07	78,65
1.1.26-1	0,96	1,09	1,07	0,06	79,03
1.1.27-1	0,97	1,10	0,99	0,06	77,78
1.1.28-1	0,98	1,09	0,93	0,06	77,65
1.1.29-1	0,91	0,90	1,01	0,06	79,17
1.1.30-1	0,90	0,98	0,86	0,06	80,67
1.12.15-1	0,69	0,53	0,63	0,06	78,41
1.13.15-1	0,70	0,52	0,60	0,06	76,41
1.14.15-1	Низкий выход/нет экспрессии				
1.12.17-1	0,90	0,75	0,84	0,06	82,67
1.13.17-1	1,02	0,69	0,78	0,06	79,04
1.14.17-1	0,89	0,24	0,43	0,10	73,15
1.31.1-1	0,82	0,87	0,92	0,06	79,67
1.32.1-1	0,93	0,91	0,83	0,06	75,03
1.33.1-1	0,88	0,96	0,98	0,06	83,28
1.34.1-1	0,83	0,79	0,90	0,07	79,15
1.35.1-1	0,84	0,80	0,87	0,07	75,77
1.36.1-1	1,13	0,59	0,75	0,18	69,63
1.1.31-1	0,87	0,87	0,96	0,06	78,64
1.31.31-1	0,98	0,97	1,02	0,07	79,15
1.32.31-1	0,95	0,66	0,90	0,07	75,01
1.33.31-1	0,92	0,89	1,18	0,07	82,44
1.34.31-1	0,91	0,77	0,92	0,06	78,64
1.35.31-1	1,05	0,68	0,99	0,07	75,39
1.36.31-1	Низкий выход/нет экспрессии				
1.1.32-1	0,93	0,89	1,04	0,06	81,07

1.31.32-1	0,98	0,91	1,04	0,06	81,40
1.32.32-1	0,89	0,70	0,90	0,08	77,52
1.33.32-1	0,98	0,98	1,13	0,07	85,42
1.34.32-1	0,93	0,69	0,97	0,06	81,78
1.35.32-1	0,96	0,58	1,01	0,06	77,27
1.36.32-1	0,96	0,18	0,50	0,07	71,26
1.1.33-1	0,87	0,84	0,94	0,07	78,40
1.31.33-1	0,89	0,74	0,86	0,06	78,27
1.32.33-1	0,93	0,71	0,68	0,06	74,27
1.33.33-1	1,09	0,97	1,06	0,07	81,78
1.34.33-1	1,10	0,82	1,04	0,06	77,15
1.35.33-1	0,90	0,65	0,91	0,06	74,64
1.36.33-1	Низкий выход/нет экспрессии				
1.1.34-1	0,90	0,83	0,96	0,06	79,02
1.31.34-1	0,76	0,82	0,86	0,06	79,27
1.32.34-1	0,81	0,71	0,86	0,06	77,15
1.33.34-1	0,95	0,82	0,95	0,06	82,66
1.34.34-1	0,89	0,70	0,88	0,06	80,03
1.35.34-1	1,00	0,58	0,85	0,06	77,27
1.36.34-1	1,01	0,15	0,43	0,07	71,01
1.1.35-1	0,96	0,72	0,75	0,08	77,65
1.31.35-1	0,90	0,61	0,77	0,06	78,14
1.32.35-1	0,89	0,50	0,59	0,06	74,46
1.33.35-1	1,03	0,71	0,81	0,07	82,03
1.34.35-1	0,94	0,56	0,77	0,06	78,02
1.35.35-1	0,88	0,42	0,67	0,06	74,51
1.36.35-1	0,89	0,16	0,36	0,06	66,88
1.1.36-1	0,93	0,72	0,88	0,06	79,02
1.31.36-1	1,06	0,93	0,90	0,06	79,40
1.32.36-1	0,92	0,62	0,64	0,06	75,51
1.33.36-1	0,94	0,88	0,82	0,06	83,15
1.34.36-1	0,94	0,77	0,71	0,07	77,69
1.35.36-1	0,85	0,56	0,67	0,06	75,39
1.36.36-1	1,12	0,14	0,34	0,06	68,38

Полученные результаты свидетельствовали о том, что некоторые обратные мутации к зародышевой линии и комбинированные модификации влияли на связывание gp120 и/или термическую стабильность Fv. На основании полученных результатов проводили множество раундов конструирования. Мутацию V19A (которая может удалить предсказанный T-клеточный эпитоп, показанный выше) и мутации, вве-

денные в положение N72 (нумерация по Кабату) легкой цепи (которые могут удалить N72-связанный гликан Fv), комбинировали с другими мутациями, чтобы идентифицировать антитело с улучшенными функциональными и биофизическими свойствами. Полученные в результате этого антитела характеризовали с помощью анализа титра экспрессии, анализа полиспецифичности и/или анализа нейтрализации ВИЧ.

Пример 7. Анализ титра экспрессии антител без мотива гликозилирования.

При экспрессии и очистке белка для проведения скрининга ELISA и ДСФ, сниженный титр экспрессии наблюдали для антител, в которых нет мотива гликозилирования. Дополнительные мутации вводили, чтобы определить антитела с улучшенной экспрессией белка.

Антитела экспрессировали в клетках Expi293F™, применяя систему ExpiFectamine™293, следуя протоколу производителя (ThermoFisher Scientific, Массачусетс). Трансфекцию проводили в масштабе 30 мл в 50 мл SeptaVent™ (Optimal Processing, Калифорния). Вкратце, для каждой реакции трансфекции использовали всего 30 мкг плазмид, экспрессирующих тяжелую и легкую цепь (соотношение НС:LC составляло 2:3). Разбавленную ДНК в OptiMEM добавляли к разбавленному реагенту ExpiFectamine™293, чтобы позволить образование комплекса. Через 20 мин инкубации при комнатной температуре комплекс реагент/ДНК добавляли к 28 мл клеток, высеянных при концентрации 2,5 миллиона/мл. Культуру инкубировали при 37°C в 8% CO₂ при взбалтывании при 250 об/мин в течение четырех суток. Осветленный супернатант собирали путем центрифугирования при 500x g в течение 15 мин. Антитела очищали с помощью жидкостного манипулятора Hamilton STAR (Hamilton, Невада), применяя колонки Phytip (PhyNexus, Калифорния), предварительно наполненные 160 мкл смолы MaSelectSuRe (GE Healthcare, Нью-Джерси). Каждый из 30 мл трансфицированного объема очищали, применяя 3 колонки Phytip. После захвата антитела смолу промывали 1 x ФБР перед элюированием 100 мМ ацетатом Na, pH 3,5. Элюированный образец нейтрализовали 1/10-ой объема 1 М Трис, pH 8,0. Образцы хранили при 4°C в течение ночи. Планшет с элюированными образцами центрифугировали при 1000x g в течение 10 мин, чтобы удалить преципитат, если он образовался. Концентрацию осветленного элюата определяли путем измерения его поглощения на A280. Титр каждого из антител выражали, как описано далее (мг/л): [концентрация (мг/мл) x объем элюирования (мл) * 1000] / 30 мл. Мутации в сайте гликозилирования и титр экспрессии кратко представлены в табл. 15.

Таблица 15
Мутации в сайте гликозилирования и титр экспрессии.

Антитело	Титр (мг/л)
A-1	243
1.1.10-1	148
1.1.37-1	104
1.1.38-1	113
1.1.39-1	93
1.1.40-1	133
1.1.41-1	104
1.1.42-1	158
1.1.43-1	124
1.1.44-1	70
1.1.45-1	77
1.1.46-1	136
1.1.47-1	45
1.1.48-1	65
1.1.49-1	27

Результаты в табл. 15 показали, что у всех антител, в которых нет консенсусного мотива гликозилирования "NLT", выявляли сниженный титр экспрессии. Это дает основание полагать, что удаление N72-связанного гликана может оказывать отрицательное влияние на экспрессию белка. Результаты также показали, что обратная мутация к зародышевой линии L73F систематически снижала титр экспрессии. Среди исследованных мутаций для N72H, N72T и T74K выявили наибольший титр экспрессии, и с ними провели дальнейший анализ.

Пример 8. Дисплей в млекопитающем.

Для того чтобы определить мутации, которые устраняют гликан Fab, при этом сохраняя связывание с Env ВИЧ, улучшая титр экспрессии и/или снижая полиспецифичность, разработали и сконструировали комбинаторные библиотеки мутаций легких цепей, применяя набор тримерных олигонуклеотидов (GenScript), варьирующиеся в 6 сайтах, включая R65, W67, E70, N72, L73 и T74. Синтезированную библиотеку легких цепей, содержащую ~18000 антител, субклонировали в модифицированный вектор pcDNA5/FRT (Invitrogen), содержащий тяжелую цепь антитела A, слитую с трансмембранным доменом PDGFR человека на C-конце.

Для дисплея антител в стабильно трансфицированных клетках, сконструированным вектором экспрессии и рOG44 котрансфицировали клетки Flp-In-CHO, следуя инструкциям производителя (R758-07, Invitrogen).

Трансфицированные клетки подвергали селекции, а затем поддерживали в дополненной гигромицином культуральной среде. Дисплей антитела и связывание с Env ВИЧ анализировали с помощью FACS после окрашивания антителами против IgG человека (Fc γ -специфичными) и BG505.SOSSIP ВИЧ (J. Virol., 89(10):5318-29 (2015)). Клетки, собранные после сортировки FACS, размножали для выделения ДНК и последующего анализа ПЦР/секвенированием, чтобы идентифицировать извлеченные мутации. Более ста клонов отбирали для секвенирования до и после сортировки FACS. Затем исследовали последовательности, полученные в результате двух последовательных раундов сортировки FACS.

Результаты показали, что антитела с последовательностью TRRGQYNYLT (SEQ ID NO: 332), RRWGQNYNFT (SEQ ID NO: 333), TRRGQDYIFS (SEQ ID NO: 334), RRRGQDYILA (SEQ ID NO: 335), RRRGQNYTFT (SEQ ID NO: 336), RRFQDYILT (SEQ ID NO: 337), TRFGQNYSLQ (SEQ ID NO: 338), или TRRGQNYTLA (SEQ ID NO: 339), TRRGQYTLF (SEQ ID NO: 340), TRRGQDYILA (SEQ ID NO: 341) или SRFGQKYQLS (SEQ ID NO: 342) в участке FR3 LC проявляют желательные уровни экспрессии и сохраняют аффинность связывания с BG505.SOSSIP ВИЧ. Мутации в SEQ ID NO: 334, SEQ ID NO: 337 и SEQ ID NO: 342 ввели в антитела 1.1.110-1, 1.1.111-1, 1.1.113-1, 2.1.3-1, 2.1.4-1 и 1.1.112-1.

Пример 9. Оценка полиспецифичности.

Полиспецифичность терапевтических антител может неблагоприятно влиять на фармакокинетические свойства и представлять потенциальную проблему для безопасности. Было показано, что антитело A было полиреактивным к двухцепочечной ДНК и липополисахариду в анализе ELISA панели из четырех антигенов (Science, 333(6049):1633-1637 (2011)). Риск полиспецифичности антител, которые оценивали в данном изобретении, исследовали во множестве анализов, включая ELISA антинуклеарного антитела (Genes Immun., 13(5): 399-410 (2012)), антитела против кардиолипина (Hum Antibodies, 14(3-4): 59-67 (2005)), антитела против бакуловирусной частицы (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 114(5):944-949 (2017)), и анализ связывания на основе FACS клеток HEK-293 и HEp2 (J. Virol., 88(21): 12669-82 (2014)). Для сравнения полиспецифичности антитело С и антитело D, два полиспецифических bNAb (J. Virol., 88(21): 12669-82 (2014)), использовали в качестве положительных контролей; и клинический образец ритуксимаба (Myoderm Medical Supply) использовали в качестве эталона низкого риска полиспецифичности. Исследуемые образцы разбавляли до 1 мкМ в анализе ELISA, и значения ОП₅₀ нормировали на контроль (без антитела), чтобы вычислить кратность изменения. В анализе связывания клеток, клетки HEK293 или HEp2 пермеабелизовали, а затем инкубировали с серийными разведениями исследуемых образцов. Окрашенные образцы анализировали с помощью FACS, и MFI (среднюю интенсивность флуоресценции) нормировали на контроль, окрашенный только вторичным антителом против IgG-Fc γ человека. Относительные сигналы связывания наносили на график в зависимости от концентраций антитела и аппроксимировали нелинейной кривой ответа. Неспецифическое связывание с клетками каждого исследованного антитела представляли с помощью AUC (площади под кривой) связывания.

Для трех мутантов с одной мутацией с удаленным гликаном в N72 (посредством точечного мутагена) выявили наибольший титр экспрессии (табл. 5). Для того чтобы оценить их вклад в полиспецифичность A-1, мутантов исследовали в анализе ELISA с антинуклеарным антителом (ANA) и антителом против кардиолипина, описанном выше. Результаты двух независимых анализов показаны в табл. 16. Данные результаты позволяют предположить, что удаление гликана в N72 может приводить к повышению полиспецифичности. Среди исследованных мутаций, для мутаций N72T и N72H выявили наименьшие показатели полиспецифичности.

Таблица 16

Оценка полиспецифичности

МАТ (1 мкМ)	ANA (нормированная ОП ₄₅₀)		Антитело против кардиолипина (нормированная ОП ₄₅₀)	
С	24,5	26,5	15,6	17,2
A-1	2,3	2,6	1,6	1,5
1.1.10-1	8,3	8,2	2,5	2,2
1.1.42-1	4,0	3,7	2,3	2,0
1.1.46-1	11,8	10,1	4,4	3,7
Ритуксимаб	1,5		1,3	

Антитела с N72T, V19A и другими мутациями, выбранными на основании функционального анализа, представленного в табл. 14 и 23, исследовали в анализе ELISA с ANA и антителом против кардиолипина для оценки полиспецифичности. Результаты данных анализов показаны в табл. 17.

Таблица 17

Оценка полиспецифичности антител с мутацией N72T

МАТ (1 мкМ)	ANA (нормированная ОП ₄₅₀)		Антитело против кардиолипина (нормированная ОП ₄₅₀)	
A	1,9		1,2	
A-1	2,7		1,4	
1.1.10-1	5,7		1,7	
1.33.32-1	4,9		7,7	
1.1.54-1	3,0		1,6	
1.37.51-1	4,0		6,2	
1.8.52-1	5,6		1,7	
С	22,5		4,4	
D-1	14,6		7,7	
Ритуксимаб	1,3		1,0	

Результаты в табл. 17 показали, что для всех антител, которые не содержат гликан в N72, выявляли повышенную полиспецифичность по сравнению с антителом A-1. Для антитела 1.1.54, которое содержит мутации N72T и V19A, выявляли сниженную полиспецифичность по сравнению с антителом 1.1.10, которое содержит мутацию N72T отдельно. Это дает основание полагать, что мутация V19A, которую ввели, чтобы удалить Т-клеточный эпитоп, может давать неожиданное преимущество, снижая полиспецифичность антител, описанных в данном изобретении.

Для того чтобы идентифицировать антитела со сниженной полиспецифичностью, исследовали панель из 32 комбинаторных представителей, состоящих из 5 наборов мутаций в антителе A-1 (табл. 18), в анализе ELISA с ANA, ELISA с антителом против кардиолипина, анализе связывания HEK293 и HEp2, описанных выше.

Таблица 18

Мутации, используемые для получения комбинаторной библиотеки из 32 представителей

Набор мутаций	Мутации в HC	Мутации в LC
Набор 1	Нет	V19A
Набор 2	Нет	N72H
Набор 3	Нет	V98F, V99G
Набор 4	Нет	T18R, R65S, N76S, N77S
Набор 5	L5V, A10E, T12K, E23K, S105Q, Q108M	R39K, R40P

Результаты анализов сводили и сравнивали, используя баллы полиспецифичности (P-баллы), которые рассчитывали как отношение значения для каждого исследованного антитела к таковому для ритуксимаба в каждом анализе (табл. 19). Средние значения P-балла использовали для ранжирования по риску полиспецифичности исследуемых антител. Для статистического анализа вклада каждой мутации в комбинаторный набор данных, проводили попарные сравнения для каждого комбинированного антитела в присутствии или отсутствии наборов мутаций, перечисленных в табл. 19. В контексте комбинаторной панели антител из 32 представителей, исследованной в данном изобретении, проводили 16 независимых сравнений для каждого из пяти исследованных наборов мутаций.

Таблица 19

Баллы полиспецифичности (P-баллы) комбинаторных антител

MAT	ANA		Против кардиолипина		Связывающее HEK293		Связывающее HEp2	Среднее	станд. отклон.
	1	2	1	2	1	2			
A-1	2,8	3,2	1,3	1,5	3,7	2,2	3,5	2,6	1
1.1.17-1	1,8	1,8	1,2	1,1	2,5	1,6	2,7	1,8	0,5
1.1.42-1	н/д	4,3	н/д	1,9	6	н/д	5	4,3	1,5
1.1.64-1	2	1,9	1,2	1,1	2,4	1,6	2,5	1,8	0,5
1.1.67-1	2,3	2,5	1,2	1,4	2,8	1,9	2,6	2,1	0,6
1.1.72-1	н/д	4,7	н/д	1,4	4	н/д	3,9	3,5	1,2
1.1.75-1	3,2	3,3	1,7	1,7	3,8	2,3	4,4	2,9	1
1.1.78-1	3,4	3,5	1,8	1,4	2,9	2,6	3,4	2,7	0,8
1.41.5-1	н/д	5	н/д	3,7	7,2	н/д	4,9	5,2	1,3
1.41.81-1	4,3	4,5	2,7	3,4	6,1	2	4,6	3,9	1,3
1.1.82-1	3	2,9	1,2	1,2	3,7	1,6	2,9	2,4	0,9
1.41.83-1	4,2	4,5	4,1	5,3	4,9	2,1	3,9	4,1	0,9
1.1.84-1	2,2	2,4	1,3	1,2	2,3	1,7	2	1,9	0,5
1.41.85-1	3,3	3,5	3,3	3,2	3,7	1,6	3,2	3,1	0,6
1.41.86-1	5,1	6,2	3	3,8	4,1	1,8	4	4	1,3

1.41.87-1	3,3	3,4	3,5	3,7	3,2	1,9	2,9	3,1	0,6
1.1.88-1	1,6	1,8	1,2	1,2	3,7	1,5	2,4	1,9	0,8
1.41.89-1	1,9	1,9	1,9	2,2	6,3	1,7	4,4	2,9	1,6
1.1.90-1	1,5	1,2	1,2	0,9	3,7	1	2,3	1,7	0,9
1.41.91-1	2,9	3,1	3,6	6,2	2,5	2,1	2,9	3,3	1,2
1.41.92-1	н/д	15,7	н/д	11,2	5,8	н/д	5,4	9,5	4,2
1.41.93-1	н/д	9,5	н/д	9,8	5,1	н/д	5,4	7,4	2,2
1.1.94-1	6,2	7,7	4,7	4,9	3,4	3,2	3,3	4,8	1,6
1.41.95-1	10,2	14,8	8,9	9,2	6,5	3,8	5,4	8,4	3,4
1.1.96-1	4,7	6,1	2,4	2,7	2,4	2,8	2,8	3,4	1,3
1.41.97-1	5,4	6,5	5,4	7,3	4,5	3,9	4,1	5,3	1,2
1.41.98-1	5,9	8	4,6	5,9	3,9	3,3	4	5,1	1,5
1.41.99-1	6,4	6,9	6,1	9,2	7,8	3,2	4,6	6,3	1,9
1.1.100-1	4,6	4,2	2	2,1	4,7	1,7	2,7	3,1	1,2
1.41.101-1	5,6	7,2	5,5	6,8	8,7	3,2	4,8	6	1,7
1.1.102-1	3,3	4	1,8	1,7	4,5	2,8	2,6	3	1
1.41.103-1	3,6	4,6	5,9	5,3	6,8	4,4	4	5	1
С	17,6	14,7	3,8	8,3	13,1	8,6	6,9	10,4	4,5
D-1	8,7	10,4	1,9	3,3	7,3	7,1	4	6,1	2,8
Ритуксим аб	1	1	1	1	1	1	1,1	1	0

Для каждой из 16 попарных комбинаций средний Р-балл для семи анализов, показанных в табл. 19, сравнивали, применяя парный t-критерий. Результаты показали повышение полиспецифичности вследствие введения мутации N72H в легкую цепь, а также вследствие введения мутаций из набора 5. Результаты показали снижение полиспецифичности вследствие введения мутаций V19A или V98F+V99G в легкую цепь. Небольшое, но статистически не значимое снижение полиспецифичности наблюдали при введении мутаций из набора 4. Согласно данному статистическому анализу, антитело с наименьшим средним баллом полиспецифичности представляло собой антитело 1.1.90, которое содержало мутацию V19A, мутации V98F+V99G и мутации из набора 4.

Антитела А-1 и В-1 затем сравнивали в анализах полиспецифичности. Кроме того, антитела со следующими мутациями исследовали в различных комбинациях: N72T, N72H, V19A, V98F+V99G, мутации из набора 4 или мутации, обнаруженные в SEQ ID NO: 37. Антитела исследовали в ELISA на основе бакуловирусных частиц (BVP), и полученные результаты кратко представлены в табл. 20. Исследуемые образцы анализировали при концентрации 1 мкМ в двух повторах в каждом эксперименте, и балл BVP рассчитывали как отношение ОП₄₅₀ к фоновому значению без МАТ.

Таблица 20

Баллы BVP

МАТ	Среднее	СО	n
А	10,9	1,1	2
А-1	9,4	0,7	6
1.1.10-1	13,9	н/д	1
1.1.42-1	9,7	1,1	2
1.1.111-1	22,1	2,0	4
1.1.113-1	11,9	н/д	1
1.1.90-1	2,5	0,6	2
В-1	2,7	0,9	3
2.1.2-1	47,1	н/д	1
2.1.3-1	8,2	н/д	1
2.1.4-1	7,7	н/д	1
D-1	29,2	9,7	4
С	44,2	10,2	4
Ритуксимаб	4,0	0,5	4

Результаты в табл. 20 показали, что для антитела В-1 выявляли сниженную полиспецифичность по сравнению с антителом А-1. Подобно антителу А, удаление гликана в N72 с помощью мутации N72H в антителе 1.1.42 или антителе 2.1.2 приводило к повышению полиспецифичности. Введение мутаций, обнаруженных с помощью дисплея в млекопитающем, в антитело 1.1.111 может повышать полиспецифичность, тогда как введение тех же мутаций в антитело 2.1.3 может снижать полиспецифичность по срав-

нению с мутацией N72H. Добавление мутации V19A (например, в антитело 1.1.113 или антитело 2.1.4) может систематично снижать полиспецифичность в обоих случаях.

Получили дополнительную панель из 96 антител, чтобы определить антитела с улучшенной шириной и эффективностью нейтрализации, и, в идеале, без N72-связанного гликана. В данной панели исследовали влияние мутаций из набора 1, 3 и 4 (табл. 18), а также различные мутации N72 и мутации, полученные из дисплея в млекопитающем, в контексте переменных доменов антитела, происходящих из антитела А или комбинирования элементов как антитела А, так и антитела В. Создание библиотеки также включало этап сканирующего мутагенеза, в котором каждую аминокислоту, отличающуюся между антителом А и антителом В, исследовали отдельно в контексте антитела А. Данную панель получали, применяя высокопроизводительные способы, и анализировали, применяя высокопроизводительный ELISA BVP с нормированием на различия в концентрациях образцов. Результаты данного анализа показаны в табл. 21.

Таблица 21
Баллы BVP

МАТ	Нормированный балл BVP
A-1	5,5
3-1	3,7
2.2.1-1	5,5
2.3.1-1	3,5
1.1.64-1	7,2
3.1.8-1	3,8
2.2.8-1	13,7
2.3.8-1	10,8
1.1.67-1	5,0
3.1.9-1	8,2
2.2.9-1	15,7
2.3.9-1	9,0
1.1.115-1	15,0
3.1.10-1	6,0
2.2.10-1	25,8
2.3.10-1	13,6
1.1.116-1	27,1
3.1.11-1	14,6
2.2.11-1	34,4
2.3.11-1	19,1
1.1.117-1	18,7
3.1.12-1	15,2
2.2.12-1	35,7
2.3.12-1	24,3
1.1.118-1	13,1
3.1.13-1	19,4
2.2.13-1	15,2
2.3.13-1	12,5
1.1.10-1	10,8
3.1.14-1	12,5
2.2.14-1	26,4
2.3.14-1	6,0
1.1.54-1	8,3
3.1.5-1	7,0
2.2.5-1	13,2
2.3.5-1	6,3

048133

1.1.104-1	7,8
3.1.15-1	8,1
2.2.15-1	25,3
2.3.15-1	12,2
1.1.119-1	12,9
3.1.7-1	8,4
2.2.7-1	15,5
2.3.7-1	9,1
1.1.42-1	7,7
3.1.2-1	7,4
2.2.2-1	26,0
2.3.2-1	11,3
1.1.75-1	14,6
3.1.16-1	13,4
2.2.16-1	33,9
2.3.16-1	18,0
1.1.78-1	10,4
3.1.17-1	14,4
2.2.17-1	39,6
2.3.17-1	25,6
1.1.102-1	7,4
3.1.18-1	11,9
2.2.18-1	26,5
2.3.18-1	15,4
1.1.120-1	14,2
3.1.19-1	14,1
2.2.19-1	32,1
2.3.19-1	24,4
1.1.121-1	8,4
3.1.20-1	6,7
2.2.20-1	22,7
2.3.20-1	13,2
1.1.122-1	12,5
1.1.123-1	10,0
1.1.124-1	8,9
1.1.125-1	8,6
1.1.126-1	9,8
1.1.127-1	13,9
1.1.128-1	12,0
1.1.129-1	16,8
1.1.130-1	13,8
1.1.131-1	8,3
1.1.111-1	17,1
B-1	7,0

1.1.90-1	7,2
1.1.132-1	12,3
1.1.133-1	12,1
1.1.134-1	7,1
1.1.135-1	11,3
1.42.1-1	13,9
1.43.1-1	12,6
1.44.1-1	22,2
1.45.1-1	1,8
1.46.1-1	10,0
1.47.1-1	8,8
1.49.1-1	11,9
1.50.1-1	8,0
1.51.1-1	8,1
A-1	8,1

Результаты для двух отдельных циклов производства антитела А-1, показанные в первом и последнем рядах таблицы 21, представляли собой баллы BVP 5,5 и 8,1. У антител, содержащих мутации в N72, были систематично более высокие баллы BVP, что согласуется с приведенными выше результатами, демонстрирующими, что удаление N72-связанного гликана может приводить к повышению полиспецифичности. Для выбранных антител, не содержащих N72 и содержащих легкую цепь или тяжелые цепи (или мутанты, полученные из данных цепей) антитела В, таких как антитела 3.1.10-1, 2.3.14-1, 1.1.54-1, 3.1.5-1 и 2.3.5-1, не выявили повышения баллов BVP ELISA по сравнению с антителом А-1.

Получили дополнительную панель из 12 антител с N72-связанным гликаном или без указанного гликана, чтобы дополнительно оценить роль данного гликана в полиспецифичности. Некоторые антитела получили в обеих клетках Expi293 и CHO-S. Мутации, которые могут снижать полиспецифичность, идентифицированные в описанных выше анализах, включали в данную панель. Результаты данного анализа показаны в таблице 22. У антител, в которых сохранился мотив N72-связанного гликозилирования в легкой цепи, были относительно более низкие баллы BVP, чем у антител без указанного мотива N72-связанного гликозилирования.

Таблица 22

Баллы BVP. N \geq 3 для каждого антитела

N72- связанный гликан	Название	Линия клеток	Балл BVP
Да	A-1	Expi293	2,2
		CHO-S	7,7
	1.1.64-1	Expi293	2,0
		CHO-S	6,6
	1.52.64-1	Expi293	2,4
		CHO-S	2,6
	1.1.90-1	Expi293	1,7
	2.2.101	Expi293	12,8
2.4.1-1	Expi293	5,2	
2.3.1-1	Expi293	5,3	
Нет	1.1.104-1	ExpiCHO	8,8
	1.1.119-1	ExpiCHO	6,0
	3.1.5-1	ExpiCHO	3,3
		CHO-S	12,0
	2.2.5-1	Expi293	32,5
2.3.5-1	Expi293	3,6	

Пример 10. Анализ нейтрализации ВИЧ.

Для того чтобы оценить ширину распознавания антигена антителами, проводили анализ нейтрализации ВИЧ, применяя различные изоляты и клоны вируса. Эффективность нейтрализации ВИЧ (выраженная как IC₅₀ в мкг/мл) для указанных антител измеряли в основном на клеточной системе анализе с репортером CEM-NKt-CCR5-Luc (Trkola и др., (1999), J. Virol., 73(11):8966-74) против панели способных реплицироваться вирусов подтипа В, которые включали изоляты и клоны, амплифицированные из образцов плазмы пациентов (программа NIH предоставления реагентов для исследования СПИД (NIH AIDS Reagent Program)), и адаптированный к лабораторным условиям штамм ВИЧ-1 BaL.

Таблица 23

Эффективность нейтрализации ВИЧ

Антитело	Эффективность нейтрализации вируса (мкг/мл)			
	CHO77	Bal	92US657	8320
A-1	0,12	0,16	1,31	0,31
1.2.2-1	0,12	0,23	1,38	0,70
1.3.1-1	0,08	0,26	1,84	0,37
1.4.1-1	0,04	0,21	1,35	0,28
1.5.1-1	0,14	0,26	0,85	0,50
1.6.1-1	0,10	0,39	1,32	0,62
1.7.1-1	0,10	0,51	1,10	0,54
1.8.1-1	0,09	0,04	1,88	0,59
1.9.1-1	0,17	0,20	1,39	0,50
1.15.1-1	0,10	0,17	1,42	0,31
1.18.1-1	0,10	0,12	1,78	0,33
1.21.1-1	0,17	0,11	2,51	0,59
1.22.1-1	0,95	>20	11,3	13,2
1v2-1	0,07	0,08	0,88	0,28
1.25.1-1	0,12	0,17	1,46	0,23
1.26.1-1	0,11	0,06	0,93	0,38
1.27.1-1	0,13	0,54	0,56	0,58
1.28.1-1	0,10	0,11	1,63	0,38
1.29.1-1	0,09	0,14	1,33	0,41
1.30.1-1	0,06	0,15	0,93	0,39
1.1.2-1	0,14	0,20	0,62	0,78
1.1.4-1	0,12	0,10	1,44	0,35
1.1.5-1	0,12	0,21	1,93	0,63
1.1.10-1	0,07	0,10	0,60	0,33
1.1.11-1	0,13	0,09	1,17	0,39
1.1.12-1	0,12	0,06	1,64	0,50
1.1.13-1	0,09	0,19	1,43	0,45
1.1.17-1	0,10	0,08	1,27	0,52
1.1.19-1	0,12	0,09	0,90	0,34
1.1.26-1	0,13	0,07	1,49	0,45
1.1.27-1	0,10	0,12	1,25	0,53
1.14.15-1	>20	>20	>20	>20
1.33.1-1	0,17	0,11	0,95	0,77
1.33.32-1	0,08	0,09	0,83	0,35
1.34.32-1	0,11	0,31	1,47	0,54
1.36.35-1	0,32	>20	5,37	3,82
1.36.36-1	0,30	>20	2,07	3,84

Для некоторых антител не выявили утраты функции в анализе ELISA (табл. 14), но выявили снижение эффективности в анализе нейтрализации ВИЧ (табл. 23). Для нескольких антител выявили либо отсутствие изменения в активности нейтрализации вируса, либо выявили небольшое повышение эффективности нейтрализации.

Таблица 24

Эффективность нейтрализации ВИЧ для антител, содержащих мутации

Антитело	Эффективность нейтрализации вируса (мкг/мл)					
	BaL	92US727	92HT593	92US657	92US712	302076
A	0,063	7,81	0,019	2,63	0,104	0,183
A-1	0,037	6,08	0,013	2,160	0,085	0,145
1.1.10-1	0,021	>20	0,013	1,83	0,088	0,131
1.1.42-1	0,030	>20	0,046	2,14	0,078	0,157
1.33.32-1	0,063	>20	0,010	1,39	0,062	0,077
1.1.54-1	0,062	11,4	0,011	1,50	0,076	0,114
1.37.51-1	0,053	>20	0,014	2,58	0,149	0,112
1.8.52-1	0,076	>20	0,015	2,81	0,141	0,202

В табл. 24 показано, что для антител без гликана в N72 выявили снижение эффективности нейтрализации вируса 92US727. Для антитела 1.1.54-1 (V19A + N72T) выявили повышенную эффективность нейтрализации вируса 92US727 по сравнению с антителом 1.1.10-1 (которое содержало N72T). Это дает основание полагать, что в комбинации с мутацией N72T, V19A может снижать полиспецифичность и улучшать эффективность нейтрализации выбранных вирусов.

Таблица 25

Эффективность нейтрализации ВИЧ для антител, выявленная с применением расширенной панели вирусов

Вирус	Эффективность нейтрализации вируса (мкг/мл)			
	A-1	1.1.54-1	1.37.51-1	1.1.42-1
7467	0,07	0,06	0,06	0,07
302076	0,10	0,08	0,06	0,09
CH058	0,10	0,14	0,09	0,1
92US712	0,11	0,09	0,13	0,09
92HT593	0,12	0,06	0,12	0,05
7015	0,14	0,14	0,10	0,11
BaL	0,15	0,13	0,82	0,07
RHPA	0,16	0,16	0,09	0,15
1489	0,16	0,22	0,26	0,21
WITO	0,26	0,22	0,11	0,07

048133

8176	0,28	0,18	0,18	0,16
8318	0,38	0,31	0,37	0,24
7576	0,46	0,32	0,34	0,4
8339	0,52	0,32	0,29	0,39
7051	0,61	0,52	0,49	0,29
8089	0,67	0,57	1,14	0,73
8106	1,03	0,82	0,97	0,92
8359	1,56	1,19	1,51	1,2
92US657	1,81	3,45	3,39	2,97
92US727	1,82	9,65	50,33	33,7
8117	1,93	1,12	0,92	1,17
CH077	2,45	1,63	2,29	1,80
CH106	2,71	3,05	2,8	1,30
REJO	2,88	1,93	3,04	2,82
THRO	3,1	1,81	1,28	2,33
1413	3,84	2,8	2,45	2,88
8320	4,07	2,61	4,09	2,55
7103	4,82	3,03	2,28	3,23
8134	5,08	7,19	6,97	8,71
7141	5,35	8,93	51,0	23,2
8110	7,09	5,29	4,14	5,97
7714	8,96	6,78	4,33	8,71
1003	23,0	15,35	12,6	17,7
7595	24,6	18,9	16,17	18,02
8339	>200	>200	>200	>200
8398	>200	>200	>200	>200
7406	>200	>200	>200	>200
7552	>200	>200	>200	>200
7007	>200	>200	>200	>200

Среди антител, охарактеризованных в данном анализе, для антитела 1.1.54, содержащего мутации N72T и V19A, выявили наибольшую эффективность нейтрализации (табл. 25).

Таблица 26

Эффективность нейтрализации ВИЧ для выбранных антител

Вирус	A-1	1.1.110-1	1.1.111-1	1.1.112-1	1.1.90-1	1.1.64-1
CH106	1,29	1,33	1,42	1,31	1,69	0,99
1413	2,04	3,69	2,79	2,05	3,55	2,35
BaL	0,05	0,11	0,13	0,12	0,13	0,08
92HT593	0,34	0,50	0,52	0,56	0,68	0,35
92US657	0,70	0,69	0,79	0,74	1,17	0,79
302076	0,13	0,25	0,18	0,28	0,16	0,15
7015	0,68	0,77	0,73	0,75	1,03	0,60
8117	1,13	1,35	1,09	1,45	1,14	1,13
8339	>50	>50	>50	31,4	>50	>50
92US727	1,62	>50	35,19	30,3	3,80	0,79
92US712	0,08	0,06	0,06		0,07	0,06
7141	2,10	>50	27,09		2,41	1,99
7007	>50	>50	>50		>50	>50
8134	0,36	1,29	0,87		1,05	0,29
8318	0,15	0,23	0,19		0,21	0,23
7596	15,9	14,9	11,6		11,54	16,19
7103	0,95	1,00	0,69		1,13	1,01
8359	0,40	0,35	0,41		0,58	0,48
8110	2,63	3,85	2,19		1,65	2,62
7595	4,38	3,97	3,59		3,71	4,48
REJO	0,03	0,03	0,05		0,07	0,04
CH058	0,04	0,04	0,04		0,05	0,03
CH077	0,03	0,03	0,05		0,10	0,03
RHRA	0,19	0,20	0,16		0,16	0,09
WITO	0,12	0,08	0,06		0,07	0,13
7714	4,20	2,65	3,78		3,76	7,48
THRO	6,84	6,77	6,20		7,42	9,60
CH040	4,86	6,86	16,1		9,57	18,59
8089	0,32	1,30	0,60		0,47	0,32
1489	0,09	0,08	0,10		0,24	0,13
7467	0,03	0,03	0,04		0,06	0,03
7352	>50	>50	>50		>50	40,1
8320	0,28	0,26	0,25		0,39	0,37
1003	1,25	1,35	1,17		1,92	1,25
1012	1,24	1,65	1,43		1,40	1,40
8398	>50	>50	>50		>50	>50
7576	0,38	0,50	0,32		0,36	0,41
7051	0,21	0,25	0,19		0,19	0,23
8176	0,18	0,18	0,19		0,24	0,24
8106	0,57	0,61	0,61		0,89	1,08
7552	27,24	>50	>50		>50	16,1

Эффективность нейтрализации ВИЧ исследовали для выбранных антител, идентифицированных с помощью дисплея в млекопитающем (антител 1.1.110, 1.1.111 и 1.1.112), и антител, у которых выявили сниженную полиспецифичность (антител 1.1.90 и 1.1.64). Наблюдали утрату эффективности против вирусов 92US727 и 7141 для антител, идентифицированных с помощью дисплея в млекопитающем (табл. 26).

Таблица 27

Результаты нейтрализации ВИЧ для выбранных антител

Вирус	В-1	2.1.3-1	2.1.4-1	А-1	1.1.54-1	1.1.90-1	1.1.111-1	1.1.113-1
92US712	0,10	0,20	0,11	0,10	0,07	0,09	0,08	0,07
8318	0,11	0,24	0,21	0,11	0,32	0,57	0,48	0,14
92HT593	0,35	0,30	0,33	0,41	0,26	0,39	0,29	0,24
RHPA	0,09	0,07	0,05	0,12	0,03	0,15	0,08	0,05
7051	0,41	0,42	0,46	0,52	0,23	0,44	0,32	0,41
8320	0,27	0,28	0,23	0,42	0,29	0,34	0,30	0,28
7576	0,24	0,49	0,55	0,34	0,48	0,41	0,26	0,28
7015	1,12	0,89	0,59	1,17	0,40	0,41	0,48	0,44
92US657	0,53	0,42	0,38	0,52	0,45	0,48	0,40	0,40
CH106	1,51	1,01	0,91	0,91	0,90	1,00	0,86	0,59
1413	2,51	2,78	2,16	2,17	1,72	1,94	2,33	3,67
7141	1,67	13,76	6,78	2,45	1,61	2,24	29,81	27,85
92US727	2,13	14,34	7,27	2,01	11,18	2,17	>50	>50
7595	1,24	1,35	1,19	1,73	1,62	1,76	1,31	1,78
CH040	0,14	0,47	0,36	0,57	>50	22,06	3,71	0,15
THRO	5,32	6,56	4,97	6,30	5,47	10,62	8,58	9,39
7552	26,02	>50	>50	16,55	6,22	27,82	>50	>50
8339	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50
7007	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50
8398	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50

Результаты нейтрализации ВИЧ, представленные в табл. 27, позволяют предположить, что удаление гликана в N72 (2.1.3-1, 2.1.4-1, 1.1.54-1, 1.1.111-1 и 1.1.113-1) может приводить к утрате чувствительности нейтрализации к выбранным вирусам (т.е., 7141, 92US727) по сравнению с антителами, в которых сохранился гликан в N72 (антителами В-1, А-1, 1.1.90-1).

Антитела, исследованные в высокопроизводительном ELISA ВРР, показанные в таблице 21, исследовали в анализе нейтрализации ВИЧ против 4 вирусов. Результаты данного исследования показаны в табл. 28.

Результаты нейтрализации ВИЧ

МАТ	Значения IC50 (мкг/мл) нейтрализации указанных вирусов			
	92US712	92US727	7141	VS001
A-1	0,13	3,8	3	0,18
3-1	0,11	3,92	4,03	0,1
2.2.1-1	0,05	~6-11	1,61	0,1
2.3.1-1	0,13	~4-12	2,65	0,2
1.1.64-1	0,05	0,55	0,64	0,05
3.1.8-1	0,12	1,15	3,51	0,11
2.2.8-1	0,07	3,38	1,6	0,07
2.3.8-1	0,07	1,72	1,64	0,15
1.1.67-1	0,1	8,1	3,76	0,15
3.1.9-1	0,11	3,54	4,35	0,16
2.2.9-1	0,06	13,1	1,75	0,15
2.3.9-1	0,09	11,1	2,56	0,22
1.1.115-1	0,08	>50	10,1	0,75
3.1.10-1	0,34	>50	44,8	2,24
2.2.10-1	0,05	>50	4,31	0,79
2.3.10-1	0,09	>50	15,3	0,94
1.1.116-1	0,12	>36	14,6	0,44
3.1.11-1	0,07	>44	8,7	0,57
2.2.11-1	0,04	>50	2,65	0,4
2.3.11-1	0,07	>50	11,2	0,83
1.1.117-1	0,09	>50	16,9	3,03
3.1.12-1	0,11	>41	24,5	2,41
2.2.12-1	0,04	>50	7,08	2,1
2.3.12-1	0,09	>50	23,8	1,92
1.1.118-1	0,18	>50	20,2	2,4
3.1.13-1	0,1	>21	13,2	0,56
2.2.13-1	0,08	>50	3,8	1,48
2.3.13-1	0,14	>38	15,5	1,5
1.1.10-1	0,12	45	5,43	0,17
3.1.14-1	0,12	>27	6,42	0,19
2.2.14-1	0,06	>50	2,26	0,21
2.3.14-1	0,11	35,3	5,23	0,21
1.1.54-1	0,16	>50	7,08	0,32
3.1.5-1	0,14	>17	9,8	0,23
2.2.5-1	0,05	>50	2,34	0,13
2.3.5-1	0,05	>50	3,52	0,19
1.1.104-1	0,12	>50	5,13	0,45

048133

3.1.15-1	0,12	>33	9,1	0,49
2.2.15-1	0,03	>50	1,99	0,37
2.3.15-1	0,1	>50	5,93	0,85
1.1.119-1	0,08	>50	6,92	0,39
3.1.7-1	0,09	>50	5,65	0,3
2.2.7-1	0,04	>50	1,58	0,27
2.3.7-1	0,07	>50	5,08	0,47
1.1.42-1	0,29	>50	>50	0,9
3.1.2-1	0,09	>50	21,9	0,73
2.2.2-1	0,04	>50	2,06	0,44
2.3.2-1	0,1	>50	14,6	0,88
1.1.75-1	0,08	>50	11,3	0,5
3.1.16-1	0,29	>43	39	2,15
2.2.16-1	0,05	>50	3,38	0,78
2.3.16-1	0,09	>50	10,2	0,72
1.1.78-1	0,1	>50	29,5	3,3
3.1.17-1	0,1	>50	25,5	2,21
2.2.17-1	0,05	>50	6,28	4,38
2.3.17-1	0,08	>50	31,3	4,54
1.1.102-1	0,14	>50	22,7	3
3.1.18-1	0,24	>9,8	>9,8	3,52
2.2.18-1	0,09	>34	5,04	2,51
2.3.18-1	0,16	>23	>23	2,37
1.1.120-1	0,2	>32,9	17,8	0,88
3.1.19-1	0,1	>50	23,9	0,57
2.2.19-1	0,06	>50	4,83	1,04
2.3.19-1	0,09	>50	12	0,48
1.1.121-1	0,1	>37	28,7	1,3
3.1.20-1	0,06	>50	22,1	0,95
2.2.20-1	0,05	>50	4,01	1,25
2.3.20-1	0,08	>50	15,9	1,23
1.1.122-1	0,13	>42,4	6,79	0,32
1.1.123-1	0,09	>43,8	11,2	0,23
1.1.124-1	0,14	>25,4	9,87	0,3
1.1.125-1	0,12	>50	7,69	0,37
1.1.126-1	0,12	>50	6,49	0,35
1.1.127-1	0,16	>23	5,78	0,18
1.1.128-1	0,17	>28,3	9,5	0,67
1.1.129-1	0,15	>29,7	>29,7	2,09
1.1.130-1	0,21	>27,3	16,7	1,67
1.1.131-1	0,15	>31,9	16,4	0,57
1.1.111-1	0,13	>50	>50	3,24
B-1	0,13	2,57	1,43	0,29

1.1.90-1	0,12	8,72	2,65	0,2
1.1.132-1	0,12	2,26	3,39	0,14
1.1.133-1	0,14	2,27	3,38	0,16
1.1.134-1	0,14	4,23	3,15	0,22
1.1.135-1	0,22	5,61	4	0,31
1.42.1-1	0,13	0,98	2,34	0,11
1.43.1-1	0,08	3,35	2,42	0,1
1.44.1-1	0,06	~7-12	1,43	0,13
1.45.1-1	9,8	>50	>50	27,6
1.46.1-1	0,17	1,68	2,44	0,24
1.47.1-1	0,11	1,17	2,48	0,24
1.49.1-1	0,14	2,41	2,98	0,26
1.50.1-1	0,08	0,92	2,54	0,14
1.51.1-1	0,1	2,67	3,5	0,22
A-1	0,13	4,8	2,9	0,2

Для всех антител, несущих мутации в положении N72, выявили утрату функции вируса 92US727. Антителом с наибольшей медианной эффективностью было антитело 1.1.64. Для некоторых антител выявили улучшения в медианной эффективности нейтрализации по сравнению с антителом A-1. Среди антител, содержащих мутацию N72Г, со сниженными баллами ELISA BVP, для антитела 2.3.5 также выявили повышенную эффективность в анализе нейтрализации ВИЧ.

Дополнительные анализы нейтрализации проводили с панелью вариантов, разработанных таким образом, чтобы удалить мотив окисления W74a в тяжелой цепи и мотив дезамидирования N26 в переменном домене A-1 легкой цепи. Результаты оценки представлены в табл. 29 и 30. Результаты показали, что у множества вариантов выявили утрату функции, тогда как у выбранных вариантов сохранилась эффективность, более сходная с A-1.

Таблица 29

Результаты нейтрализации ВИЧ для вариантов А-1, разработанных таким образом, чтобы удалить химическую неустойчивость

		Вирус							
Место химической неустойчивости	Название антитела	VS003	VS046	VS001	VS026	VS052	US657	VS043	VS004
Нет	А-1	0,03	0,03	0,08	0,26	0,38	0,86	1,47	3,42
N26 легкой цепи	1.1.136-1	0,03	0,04	0,20	0,76	0,38	0,92	1,57	>100
	1.1.137-1	0,03	0,05	0,16	0,43	0,35	0,78	1,65	>100
	1.1.138-1	0,06	0,04	0,18	0,35	0,46	0,54	1,41	39,24
	1.1.139-1	0,03	0,05	0,36	0,94	0,51	0,54	1,37	>100
	1.1.140-1	0,03	0,04	0,17	0,56	0,47	0,51	2,82	94,28
	1.1.141-1	0,02	0,04	0,25	0,69	0,51	0,38	1,30	>100
	1.1.142-1	0,02	0,03	0,20	0,48	0,56	0,44	1,42	>100
	1.1.143-1	0,05	0,05	0,40	3,85	0,92	0,82	2,05	89,88
W74a тяжелой цепи	1.52.1-1	0,05	0,06	0,21	0,48	0,54	0,69	1,39	9,90
	1.53.1-1	0,06	0,05	0,18	0,49	0,57	0,72	1,44	14,10
	1.54.1-1	0,08	0,06	0,55	0,59	0,75	1,27	1,94	36,15
	1.55.1-1	0,08	0,07	0,49	0,83	1,08	1,39	2,48	34,00
	1.56.1-1	0,09	0,07	0,49	0,72	0,87	1,28	1,51	21,80
	1.57.1-1	0,06	0,09	0,65	0,91	1,21	2,43	2,47	56,68

Таблица 30

Результаты нейтрализации ВИЧ для выбранных вариантов А-1 на расширенной панели вирусов

Средн. IC50 (мкг/мл)	Антитело А-1	1.1.136-1	1.1.137-1	1.1.138-1	1.1.140-1	1.1.142-1	1.52.1-1	1.53.1-1
US657(1)	0,864	0,92	0,78	0,55	0,55	0,51	0,44	0,73
VS003	0,027	0,03	0,03	0,06	0,03	0,02	0,04	0,06
VS046	0,029	0,04	0,05	0,04	0,04	0,03	0,05	0,05
VS001	0,080	0,20	0,16	0,18	0,17	0,20	0,21	0,18
VS026	0,259	0,76	0,43	0,35	0,56	0,48	0,48	0,50
VS052	0,381	0,38	0,35	0,45	0,47	0,56	0,54	0,56
VS043	1,466	1,57	1,65	1,41	2,82	1,42	1,39	1,44
VS004	3,419	>100	>100	39,24	>100	>100	9,90	14,10
US657(2)	0,336	0,30	0,31	0,42	0,46	0,59	0,82	0,65
VS002	0,024	0,02	0,03	0,03	0,03	0,02	0,05	0,05
VS011	0,147	0,19	0,18	0,25	0,25	0,37	0,33	0,34
VS017	0,443	2,14	1,75	2,02	2,13	2,87	3,01	3,03
VS030	1,614	2,49	2,86	2,81	3,28	3,61	4,86	3,54
VS032	0,256	0,27	0,28	0,25	0,20	0,17	0,27	0,25
VS033	0,207	0,15	0,20	0,19	0,09	0,08	0,27	0,11
VS034	0,358	0,54	0,40	0,45	0,23	0,33	0,28	0,45
VS038	0,210	0,22	0,18	0,12	0,28	0,34	0,40	0,18
VS039	0,121	0,10	0,07	0,07	0,05	0,07	0,17	0,15
VS042	3,171	3,37	2,23	1,73	2,01	1,72	4,54	3,42
VS044	0,312	0,73	0,39	0,36	0,06	0,07	0,16	0,12
VS053	0,530	1,83	0,88	1,52	1,61	1,17	1,07	0,87

Затем выбранные варианты А-1 характеризовали по влиянию мутаций на ширину и эффективность нейтрализации, применяя анализ нейтрализации ВИЧ PhenoSense™ (Monogram Biosciences; см. также, Richman и др., Proc Natl Acad Sci USA. (2003) 100(7):4144-9, Whitcomb и др., Antimicrob Agents Chemother. (2007) 51(2):566-75), применяя репортерные вирусы, псевдотипированные оболочками, происходящими из вируса пациента (табл. 31). Панель содержала всего 152 вектора Env (по одному вектору из пациента), при этом 133 были клональными векторами и 19 были изолятами (представляющими собой квазивиды в образцах плазмы). Вкратце, псевдовирuсы инкубировали с 5-кратными серийными разведениями антитела в течение 1 ч при 37°C, а затем использовали для инфицирования клеток U87, экспрессирующих CD4, CCR5 и CXCR4 (CD4+/CCR5+/CXCR4+/U87). Способность антитела нейтрализовать инфекционность ВИЧ оценивали путем измерения люциферазной активности через 72 ч после инкубации клеток с вирусом. Контроли вируса и антитела использовали, чтобы отслеживать производительность от планшета к планшету в рамках одного запуска и чтобы позволить сравнение запусков с течением времени. Все тестируемые антитела подвергали скринингу против контрольной панели вирусов, состоящей из ВИЧ-1 NL4.3 (тропный к CXCR4), JRCSF (тропный к CCR5) и MLV (контроль без специфичности к ВИЧ). Образец ВИЧ+ плазмы широкого спектра нейтрализующего действия служил в качестве контроля для антител. Тогда как некоторые мутации оказывали менее явное влияние на активность, вызывая либо небольшое снижение, либо небольшое повышение активности, другие мутации вызывали заметное

уменьшение ширины нейтрализации (табл. 31 и фиг. 4).

Таблица 31

Характеризовали эффективность и ширину нейтрализации выбранных антител против происходящих из 152 пациентов вирусов подтипа В, полученных из плазмы до АРТ

Название	Ширина ^a	Срединная IC ₉₅ , мкг/мл ^b	Геометрическое среднее IC ₉₅ , мкг/мл ^b
A-1	89 %	2,66	3,06
1.1.90-1	86 %	2,59	3,01
1.1.64-1	92 %	2,25	2,70
1.1.10-1	86 %	1,93	2,53
1.52.1-1	83 %	3,66	4,33
1.52.90-1	78 %	4,42	4,56
1.1.138-1	82 %	2,59	2,96

^aШирина представляет % вирусов, нейтрализованных с IC₉₅ ≤ 50 мкг/мл.

^bСрединное и геометрическое среднее значения IC₉₅ рассчитывали, используя только вирусы с IC₉₅ ≤ 50 мкг/мл.

Результаты анализа нейтрализации, представленные выше, объединяли с результатами скрининга полиспецифичности (пример 9) и скрининга иммуногенности (пример 11), чтобы разработать панель из 12 главных вариантов. Панель из 12 экспрессированных Expi293 антител, исследованных в ELISA BVP, представленных в табл. 22, затем исследовали в анализе нейтрализации ВИЧ против расширенной панели вирусов. Результаты для антител, сохранивших N72-связанный гликан, показаны в табл. 32, тогда как результаты для антител без N72-связанного гликана показаны в табл. 33.

Таблица 32

Эффективность нейтрализации ВИЧ 7 антителами, сохранившими N72-связанный гликан, исследованная с применением расширенной панели вирусов

Вирус	Эффективность нейтрализации вируса (мкг/мл)						
	A-1	1.1.64-1	1.52.64-1	1.1.90-1	2.2.1-1	2.4.1-1	2.3.1-1
1003	1,79	2,97	3,29	1,17	1,61	3,62	1,87
1012	1,41	1,41	1,71	2,92	3,70	3,38	1,55
1413	5,31	4,22	7,79	2,07	4,13	5,04	5,28
1489	0,12	0,16	0,17	0,22	0,26	0,16	0,18
7015	0,53	0,65	0,98	0,63	0,47	0,54	0,63
7051	0,79	2,05	0,82	0,83	0,97	1,18	0,52
7103	0,76	1,56	1,09	1,75	1,72	1,31	0,94
7141	2,32	1,82	30,02	2,66	3,93	4,82	1,62
7467	0,04	0,06	0,07	0,05	0,03	0,05	0,06
7552	12,04	>80	50,05	>80	39,62	37,05	20,69
7576	0,69	0,39	1,46	1,42	0,70	1,40	0,92
7595	4,88	1,71	7,34	10,46	9,72	5,06	8,50
7714	4,20	ND	ND	ND	ND	ND	ND
8106	2,72	3,31	8,15	4,54	2,46	4,25	3,12
8110	3,64	6,74	7,04	3,16	3,62	5,14	3,48
8117	0,86	1,77	2,18	1,47	0,94	2,58	2,08

8134	1,57	0,60	3,66	3,78	1,52	1,05	2,27
8176	0,26	0,66	0,34	0,27	0,30	0,33	0,30
8318	0,27	0,33	0,42	0,39	0,36	0,40	0,31
8320	2,20	2,89	3,82	3,22	3,88	6,69	2,88
302076	0,08	0,08	0,11	0,08	0,07	0,13	0,10
92HT593	0,27	0,37	0,25	0,22	0,17	0,37	0,29
92US657	0,38	0,42	0,48	0,40	0,25	0,34	0,36
92US712	0,06	0,06	0,13	0,05	0,05	0,07	0,06
92US727	2,43	1,12	5,47	8,61	4,84	13,74	2,02
CHO77	0,04	0,04	0,12	0,06	0,02	0,08	0,03
REJO	0,01	0,02	0,02	0,04	0,01	0,02	0,02
THRO	2,80	3,87	3,11	2,04	2,17	4,17	3,96
VS001	0,06	0,06	0,11	0,10	0,08	0,18	0,07
VS004	2,66	2,43	4,74	3,21	2,84	6,08	1,92
VS017	0,70	0,91	2,01	1,08	0,84	3,91	0,88
VS026	0,11	0,17	0,23	0,20	0,13	0,27	0,13
VS030	2,04	2,60	7,98	7,40	2,51	5,20	6,38
VS039	0,12	0,09	0,27	0,14	0,03	0,11	0,06
VS042	2,53	2,33	4,44	1,88	0,89	2,00	1,11
VS043	0,79	0,85	1,30	1,11	1,01	1,16	0,97
VS044	0,18	0,16	0,38	0,26	0,13	0,25	0,16
VS046	0,04	0,04	0,05	0,03	0,03	0,05	0,03
VS049	39,54	32,19	>100	>100	2,89	>100	4,86
VS052	0,28	0,45	0,61	0,64	0,24	0,50	0,33

Таблица 33

Эффективность нейтрализации ВИЧ 5 антителами без гликана в N72
с применением расширенной панели вирусов

Вирус	Эффективность нейтрализации вируса (мкг/мл)				
	1.1.104-1	1.1.119-1	3.1.5-1	2.2.5-1	2.3.5-1
1003	1,44	0,91	1,02	0,78	1,06

1012	2,87	1,06	1,19	0,98	1,63
1413	4,34	4,52	4,30	3,62	3,79
1489	0,28	0,17	0,16	0,11	0,14
7015	0,67	1,08	1,16	0,95	1,89
7051	1,32	1,89	1,27	3,51	4,46
7103	1,82	1,16	0,91	0,78	1,05
7141	6,57	4,98	3,31	1,75	2,41
7467	0,06	0,19	0,12	0,07	0,09
7552	>80	>80	>80	>80	>80
7576	1,10	0,60	0,55	0,58	0,61
7595	8,47	3,07	3,56	2,94	3,07
7714	н/д	1,93	1,50	0,80	1,47
8106	2,80	1,44	1,45	0,94	1,44
8110	4,19	2,37	1,81	1,10	1,82
8117	1,22	1,66	1,02	0,75	1,06
8134	6,07	3,44	2,78	1,74	1,52
8176	0,16	0,27	0,30	0,20	0,33
8318	0,32	0,42	0,36	0,33	0,41
8320	4,34	1,47	1,33	1,21	1,48
302076	0,10	0,08	0,06	0,06	0,06
92HT593	0,28	0,15	0,16	0,11	0,17
92US657	0,36	0,30	0,27	0,15	0,24
92US712	0,04	0,03	0,06	0,04	0,05
92US727	10,55	43,70	11,98	16,74	9,32
CHO77	0,03	0,02	0,04	0,02	0,04
REJO	0,02	0,03	0,02	0,01	0,02
THRO	4,27	2,80	2,70	1,22	2,34
VS001	0,34	0,37	0,10	0,10	0,13
VS004	4,80	6,02	1,55	3,22	2,77
VS017	2,33	2,75	1,03	0,77	0,70
VS026	0,19	0,14	0,10	0,06	0,10
VS030	7,90	4,96	6,86	4,22	6,23
VS039	0,10	0,13	0,12	0,06	0,15
VS042	2,33	2,19	1,94	1,21	1,56
VS043	1,49	0,81	0,54	0,41	0,79
VS044	0,28	0,20	0,16	0,12	0,17
VS046	0,03	0,03	0,03	0,03	0,04
VS049	>100	>100	20,37	10,85	36,15
VS052	0,27	0,39	0,31	0,20	0,31

Результаты в табл. 32 и 33 показали, что у всех исследованных 12 вариантов антител сходные значения эффективности нейтрализации вируса на расширенной панели вирусов. Подгруппу вариантов также характеризовали в отношении ширины и эффективности нейтрализации с помощью анализа нейтрализации PhenoSense, применяя панель из 141 репортерного вируса, псевдотипированного оболочками из

подтипа В вируса, происходящего из пациента (табл. 34 и фиг. 5). Каждый вектор оболочки содержал изолят, отобранный из одного пациента. У указанных вариантов выявляли сравнимую эффективность и ширину нейтрализации.

Таблица 34
Охарактеризованная активность нейтрализации вариантов МАТ против ВИЧ-1, псевдотипированных Env из изолятов подтипа В из плазмы

	A	A-1	1.52.64-1
Ширина ^a	87 %	87 %	86 %
Срединная IC₉₅, мкг/мл ^b	1,72	1,93	2,00
Геометрическое среднее IC₉₅, мкг/мл ^b	2,26	2,23	2,94

^aШирина представляет % вирусов, нейтрализованных с IC₉₅ ≤ 50 мкг/мл.

^bСрединное и геометрическое среднее значения IC₉₅ рассчитывали, используя только вирусы с IC₉₅ ≤ 50 мкг/мл.

Пример 11. Полномолекулярная пролиферация Т-клеток и высвобождение IL2 in vitro.

Ответы антител хозяина против лекарственного средства (ADA) могут отрицательно влиять на эффективность и фармакокинетику терапевтических антител, и образующиеся в результате этого иммунные комплексы могут вызывать опасения по поводу безопасности (Pratt KP. 2018. *Antibodies*. 7:19, Krishna M и Nadler SG. 2016. *Front. Immunol.* 7:21). В результате, были разработаны анализы пролиферации Т-клеток и высвобождения IL2 in vitro, такие как EpiScreen™ (Abzena Ltd.), чтобы оценить общий иммуногенный риск биотерапевтических средств. С помощью EpiScreen™ измеряют вызванное биотерапевтическими средствами высвобождение IL2 посредством анализа методом иммуноферментных пятен (ELISpot) и пролиферацию Т-клеток посредством включения ³H-тимидина в культуры обедненных CD8+ Т-клетками первичных МКПК, полученных из 50 доноров, выбранных как представители аллотипов HLA, экспрессированных среди мирового населения. Высокоиммуногенный белок, такой как гемоцианин лимфы улитки (KLH), будет вызывать как высвобождение IL2, так и пролиферацию Т-клеток у >80% доноров, одобренные биотерапевтические средства, такие как алемтузумаб и инфликсимаб, с высокими уровнями клинической иммуногенности будут вызывать ответ у 25% - 40% доноров, тогда как биотерапевтические средства с низким иммуногенным риском обычно вызывают частоту ответа доноров ≤10%. Было показано, что частота ответа доноров в EpiScreen™ коррелирует с уровнями клинического ADA (Baker и Jones 2007. *Curr. Opin. Drug Discov. Devel.* 10: 219-227).

В табл. 35 представлены результаты анализа EpiScreen™ для панели bNAbs против gp120, которые были временно экспрессированы в клетках Expi293 и очищены с применением белка А и эксклюзионной хроматографии. Также показаны антитела А33 и KLH в качестве положительных контролей. В противоположность иммуногенным белкам положительного контроля, для множества исследованных антител против gp120, включая А-1, выявили необычно высокие уровни пролиферации Т-клеток, но относительно низкие уровни высвобождения IL2. Данный результат указывает на то, что в отсутствие мишени А-1 и другие bNAbs против gp120 могут напрямую стимулировать включение ³H-тимидина в первичные МКПК человека in vitro посредством неизвестного механизма. Данные неизвестные механизмы, которые далее называют "побочной активностью", могут представлять собой недостаток с точки зрения безопасности, если они перейдут in vivo.

Таблица 35

Результаты EpiScreen™ для 10 экспрессированных Expi293™ AT против gp120, исследованных на МКПК из 50 доноров

Название AT	№ партии	Экспрессирующая линия клеток	Включение ³ H-тимидина (%)	Высвобождение П2 (%)	³ H + П2 (%)
E	3	Expi293™	16	6	4
A-1	3	Expi293™	32	6	6
F	4	Expi293™	60	10	10
G	4	Expi293™	60	8	8
H	4	Expi293™	50	14	12
I	3	Expi293™	56	16	10
J	4	Expi293™	6	14	4
K	4	Expi293™	16	6	2
E-7	2	Expi293™	14	10	2
E-6	2	Expi293™	10	8	2
A33	н/п	н/п	20	22	14
KLH	н/п	н/п	90	82	80

Частота ответа (%) указывает на процент от 50 доноров, у которых выявили ответы в указанных анализах.

Тяжелая и легкая цепи антител E, F, G, H, I, J, K, L, L-1, E-6 и E-7 представлены в табл. 36.

Таблица 36

Сопоставимые/контрольные антитела

Название AT	Последовательность аминокислот тяжелой цепи (HC)	Последовательность аминокислот легкой цепи
E	EVQLVESGGGLVKGAGGSLILSCGVSNFRISAHTMNVRRVPPGGLEWVASISTSSYRDIADAVKGRFTVSRDDLEDFVYLQMHKMRVEDTAIYYCARKGSDRLSDNDPFDAWPGPTVTVVSPASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEVPEKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 632)	DVVMTQSPSTLSASVGDITITCRASQSIETWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASTLKTGVPSRFSGSGSGTEFTLTISGLQFDDFATYHCQHYAGYSATFGQGTTRVFIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 643)
F	EVQLVQSGTQMKEPGASVTISCVTSGYEFVEILINWVRQVPRGRLEWGMWMPNPRGGVNYARQFQGGKVTMTRDVRDTAYLTLISGLTSGDTAKYFCVVRGRSCCGRRRCNGADCFNWDFAHWGQGTTLVIVSPASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEVPEKSCDKTHTCPPCPAPELLAGPDVFLFPPKPKDTLMIISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPLPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 633)	YIGVTQSPAILSVSLGERVTLSCKTSQAITPRHLVWHRQKGGQAPSLVMTGTSERASGIPDRFIGSGSGTDFTLTITRLEAEDFAVYYCQCLEAFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 644)
G	EVQLVQSGTQMKEPGASVTISCVTSGYEFVEILINWVRQVPRGRLEWGMWMPNPRGGVNYARQFQGGKVTMTRDVRDTAYLTLISGLTSGDTAKYFCVVRGRSCCAGRRFCGPTDCYNWDFAHWGQGTTLVIVSPASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEVPEKSCDKTHTCPPCPAPELLAGPDVFLFPPKPKDTLMIISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPLPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 634)	EIVLTQSPGTLISLSPGETAIIISCRTSQYGSLSAWYQQRPGQAPRLVIYSGSTRAAGIPDRFSGSRWGPDYNLTIISNLESGDFGVYCCQYEFFFGQGTQVQDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 645)
H	QVRLSQSGGQMKKPGDSMRISCRASGYEFINCPINWIRLAPGKRPEWGMWMPNPRGGAVSYARQLQGRVTMTRDMYSETAFLELRSLTSDTAVYFCTRGKYCTARDYINWDFEHWGQGTFTVTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS	EIVLTQSPGTLISLSPGETAIIISCRTSQYGSLSAWYQQRPGQAPRLVIYSGSTRAAGIPDRFSGSRWGPDYNLTIISNLESGDFGVYCCQYEFFFG

	GALTSVGHVTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEV PKSCDKTHTCPPCPAPELLAGPDVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PLPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSL LSLSPGK (SEQ ID NO: 635)	QGTVQVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSYLSLSTLTLKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 646)
I	RVQLVESGGGVVQPGKSVRLSCVVDVDFPFSSKYPMYVWRQAPGKGLEWVAASGD AVHVYNSVQGRFLVSRDNDVNTLYLEMNSLKIEDTAVYRCARMFQESGPPRLDRWS GRNYYYYSGMDVWVGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSVGHVTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSSSLGTQTYICNVNHK SNTKVDKKEVPEKSCDKTHTCPPCPAPELLAGPDVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPLPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHE ALHSHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 636)	DIVMTQTPLSLSVTPGGPASISCKSSSELRQ SNGKTSLYWYRQKPGQSPQLLVFEVSNRFSG VSDRFVSGSGSDFTFLRISRVEAEDVGFYFC MQSKDFPLTFGGGTQVLDKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSYLSLSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC (SEQ ID NO: 647)
J	QEQLVESGGGVVQPGGSLRLSCLASGFTFHKYGMHWVRQAPGKGLEWVALISDDGM RKYHSDSMWGRVTVI SRDNSKNTLYLQFSSSLKVEDTAMFFCAREAGGPIWHDDVYKY DFNDGYNYHYMDVWVGKGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSVGHVTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKEVPEKSCDKTHTCPPCPAPELLAGPDVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPLPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVL HEALHSHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 637)	QSALTQPASVSGSPGQITITISCNGTSSDVG FDSVSWYQQSPGKAPKVMVFDVSHRPSGISN RFSGSKSNTASLTISGLHIEDEGDYFCSSL TDRSHRIFGGGTQVTVLQPKAAPSVTLFPP SSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKAD SSPVKAGVETTTPSKQSNKYAASSYLSLTP EQWKSRRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO: 648)
K	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGNSFNSHDVHWVRQATGQGLEWGMWMSHEGD KTGLAQKFGQGRVTVITRDSGASTVYMELRGLTADDTAIYCLTGSKHLRDIYFLYNE YGPNYEWDGDLATLDVWGHGTAFTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSVGHVTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKEVPEKSCDKTHTCPPCPAPELLAGPDVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW EVTQVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW	EVVITQSPFLFVPTPGEAASLSCKSCSHSLQH STGANYLAWYLQRPGQTPRLLIHLATHRASG VPDRFSGSGSDFTFLKISRVEADVDGTYFC MQLHSPVTFGGGTQVLEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSYLSLSTLTL
	LNGKEYKCKVSNKALPLPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 638)	SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC (SEQ ID NO: 649)
L	QVQLVQSGGQMKKPGESMRISCRASGYEFIDICTLNWIRLAPGKRPEWGMWLPKRG AVNYARPLQGRVTVITRDRVYSDTAFLERLRLTVDVAVYFCTRGKNCYDNDVFEHWG RGTPTVIVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSVGHVTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEVPEK SCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSL SPGK (SEQ ID NO: 639)	EIVLTQSPGTLISLSPGETAII SCRTSQYGS LAWYQQRPGQAPRLVIYSGSTRAAGIPDRFSG SRWGPDPYNTLISNLESGDFGVYCYQYEFFG QGTVQVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSYLSLSTLTLKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 650)
L-1	QVQLVQSGGQMKKPGESMRISCRASGYEFIDICTLNWIRLAPGKRPEWGMWLPKRG AVNYARPLQGRVTVITRDRVYSDTAFLERLRLTVDVAVYFCTRGKNCYDNDVFEHWG RGTPTVIVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSVGHVTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEVPEK SCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSL SPGK (SEQ ID NO: 640)	EIVLTQSPGTLISLSPGETAII SCRTSQYGS LAWYQQRPGQAPRLVIYSGSTRAAGIPDRFSG SRWGPDPYNTLISNLESGDFGVYCYQYEFFG QGTVQVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSYLSLSTLTLKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 651)
E-6	EVQLVESGGGLVKGAGSLILSCGVSNFRISAHTMNVWRVPPGGGLEWVASISTSS YRDYADAVKGRFTVSRDLEDFVYLQMHKMRVEDTAIYFCARVGSRLSDNDPFD WGPPTVTVSPASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSVGHVTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEVPE KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTLRVVSILTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPLVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSL LSLSPGK (SEQ ID NO: 641)	DVVMTPSPSTLSASVGDITITICRASQSIE TFLAWYQQRPGKAPKLLIYKASTLTKTGPVSRF SGSGSGTEFTLITISGLQFDDFATYHCQHYAG YSATFGQGRVETIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDSYLSLSTLTLKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 652)
E-7	EVQLVESGGGLVKGAGSLILSCGVSNFRISAHTMNVWRVPPGGGLEWVASISTSS YRDYADAVKGRFTVSRDLEDFVYLQMHKMRVEDTAIYFCARVGSRLSDNDPFD WGPPTVTVSPASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSVGHVTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEVPE KSCDKTHTCPPCPAPELVGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTLRVVSILTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPLVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSL LSLSPGK (SEQ ID NO: 642)	DVVMTPSPSTLSASVGDITITICRASQSIE TFLAWYQQRPGKAPKLLIYKASTLTKTGPVSRF SGSGSGTEFTLITISGLQFDDFATYHCQHYAG YSATFGQGRVETIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDSYLSLSTLTLKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 653)

Для того чтобы лучше понять неожиданную побочную активность A-1, мы провели второй анализ EpiScreen на A-1 и вариантах, описанных в данном изобретении, без указанного мотива N72-связанного гликозилирования в легкой цепи A-1. Для того чтобы определить, могут ли изменения зависимого от хозяина экспрессии состава N72-связанных гликанов (пример 14, ниже) повлиять на побочную активность A-1, белки для второго анализа Epi Screen экспрессировали в линии клеток ExpiCHO™ вместо линии клеток Expi293™. Результаты данного анализа EpiScreen™ представлены в табл. 37. Для антитела A-

1, экспрессированного в линии клеток ЕхрiСНО, выявили более низкие уровни пролиферации Т-клеток (16%), чем для А-1, экспрессированного в клетках Ехрi293 (32%), позволяя предположить, что экспрессирующая линия клеток и связанные с ней изменения состава N72-связанных гликанов могут оказывать влияние на предполагаемую побочную активность, наблюдаемую в ЕрiScreen™. Неожиданно, для всех вариантов антитела А-1 без сайта N72-связанного гликозилирования в легкой цепи антитела выявили гораздо более высокие уровни пролиферации Т-клеток. Полученные результаты позволяют предположить, что состав N72-связанных гликанов Fab может играть роль в модуляции побочной активности пролиферации Т-клеток, но что удаление N72-связанного гликана Fab усиливает побочную активность.

Таблица 37

Результаты ЕрiScreen™ для 7 экспрессированных в ЕхрiСНО™ АТ против gr120, исследованных на МКПК из 50 доноров

Название	№ партии	Экспрессирующая линия клеток	Включение ³ H-тимидина (%)	Высвобождение IL2 (%)	³ H + IL2 (%)
А-1	6	ЕхрiСНО™	16	6	4
1.1.10-1	2	ЕхрiСНО™	32	6	6
1.1.42-1	2	ЕхрiСНО™	60	10	10
1.33.32-1	3	ЕхрiСНО™	60	8	8
1.1.54-1	2	ЕхрiСНО™	50	14	12
1.37.51-1	2	ЕхрiСНО™	56	16	10
1.8.52-1	2	ЕхрiСНО™	6	14	4
А33	н/п	н/п	16	6	2
КЛН	н/п	н/п	14	10	2

Частота ответа (%) указывает на процент от 50 доноров, у которых выявили ответы в указанных анализах.

Поскольку в анализе ЕрiScreen™ измеряют включение ³H-тимидина в культуры первичных МКПК, возможно, что в отсутствие высвобождения IL2 побочные активности, наблюдаемые для А-1 и его вариантов, могут включать пролиферацию любого типа клеток, присутствующих в МКПК (например, пролиферацию В-клеток вместо пролиферации Т-клеток). Для того чтобы определить, стимулировали ли полученные из ЕхрiСНО™ А-1 и его варианты без N72-гликана пролиферацию Т-клеток, мы затем проводили анализ Ерi Screen™, применяя либо обедненные CD8+ Т-клетками МКПК, либо обедненные CD8+ и CD4+ Т-клетками МКПК, взятые из тех же 10 доноров. Для отрицательного контроля мы выбрали полученное из Ехрi293 антитело L, для которого ранее выявили низкую частоту ответа доноров в Ерi Screen™ (см., например, WO 2017/106346). Результаты данного анализа показаны в таблице 38. Полученные результаты явно показывают, что уровни включения ³H-тимидина снижаются в отсутствие CD4+ Т-клеток. Данные результаты показывают, что побочная активность, наблюдаемая для А-1 и его вариантов, зависит от присутствия Т-клеток. Так как ВИЧ инфицирует и создает латентный резервуар в Т-клетках, побочная вызванная антителом против gr120 пролиферация Т-клеток потенциально может расширять резервуар ВИЧ-1, и, следовательно, будет нежелательна в рамках стратегии лечения ВИЧ, предназначенной для уменьшения резервуара ВИЧ-1.

Таблица 38

Результаты Ерi Screen™ для 3 АТ против gr120, исследованных на МКПК из 10 доноров в присутствии (+CD4) или отсутствии (-CD4) CD4+ Т-клеток

Название	№ партии	Экспрессирующая линия клеток	Включение ³ H-тимидина, +CD4 (%)	Включение ³ H-тимидина, -CD4 (%)
А-1	6	ЕхрiСНО™	40	0
1.1.54-1	2	ЕхрiСНО™	40	10
L	3	Ехрi293™	0	0

Частота ответа (%) указывает на процент от 10 доноров, у которых выявили ответы в указанных анализах.

Далее в примере 15 описано, что молекулярный состав N72-связанных гликанов легкой цепи A-1 и наблюдаемая в зависимости от этого фармакокинетика могут кардинально изменяться в зависимости от хозяина экспрессии и итогового содержания сиалилирования N72-связанного гликана легкой цепи Fab. На основании результатов анализов EpiScreen, представленных в табл. 35-38, мы выдвинули предположение, что молекулярный состав N72-связанных гликанов легкой цепи A-1 может вносить вклад в наблюдаемую побочную активность пролиферации Т-клеток, описанную в данном изобретении. Для проверки данной идеи мы затем провели анализ EpiScreen на 10 донорах, позволяющий измерить пролиферацию Т-клеток, применяя происходящие либо из ExpiCHO, либо из CHO-S A-1 или его варианты. В примерах 14 и 15 описано, что у происходящего из CHO-S A-1 было значительно большее содержание сиалилирования N72-гликана, чем у происходящего из Expi293™ или ExpiCHO™ материала. Результаты данного EpiScreen показаны в табл. 39. Для антител A-1 и 1.1.90-1, экспрессированных в линии клеток CHO-S, не выявили побочной пролиферации Т-клеток. Хотя количество доноров в данном скрининговом анализе было малым, полученные результаты привели к предположению, что экспрессирующая A-1 линия клеток и связанный с ней состав N72-связанных гликанов легкой цепи может не только модулировать фармакокинетику, но также модулировать наблюдаемую в анализе EpiScreen™ побочную активность.

Таблица 39

Результаты EpiScreen™ пролиферации Т-клеток для 6 экспрессированных в ExpiCHO™ или CHO-S AT против gp120, исследованных на МКПК из 10 доноров

Название	№ партии	Экспрессирующая линия клеток	Включение 3H-тимидина (%)
1.1.54-1	6	ExpiCHO™	40
L-1	2	CHO-S	20
1.1.111-1	2	CHO-S	30
1.1.90-1	3	CHO-S	0
B-1	2	CHO-S	20
A-1	18	CHO-S	0
Эксенатид	н/п	н/п	40
KLH	н/п	н/п	60

Частота ответа (%) указывает на процент от 50 доноров, у которых выявили ответы в указанных анализах.

На основании предварительных результатов, представленных в табл. 39, мы затем провели анализ EpiScreen™ для 50 доноров на панели из 7 антител против gp120, включая A-1 и его варианты, экспрессированных в линиях клеток ExpiCHO или CHO-S. Результаты данного скринингового анализа представлены в табл. 40 и показывают, что для A-1 продемонстрировали очень низкую пролиферацию Т-клеток и высвобождение IL2, когда его получили, используя линии клеток CHO-S, которые добавляют высокий уровень сиаловой кислоты в сайт N72-связанного гликозилирования легкой цепи (см. примеры 14-15). Полученные результаты дополнительно демонстрируют, что выбранные варианты A-1 дополнительно снижали уровни пролиферации Т-клеток, когда их получали и исследовали таким же образом.

Таблица 40

Результаты Epi Screen™ для 7 АТ против gp120, исследованных на МКПК из 50 доноров

Название	№ партии	Экспрессирующая линия клеток	Включение ³ H - тимидина (%)	Высвобождение ПЛ2 (%)	³ H + ПЛ2 (%)
1.1.64-1	5	CHO-S	36	6	2
A-1	27	CHO-S	10	0	0
1.52.64-1	3	CHO-S	4	4	0
3.1.5-1	3	CHO-S	28	6	4
2.3.5-1	3	CHO-S	28	2	0
1.1.10-1	3	ExpiCHO™	22	10	4
L-1	7	CHO-S	12	4	2
Эксенатид	н/п	н/п	38	20	10
KLH	н/п	н/п	98	94	92

Частота ответа (%) указывает на процент от 50 доноров, у которых выявили ответы в указанных анализах.

Пример 12. Анализы связывания *in vitro*.

Фармакокинетика (ФК) и фармакодинамика (ФД) терапевтических антител опосредована специфическим связыванием с целевыми белками посредством переменных доменов и/или связыванием с Fc-гамма рецепторами (FcγR) на клетках врожденного иммунитета, с неонатальным Fc-рецептором (FcRn) на эндотелиальных клетках и с белком комплемента C1q в кровотоке (Nimmerjahn и Ravetch. 2008. Nat. Rev. Immunol. 8:34-47, Rogers и др. 2014. Immunol. Res. 59:203-210, Kuo TT и Aveson VG. 2011. MABs 3:422-430). Генная инженерия переменного домена или домена Fc антитела может влиять на связывание с данными рецепторами и влиять на ФК и ФД. Следовательно, мы оценили относительную аффинность выбранных антител, описанных в данном изобретении, применяя различные обычные анализы связывания *in vitro*, включая поверхностный плазмонный резонанс (ППР) и твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA).

Константы диссоциации (KD) связывания *in vitro* выбранных антител, описанных в данном изобретении, с Fc-связывающими рецепторами (FcγR, FcRn) человека и яванского макака (супо) определяли, применяя биосенсор Biacore 4000 поверхностного плазмонного резонанса (ППР) и сенсорные чипы либо С1, либо СМ4 (GE Healthcare). Биотинилированный FcRn человека приобретали в Immunitrack. Биотинилированные FcRn яванского макака и FcγRIIB-NA1 и FcγRIIB-NA2 человека приобретали в Acro Biosystems. FcγRIIA-167H, FcγRIIA-167R, FcγRIIA-176F, FcγRIIA-176V, FcγRIIB/C, FcγRI человека и FcγRI, FcγRIIA, FcγRIIB и FcγRIII яванского макака приобретали в R&D systems.

Для анализов связывания FcRn человека, 600 RU стрептавидина иммобилизовали по аминокислотной группе с сенсорным чипом С1, применяя стандартную конъюгацию с помощью NHS/EDC. Буфер для иммобилизации представлял собой ФБР + 0,005% твин 20, pH 7,4. Стрептавидин получали при концентрации 50 мкг/мл в 10 mM NaAc, pH 4,5. Этапы активации, конъюгации и блокирования проводили в течение 10 минут, каждый при 10 мкл/мин. Биотинилированный FcRn человека был захвачен до уровня приблизительно 20 относительных единиц (RU). Исследовали связывание образцов МАТ А-1, А и 1.52.64-1 с поверхностью с FcRn, применяя серию двукратных разведений концентрации до 1 мкМ. Результаты собирали при pH 6,0 и pH 7,4 в трех повторах. Результаты ответа в равновесном состоянии аппроксимировали простой изотермой связывания.

FcγRIIA и FcγRIIA человека иммобилизовали по аминокислотной группе при 4 различных плотностях (приблизительно 100 RU, приблизительно 250 RU, приблизительно 375 RU и приблизительно 725 RU) на сенсорном чипе СМ4. Исследовали связывание трех образцов МАТ в подвижном буфере ФБР pH 7,4 + твин 20 (0,005%) в серии двукратных разведений концентрации до 1 мкМ. Каждую серию концентраций МАТ исследовали дважды на поверхностях с каждой из 4 плотностей рецепторов, получив 8 наборов результатов для каждого взаимодействия. Результаты ответа в равновесном состоянии аппроксимировали простой изотермой связывания.

FcRIIB/C человека иммобилизовали по аминокислотной группе с сенсорным чипом СМ4 при трех различных уровнях (50, 400 и 800 RU). Исследовали три МАТ, используя 2 мкМ в качестве наибольшей концентрации в серии двукратных разведений. Серию концентраций исследовали в трех повторах для каждого антитела на поверхностях с низкой, средней и высокой плотностью рецепторов. Результаты ответа в равновесном состоянии аппроксимировали простой изотермой связывания.

Для того чтобы определить аффинности связывания с FcγRIIB человека, каждое тестируемое антитело иммобилизовали по аминокетте с сенсорным чипом CM4 при двух плотностях (приблизительно 100 RU и приблизительно 800 RU). Исследовали связывание образцов FcγRIIB человека, используя серию двукратных разведений концентрации до 0,5 мкМ. Результаты ответа в равновесном состоянии аппроксимировали простой изотермой связывания.

Для того чтобы определить аффинности связывания с FcγRI человека, каждое тестируемое антитело иммобилизовали по аминокетте с сенсорным чипом CM4 при двух плотностях (приблизительно 100 RU и приблизительно 800 RU). Исследовали связывание FcγRI человека, используя серию двукратных титрований (3 нМ и 30 нМ). Ответы аппроксимировали простой кинетической моделью.

Для того чтобы определить аффинности связывания с FcRn яванского макака, 600 RU стрептавида иммобилизовали по аминокетте с сенсорным чипом C1, применяя стандартную конъюгацию с помощью NHS/EDC. Буфер для иммобилизации представлял собой ФБР + 0,005% твин 20, pH 7,4. Стрептавидин получали при концентрации 50 мкг/мл в 10 мМ NaAc pH 4,5. Этапы активации, конъюгации и блокирования проводили в течение 10 мин, каждый при 10 мкл/мин. Биотинилированный FcRn суно был захвачен до уровня приблизительно 20 RU. Исследовали связывание антител с поверхностью с FcRn, применяя серию двукратных разведений концентрации до 1 мкМ. Результаты собирали при pH 6,0 и pH 7,4 в трех повторях. Результаты ответа в равновесном состоянии аппроксимировали простой изотермой связывания.

Для того чтобы определить аффинности связывания с FcγRIIA, FcγRIIB, FcγRIII и FcγRI яванского макака, каждое тестируемое антитело иммобилизовали по аминокетте с сенсорным чипом CM4 при двух плотностях (приблизительно 100 RU и приблизительно 800 RU). FcγRIIA и FcγRIIB суно исследовали в серии двукратных концентраций до 1 мкМ. FcγRIII исследовали в двукратных концентрациях до 500 нМ. Исследовали связывание FcγRI суно, используя двухэтапное титрование (3 нМ и 30 нМ). Результаты ответа для FcγRIIA, FcγRIIB, FcγRIII в равновесном состоянии аппроксимировали простой изотермой связывания. Ответы для FcγRI аппроксимировали простой кинетической моделью.

Полный набор констант связывания, определенных с помощью поверхностного плазмонного резонанса (ППР), показан в таблице 41. Результаты показывают, что варианты антитела A с генетически сконструированными доменами Fc проявляют повышенную аффинность связывания с белками FcγR и FcRn как человека, так и яванского макака.

Таблица 41

Константы связывания (KD) с Fc-рецептором, определенные с помощью ППР

Тип/аллель Fc-рецептора	A	A-1	1.52.64-1
FcγRI человека	0,107 ± 0,040 нМ	0,002 ± 0,002 нМ	0,0012 ± 0,0005 нМ
FcγRI Суно	0,038 ± 0,016 нМ	0,005 ± 0,004 нМ	0,005 ± 0,003 нМ
FcγRIIA-167H человека	1,8 ± 0,5 мкМ	131 ± 22 нМ	221 ± 21 нМ
FcγRIIA-167R человека	3 ± 1 мкМ	130 ± 9 нМ	199 ± 21 нМ
FcγRIIA Суно	2000 ± 1000 нМ	1100 ± 80 нМ	1180 ± 60 нМ
FcγRIIB человека	11 ± 0,8 мкМ	1,6 ± 0,2 мкМ	1,9 ± 0,2 мкМ
FcγRIIB Суно	895 ± 50 нМ	240 ± 9 нМ	280 ± 32 нМ
FcγRIIA – 176V человека	670 ± 40 нМ	59 ± 4 нМ	67 ± 6 нМ
FcγRIIA – 176F человека	2,3 ± 0,6 мкМ	52 ± 4 нМ	63 ± 5 нМ
FcγRIIB – NA1 человека	2000 ± 1000 нМ	59 ± 9 нМ	64 ± 15 нМ
FcγRIIB – NA2 человека	1500 ± 400 нМ	56 ± 18 нМ	55 ± 14 нМ
FcγRIII Суно	200 ± 70 нМ	7,1 ± 0,7 нМ	8 ± 2 нМ
FcRn человека, pH 7,4	42 ± 1 мкМ	1,7 ± 0,3 мкМ	1,12 ± 0,08 мкМ
FcRn человека, pH 6,0	485 ± 43 нМ	38 ± 3 нМ	49 ± 5 нМ
FcRn суно, pH 7,4	12,8 ± 0,4 мкМ	4,3 ± 0,4 мкМ	5,3 ± 0,2 мкМ
FcRn суно, pH 6,0	1100 ± 100 нМ	16 ± 2 нМ	22 ± 2 нМ

Анализ ELISA связывания в зависимости от дозы проводили, чтобы определить относительную аффинность связывания C1q антител, описанных в данном изобретении. Для проведения данного анализа

384-луночный планшет Maxisorp покрывали 25 мкл раствора антитела при 5 мкг/мл в ФБР pH 7,4 в течение ночи при 4°C. Планшеты затем блокировали 75 мкл 1% БСА в ФБР в течение 2 часов и промывали 4 раза ФБР + 0,05% твин 20 (ФБРТ). Затем 25 мкл трехкратного серийного разведения белка С1q человека в ФБР + 5% БСА добавляли в планшеты. Планшеты инкубировали при взбалтывании при 600 об/мин в течение одного часа, промывали 4 раза ФБРТ, а затем добавляли 25 мкл поликлонального антитела против С1q, конъюгированного с HRP, в ФБР + 5% БСА. Планшеты инкубировали при взбалтывании при 600 об/мин в течение 15 мин, промывали 8 раз ФБРТ, а затем проявляли, применяя субстрат 3,3',5,5'-тетраметилбензидин (ТМВ), и гасили HCl. Поглощение на 450 нм считывали, применяя спектрофотометр для прочтения планшетов Spectramax m5, и значения EC50 определяли, применяя аппроксимацию 4-параметрической кривой зависимости доза-ответ.

Средние значения EC₅₀ в анализе ELISA связывания С1q рассчитывали по трем независимым анализам, и они показаны в табл. 42.

Таблица 42
Значения EC₅₀ связывания С1q, определенные с помощью ELISA (n=3 анализа)

Антитело	EC50 связывания С1q (нМ)
A	2,2 ± 1,2 нМ
A-1	> 100 нМ
1.52.64-1	> 100 нМ

Результаты показали, что варианты антитела А со сконструированными Fc обладают значительно сниженной аффинностью связывания С1q.

Анализ связывания ELISA с ответом на дозу проводили, чтобы определить относительные аффинности связывания gp120 антител, описанных в данном изобретении. Для проведения анализа 384-луночный планшет Maxisorp покрывали 25 мкл 5 мкг/мл gp120 и инкубировали в течение ночи при 4°C. Планшет промывали 4 раза ФБР с 0,05% твин 20 и блокировали 75 мкл ФБР с 5% БСА в течение 1 ч при комнатной температуре при взбалтывании при 600 об/мин. После блокирования лунки аспирировали и 25 мкл 3-кратного серийного разведения первичного антитела добавляли и инкубировали при комнатной температуре в течение 1 ч при взбалтывании при 600 об/мин. Планшет затем промывали 4 раза ФБР с 0,05% твин 20 и добавляли 25 мкл вторичного антитела козы против IgG (H+L) человека, конъюгированного с HRP, разбавленного 1/10000 в ФБР с 1% БСА, и инкубировали при комнатной температуре, встряхивая при 600 об/мин в течение 30 мин. Затем планшет промывали 4 раза ФБР с 0,05% твин 20 и добавляли 25 мкл свежего субстрата ТМВ. Планшет проявляли в течение 90 сек при взбалтывании при 600 об/мин и перед тем, как погасить 25 мкл 1 М HCl. Поглощение считывали на А450 на спектрофотометре для прочтения планшетов Spectramax m5.

Средние значения EC₅₀ рассчитывали по трем независимым анализам ELISA и представили в табл. 43.

Таблица 43
Значения EC₅₀ связывания gp120, определенные с помощью ELISA

Белок gp120	A	A-1	1.52.64-1
Bal	0,05 ± 0,02 нМ	0,06 ± 0,01 нМ	0,07 ± 0,02 нМ
CAAN	1,84 ± 0,22 нМ	2,17 ± 0,56 нМ	3,79 ± 1,26 нМ
REJO	2,21 ± 0,44 нМ	2,37 ± 0,68 нМ	4,02 ± 0,45 нМ

Результаты позволяют предположить, что все исследованные антитела связывают белок gp120 ВИЧ со сходными аффинностями.

Пример 13. Влияние мутаций Fc на время полужизни в сыворотке.

В данном примере оценивали влияние мутаций в Fc IgG1, которые повышают уничтожение эффекторными клетками и/или которые повышают связывание с FcRn, на время полужизни в сыворотке. Полученные результаты согласуются с выводом, что мутации в Fc IgG1, которые усиливают активность уничтожения эффекторными клетками (например, аспарагиновая кислота в положении 239, глутаминовая кислота в положении 332, аланин в положении 236, лейцин в положении 330 согласно нумерации EU (DEAL)), могут укорачивать время полужизни в сыворотке *in vivo*. Такое укорочение времени полужизни в сыворотке можно частично или полностью восстановить путем введения мутаций также в Fc IgG1, которые повышают связывание с FcRn (например, лейцин в положении 428 и серин в положении 434 согласно нумерации EU (LS)).

PGT121-WT, PGT121-DEAL, PGT121.60, PGT121-LS (описано, например, в WO 2017/106346) и A-1 согласно настоящему изобретению вводили яванским макакам (Covance, Техас) при концентрации 10 мг/кг или 0,5 мг/кг (A-1) путем однократной внутривенной (в/в) инъекции, чтобы охарактеризовать их основные фармакокинетические (ФК) профили. Образцы сыворотки, собранной из обезьян, анализировали, применяя биоаналитический способ достаточной селективности и чувствительности, чтобы определить профили зависимости концентрации в сыворотке от времени и вычислить средние ФК параметры сыворотки с помощью некомпартментного анализа ФК (NCA). В указанном биоаналитическом способе использовали антиген gp120 клды В (Immune-tech, Калифорния) в качестве захватывающего реагента и конъюгированное с биотином антитело козы против IgG человека (Southern Biotech, Алабама) в качестве вторичного реагента, а меченый SULFO-TAG стрептавидин (MesoScale Discovery, Мэриленд) для детектирования электрохимическим детектором.

Измеренные профили зависимости концентрации в сыворотке от времени для PGT121-WT, PGT121-DEAL, PGT121.60, PGT121-LS и A-1, изображенные на фиг. 6, использовали для вычисления средних (\pm CO) ФК параметров, изображенных в табл. 44.

Таблица 44

Фармакокинетические параметры PGT121-WT, PGT121-DEAL, PGT121.60, PGT121-LS и A-1 после в/в введения непримированным яванским макакам (n=3)

Исследуемый образец	Доза (мг/кг в/в)	AUC _{0-∞} (сутки*мкг/мл)	Cl (мл/сутки/кг)	V _d (мл/кг)	t _{1/2} (сутки)
PGT121-WT	10	1510 ± 470	7,0 ± 1,9	105 ± 17,6	10,6 ± 1,3
PGT121-DEAL	10	1020 ± 167	9,9 ± 1,5	109 ± 20	7,7 ± 1,3
PGT121.60	10	1490 ± 377	7,0 ± 1,9	96 ± 19	9,7 ± 0,8
PGT121-LS	10	3540 ± 463	2,9 ± 0,4	82 ± 11	19,9 ± 2,1
A-1	0,5	70 ± 7,0	7,2 ± 0,7	91 ± 14	8,7 ± 0,8

ФК анализ показал, что введение мутаций в Fc (DEAL) в PGT121-WT оказывало отрицательное влияние на ФК, повышая клиренс (Cl) до 9,9 ± 1,5 мл/сутки/кг для PGT121-DEAL по сравнению с 7,0 ± 1,9 мл/сутки/кг для PGT121-WT и уменьшало время полужизни (t_{1/2}) до 7,7 ± 1,3 суток по сравнению с 10,6 ± 1,3 сутками для PGT121-WT. Введение мутаций связывания FcRn (LS) в антитела с Fc, который содержал мутации DEAL (PGT 121.60 и A-1), приводило к значениям Cl, составляющим 7,0 ± 1,9 и 7,2 ± 0,7 мл/сутки/кг, и значениям t_{1/2}, составляющим 9,7 ± 0,8 и 8,7 ± 0,8 суток, соответственно, которые сопоставимы с ФК PGT121-WT. При этом введение LS отдельно в PGT121-WT уменьшало Cl до 2,9 ± 0,4 мл/сутки/кг и увеличивало t_{1/2} до 19,9 ± 2,1 суток для PGT121-LS. Анализ ФК подтверждает, что введение усиливающих связывание Fc мутаций DEAL ухудшает ФК антитела (вероятно вследствие усиления связывания FcγR), которую можно восстановить путем включения мутаций LS связывания FcRn.

Пример 14. Оценка профиля гликанов Fab легкой цепи.

Две методики использовали для изолирования и анализа профилей гликанов Fab легкой цепи в отсутствие потенциально мешающих гликанов Fc тяжелой цепи. Главной целью данных экспериментов было понять относительный процент гликанов легкой цепи с одной или более группами сиаловой кислоты на конце (далее называемый процентом сиалилирования). Первый подход ("способ 1") представлял собой обращенно-фазовую масс-спектрометрию восстановленной интактной легкой цепи. В данной методике наблюдаемые сдвиги масс в масс-спектре после деконволюции соотносили со структурой гликана, известной по путям биосинтеза N-гликанов, чтобы она соответствовала сдвигу массы. Относительный количественный анализ сиалилированных форм осуществляли путем суммирования высот пиков после деконволюции для сиалилированных видов и деления полученного значения на общее количество высот всех сиалилированных и несиалилированных пиков. Второй способ ("способ 2") количественного определения сиалилирования на гликанах Fab легкой цепи основывался на селективном ферментативном высвобождении гликанов Fc (в полностью водных условиях) перед выделением остального белка и высвобождением остальных гликанов Fab легкой цепи. Отдельные аликваты, соответствующие гликанам Fc и Fab, затем флуоресцентно метили (Waters RapiFluor) и анализировали, идентифицировали и проводили количественный анализ с помощью жидкостной хроматографии гидрофильных взаимодействий (HILIC). Значения процента сиалилирования Fab для множества антител, описанных в данном изобретении и проанализированных с помощью одной из данных методик, представлены ниже в табл. 45A и 45B.

Оценка гликанов Fab легкой цепи антитела А-1

Партия	14	10	7
Система экспрессии	CHO-S	Tupa293™	ExpiCHO™
Идентификация гликана¹	% площади пика	% площади пика	% площади пика
Неизвестные пики²	6,47	3,50	4,16
G0-GlcNAc	0,00	4,20	4,49
G0	0,91	55,97	52,43
G0F	0,00	1,25	1,52
G1F-GlcNAc	0,00	11,77	0,00
Man5	0,88	4,02	0,00
G1(a)	0,44	6,50	9,54
G1(b)	0,46	0,43	6,92
G1-GlcNAc	0,00	0,00	11,17
G1F(a)	0,27	0,00	0,00
G1F(b)	0,00	0,00	0,31
G1S	<u>0,00</u>	<u>1,88</u>	<u>0,87</u>
G2	0,00	7,42	8,59
G2F	6,14	0,00	0,00
G2S(a)	<u>0,28</u>	<u>1,79</u>	<u>0,00</u>
G2S(b)	<u>38,65</u>	<u>1,30</u>	<u>0,00</u>
G2FS	<u>0,67</u>	<u>0,00</u>	<u>0,00</u>
G2S2	<u>39,13</u>	<u>0,00</u>	<u>0,00</u>
G2FS2	<u>0,69</u>	<u>0,00</u>	<u>0,00</u>
G2S + 2 GlcNAc	<u>2,60</u>	<u>0,00</u>	<u>0,00</u>
G2S2+2GlcNAc(a)	<u>0,82</u>	<u>0,00</u>	<u>0,00</u>
G2S2+2GlcNAc(b)	<u>1,60</u>	<u>0,00</u>	<u>0,00</u>
Сумма сиалилированных гликанов³	84,44	4,97	0,87

¹Идентификация и проценты пиков, полученные после селективного высвобождения гликанов fab (VL), мечения и способа жидкостной хроматографии гидрофильных взаимодействий (HILIC). Вся идентификация основана на наблюдаемых моноизотопных массах и известных биосинтетических путях, тем не менее, изомерные варианты возможны для некоторых элементов.

²Все неизвестные, системные пики и пики реагентов.

³Сумма сиалилированных гликанов; сумма идентифицированных N-гликанов с одним или более остатками сиаловой кислоты (N-ацетилнейраминовой кислоты) на конце (подчеркнуты).

Таблица 45В

Сравнение оценки гликанов Fab легкой цепи для антител А-1 и 1.52.64-1

Название	№ партии	Линия клеток	Процент сиалилирования	Способ
А-1	5	Ехрi293™	67/52	1/2
	7	ЕхрiСНО™	1/1	1/2
	10	Tuna293™	5	2
	14	СНО-S	84	2
	22	Происходящая из СНО	73	1
1.52.64-1	18-PP21	Происходящая из СНО	49	1
	14525-02	Происходящая из СНО	83	1

¹ЖХ/МС восстановленной легкой цепи.

²Селективное высвобождение, мечение и хроматография HILIC гликана Fab.

Пример 15. Влияние мутаций Fv и профилей гликозилирования Fv на фармакокинетику антитела.

Антитело А и несколько сконструированных антител, описанных в данном изобретении, вводили яванским макакам, чтобы охарактеризовать фармакокинетические (ФК) профили антител. В некоторых случаях варианты антитела А-1 временно или стабильно продуцировали в различных линиях экспрессирующих клеток, чтобы оценить влияние сиалилирования N72-связанных гликанов Fab на ФК. Процент сиалилирования гликанов Fab определяли, применяя ЖХ/МС, как описано в Примере 14. Образцы сыворотки, собранные из обезьян, анализировали, применяя биоаналитический способ достаточной селективности и чувствительности для определения профилей зависимости концентрации в сыворотке от времени и средних ФК параметров в сыворотке с помощью некомпартментного анализа ФК (NCA). В указанном биоаналитическом способе использовали антиген gp120 клады В (Immune-tech, Калифорния) в качестве захватывающего реагента и конъюгированное с биотином антитело козы против IgG человека (Southern Biotech, Алабама) в качестве вторичного реагента, а меченый SULFO-TAG стрептавидин (MesoScale Discovery, Мэриленд) для детектирования электрохимическим детектором.

Распределение *in vivo* антитела А и нескольких сконструированных вариантов, временно экспрессированных в различных линиях клеток, характеризовали после однократного внутривенного (в/в) введения трем (n=3) непримированным самцам яванских макак на группу (Covance, Техас). Измеренные средние \pm стандартное отклонение (СО) профили зависимости концентрации в сыворотке от времени изображены на фигуре 7.

Фармакокинетический анализ антитела А, временно экспрессированного в Ехрi293™ (ThermoFisher Scientific, Массачусетс), которое вводили в/в в дозе при концентрации 0,5 мг/кг, выявил значения клиренса (Cl), составляющие $17,9 \pm 1,0$, и соответствующее время полужизни (t1/2), составляющее $8,9 \pm 1,7$ суток, что было сопоставимо со значениями для антитела А-1, партия 3, экспрессированного в Ехрi293™ при сходных условиях, составляющими Cl $18,7 \pm 2,3$ мл/сутки/кг и t1/2 $7,6 \pm 0,3$ суток (табл. 46).

У антител с гликанами варибельного домена Fab с низким содержанием сиаловой кислоты или высоким содержанием маннозы может быть изменена ФК (Liu L. 2015. J. Pharm. Sci. 104:1866-1884). Состав гликанов может измениться в зависимости от условий экспрессии белка, по этой причине, распределение *in vivo* А-1 оценивали, используя дополнительные временно экспрессированные партии, охарактеризованные по % содержанию сиалилирования гликанов Fab, а именно, СНО-S (партию 14), происходящую из СНО (партию 22) (Sigma-Aldrich, MO) и Tuna293™ (партию 10) (LakePharma, Калифорния) и ЕхрiСНО™ (партию 7) (ThermoFisher Scientific, Массачусетс). Антитела характеризовали после однократной в/в дозы 0,5 мг/кг (партия 14, 22 и 10) или 5,0 мг/кг (партия 7) непримированным самцам яванских макак (Covance, Техас). Измеренные средние (\pm СО) профили зависимости концентрации в сыворотке от времени для каждой партии антитела А-1 изображены на фиг. 7. Партию 7 нормировали на дозу для сравнения напрямую. Фармакокинетический анализ исследованных партий антитела А-1 показал изменчивую ФК на основании % содержания сиалилирования Fab (табл. 46). Для антитела А-1, партия 14, с 84% сиалилированием гликанов Fab наблюдали наименьшее значение клиренса (Cl), составляющее $7,2 \pm 0,7$ мл/сутки/кг, причем Cl был прогрессирующе быстрее у антитела А-1, партия 22 (73%), с Cl, составляющим $10,7 \pm 1,7$, антитела А-1, партия 3, с Cl, составляющим $18,7 \pm 2,3$ мл/сутки/кг, антитела А-1, партия 10 (5%), с Cl, составляющим $68,7 \pm 19,8$ мл/сутки/кг, и антитела А-1, партия 7 (<1%), с Cl, составляющим $120 \pm 46,7$ мл/сутки/кг. Полученные результаты подтверждают, что условия экспрессии белка могут влиять на состав гликанов Fab и итоговую ФК.

Таблица 46

Фармакокинетика антитела А и нескольких сконструированных вариантов после в/в введения непримированным самцам яванских макак (n=3)

Исследуемый образец	Система экспрессии	Партия	в/в доза (мг/кг)	СI (мл/сутки/кг)	% сиалилирования Fab
A	Expi293 TM	5	0,5	17,9 ± 1,0	н/д
A-1	Expi293 TM	3	0,5	18,7 ± 2,3	н/д
A-1	CHO-S	14	0,5	7,2 ± 0,7	84
A-1	Происходящая из CHO	22	0,5	10,7 ± 1,7	73
A-1	Tuna293 TM	10	0,5	68,7 ± 20	5
A-1	ExpiCHO TM	7	5	120 ± 47	<1
1.1.54-1	ExpiCHO TM	3	5	12 ± 1	н/д
1.37.51-1	ExpiCHO TM	3	5	15 ± 12	н/д

н/д = нет данных.

Для того чтобы оценить влияние модификаций белка, направленных на удаление N72-связанных гликанов варибельного домена и полиспецифичности, оценивали ФК in vivo 1.1.54-1 и 1.37.51-1 (двух антител без удаления N72-связанных гликанов). Оба антитела временно экспрессировали в системе экспрессии в клетках млекопитающего ExpiCHOTM при сходных условиях, что приводило к пониженной ФК относительно A-1 (партия 7, выше). Антитела характеризовали после однократной в/в болюсной дозы 5 мг/кг трем непримированным самцам яванских макак (Covance, Техас). Анализ ФК (табл. 46) продемонстрировал, что 1.1.54-1 и 1.37.51-1 были сопоставимы по СI (12 ± 1 и 15 ± 12 мл/сутки/кг, соответственно), кроме того, значительно улучшенными по сравнению с A-1, партия 7 (СI 120 ± 47 мл/сутки/кг), подтверждая, что модификации белка, которые удаляют N72-связанные гликаны варибельного домена могут улучшить ФК вариантов антитела, описанных в данном изобретении. Удаление гликана не приводило к тому же клиренсу, что и у высокосиалилированных партий, подтверждая, что N72-связанный гликан может присутствовать для уменьшения неспецифических белковых взаимодействий.

ФК 1.52.64-1 (партия 4), полученного путем временной экспрессии в CHO-S, или 1.52.64-1 из стабильного пула происходящих из CHO клеток (партия 18-PP21) или из прошедшей клональную селекцию происходящей из CHO линии клеток (партия 14525-32) исследовали после однократного в/в введения непримированным самцам и самкам яванских макак (n=3). Средние ± СО профили зависимости концентрации в сыворотке от времени для суток 0-14 представлены на фиг. 8. Результаты NCA представлены в табл. 47. 1.52.64-1 (партия 4) содержит приблизительно 75% сиалилирования Fab. 1.52.64-1, партия 4, которую вводили в дозе 0,5 мг/кг в/в медленным болюсом, приводило к клиренсу у яванских макак, составляющему 7,8 ± 0,6 мл/сутки/кг; эквивалентному A-1, партия 14 (7,2 ± 0,7 мл/сутки/кг), экспрессированному в CHO-S при сходных условиях.

Таблица 47

Фармакокинетические параметры трех партий 1.52.64-1 после в/в введений непримированным самцам и самкам яванских макак (n=3)

Система экспрессии	Партия	в/в доза (мг/кг)	СI (мл/сутки/кг)	% сиалилирования Fab
Временная трансфекция CHO-S	Партия 4	0,5	7,8 ± 0,6	75
Стабильный пул, происходящий из CHO	Партия 18-PP21	30	20,8 ± 9,5	49
Стабильный клон, происходящий из CHO	Партия 14525-32	30	7,9 ± 1,3	84

1.52.64-1, партия 18-PP21, содержало материал с приблизительно 49% сиалилирования Fab, тогда

как партия 14525-32 содержала материал с приблизительно 84% сиалилирования Fab из происходящей из системы стабильной экспрессии СНО. 1.52.64-1, партию 18-PP21, и партию 14525-32 вводили посредством 30 минутной в/в инфузии при 30 мг/кг. Анализ ФК выявил, что партия 18-PP21 оказывала меньшее воздействие по сравнению с партией 14525-32 вследствие повышенного клиренса $20,8 \pm 9,5$ мл/сутки/кг по сравнению с $7,9 \pm 1,3$ мл/сутки/кг, соответственно. Повышенный клиренс согласуется со сниженным % сиалилирования гликанов Fab (49% по сравнению с 84%). Вся совокупность доклинических оценок ФК демонстрирует, что для вариантов антитела А, содержащих структуру гликана Fab, требуются контролируемые условия продукции белка, чтобы получить антитела с высоким содержанием сиалилирования гликанов Fab (например, $\geq 75\%$), которые позволят добиться желательной фармакокинетики антител.

Пример 16. Селекция линий клеток с высоким уровнем сиалилирования.

Учитывая описанные выше результаты и анализы, мы выделили линии клеток для получения антитела с высоким уровнем сиалилирования. Для этого разработка линии клеток (CLD) была направлена на идентификацию линий клеток, которые экспрессируют высоко сиалилированные антитела против gp120, описанные в данном изобретении. Вкратце, разработанную на основе СНО линию клеток трансфицировали вектором, кодирующим тяжелые и легкие цепи вариантов антител, описанных в данном изобретении. Для множества стабильных пулов оценивали производительность в биореакторе и качество продукта (включая % сиалилирования). Стабильные пулы, экспрессирующие антитело, содержащее высокий уровень сиалилирования (например, сиалилированное по меньшей мере приблизительно на 75%), выбирали для получения клонов. Для того чтобы дополнительно направить выделение клональной линии клеток на получение более высокого уровня сиалилирования, клональные линии клеток, полученные из исходного стабильного пула с наибольшим % сиалилирования (сиалилированные приблизительно на 95%), были перепредставлены на протяжении технологического процесса получения клонов. Оценивали производительность множества клональных линий клеток в биореакторе и качество продукта (включая % сиалилирования), и клональную линию клеток, экспрессирующих антитело с высоким уровнем сиалилирования ($>85\%$), выбирали в качестве главной линии клеток для производства главного банка клеток (МСВ).

Другие варианты реализации

Хотя настоящее изобретение было описано в сочетании с его подробным описанием, предшествующее описание предназначено для иллюстрирования и не ограничивает объем настоящего изобретения, который определяется объемом прилагаемой формулы изобретения. Другие аспекты, преимущества и модификации входят в объем следующей формулы изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются с гликопротеином gp120 оболочки вируса иммунодефицита человека-1 (ВИЧ-1), указанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат: (i) вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую определяющие комплементарность области 1-3 VH (CDR 1-3), и (ii) вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую области CDR 1-3 VL, причем области CDR 1-3 VH и области CDR 1-3 VL имеют последовательности, представленные в:

- (i) SEQ ID NO: 159, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно;
- (ii) SEQ ID NO: 137, 160, 139, 140, 141 и 142, соответственно;
- (iii) SEQ ID NO: 137, 161, 139, 140, 141 и 142, соответственно;
- (iv) SEQ ID NO: 137, 162, 139, 140, 141 и 142, соответственно;
- (v) SEQ ID NO: 137, 163, 139, 140, 141 и 142, соответственно;
- (vi) SEQ ID NO: 137, 138, 164, 140, 141 и 142, соответственно;
- (vii) SEQ ID NO: 159, 138, 164, 140, 141 и 142, соответственно;
- (viii) SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 165 и 142, соответственно;
- (ix) SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 166 и 142, соответственно;
- (x) SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 167 и 142, соответственно;
- (xi) SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 168 и 142, соответственно;
- (xii) SEQ ID NO: 137, 138, 154, 140, 141 и 142, соответственно; или
- (xiii) SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно; и

при этом указанные антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат в каркасной области 3 (FR3) VH в положении, соответствующем 74a, 74b, 74c и 74d, где положения пронумерованы по Кабату, последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO: 627.

2. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п.1, отличающиеся тем, что:

а) VH содержит одну или более из следующих аминокислот в указанных положениях, где положения пронумерованы по Кабату: валин в положении 5, глутаминовую кислоту в положении 10, лизин в положении 12, лизин в положении 23, аспарагин в положении 28, аргинин в положении 30, тирозин в положении 32, треонин в положении 68, метионин в положении 69, гистидин в положении 72, фенилаланин в положении 76, аланин в положении 78, серин в положении 82a, аргинин в положении 82b, треонин

в положении 89, тирозин в положении 99, глутамин в положении 105 или метионин в положении 108;

b) содержит FR3 VH, содержащую следующую последовательность аминокислот: RVSLTRHASFDFTFSFYMDLKALRSDDTAVYFCAR (SEQ ID NO: 629);

c) VL содержит одну или более из следующих аминокислот в указанных положениях, где положения пронумерованы по Кабату: аргинин в положении 18, аланин в положении 19, серин в положении 65, треонин или гистидин в положении 72, лизин в положении 74, серин в положении 76, серин в положении 77, фенилаланин в положении 98 или глицин в положении 99;

d) содержат Fc-область IgG1 человека;

e) содержит Fc-область IgG1 человека, содержащую (положения пронумерованы согласно нумерации EU):

(i) аспарагиновую кислоту в положении 239, глутаминовую кислоту в положении 332, аланин в положении 236, лейцин в положении 330;

(ii) аспарагиновую кислоту в положении 239, глутаминовую кислоту в положении 332, лейцин в положении 428 и серин в положении 434;

(iii) аспарагиновую кислоту в положении 239, глутаминовую кислоту в положении 332, аланин в положении 236, лейцин в положении 428 и серин в положении 434;

(iv) аспарагиновую кислоту в положении 239, глутаминовую кислоту в положении 332, лейцин в положении 330, лейцин в положении 428 и серин в положении 434;

(v) аспарагиновую кислоту в положении 239, глутаминовую кислоту в положении 332, аланин в положении 236, лейцин в положении 330, лейцин в положении 428 и серин в положении 434; или

(vi) лейцин в положении 243, пролин в положении 292, лейцин в положении 300, изолейцин в положении 305, лейцин в положении 396, лейцин в положении 428 и серин в положении 434;

f) содержат константную область легкой цепи каппа человека; и/или

(g) имеют время полужизни в сыворотке человека, которое составляет по меньшей мере 3 дня.

3. Антитело по п.1, которое содержит (i) переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую определяющие комплементарность области 1-3 VH (CDR 1-3), и (ii) переменную область легкой цепи (VL), содержащую области CDR 1-3 VL, причем области CDR 1-3 VH и области CDR 1-3 VL имеют последовательности, представленные в SEQ ID NO: 137, 138, 139, 140, 141 и 142, соответственно, причем указанное антитело содержит Fc-область IgG1 человека, содержащую (положения пронумерованы согласно нумерации EU):

(i) аспарагиновую кислоту в положении 239, глутаминовую кислоту в положении 332, аланин в положении 236, лейцин в положении 330;

(ii) аспарагиновую кислоту в положении 239, глутаминовую кислоту в положении 332, лейцин в положении 428 и серин в положении 434;

(iii) аспарагиновую кислоту в положении 239, глутаминовую кислоту в положении 332, аланин в положении 236, лейцин в положении 428 и серин в положении 434;

(iv) аспарагиновую кислоту в положении 239, глутаминовую кислоту в положении 332, лейцин в положении 330, лейцин в положении 428 и серин в положении 434;

(v) аспарагиновую кислоту в положении 239, глутаминовую кислоту в положении 332, аланин в положении 236, лейцин в положении 330, лейцин в положении 428 и серин в положении 434; или

(vi) лейцин в положении 243, пролин в положении 292, лейцин в положении 300, изолейцин в положении 305, лейцин в положении 396, лейцин в положении 428 и серин в положении 434 и при этом указанное антитело содержит в каркасной области 3 (FR3) VH в положениях, соответствующих 74a, 74b, 74c и 74d, где положения пронумерованы по Кабату, последовательность аминокислот, представленную в SEQ ID NO: 627.

4. Антитело по п.3, отличающееся тем, что:

a) указанное антитело содержит легкую цепь, содержащую аланин в положении 19, где положение пронумеровано по Кабату);

b) содержит FR3 VH, содержащую следующую последовательность аминокислот: RVSLTRHASFDFTFSFYMDLKALRSDDTAVYFCAR (SEQ ID NO: 629);

c) Fc-область IgG1 человека представляет собой IgG1m17 (SEQ ID NO: 348);

d) антитело содержит константную область легкой цепи каппа человека;

e) антитело или антигенсвязывающий фрагмент имеют время полужизни в сыворотке человека, которое составляет по меньшей мере 3 дня.

5. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп.1-4, где указанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL), причем VH и VL содержат последовательности аминокислот, представленные, соответственно, ниже:

(1) SEQ ID NO:477 и 223;

(2) SEQ ID NO:477 и 278;

(3) SEQ ID NO: 477 и 292; или

(4) SEQ ID NO:478 и 276.

6. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п.5, где VH и VL содержит последовательность аминокислот, представленную в:

- a) SEQ ID NO: 477 и 278, соответственно;
- b) SEQ ID NO: 478 и 276, соответственно.

7. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп.1-6, содержащие:

VH, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности аминокислот, выбранной из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 181-221 и 465-478; и

VL, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности аминокислот, выбранной из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 222-311, 479-516 и 569.

8. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из п.5 или 6, которые:

a) содержат Fc-область IgG1 человека;

b) содержат Fc-область IgG1 человека, содержащую (положения пронумерованы согласно нумерации EU):

(i) аспарагиновую кислоту в положении 239, глутаминовую кислоту в положении 332, аланин в положении 236, лейцин в положении 330;

(ii) аспарагиновую кислоту в положении 239, глутаминовую кислоту в положении 332, лейцин в положении 428 и серин в положении 434;

(iii) аспарагиновую кислоту в положении 239, глутаминовую кислоту в положении 332, аланин в положении 236, лейцин в положении 428 и серин в положении 434;

(iv) аспарагиновую кислоту в положении 239, глутаминовую кислоту в положении 332, лейцин в положении 330, лейцин в положении 428 и серин в положении 434;

(v) аспарагиновую кислоту в положении 239, глутаминовую кислоту в положении 332, аланин в положении 236, лейцин в положении 330, лейцин в положении 428 и серин в положении 434; или

(vi) лейцин в положении 243, пролин в положении 292, лейцин в положении 300, изолейцин в положении 305, лейцин в положении 396, лейцин в положении 428 и серин в положении 434;

c) содержат константную область легкой цепи каппа человека; и/или

d) имеют время полужизни в сыворотке человека, которое составляет по меньшей мере 3 дня.

9. Антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп.1-7, который представляет собой фрагмент scFv, sc(Fv)₂, Fab, F(ab)₂, Fab', F(ab')₂, Fabc или Fv.

10. Антитело по любому из пп.1-8, где указанное антитело содержит тяжелую цепь и легкую цепь, причем указанная тяжелая цепь и указанная легкая цепь содержат последовательности аминокислот, представленные, соответственно, ниже:

(1) SEQ ID NO: 529 и 49;

(2) SEQ ID NO: 529 и 103;

(3) SEQ ID NO: 529 и 117; или

(4) SEQ ID NO: 530 и 101.

11. Антитело по п.10, где указанные тяжелая цепь и легкая цепь имеют последовательности аминокислот, представленные в:

a) SEQ ID NO: 529 и 103, соответственно;

b) SEQ ID NO: 530 и 101, соответственно.

12. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп.1-11, которые:

a) содержат тяжелую цепь (HC), которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности аминокислот, выбранной из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 1-47 и 517-530, и легкую цепь (LC), которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности аминокислот, выбранной из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 48-136 и 531-567 и/или

b) отличается тем, что по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90% или более сайтов N-связанного гликозилирования в VL сиалированы.

13. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент по п.12, отличающиеся тем, что по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по

меньшей мере 90% или более сайтов N-связанного гликозилирования в VL сиалилированы, и при этом:

- a) аспарагин в VL в положении аминокислоты 72 согласно нумерации по Кабату (N72) сиалилирован;
- b) сиалилированные сайты N-связанного гликозилирования в VL содержат от 1 до 5 остатков сиаловой кислоты, например от 1 до 4 остатков сиаловой кислоты, например от 1 до 3 остатков сиаловой кислоты, например от 1 до 2 остатков сиаловой кислоты;
- c) VL сиалилированы N-ацетилнейраминовой кислотой (НАНК);
- d) остатки сиаловой кислоты присутствуют в двухантенных структурах;
- e) остатки сиаловой кислоты присутствуют:
 - (i) в сложных структурах N-связанных гликанов;
 - (ii) в гибридных структурах N-связанных гликанов; и/или
- f) гликаны сиалилированы по концу.

14. Биспецифическое антитело, содержащее:

первое антигенсвязывающее плечо, которое связывается с gp120, указанное первое антигенсвязывающее плечо содержит:

VH и VL по любому из пп.1-13; и второе антигенсвязывающее плечо, связывающееся со вторым антигеном.

15. Биспецифическое антитело по п.14, отличающееся тем, что второй антиген выбран из группы, состоящей из: CD3, FcγRI (CD64), FcγRII (CD32), FcγRIII (CD16); CD89, CCR5, CD4, gp41, иммуноглобулин-подобного рецептора клеток-киллеров с тремя доменами Ig и длинным цитоплазматическим хвостом 1 (KIR3DL1), иммуноглобулин-подобного рецептора клеток-киллеров с тремя доменами Ig и длинным цитоплазматическим хвостом 1 (KIR3DL1), иммуноглобулин-подобного рецептора клеток-киллеров с двумя доменами Ig и длинным цитоплазматическим хвостом 1 (KIR2DL1), иммуноглобулин-подобного рецептора клеток-киллеров с двумя доменами Ig и длинным цитоплазматическим хвостом 2 (KIR2DL2), иммуноглобулин-подобного рецептора клеток-киллеров с двумя доменами Ig и длинным цитоплазматическим хвостом 3 (KIR2DL3), лектин-подобного рецептора C1 клеток-киллеров (KLRC1), лектин-подобного рецептора C2 клеток-киллеров (KLRC2), лектин-подобного рецептора C3 клеток-киллеров (KLRC3), лектин-подобного рецептора C4 клеток-киллеров (KLRC4), лектин-подобного рецептора D1 клеток-киллеров (KLRD1), лектин-подобного рецептора K1 клеток-киллеров (KLRK1), запускающего естественную цитотоксичность рецептора 3 (NCR3 или NKp30), запускающего естественную цитотоксичность рецептора 2 (NCR2 или NK-p44), запускающего естественную цитотоксичность рецептора 1 (NCR1 или NK-p46), CD226 (DNAM-1), молекулы цитотоксических и регуляторных T-клеток (CRTAM или CD355), представителя 1 семейства сигнальных молекул активации лимфоцитов (SLAMF1), CD48 (SLAMF2), антигена лимфоцитов 9 (LY9 или SLAMF3), CD244 (2B4 или SLAMF4), CD84 (SLAMF5), представителя 6 семейства SLAM (SLAMF6 или NTB-A), представителя 7 семейства SLAM (SLAMF7 или CRACC), CD27 (TNFRSF7), семафорина 4D (SEMA4D или CD100) и CD160 (NK1), и второго эпитопа gp120.

16. Фармацевтическая композиция, содержащая антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп.1-13 или биспецифичное антитело по любому из пп.14, 15, и фармацевтически приемлемый носитель.

17. Фармацевтическая композиция по п.16, где указанная фармацевтическая композиция дополнительно содержит второй агент для лечения ВИЧ-инфекции.

18. Нуклеиновая кислота, кодирующая антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп.1-13.

19. Клетка-хозяин, содержащая нуклеиновую кислоту согласно п.18, причём указанная клетка включает клетку млекопитающего, клетку насекомого, клетку растения или клетку дрожжей.

20. Клетка-хозяин по п.19, отличающаяся тем, что указанная клетка преимущественно сиалилирует сайты N-связанного гликозилирования в переменных доменах (Fv) экспрессированных антител или антигенсвязывающих фрагментов, где, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95% или более сайтов N-связанного гликозилирования в переменных доменах (Fv) экспрессированных антител или антигенсвязывающих фрагментов сиалилированы.

21. Клетка-хозяин по п.19, отличающаяся тем, что по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95% или более сайтов N-связанного гликозилирования в VL сиалилированы.

22. Способ получения антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп.1-13, где указанный способ включает культивирование указанной клетки-хозяина по п.19 в культуре клеток; и выделение антитела или антигенсвязывающего фрагмента из культуры клеток.

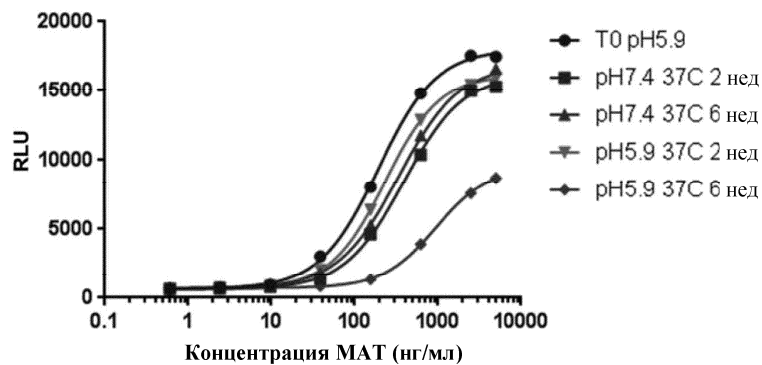
23. Применение антитела или антигенсвязывающего фрагмента антитела согласно любому из пп.1-13 или фармацевтической композиции согласно п.16 для ингибирования ВИЧ у нуждающегося в этом

субъекта, который представляет собой человека.

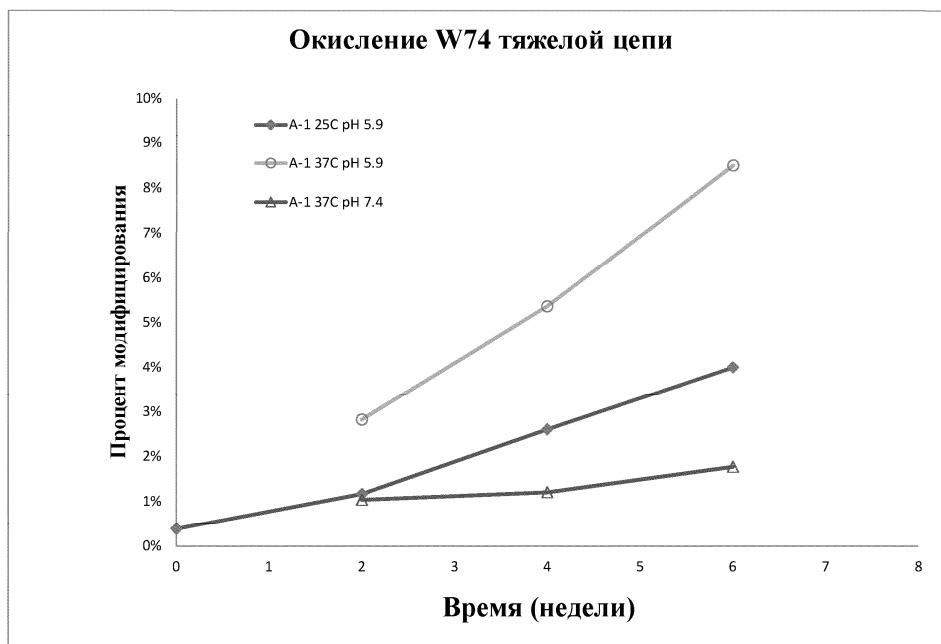
24. Применение по п.23, согласно которому ингибирование ВИЧ обеспечивает лечение или предотвращении инфекции ВИЧ у указанного субъекта.

25. Применение по п.23 или 24, которое дополнительно включает введение указанному субъекту-человеку второго агента для лечения инфекции ВИЧ.

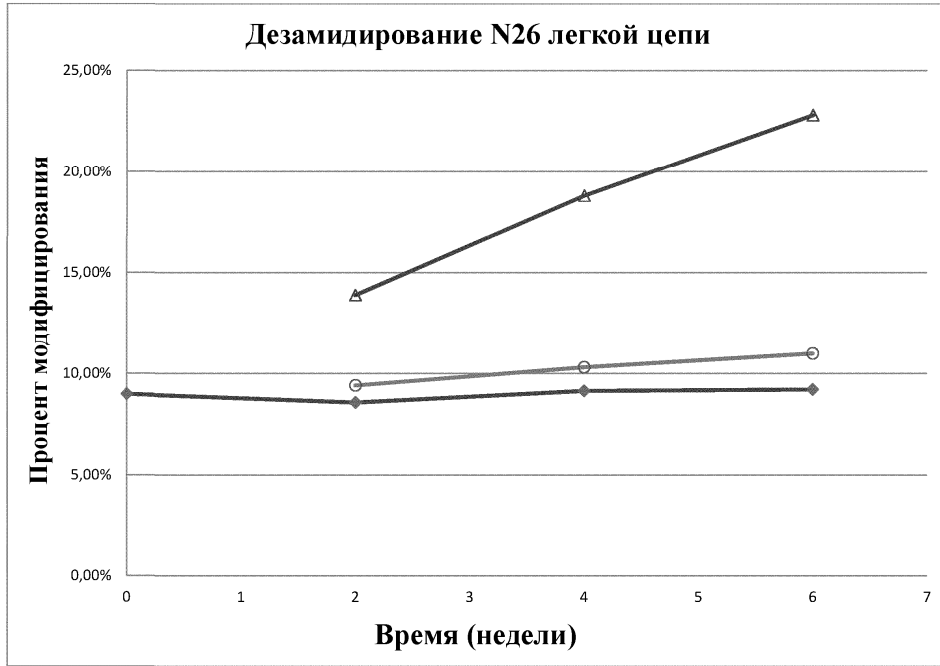
26. Применение по любому из п.23-25, которое дополнительно включает введение указанному субъекту-человеку вакцины против ВИЧ.



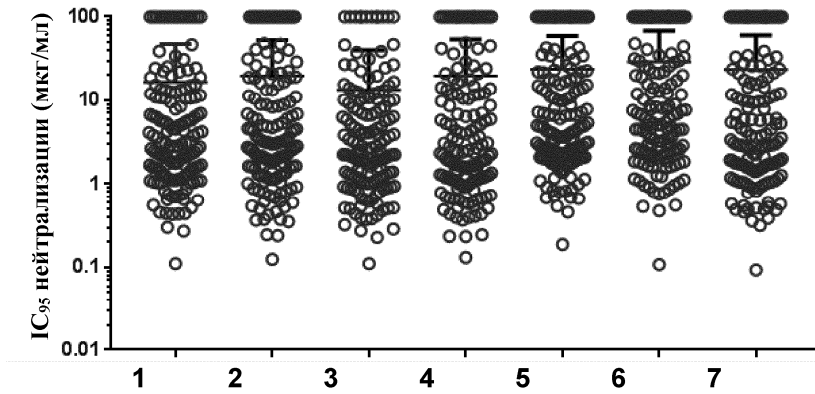
Фиг. 1



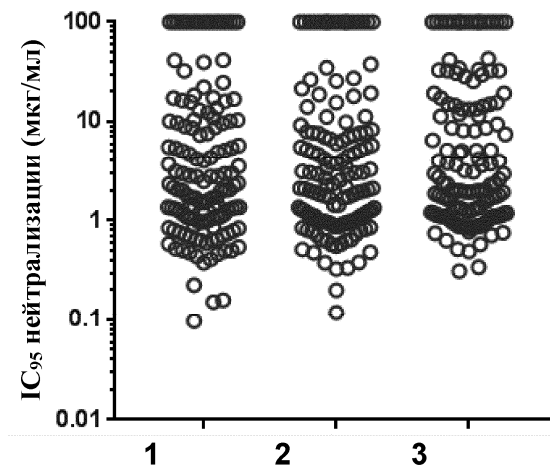
Фиг. 2



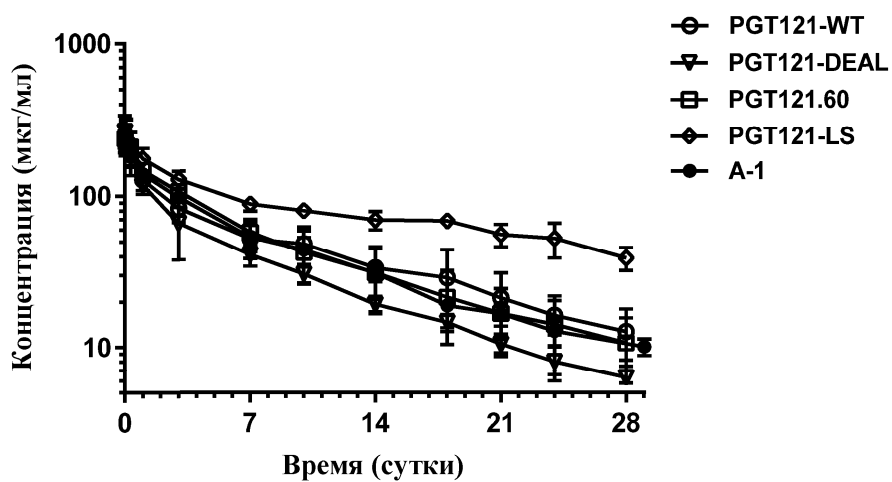
Фиг. 3



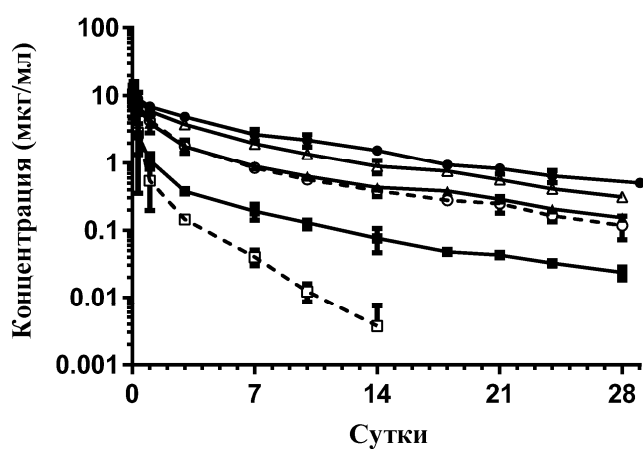
Фиг. 4



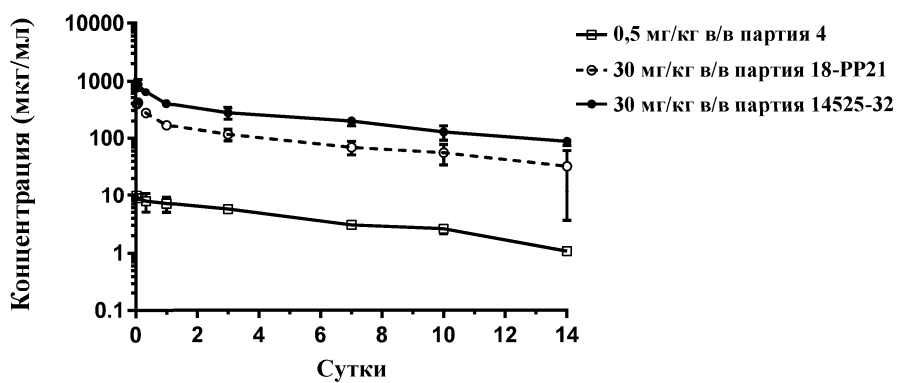
Фиг. 5



Фиг. 6



Фиг. 7



Фиг. 8



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2