

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **038645**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.09.28

(21) Номер заявки
201591198

(22) Дата подачи заявки
2013.12.20

(51) Int. Cl. **A61K 39/395** (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
C07K 16/22 (2006.01)

(54) АНТИТЕЛА К GDF15

(31) **61/745,508; 61/827,325**

(32) **2012.12.21; 2013.05.24**

(33) **US**

(43) **2015.11.30**

(86) **PCT/US2013/077139**

(87) **WO 2014/100689 2014.06.26**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**АВЕО ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ, ИНК.
(US)**

(72) Изобретатель:
**Лернер Лорена, Эббот Сандра,
Бай Айлинь, Чен Тин, Чну Мария
Изабель, Лю Цин, Полинг Лаура,
Тао Няньцзюнь, Вейлер Солли,
Вэн Чжиган, Уинстон Уилльям М.,
Гьюрис Джено (US)**

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

(56) **WO-A1-2009021293**

US-A1-2011262444

P. ROTH ET AL.: "GDF-15 Contributes to Proliferation and Immune Escape of Malignant Gliomas", CLINICAL CANCER RESEARCH, vol. 16, no. 15, 9 June 2010 (2010-06-09), pages 3851-3859, XP055106395, ISSN: 1078-0432, DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-10-07056 the whole document

BREIT SAMUEL N. ET AL.: "The TGF- β superfamily cytokine, MIC-1/GDF15: a pleiotrophic cytokine with roles in inflammation, cancer and metabolism", GROWTH FACTORS, HARWOOD ACADEMIC PUBLISHERS GMBH, XX, vol. 29, no. 5, 1 October 2011 (2011-10-01), pages 187-195, XP008152690, ISSN: 0897-7194, the whole document

EIICHI HINOI ET AL.: "Positive regulation of osteoclastic differentiation by growth differentiation factor 15 upregulated in osteocytic cells under hypoxia", JOURNAL OF BONE AND MINERAL RESEARCH, vol. 27, no. 4, 1 April 2012 (2012-04-01), pages 938-949, XP055106394, ISSN: 0884-0431, DOI: 10.1002/jbmr.1538, the whole document

(57) Раскрыты моноклональные антитела, которые связываются с GDF15 человека и ингибируют его активность. Антитела можно применять для лечения потери веса тела, в том числе кахексии, связанной со сверхэкспрессией GDF15 человека.

B1**038645****038645 B1**

Перекрестная ссылка на родственные заявки

Данная заявка заявляет право и приоритет по предварительной заявке на патент США № 61/827325, поданной 24 мая 2013 г., и предварительной заявке на патент США № 61/745508, поданной 21 декабря 2012 г., полное раскрытие каждой из которых включено в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

Область техники, к которой относится настоящее изобретение

Настоящее изобретение относится к области молекулярной биологии, иммунологии, к кахексии и нарушениям, подобным кахексии, и к онкологии. Более конкретно, оно относится к области терапевтических антител.

Уровень техники настоящего изобретения

Непреднамеренная потеря веса может быть классифицирована по этиологии на три основные формы, включающие кахексию, саркопению и голодание. Кахексия представляет собой истощающий метаболический синдром, связанный с многочисленными заболеваниями, включая рак, AIDS, хроническую сердечную недостаточность (также известную как застойная сердечная недостаточность), хроническое обструктивное заболевание легких (COPD), хроническое заболевание почек, туберкулез, сепсис и другие формы системного воспаления. Кахексия варьирует в своих проявлениях, но в целом включает непреднамеренную потерю массы скелетных мышц и некоторые формы основного заболевания (Evans et al. (2008) Clin. Nutr. 27:793-799). Кахексия представляет собой состояние истощения, включающее непреднамеренную потерю веса, и может быть связана с системным воспалением и/или острым воспалительным ответом. Thomas (2007) CLIN. NUTRITION 26:389-399. Потеря массы жировой ткани, а также массы тканей помимо жировой, такой как мышечная масса, часто является заметным клиническим признаком кахексии. Во многих, но не во всех случаях кахексия протекает через стадии, которые были определены как прекахексия, кахексия и рефрактерная кахексия (Fearon et al. (2011) Lancet Onc. 12:489-495). Два разных, но иногда перекрывающихся процесса могут стимулировать развитие и прогрессирование кахексии: (a) метаболические процессы, которые действуют непосредственно на мышцы, уменьшая их массу и функцию, и (b) уменьшенное потребление пищи, что приводит к потере как жира, так и мышц (Tsai et al. (2012) J. Cachexia Sarcopenia Muscle 3:239-243).

Несмотря на то, что кахексия представляет собой сложный и не до конца понятный синдром, очевидно, что GDF15 (также известный как MIC-1, PLAB, PDF и NAG-1), член суперсемейства TGF- β , является важным медиатором кахексии при различных заболеваниях (Tsai et al., выше). По меньшей мере некоторые опухоли сверхэкспрессируют и секретируют GDF15, и повышенный уровень GDF15 в сыворотке связывают с различными видами рака (Johnen et al. (2007) Nat. Med. 13: 1333-1340; Bauskin et al. (2006) Cancer Res. 66:4983-4986). Моноклональные антитела к GDF15 рассматривают в качестве потенциальных терапевтических средств против кахексии. См., например, патент США № 8192735.

Потеря веса в результате кахексии связана с плохим прогнозом при различных заболеваниях (Evans et al., выше), и кахексия и ее последствия считаются непосредственной причиной смерти приблизительно в 20% случаев смерти от рака (Tisdale (2002) Nat. Rev. Cancer 2: 862-871). Регрессия кахексии нечасто вызывается корректировкой питания, и в настоящее время этот синдром редко лечат с помощью лекарственной терапии (Evans et al., выше).

Саркопения представляет собой клиническое состояние, связанное с кахексией, которое характеризуется потерей массы скелетных мышц и мышечной силы. Снижение мышечной массы может привести к нарушению функции с потерей силы, повышенной вероятностью падения и потери возможности самостоятельного передвижения. Дыхательная функция также может быть нарушаться со снижением жизненной емкости. Во время метаболического стресса мышечный белок быстро мобилизуется для обеспечения иммунной системы, печени и кишечника аминокислотами, в особенности, глутамином. Саркопения часто является заболеванием пожилых людей, однако ее развитие также может быть связано с отсутствием нагрузки на мышцы и недоеданием и может совпадать с кахексией. Саркопения может быть диагностирована на основе наблюдений функциональных признаков, таких как пониженный вес мышц и пониженная скорость ходьбы. См., например, Muscaritoli et al. (2010) CLIN. NUTRITION 29:154-159.

Голодание, как правило, приводит к потере жировой массы и массы помимо жировой в организме из-за неполноценного рациона и/или усвоения пищи (Thomas (2007) выше). Эффекты голодания часто обращаются вспять посредством улучшения рациона и питания, например, количества белка, усвоения.

Антитела природного происхождения представляют собой мультимерные белки, содержащие четыре полипептидные цепи (фиг. 1). Две из полипептидных цепей называются тяжелыми цепями (H-цепи), а две из полипептидных цепей называются легкими цепями (L-цепи). Тяжелые и легкие цепи иммуноглобулина соединены межцепочечной дисульфидной связью. Тяжелые цепи иммуноглобулина соединены межцепочечными дисульфидными связями. Легкая цепь состоит из одной вариательной области (V_L на фиг. 1) и одной константной области (C_L на фиг. 1). Тяжелая цепь состоит из одной вариательной области (V_H на фиг. 1) и по меньшей мере трех константных областей (C_{H1} , C_{H2} и C_{H3} на фиг. 1). Вариательные области определяют специфичность антитела. Каждая вариательная область содержит три гипервариативных участка, также известных как участки, определяющие комплементарность (CDR), фланкированных четырьмя относительно консервативными каркасными областями (FR). Три CDR, называемые CDR₁,

CDR₂ и CDR₃, способствуют специфичности связывания антитела. Антитела природного происхождения применяли в качестве исходного материала для сконструированных антител, таких как химерные антитела и гуманизированные антитела.

Существует значительная неудовлетворенная потребность в эффективных терапевтических средствах для лечения кахексии и саркопении, включая моноклональные антитела, направленные на GDF15. Такие терапевтические средства потенциально играют важную роль при лечении различных видов рака и других заболеваний, угрожающих жизни.

Краткое описание настоящего изобретения

Настоящее изобретение отчасти основано на открытии семейства антител, которые специфически связываются с GDF15 человека (hGDF15). Антитела содержат hGDF15-связывающие участки на основе CDR антител. Антитела могут быть применены в качестве терапевтических средств. Для применения в качестве терапевтических средств антитела конструируют, например гуманизируют, для уменьшения или устранения иммунного ответа при введении пациенту-человеку.

Раскрытые антитела предотвращают или ингибируют активность (т.е. нейтрализуют) hGDF15. При введении млекопитающему антитела могут ингибировать потерю мышечной массы, например, потерю мышечной массы, связанную с основным заболеванием. Основное заболевание может быть выбрано из группы, состоящей из рака, хронической сердечной недостаточности, хронического заболевания почек, COPD, AIDS, рассеянного склероза, ревматоидного артрита, сепсиса и туберкулеза. В некоторых вариантах осуществления потеря мышечной массы может сопровождаться потерей массы жировой ткани. Раскрытые антитела также могут быть применены для ингибирования непреднамеренной потери веса у млекопитающего. В некоторых вариантах осуществления раскрытые антитела могут быть также применены для ингибирования потери массы органа. Кроме того, раскрыт способ лечения кахексии и/или саркопении у млекопитающего, включающий введение эффективного количества одного из по меньшей мере одного из описанных антител млекопитающему, которое нуждается в этом.

Также раскрыт способ установления устойчивого уровня зрелого рекомбинантного GDF15 человека (rhGDF15) в плазме или сыворотке у млекопитающего, включающий введение слитого белка rhGDF15-Fc иммуноглобулина (Fc-rhGDF15) млекопитающему. Fc-rhGDF15 может представлять собой Fc мыши и зрелого рекомбинантного GDF15 человека (mFc-rhGDF15). В некоторых вариантах осуществления млекопитающее является грызуном, например мышью.

В другом аспекте раскрыт способ лечения ожирения у млекопитающего, например, человека, включающий введение терапевтически эффективного количества Fc-rhGDF15, например, Fc человека и зрелого рекомбинантного GDF15 человека (hFc-rhGDF15) млекопитающему, которое нуждается в этом. Также раскрыты фармацевтические композиции, содержащие слитый белок Fc-rhGDF15 и фармацевтически приемлемый носитель.

Эти и другие аспекты и преимущества настоящего изобретения станут очевидными при рассмотрении следующих фигур, подробного описания и формулы изобретения. Применяемое в данном документе "включая" означает без ограничения, а приведенные примеры не являются неограничивающими. Применяемое в данном документе "антитело 01G06, 03G05, 04F08, 06C11, 08G01, 14F11 или 17B11" означает антитело 01G06, 03G05, 04F08, 06C11, 08G01, 14F11 или 17B11 или их гуманизированные варианты.

Описание графических материалов

Настоящее изобретение может быть более полно понято с учетом следующих графических материалов.

На фиг. 1 (известный уровень техники) представлено схематическое изображение типичного антитела природного происхождения.

На фиг. 2 представлен график с результатами эксперимента по измерению уровней hGDF15 в сыворотке у ранее не подвергавшихся воздействию мышей или мышей, несущих ксенотрансплантаты опухолей человека (Chago, RPMI7951, PC3, TOV21G, HT-1080, K-562, LS1034), как определено с помощью анализа ELISA.

На фиг. 3 представлен график с результатами эксперимента по определению фармакокинетических параметров (PK) в плазме для отщепленного rhGDF15, введенного путем подкожной инъекции (1 мкг/г) ранее не подвергавшимся воздействию мышам ICR-SCID, как определено с помощью ELISA.

На фиг. 4 представлен график, обобщающий результаты эксперимента по измерению кахектической активности отщепленного белка rhGDF 15 (■) и отрицательного контроля (PBS (●)) в отношении индукции потерю веса тела у иммунонекомпетентных мышей, ICR-SCID. Стрелками указаны подкожные дозы 1 мкг/г rhGDF15.

На фиг. 5А и 5В представлены графики, обобщающие результаты эксперимента по измерению кахектической активности mFc-rhGDF15 (Fc мыши, слитый с аминоконцом зрелого рекомбинантного GDF15 человека; ■), rFc-rmGDF15 (Fc кролика, слитый с аминоконцом зрелого рекомбинантного GDF15 мыши; ▲) и отрицательного контроля (PBS; ●) в отношении индукции потери веса тела у иммунонекомпетентных мышей Balb/C (фиг. 5А) и иммунонекомпетентных мышей CB17-SCID (фиг. 5В). Стрелки указывают подкожные дозы 1 мкг/г рекомбинантного белка.

На фиг. 6А-6Е представлены графики, обобщающие результаты эксперимента для демонстрации

кахектической активности mFc-rhGDF15 (■) и отрицательного контроля (PBS; ●) индуцировать потерю веса тела у иммунонекомпетентных мышей ICR-SCID (фиг. 6А; стрелки указывают подкожные дозы mFc-rhGDF15 1 мкг/г); индуцировать потерю жировой ткани или массы жировой ткани гонад (фиг. 6В); индуцировать потерю мышечной массы икроножной мышцы (фиг. 6С; икроножная масса) и увеличивать экспрессию мРНК молекулярных маркеров деградации мышц (mMuRF1 (фиг. 6D) и атрофина мышцы (фиг. 6Е)).

На фиг. 7 представлен график, обобщающий результаты эксперимента по измерению кахектической активности mFc-rhGDF15 (■) и отрицательного контроля (PBS; ●) в отношении индукции потери веса тела у иммунонекомпетентных "голых" мышей Balb/C. Стрелками указаны подкожные дозы 1,33 мкг/г mFc-rhGDF15.

На фиг. 8 представлен график, обобщающий результаты эксперимента по измерению уровней mFc-rhGDF15 в сыворотке у мышей, которым вводили дозу рекомбинантного белка. Присутствие mFc-rhGDF15 определяли с помощью вестерн-блоттинга. Две положительные полосы, соответствующие mFc-rhGDF15 и rhGDF15 (в соответствии с соответствующим размером молекул) количественно анализировали с помощью прибора Licor. Рассчитывали процентное соотношение высвобождаемого rhGDF 15 и mFc-rhGDF15.

На фиг. 9А представлен график, обобщающий результаты эксперимента по определению кахектической активности mFc-rhGDF 15 (0,1 мкг/г (■), 0,01 мкг/г (Δ)) и отрицательного контроля (mIgG; 0,1 мкг/г (●)) в отношении индукции потери веса тела у иммунонекомпетентных мышей ICR-SCID. Стрелкой указана интраперитонеальная доза рекомбинантного белка. На фиг. 9В представлен график, показывающий общий уровень rhGDF15 в плазме у мышей, которым вводили mFc-rhGDF 15 (0,1 мкг/г, 0,01 мкг/г (■)) через пять дней после введения дозы, как определено с помощью ELISA.

На фиг. 10 представлено выравнивание последовательности, демонстрирующее полную аминокислотную последовательность варибельной области тяжелой цепи иммуноглобулина для антител 01G06, 03G05, 04F08, 06C11, 08G01, 14F11 и 17B11. Аминокислотные последовательности для каждого антитела выровнены друг относительно друга, и CDR₁, CDR₂ и CDR₃ выделены рамками. Последовательности за пределами рамок представляют собой последовательности каркасных участков (FR). Определение положений при выравнивании (гэпы) основано на нумерации по Kabat, а не на алгоритме выравнивания, таком как Clustal. Нумерация над последовательностями представляет собой нумерацию по Kabat.

На фиг. 11 представлено выравнивание последовательности, демонстрирующее последовательности CDR₁, CDR₂ и CDR₃ для каждой из последовательностей варибельной области тяжелой цепи иммуноглобулина на фиг. 10.

На фиг. 12 представлено выравнивание последовательности, демонстрирующее полную аминокислотную последовательность варибельной области легкой цепи иммуноглобулина для антител 01G06, 03G05, 04F08, 06C11, 08G01, 14F11 и 17B11. Аминокислотные последовательности для каждого антитела выровнены друг относительно друга, и CDR₁, CDR₂ и CDR₃ приведены в рамках. Последовательности за пределами рамок представляют собой последовательности каркасных участков (FR). Определение положений при выравнивании (гэпы) основано на нумерации по Kabat, а не на алгоритме выравнивания, таком как Clustal. Нумерация над последовательностями представляет собой нумерацию по Kabat.

На фиг. 13 представлено выравнивание последовательностей, демонстрирующее последовательности CDR₁, CDR₂ и CDR₃ для каждой из последовательностей варибельной области легкой цепи иммуноглобулина на фиг. 12.

На фиг. 14 представлен график, обобщающий результаты эксперимента по измерению ингибиторной активности в отношении кахексии у антител к GDF15 01G06 (■), 03G05 (▲), 04F08 (▼), 06C11 (◇), 14F11 (⊙) и 17B11 (□) и контрольного IgG мыши (●; mIgG) в дозе 10 мг/кг в модели кахексии с использованием mFc-rhGDF15 на мышах ICR-SCID. Стрелкой указана интраперитонеальная инъекция антитела.

На фиг. 15 представлен график, обобщающий результаты эксперимента по измерению ингибиторной активности в отношении кахексии 01G06 (▲), 03G05 (◇), 04F08 (▼), 06C11 (□), 08G01 (■), 14F11 (●) и 17B11 (★) антител к GDF15 и контрольного IgG мыши (●; mIgG) в дозе 10 мг/кг в ксенотрансплантатной модели фибросаркомы с опухоли HT-1080 на мышах ICR-SCID. Стрелкой указана интраперитонеальная инъекция антитела каждые три дня.

На фиг. 16А-16Е представлены графики, обобщающие результаты эксперимента для демонстрации антикахектической активности антитела к GDF15 01G06 (■) в дозе 10 мг/кг в ксенотрансплантатной модели фибросаркомы на иммунонекомпетентных мышах (ICR-SCID), несущих опухоль HT-1080. Обработка антителом 01G06 обращала вспять потерю веса тела (фиг. 16А), приводила к значительному увеличению потребления пищи в течение до трех дней после введения дозы (фиг. 16В), индуцировала прирост массы жировой ткани гонад (фиг. 16С), индуцировала прирост мышечной массы икроножной мышцы (фиг. 16D) и снижала экспрессию мРНК молекулярных маркеров деградации мышц (mMuRF1 и атрофина мышцы (фиг. 16Е)) по сравнению с отрицательным контролем (IgG мыши (●)). На фиг. 16А стрелкой указана интраперитонеальная инъекция антитела.

На фиг. 17А-17В представлены графики, обобщающие результаты эксперимента для демонстрации антикахектической активности антитела к GDF15 01G06 (■) в дозе 2 мг/кг в ксенотрансплантатной моде-

ли фибросаркомы на иммунонекомпетентных мышах (ICR-SCID), несущих опухоль HT-1080. Обработка антителом 01G06 обращала вспять потерю веса тела по сравнению с IgG мыши (●) (фиг. 17А); и индуцировала прирост массы органа (печени, сердца, селезенки, почки); и индуцировала прирост массы ткани (ткани гонад и икроножной мышцы) (фиг. 17В) по сравнению с отрицательным контролем (IgG мыши) и исходным уровнем (день 1). На фиг. 17А стрелками указана интраперитонеальная инъекция антитела.

На фиг. 18 представлен график, обобщающий результаты эксперимента по определению ингибиторной активности в отношении кахексии у антител к GDF15 01G06 (■), 03G05 (▲), 04F08(X), 06C11(◆), 08G01 (○), 14F11 и 17B11 (Δ) и контрольного IgG мыши (●) в дозе 10 мг/кг в ксенотрансплантатной модели лейкоза на иммунонекомпетентных мышах (CB17SCRFMF), несущих опухоль K-562. Стрелками указана интраперитонеальная инъекция антитела.

На фиг. 19 представлено выравнивание последовательности, демонстрирующее аминокислотную последовательность полной варибельной области тяжелой цепи иммуноглобулина химерного 01G06, обозначенной как химерное Ch01G06; варибельных областей тяжелых цепей гуманизированного 01G06, обозначенных как Hu01G06 IGHV1-18, Hu01G06 IGHV1-69, Sh01G06 IGHV1-18 M69L, Sh01G06 IGHV1-18 M69L K64Q G44S, Sh01G06 IGHV1-18 M69L K64Q, Sh01G06 IGHV1-69 T30S I69L, Sh01G06 IGHV1-69 T30S K64Q I69L, Hu01G06 IGHV1-18 F1, Hu01G06 IGHV1-18 F2, Hu01G06 IGHV1-69 F1 и Hu01G06 IGHV1-69 F2; химерного 06C11, обозначенного как химерное Ch06C11; варибельных областей тяжелой цепи гуманизированного 06C11, обозначенных как HE LM 06C11 IGHV2-70 и Hu06C11 IGHV2-5; химерного 14F11, обозначенного как химерное Ch14F11, и варибельных областей тяжелой цепи гуманизированного 14F11, обозначенных как Sh14F11 IGHV2-5 и Sh14F11 IGHV2-70. Аминокислотные последовательности для каждого антитела выровнены друг относительно друга, и CDR₁, CDR₂ и CDR₃ приведены в рамках. Последовательности за пределами рамок представляют собой последовательности каркасных участков (FR). Определение положений при выравнивании (гэпы) основано на нумерации по Kabat, а не на алгоритме выравнивания, таком как Clustal. Нумерация над последовательностями представляет собой нумерацию по Kabat.

На фиг. 20 представлено выравнивание последовательности, демонстрирующее последовательности CDR₁, CDR₂ и CDR₃ для каждой из последовательностей варибельной области тяжелой цепи иммуноглобулина на фиг. 19.

На фиг. 21 представлено выравнивание последовательности, демонстрирующее аминокислотную последовательность полной варибельной области легкой цепи иммуноглобулина химерного 01G06, обозначенной как химерное Ch01G06; варибельных областей легкой цепи гуманизированного 01G06, обозначенных как Hu01G06 IGKV1-39, Hu01G06 IGKV1-39 S43A V48I, Hu01G06 IGKV1-39 V48I, Hu01G06 IGKV1-39 F1 и Hu01G06 IGKV1-39 F2; химерного 06C11, обозначенного как химерное Ch06C11; варибельной области легкой цепи гуманизированного 06C11, обозначенной как Sh06C11 IGKV1-16; химерного 14F11, обозначенного как химерное Ch14F11, и варибельной области легкой цепи гуманизированного 14F11, обозначенной как Hu14F11 IGKV1-16. Аминокислотные последовательности для каждого антитела выровнены друг относительно друга, и CDR₁, CDR₂ и CDR₃ приведены в рамках. Последовательности за пределами рамок представляют собой последовательности каркасных участков (FR). Определение положений при выравнивании (гэпы) основано на нумерации по Kabat, а не на алгоритме выравнивания, таком как Clustal. Нумерация над последовательностями представляет собой нумерацию по Kabat.

На фиг. 22 представлено выравнивание последовательностей, демонстрирующее последовательности CDR₁, CDR₂ и CDR₃ для каждой из последовательностей варибельной области легкой цепи иммуноглобулина на фиг. 21.

На фиг. 23 представлен график, обобщающий результаты эксперимента по определению ингибиторной активности в отношении кахексии у антител к GDF15 01G06 (■), Hu01G06-46 (▲) и Hu01G06-52 (★) и контрольного IgG мыши (●) в дозе 2 мг/кг в ксенотрансплантатной модели фибросаркомы на мышах ICR-SCID, несущих опухоль HT-1080. Стрелкой указана интраперитонеальная инъекция антитела.

На фиг. 24 представлен график, обобщающий результаты эксперимента по определению ингибиторной активности в отношении кахексии у антител к GDF15 06C11 (◆), Hu06C11-27 и Hu06C11-30 (▲) и контрольного IgG мыши (●) в дозе 2 мг/кг в ксенотрансплантатной модели фибросаркомы на мышах ICR-SCID, несущих опухоль HT-1080. Стрелкой указана интраперитонеальная инъекция антитела.

На фиг. 25 представлен график, обобщающий результаты эксперимента по определению ингибиторной активности в отношении кахексии у антител к GDF15 14F11 (▲), Hu14F11-39 и Hu14F11-47 (◆) и контрольного IgG мыши (●) в дозе 2 мг/кг в ксенотрансплантатной модели фибросаркомы на мышах ICR-SCID, несущих опухоль HT-1080. Стрелкой указана интраперитонеальная инъекция антитела.

На фиг. 26 представлен график, обобщающий результаты эксперимента по определению ингибиторной активности в отношении кахексии у антител к GDF15 Hu01G06-122 (▼), Hu01G06-127, Hu01G06-135 (◇), Hu01G06-138 (■) и Hu01G06-146(★) и контрольного IgG человека (●) в дозе 2 мг/кг в ксенотрансплантатной модели фибросаркомы на мышах ICR-SCID, несущих опухоль HT-1080. Стрелкой указана интраперитонеальная инъекция антитела.

На фиг. 27 представлен график, обобщающий результаты эксперимента по определению ингибиторной активности в отношении кахексии у антител к GDF15 Hu01G06-122 (▼), Hu01G06-127, Hu01G06-

135 (◇), Hu01G06-138 (■) и Hu01G06-146 (★) и контрольного IgG человека (●) в дозе 2 мг/кг в модели кахексии с использованием mFc-rhGDF15 на мышах ICR-SCID. Стрелкой указана интраперитонеальная инъекция антитела.

На фиг. 28 представлен график, обобщающий результаты эксперимента по определению доза-ответ для ингибиторной активности в отношении кахексии у антител к GDF15 Hu01G06-127 в дозе 20 мг/кг, 2 мг/кг (Δ) и 0,2 мг/кг (▽); Hu01G06-135 в дозе 20 мг/кг (■), 2 мг/кг (▲) и 0,2 мг/кг (▼) и контрольного IgG человека в дозе 20 мг/кг (●) в ксенотрансплантатной модели фибросаркомы на мышах ICR-SCID, несущих опухоль HT-1080. Стрелкой указана внутривенная инъекция антитела.

На фиг. 29A-29C представлены графики, обобщающие результаты эксперимента для демонстрации антикахектической активности антител к GDF15 Hu01G06-127 (■) в дозе 10 мг/кг в ксенотрансплантатной модели фибросаркомы на иммунонекомпетентных мышах (ICR-SCID), несущих опухоль HT-1080. Обработка антителом Hu01G06-127 обращала вспять потерю веса тела (фиг. 29A), индуцировала прирост массы жировой ткани гонад (фиг. 29B) и индуцировала прирост мышечной массы икроножной мышцы (фиг. 29C) по сравнению с отрицательным контролем (hIgG (●); фиг. 29A) на уровнях, аналогичных обнаруженным у мышей без опухоли (имитация инокуляции (▲); фиг. 29A). На фиг. 29A стрелками указана интраперитонеальная инъекция антитела.

Подробное описание

Антитела к GDF15, раскрытые в данном документе, имеют в своей основе антигенсвязывающие участки некоторых моноклональных антител, которые были выбраны на основе связывания и нейтрализации GDF15 человека (hGDF15). Антитела содержат последовательности CDR варибельной области иммуноглобулина, которые определяют участок связывания с hGDF15.

В силу нейтрализующей активности этих антител, они полезны для лечения кахексии и/или саркопении. Для применения в качестве терапевтических средств антитела можно конструировать так, чтобы минимизировать или устранить иммунный ответ при введении пациенту-человеку. Различные признаки и аспекты настоящего изобретения обсуждаются более подробно ниже.

Применяемое в данном документе выражение "кахексия" означает метаболический синдром, связанный с основным заболеванием и характеризующийся непреднамеренной потерей мышечной массы. Кахексия часто сопровождается непреднамеренной потерей веса, потерей массы жировой ткани, анорексией, воспалением, инсулинорезистентностью, усталостью, слабостью, значительным снижением аппетита и/или повышенным распадом мышечного белка. Кахексия отличается от голодания, возрастной потери мышечной массы, мальабсорбции и гипертиреоза. Основные заболевания, связанные с кахексией, включают рак, хроническую сердечную недостаточность, хроническое заболевание почек, COPD, AIDS, рассеянный склероз, ревматоидный артрит, сепсис и туберкулез.

Применяемое в данном документе выражение "саркопения" следует понимать как состояние, характеризующееся в первую очередь потерей массы скелетных мышц и мышечной силы. Саркопения часто связана со старением. См., Ruegg and Glass (2011) *Annual Rev. Pharmacol. Toxicol.* 51: 373-395. В одном подходе саркопения может быть идентифицирована у субъекта, если значение аппендикулярной массы скелетных мышц субъекта, деленное на рост субъекта в метрах, ниже среднего значения для нормально-молодого субъекта более чем на два стандартных отклонения. (Thomas (2007), выше; см. также Baumgartner et al. (1999) *MECH. AGEING Dev.* 147: 755-763).

Применяемое в данном документе, если не указано иное, выражение "антитело" означает интактное антитело (например, интактное моноклональное антитело) или антигенсвязывающий фрагмент антитела, включая интактное антитело или антигенсвязывающий фрагмент, которые были модифицированы или сконструированы, или которые являются антителом человека. Примерами антител, которые были модифицированы или сконструированы, являются химерные антитела, гуманизированные антитела и полиспецифические антитела (например, биспецифические антитела). Примеры антигенсвязывающих фрагментов включают Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, одноцепочечные антитела (например, scFv), минитела и диатела.

I. Антитела, связывающиеся с GDF15

Антитела, раскрытые в данном документе, содержат: (a) варибельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую структуру CDR_{H1}-CDR_{H2}-CDR_{H3}, и (b) варибельную область легкой цепи иммуноглобулина, содержащую структуру CDR_{L1}-CDR_{L2}-CDR_{L3}, где варибельная область тяжелой цепи и варибельная область легкой цепи совместно определяют один участок связывания для связывания с белком hGDF15.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит: (a) варибельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую структуру CDR_{H1}-CDR_{H2}-CDR_{H3}, и (b) варибельную область легкой цепи иммуноглобулина, где варибельная область тяжелой цепи и варибельная область легкой цепи совместно определяют один участок связывания для связывания с hGDF15. CDR_{H1} содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1 (01G06, 08G01, химерное Ch01G06, Hu01G06 IGHV1-18, Hu01G06 IGHV1-69, Sh01G06 IGHV1-18 M69L, Sh01G06 IGHV1-18 M69L K64Q G44S, Sh01G06 IGHV1-18 M69L K64Q, Sh01G06 IGHV1-69 T30S I69L, Sh01G06 IGHV1-69 T30S K64Q I69L, Hu01G06 IGHV1-18 F1, Hu01G06 IGHV1-18 F2, Hu01G06 IGHV1-69 F1, Hu01G06 IGHV1-69 F2), SEQ ID NO: 2 (03G05), SEQ ID NO: 3 (04F08), SEQ ID NO: 4 (06C11, химерное Ch06C11, HE LM

06C11IGHV2-70, Hu06C11 IGHV2-5), SEQ ID NO: 5 (14F11, химерное Ch14F11, Sh14F11 IGHV2-5, Sh14F11 IGHV2-70) и SEQ ID NO: 6 (17B11); CDR_{H2} содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 7 (01G06, химерное Ch01G06, Hu01G06 IGHV1-18, Hu01G06 IGHV1-69, Sh01G06 IGHV1-18 M69L, Sh01G06 IGHV1-69 T30S I69L), SEQ ID NO: 8 (03G05), SEQ ID NO: 9 (04F08, 06C11, химерное Ch06C11, Hu06C11 IGHV2-5), SEQ ID NO: 10 (08G01), SEQ ID NO: 11 (14F11, химерное Ch14F11, Sh14F11 IGHV2-5, Sh14F11 IGHV2-70), SEQ ID NO: 12 (17B11), SEQ ID NO: 13 (Sh01G06 IGHV1-18 M69L K64Q G44S, Sh01G06 IGHV1-18 M69L K64Q, Sh01G06 IGHV1-69 T30S K64Q I69L), SEQ ID NO: 236 (Hu01G06 IGHV1-18 F1), SEQ ID NO: 237 (Hu01G06 IGHV1-18 F2), SEQ ID NO: 238 (Hu01G06 IGHV1-69 F1), SEQ ID NO: 239 (Hu01G06 IGHV1-69 F2) и SEQ ID NO: 14 (HE LM 06C11 IGHV2-70); и CDR_{H3} содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 15 (01G06, 08G01, химерное Ch01G06, Hu01G06 IGHV1-18, Hu01G06 IGHV1-69, Sh01G06 IGHV1-18 M69L, Sh01G06 IGHV1-18 M69L K64Q G44S, Sh01G06 IGHV1-18 M69L K64Q, Sh01G06 IGHV1-69 T30S I69L, Sh01G06 IGHV1-69 T30S K64Q I69L, Hu01G06 IGHV1-18 F1, Hu01G06 IGHV1-18 F2, Hu01G06 IGHV1-69 F1, Hu01G06 IGHV1-69 F2), SEQ ID NO: 16 (03G05), SEQ ID NO: 17 (04F08), SEQ ID NO: 18 (06C11, химерное Ch06C11, HE LM 06C11 IGHV2-70, Hu06C11 IGHV2-5), SEQ ID NO: 19 (14F11, химерное Ch14F11, Sh14F11 IGHV2-5, Sh14F11 IGHV2-70) и SEQ ID NO: 20 (17B11). В данном описании за конкретным SEQ ID NO следует в скобках антитело, которое является источником этой последовательности. Например, "SEQ ID NO: 2 (03G05)" означает, что SEQ ID NO: 2 происходит из антитела 03G05.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую CDR_{H1}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1 (01G06, химерное Ch01G06, Hu01G06 IGHV1-18, Hu01G06 IGHV1-69, Sh01G06 IGHV1-69 T30SI69L, Hu01G06 IGHV1-18 F1, Hu01G06 IGHV1-18 F2, Hu01G06 IGHV1-69 F1, Hu01G06 IGHV1-69 F2), CDR_{H2}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7 (01G06, химерное Ch01G06, Hu01G06 IGHV1-18, Hu01G06 IGHV1-69, Sh01G06 IGHV1-69 T30S I69L), и CDR_{H3}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15 (01G06, химерное Ch01G06, Hu01G06 IGHV1-18, Hu01G06 IGHV1-69, Sh01G06 IGHV1-69 T30S I69L, Hu01G06 IGHV1-18 F1, Hu01G06 IGHV1-18 F2, Hu01G06 IGHV1-69 F1, Hu01G06 IGHV1-69 F2).

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую CDR_{H1}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2 (03G05), CDR_{H2}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8 (03G05), и CDR_{H3}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16 (03G05).

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую CDR_{H1}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3 (04F08), CDR_{H2}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9 (04F08), и CDR_{H3}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17 (04F08).

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую CDR_{H1}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4 (06C11, химерное Ch06C11, Hu06C11 IGHV2-5), CDR_{H2}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9 (06C11, химерное Ch06C11, Hu06C11 IGHV2-5), и CDR_{H3}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18 (06C11, химерное Ch06C11, Hu06C11 IGHV2-5).

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую CDR_{H1}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1 (08G01), CDR_{H2}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10 (08G01), и CDR_{H3}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15 (08G01).

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую CDR_{H1}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5 (14F11, химерное Ch14F11, Sh14F11 IGHV2-5, SM4F11 IGHV2-70), CDR_{H2}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11 (14F11, химерное Ch14F11, Sh14F11 IGHV2-5, Sh14F11 IGHV2-70), и CDR_{H3}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19 (14F11, химерное Ch14F11, Sh14F11 IGHV2-5, Sh14F11 IGHV2-70).

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую CDR_{H1}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6 (17B11), CDR_{H2}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12 (17B11), и CDR_{H3}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20 (17B11).

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую CDR_{H1}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1 (Sh01G06 IGHV1-18 M69L K64Q G44S, Sh01G06 IGHV1-18 M69L K64Q, Sh01G06 IGHV1-69 T30S K64Q I69L, Hu01G06 IGHV1-18 F1, Hu01G06 IGHV1-18 F2, Hu01G06 IGHV1-69 F1, Hu01G06 IGHV1-69 F2), CDR_{H2}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13 (Sh01G06 IGHV1-18 M69L K64Q G44S, Sh01G06 IGHV1-18 M69L K64Q, Sh01G06 IGHV1-69 T30S K64Q I69L) и CDR_{H3}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15 (Sh01G06 IGHV1-18 M69L K64Q G44S,

Sh01G06 IGHV1-18 M69L K64Q, Sh01G06 IGHV1-69 T30S K64Q I69L, Hu01G06 IGHV1-18 F1, Hu01G06 IGHV1-18 F2, Hu01G06 IGHV1-69 F1, Hu01G06 IGHV1-69 F2).

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую CDR_{H1}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1 (Sh01G06 IGHV1-18 M69L K64Q G44S, Sh01G06 IGHV1-18 M69L K64Q, Sh01G06 IGHV1-69 T30S K64Q I69L, Hu01G06 IGHV1-18 F1, Hu01G06 IGHV1-18 F2, Hu01G06 IGHV1-69 F1, Hu01G06 IGHV1-69 F2), CDR_{H2}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 236 (Hu01G06 IGHV1-18 F1), и CDR_{H3}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15 (Sh01G06 IGHV1-18 M69L K64Q G44S, Sh01G06 IGHV1-18 M69L K64Q, Sh01G06 IGHV1-69 T30S K64Q I69L, Hu01G06 IGHV1-18 F1, Hu01G06 IGHV1-18 F2, Hu01G06 IGHV1-69 F1, Hu01G06 IGHV1-69 F2).

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую CDR_{H1}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1 (Sh01G06 IGHV1-18 M69L K64Q G44S, Sh01G06 IGHV1-18 M69L K64Q, Sh01G06 IGHV1-69 T30S K64Q I69L, Hu01G06 IGHV1-18 F1, Hu01G06 IGHV1-18 F2, Hu01G06 IGHV1-69 F1, Hu01G06 IGHV1-69 F2), CDR_{H2}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 237 (Hu01G06 IGHV1-18 F2), и CDR_{H3}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15 (Sh01G06 IGHV1-18 M69L K64Q G44S, Sh01G06 IGHV1-18 M69L K64Q, Sh01G06 IGHV1-69 T30S K64Q I69L, Hu01G06 IGHV1-18 F1, Hu01G06 IGHV1-18 F2, Hu01G06 IGHV1-69 F1, Hu01G06 IGHV1-69 F2).

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую CDR_{H1}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1 (Sh01G06 IGHV1-18 M69L K64Q G44S, Sh01G06 IGHV1-18 M69L K64Q, Sh01G06 IGHV1-69 T30S K64Q I69L, Hu01G06 IGHV1-18 F1, Hu01G06 IGHV1-18 F2, Hu01G06 IGHV1-69 F1, Hu01G06 IGHV1-69 F2), CDR_{H2}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 238 (Hu01G06 IGHV1-69 F1), и CDR_{H3}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15 (Sh01G06 IGHV1-18 M69L K64Q G44S, Sh01G06 IGHV1-18 M69L K64Q, Sh01G06 IGHV1-69 T30S K64Q I69L, Hu01G06 IGHV1-18 F1, Hu01G06 IGHV1-18 F2, Hu01G06 IGHV1-69 F1, Hu01G06 IGHV1-69 F2).

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую CDR_{H1}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1 (Sh01G06 IGHV1-18 M69L K64Q G44S, Sh01G06 IGHV1-18 M69L K64Q, Sh01G06 IGHV1-69 T30S K64Q I69L, Hu01G06 IGHV1-18 F1, Hu01G06 IGHV1-18 F2, Hu01G06 IGHV1-69 F1, Hu01G06 IGHV1-69 F2), CDR_{H2}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 239 (Hu01G06 IGHV1-69 F2), и CDR_{H3}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15 (Sh01G06 IGHV1-18 M69L K64Q G44S, Sh01G06 IGHV1-18 M69L K64Q, Sh01G06 IGHV1-69 T30S K64Q I69L, Hu01G06 IGHV1-18 F1, Hu01G06 IGHV1-18 F2, Hu01G06 IGHV1-69 F1, Hu01G06 IGHV1-69 F2).

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую CDR_{H1}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4 (HE LM 06C11 IGHV2-70), CDR_{H2}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14 (HE LM 06C11 IGHV2-70), и CDR_{H3}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18 (HE LM 06C11 IGHV2-70).

Предпочтительно последовательности CDR_{H1}, CDR_{H2} и CDR_{H3} размещены между последовательностями FR полностью человеческого или гуманизированного иммуноглобулина.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит (а) вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, содержащую структуру CDR_{L1}-CDR_{L2}-CDR_{L3}, и (b) вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, где вариабельная область легкой цепи и вариабельная область тяжелой цепи совместно определяют один участок связывания для связывания с hGDF15. CDR_{L1} содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 21 (01G06, химерное Ch01G06, Hu01G06 IGKV1-39, Hu01G06 IGKV1-39 S43A V48I, Hu01G06 IGKV1-39 V48I, Hu01G06 IGKV1-39 F1, Hu01G06 IGKV1-39 F2), SEQ ID NO: 22 (03G05), SEQ ID NO: 23 (04F08, 06C11, химерное Ch06C11, Sh06C11 IGKV1-16, 14F11, химерное Ch14F11, Hu14F11 IGKV1-16), SEQ ID NO: 24 (08G01) и SEQ ID NO: 25 (17B11); CDR_{L2} содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 26 (01G06, химерное Ch01G06, Hu01G06 IGKV1-39, Hu01G06 IGKV1-39 S43A V48I, Hu01G06 IGKV1-39 V48I, Hu01G06 IGKV1-39 F1, Hu01G06 IGKV1-39 F2), SEQ ID NO: 27 (03G05), SEQ ID NO: 28 (04F08, 06C11, химерное Ch06C11, Sh06C11 IGKV1-16), SEQ ID NO: 29 (08G01), SEQ ID NO: 30 (14F11, химерное Ch14F11, Hu14F11 IGKV1-16) и SEQ ID NO: 31 (17B11); и CDR_{L3} содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 32 (01G06, химерное Ch01G06, Hu01G06 IGKV1-39, Hu01G06 IGKV1-39 S43A V48I, Hu01G06 IGKV1-39 V48I, 08G01, Hu01G06 IGKV1-39 F1), SEQ ID NO: 244 (Hu01G06 IGKV1-39 F2), SEQ ID NO: 33 (03G05), SEQ ID NO: 34 (04F08), SEQ ID NO: 35 (06C11, химерное Ch06C11, Sh06C11 IGKV1-16), SEQ ID NO: 36 (14F11, химерное Ch14F11, Hu14F11 IGKV1-16) и SEQ ID NO: 37 (17B11).

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, содержащую CDR_{L1}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21 (01G06, химерное Ch01G06, Hu01G06 IGKV1-39, Hu01G06 IGKV1-39 S43A V48I, Hu01G06 IGKV1-39

V48I, Hu01G06 IGKV1-39 F1, Hu01G06 IGKV1-39 F2), CDR_{L2}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26 (01G06, химерное Ch01G06, Hu01G06 IGKV1-39, Hu01G06 IGKV1-39 S43A V48I, Hu01G06 IGKV1-39 V48I, Hu01G06 IGKV1-39 F1, Hu01G06 IGKV1-39 F2), и CDR_{L3}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32 (01G06, химерное Ch01G06, Hu01G06 IGKV1-39, Hu01G06 IGKV1-39 S43A V48I, Hu01G06 IGKV1-39 V48I, Hu01G06 IGKV1-39 F1).

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, содержащую CDR_{L1}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21 (01G06, химерное Ch01G06, Hu01G06 IGKV1-39, Hu01G06 IGKV1-39 S43A V48I, Hu01G06 IGKV1-39 F1, Hu01G06 IGKV1-39 F2), CDR_{L2}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26 (01G06, химерное Ch01G06, Hu01G06 IGKV1-39, Hu01G06 IGKV1-39 S43A V48I, Hu01G06 IGKV1-39 V48I, Hu01G06 IGKV1-39 F1, Hu01G06 IGKV1-39 F2), и CDR_{L3}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 244 (Hu01G06 IGKV1-39 F2).

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, содержащую CDR_{L1}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22 (03G05), CDR_{L2}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27 (03G05), и CDR_{L3}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 33 (03G05).

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, содержащую CDR_{L1}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 23 (04F08), CDR_{L2}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28 (04F08), и CDR_{L3}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34 (04F08).

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, содержащую CDR_{L1}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 23 (06C11, химерное Ch06C11, Sh06C11 IGKV1-16), CDR_{L2}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28 (06C11, химерное Ch06C11, Sh06C11 IGKV1-16), и CDR_{L3}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35 (06C11, химерное Ch06C11, Sh06C11 IGKV1-16).

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, содержащую CDR_{L1}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24 (08G01), CDR_{L2}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29 (08G01), и CDR_{L3}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32 (08G01).

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, содержащую CDR_{L1}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 23 (14F11, химерное Ch14F11, Hu14F11 IGKV1-16), CDR_{L2}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30 (14F11, химерное Ch14F11, Hu14F11 IGKV1-16), и CDR_{L3}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 36 (14F11, химерное Ch14F11, Hu14F11 IGKV1-16).

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, содержащую CDR_{L1}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 25 (17B11), CDR_{L2}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 31 (17B11), и CDR_{L3}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37 (17B11).

Предпочтительно последовательности CDR_{L1}, CDR_{L2} и CDR_{L3} расположены между последовательностями FR полностью человеческого или гуманизированного иммуноглобулина.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит: (а) вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую структуру CDR_{H1}-CDR_{H2}-CDR_{H3}, и (b) вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, содержащую структуру CDR_{L1}-CDR_{L2}-CDR_{L3}, где вариабельная область тяжелой цепи и вариабельная область легкой цепи совместно определяют один участок связывания для связывания с белком hGDF15. CDR_{H1} представляет собой аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1 (01G06, 08G01, химерное Ch01G06, Hu01G06 IGHV1-18, Hu01G06 IGHV1-69, Sh01G06 IGHV1-18 M69L, Sh01G06 IGHV1-18 M69L K64Q G44S, Sh01G06 IGHV1-18 M69L K64Q, Sh01G06 IGHV1-69 T30S I69L, Sh01G06 IGHV1-69 T30S K64Q I69L, Hu01G06 IGHV1-18 F1, Hu01G06 IGHV1-18 F2, Hu01G06 IGHV1-69 F1, Hu01G06 IGHV1-69 F2), SEQ ID NO: 2 (03G05), SEQ ID NO: 3 (04F08), SEQ ID NO: 4 (06C11, химерное Ch06C11, HE LM 06C11 IGHV2-70, Hu06C11 IGHV2-5), SEQ ID NO: 5 (14F11, химерное Ch14F11, Sh14F11 IGHV2-5, Sh14F11 IGHV2-70) и SEQ ID NO: 6 (17B11); CDR_{H2} представляет собой аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 7 (01G06, химерное Ch01G06, Hu01G06 IGHV1-18, Hu01G06 IGHV1-69, Sh01G06 IGHV1-18 M69L, Sh01G06 IGHV1-69 T30S I69L), SEQ ID NO: 8 (03G05), SEQ ID NO: 9 (04F08, 06C11, химерное Ch06C11, Hu06C11 IGHV2-5), SEQ ID NO: 10 (08G01), SEQ ID NO: 11 (14F11, химерное Ch14F11, Sh14F11 IGHV2-5, Sh14F11 IGHV2-70), SEQ ID NO: 12 (17B11), SEQ ID NO: 13 (Sh01G06 IGHV1-18 M69L K64Q G44S, Sh01G06 IGHV1-18 M69L K64Q, Sh01G06 IGHV1-69 T30S K64Q I69L), SEQ ID NO: 236 (Hu01G06 IGHV1-18 F1), SEQ ID NO: 237 (Hu01G06 IGHV1-18 F2), SEQ ID NO: 238 (Hu01G06 IGHV1-69 F1), SEQ ID NO: 239 (Hu01G06 IGHV1-69 F2) и SEQ ID NO: 14 (HE LM 06C11 IGHV2-70); и CDR_{H3} представляет собой аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 15 (01G06, 08G01, химерное Ch01G06, Hu01G06 IGHV1-18, Hu01G06 IGHV1-69, Sh01G06 IGHV1-18 M69L, Sh01G06 IGHV1-18 M69L K64Q G44S, Sh01G06 IGHV1-18 M69L K64Q,

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит переменную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую CDR_{H1}, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1 и SEQ ID NO: 38 (Hu01G06 IGHV1-18 F2), CDR_{H2}, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 237 и SEQ ID NO: 241 (Hu01G06 IGHV1-18 F2), и CDR_{H3}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15 (Hu01G06 IGHV1-18 F2); и переменную область легкой цепи иммуноглобулина, содержащую CDR_{L1}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21 (Hu01G06 IGKV1-39 F2), CDR_{L2}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26 (Hu01G06 IGKV1-39 F2), и CDR_{L3}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 244 (Hu01G06 IGKV1-39 F2).

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит переменную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую CDR_{H1}, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1 и SEQ ID NO: 234 (Hu01G06 IGHV1-69 F2), CDR_{H2}, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 239 и SEQ ID NO: 240 (Hu01G06 IGHV1-69 F2), и CDR_{H3}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15 (Hu01G06 IGHV1-69 F2); и переменную область легкой цепи иммуноглобулина, содержащую CDR_{L1}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21 (Hu01G06 IGKV1-39 F1), CDR_{L2}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26 (Hu01G06 IGKV1-39 F1), и CDR_{L3}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32 (Hu01G06 IGKV1-39 F1).

- 9 -

CDR_{L2}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26 (Hu01G06 IGKV1-39 F2), и CDR_{L3}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 244 (Hu01G06 IGKV1-39 F2).

Антитела, раскрытые в данном документе, содержат вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина и вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 40 (01G06, химерное Ch01G06), SEQ ID NO: 42 (03G05), SEQ ID NO: 44 (04F08), SEQ ID NO: 46 (06C11, химерное Ch06C11), SEQ ID NO: 48 (08G01), SEQ ID NO: 50 (14F11, химерное Ch14F11), SEQ ID NO: 52 (17B11), SEQ ID NO: 54 (Hu01G06 IGHV1-18), SEQ ID NO: 56 (Hu01G06 IGHV1-69), SEQ ID NO: 58 (Sh01G06 IGHV1-18 M69L), SEQ ID NO: 60 (Sh01G06 IGHV1-18 M69L K64Q G44S), SEQ ID NO: 62 (Sh01G06 IGHV1-18 M69L K64Q), SEQ ID NO: 64 (Sh01G06 IGHV1-69 T30S I69L), SEQ ID NO: 66 (Sh01G06 IGHV1-69 T30S K64Q I69L), SEQ ID NO: 246 (Hu01G06 IGHV1-18 F1), SEQ ID NO: 248 (Hu01G06 IGHV1-18 F2), SEQ ID NO: 250 (Hu01G06 IGHV1-69 F1), SEQ ID NO: 252 (Hu01G06 IGHV1-69 F2), SEQ ID NO: 68 (HE LM 06C11 IGHV2-70), SEQ ID NO: 70 (Hu06C11 IGHV2-5), SEQ ID NO: 72 (Sh14F11 IGHV2-5) и SEQ ID NO: 74 (Sh14F11 IGHV2-70) и вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина.

В других вариантах осуществления антитело содержит вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 76 (01G06, химерное Ch01G06), SEQ ID NO: 78 (03G05), SEQ ID NO: 80 (04F08), SEQ ID NO: 82 (06C11, химерное Ch06C11), SEQ ID NO: 84 (08G01), SEQ ID NO: 86 (14F11, химерное Ch14F11), SEQ ID NO: 88 (17B11), SEQ ID NO: 90 (Hu01G06 IGKV1-39), SEQ ID NO: 92 (Hu01G06 IGKV1-39 S43A V48I или Hu01G06 IGKV1-39 F1), SEQ ID NO: 94 (Hu01G06 IGKV1-39 V48I), SEQ ID NO: 96 (Sh06C11 IGKV1-16), SEQ ID NO: 254 (Hu01G06 IGKV1-39 F2) и SEQ ID NO: 98 (Hu14F11 IGKV1-16); и вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 40 (01G06, химерное Ch01G06), SEQ ID NO: 42 (03G05), SEQ ID NO: 44 (04F08), SEQ ID NO: 46 (06C11, химерное Ch06C11), SEQ ID NO: 48 (08G01), SEQ ID NO: 50 (14F11, химерное Ch14F11), SEQ ID NO: 52 (17B11), SEQ ID NO: 54 (Hu01G06 IGHV1-18), SEQ ID NO: 56 (Hu01G06 IGHV1-69), SEQ ID NO: 58 (Sh01G06 IGHV1-18 M69L), SEQ ID NO: 60 (Sh01G06 IGHV1-18 M69L K64Q G44S), SEQ ID NO: 62 (Sh01G06 IGHV1-18 M69L K64Q), SEQ ID NO: 64 (Sh01G06 IGHV1-69 T30S I69L), SEQ ID NO: 66 (Sh01G06 IGHV1-69 T30S K64Q I69L), SEQ ID NO: 246 (Hu01G06 IGHV1-18 F1), SEQ ID NO: 248 (Hu01G06 IGHV1-18 F2), SEQ ID NO: 250 (Hu01G06 IGHV1-69 F1), SEQ ID NO: 252 (Hu01G06 IGHV1-69 F2), SEQ ID NO: 68 (HE LM 06C11 IGHV2-70), SEQ ID NO: 70 (Hu06C11 IGHV2-5), SEQ ID NO: 72 (Sh14F11 IGHV2-5) и SEQ ID NO: 74 (Sh14F11 IGHV2-70); и вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 76 (01G06, химерное Ch01G06), SEQ ID NO: 78 (03G05), SEQ ID NO: 80 (04F08), SEQ ID NO: 82 (06C11, химерное Ch06C11), SEQ ID NO: 84 (08G01), SEQ ID NO: 86 (14F11, химерное Ch14F11), SEQ ID NO: 88 (17B11), SEQ ID NO: 90 (Hu01G06 IGKV1-39), SEQ ID NO: 92 (Hu01G06 IGKV1-39 S43A V48I или Hu01G06 IGKV1-39 F1), SEQ ID NO: 94 (Hu01G06 IGKV1-39 V48I), SEQ ID NO: 96 (Sh06C11 IGKV1-16), SEQ ID NO: 254 (Hu01G06 IGKV1-39 F2) и SEQ ID NO: 98 (Hu14F11 IGKV1-16).

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40 (01G06, химерное Ch01G06), и вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 76 (01G06, химерное Ch01G06).

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 42 (03G05), и вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 78 (03G05).

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 44 (04F08), и вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 80 (04F08).

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 46 (06C11), и вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 82 (06C11).

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 48 (08G01), и вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 84 (08G01).

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50 (14F11), и вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность SEQ

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 74 (Sh14F11 IGHV2-70), и вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 98 (Hu14F11 IGKV1-16).

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 46 (химерное Ch06C11), и вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 80 (04F08).

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50 (химерное Ch14F11), и вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 80 (04F08).

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 44 (04F08), и вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 82 (химерное Ch06C11).

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50 (химерное Ch14F11), и вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 82 (химерное Ch06C11).

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 44 (04F08), и вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86 (химерное Ch14F11).

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 46 (химерное Ch06C11), и вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86 (химерное Ch14F11).

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 48 (08G01), и вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 76 (химерное Ch01G06).

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40 (химерное Ch01G06), и вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 84 (08G01).

В некоторых вариантах осуществления антитела, раскрытые в данном документе, содержат тяжелую цепь иммуноглобулина и легкую цепь иммуноглобулина. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь иммуноглобулина, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 100 (01G06), SEQ ID NO: 104 (03G05), SEQ ID NO: 108 (04F08), SEQ ID NO: 112 (06C11), SEQ ID NO: 116 (08G01), SEQ ID NO: 120 (14F11), SEQ ID NO: 124 (17B11), SEQ ID NO: 176 (химерное Ch01G06), SEQ ID NO: 178 (Hu01G06 IGHV1-18), SEQ ID NO: 180 (Hu01G06 IGHV1-69), SEQ ID NO: 182 (Sh01G06 IGHV1-18 M69L), SEQ ID NO: 184 (Sh01G06 IGHV1-18 M69L K64Q G44S), SEQ ID NO: 186 (Sh01G06 IGHV1-18 M69L K64Q), SEQ ID NO: 188 (Sh01G06 IGHV1-69 T30S I69L), SEQ ID NO: 190 (Sh01G06 IGHV1-69 T30S K64Q I69L), SEQ ID NO: 256 (Hu01G06 IGHV1-18 F1), SEQ ID NO: 258 (Hu01G06 IGHV1-18 F2), SEQ ID NO: 260 (Hu01G06 IGHV1-69 F1), SEQ ID NO: 262 (Hu01G06 IGHV1-69 F2), SEQ ID NO: 192 (химерное Ch06C11), SEQ ID NO: 194 (HE LM 06C11 IGHV2-70), SEQ ID NO: 196 (Hu06C11 IGHV2-5), SEQ ID NO: 198 (химерное Ch14F11), SEQ ID NO: 200 (Sh14F11 IGHV2-5) и SEQ ID NO: 202 (Sh14F11 IGHV2-70); и легкую цепь иммуноглобулина.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит легкую цепь иммуноглобулина, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 102 (01G06), SEQ ID NO: 106 (03G05), SEQ ID NO: 110 (04F08), SEQ ID NO: 114 (06C11), SEQ ID NO: 118 (08G01), SEQ ID NO: 122 (14F11), SEQ ID NO: 126 (17B11), SEQ ID NO: 204 (химерное Ch01G06), SEQ ID NO: 206 (Hu01G06 IGKV1-39), SEQ ID NO: 208 (Hu01G06 IGKV1-39 S43A V48I или Hu01G06 IGKV1-39 F1), SEQ ID NO: 210 (Hu01G06 IGKV1-39 V48I), SEQ ID NO: 264 (Hu01G06 IGKV1-39 F2), SEQ ID NO: 212 (химерное Ch06C11), SEQ ID NO: 214 (Sh06C11 IGKV1-16), SEQ ID NO: 216 (химерное Ch14F11) и SEQ ID NO: 218 (Hu14F11 IGKV1-16), и тяжелую цепь иммуноглобулина.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит (i) тяжелую цепь иммуноглобулина, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 100 (01G06), SEQ ID NO: 104 (03G05), SEQ ID NO: 108 (04F08), SEQ ID NO: 112 (06C11), SEQ ID NO: 116 (08G01), SEQ ID NO: 120 (14F11), SEQ ID NO: 124 (17B11), SEQ ID NO: 176 (химерное Ch01G06), SEQ ID NO: 178 (Hu01G06 IGHV1-18), SEQ ID NO: 180 (Hu01G06 IGHV1-69), SEQ ID NO: 182 (Sh01G06 IGHV1-18 M69L), SEQ ID NO: 184 (Sh01G06 IGHV1-18

иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 208 (Hu01G06 IGKV1-39 F1).

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 262 (Hu01G06 IGHV1-69 F2), и легкую цепь иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 264 (Hu01G06 IGKV1-39 F2).

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 194 (HE LM 06C11 IGHV2-70), и легкую цепь иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 214 (Sh06C11 IGKV1-16).

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 196 (Hu06C11 IGHV2-5), и легкую цепь иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 214 (Sh06C11 IGKV1-16).

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 200 (Sh14F11 IGHV2-5), и легкую цепь иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 218 (Hu14F11 IGKV1-16).

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 202 (Sh14F11 IGHV2-70), и легкую цепь иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 218 (Hu14F11 IGKV1-16).

В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело, которое связывается с hGDF15, содержит вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70, 75, 80, 85, 90, 95, 98 или 99% идентична полной вариабельной области или последовательности FR с SEQ ID NO: 40 (01G06, химерное Ch01G06), SEQ ID NO: 42 (03G05), SEQ ID NO: 44 (04F08), SEQ ID NO: 46 (06C11, химерное Ch06C11), SEQ ID NO: 48 (08G01), SEQ ID NO: 50 (14F11, химерное Ch14F11), SEQ ID NO: 52 (17B11), SEQ ID NO: 54 (Hu01G06 IGHV1-18), SEQ ID NO: 56 (Hu01G06 IGHV1-69), SEQ ID NO: 58 (Sh01G06 IGHV1-18 M69L), SEQ ID NO: 60 (Sh01G06 IGHV1-18 M69L K64Q G44S), SEQ ID NO: 62 (Sh01G06 IGHV1-18 M69L K64Q), SEQ ID NO: 64 (Sh01G06 IGHV1-69 T30S I69L), SEQ ID NO: 66 (Sh01G06 IGHV1-69 T30S K64Q I69L), SEQ ID NO: 246 (Hu01G06 IGHV1-18 F1), SEQ ID NO: 248 (Hu01G06 IGHV1-18 F2), SEQ ID NO: 250 (Hu01G06 IGHV1-69 F1), SEQ ID NO: 252 (Hu01G06 IGHV1-69 F2), SEQ ID NO: 68 (HE LM 06C11 IGHV2-70), SEQ ID NO: 70 (Hu06C11 IGHV2-5), SEQ ID NO: 72 (Sh14F11 IGHV2-5) и SEQ ID NO: 74 (Sh14F11 IGHV2-70).

В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело, которое связывается с hGDF15, содержит вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70, 75, 80, 85, 90, 95, 98 или 99% идентична полной вариабельной области или последовательности FR с SEQ ID NO: 76 (01G06, химерное Ch01G06), SEQ ID NO: 78 (03G05), SEQ ID NO: 80 (04F08), SEQ ID NO: 82 (06C11, химерное Ch06C11), SEQ ID NO: 84 (08G01), SEQ ID NO: 86 (14F11, химерное Ch14F11), SEQ ID NO: 88 (17B11), SEQ ID NO: 90 (Hu01G06 IGKV1-39), SEQ ID NO: 92 (Hu01G06 IGKV1-39 S43A V48I или Hu01G06 IGKV1-39 F1), SEQ ID NO: 94 (Hu01G06 IGKV1-39 V48I), SEQ ID NO: 254 (Hu01G06 IGKV1-39 F2), SEQ ID NO: 96 (Sh06C11 IGKV1-16) и SEQ ID NO: 98 (Hu14F11 IGKV1-16).

Идентичность последовательности может быть определена различными способами, которые находятся в пределах квалификации специалиста в данной области техники, например, с применением общедоступного компьютерного программного обеспечения, такого как программы BLAST, BLAST-2, ALIGN или Megalign (DNASTAR). BLAST-анализ (поисковый инструмент основного локального выравнивания) использует алгоритм, применяемый в программах blastp, blastn, blastx, tblastn и tblastx (Karlin et al., (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87: 2264-2268; Altschul, (1993) J. Mol. Evol. 36: 290-300; Altschul et al., (1997) Nucleic Acids Res. 25: 3389-3402, включенные в данный документ посредством ссылки), приспособленных для поиска сходства последовательностей. Для обсуждения основных вопросов по поиску в базах данных последовательностей см. Altschul et al., (1994) Nature Genetics 6:119-129, который полностью включен в данный документ посредством ссылки. Специалисты в данной области могут определить подходящие параметры для измерения выравнивания, включая любые алгоритмы, необходимые для достижения максимального выравнивания по всей длине сравниваемых последовательностей. Параметры поиска для гистограммы, описаний, выравниваний, ожидания (т.е. пороговое значение для статистической значимости регистрируемых совпадений с последовательностями в базе данных), отсечка, матрица и фильтр являются настройками по умолчанию. Используемая по умолчанию матрица оценивания, применяемая в blastp, blastx, tblastn и tblastx, представляет собой матрицу BLOSUM62 (Henikoff et al., (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 10915-10919, полностью включенный в данный документ посредством ссылки). Четыре параметра blastn могут быть настроены следующим образом: Q=10 (штраф за открытие гэпа); R=10 (штраф за продолжение гэпа); wink=1 (генерирует совпадения слов в каждом положении wink.sup.th вдоль последовательности запроса), а также gapw=16 (устанавливает ширину окна, в котором

генерируются выравнивания с гэпами). Эквивалентными настройками параметров Blastp могут быть Q=9; R=2; wink=1 и gapw=32. Поисковые запросы также можно проводить с применением параметра Advanced Option в BLAST от NCBI (Национального центра биотехнологической информации) (например: -G, цена за открытие гэпа [целое число]: по умолчанию = 5 для нуклеотидов/11 для белков; -E, цена за продолжение гэпа [целое число]: по умолчанию = 2 для нуклеотидов/1 для белков; -q, штраф за несопадение нуклеотидов [целое число]: по умолчанию = -3; -r, вознаграждение за совпадение нуклеотидов [целое число]: по умолчанию = 1; -e, ожидаемое значение [действительное число]: по умолчанию = 10; -W, размер слова [целое число]: по умолчанию = 11 для нуклеотидов/28 для megablast/3 для белков; -u, возврат (X) для blast-продолжений в битах: по умолчанию = 20 для blastn/7 для других; -X, X значение возврата для выравнивания с гэпами (в битах): по умолчанию =15 для всех программ, не применимо в blastn; и -Z, конечное значение возврата X для выравнивания с гэпами (в битах): 50 для blastn, 25 для других). Также может быть применена ClustalW для парных выравниваний белков (параметры по умолчанию могут включать, например, матрицу Blosum62, и штраф за открытие гэпа = 10 и штраф за продолжение гэпа = 0,1). Сравнение Bestfit между последовательностями, доступное в пакете GCG версии 10.0, использует параметры для ДНК GAP=50 (штраф за создание гэпа) и LEN=3 (штраф за продолжение гэпа). Эквивалентными параметрами в сравнении белков BestFit являются GAP=8 и LEN=2.

В каждом из вышеупомянутых вариантов осуществления в данном документе предполагается, что последовательности вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина и/или последовательности вариабельной области легкой цепи, которые вместе связываются с GDF15 человека, могут содержать изменения аминокислот (например, по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или 10 аминокислотных замен, делеций или добавлений) в каркасных участках вариабельных областей тяжелой и/или легкой цепей.

В некоторых вариантах осуществления антитела связываются с hGDF15 с K_D , составляющей приблизительно 300, 250, 200, 190, 180, 170, 160, 150, 140, 130, 120, 110, 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, или 10 пМ, или ниже. Если не указано иное, значения K_D определены методами поверхностного плазмонного резонанса или биослойной интерферометрии в условиях, описанных в примерах 8, 14 и 15.

В некоторых вариантах осуществления моноклональное антитело связывается с тем же эпитопом на hGDF15 (например, зрелом hGDF15 или отщепленном rhGDF15), с которым связывается одно или несколько из антител, раскрытых в данном документе (например, антител 01G06, 03G05, 04F08, 06C11, 08G01, 14F11 или 17B11). В некоторых вариантах осуществления моноклональное антитело конкурирует с одним или несколькими антителами, раскрытыми в данном документе (например, антителами 01G06, 03G05, 04F08, 06C11, 08G01, 14F11 или 17B11), за связывание с hGDF15.

Конкурентные анализы для определения того, связывается ли антитело с тем же эпитопом, что и антитело к GDF15, или конкурирует за связывание с антителом к GDF15, раскрытым в данном документе, известны из уровня техники. Иллюстративные конкурентные анализы включают иммунологические анализы (например, анализы ELISA, анализы RIA), анализ поверхностного плазмонного резонанса (например, с помощью инструмента BIAcore™), биослойную интерферометрию и проточную цитометрию.

Как правило, конкурентный анализ предполагает применение антигена (например, белка hGDF15 или его фрагмента), связанного с твердой поверхностью или экспрессируемого на клеточной поверхности, тестируемого GDF15-связывающего антитела к GDF15 и эталонного антитела (например, антитела 01G06, 03G05, 04F08, 06C11, 08G01, 14F11 или 17B11). Эталонное антитело метят, а тестируемое антитело остается немеченым. Конкурентное ингибирование измеряют путем определения количества меченого эталонного антитела, связанного с твердой поверхностью или клетками в присутствии тестируемого антитела. Обычно тестируемое антитело присутствует в избытке (например, в 1-кратном, 5-кратном, 10-кратном, 20-кратном или 100-кратном). Антитела, идентифицированные с помощью конкурентного анализа (т.е. конкурирующие антитела), включают антитела, связывающиеся с тем же эпитопом или с подобными (например, перекрывающимися) эпитопами, что и эталонное антитело, и антитела, связывающиеся с соседним эпитопом, достаточно близким к эпитопу, с которым связывается эталонное антитело, чтобы возникало стерическое несоответствие.

В иллюстративном конкурентном анализе эталонное антитело к GDF15 (например, антитело 01G06, 03G05, 04F08, 06C11, 08G01, 14F11 или 17B11) биотинилировали с применением коммерчески доступных реагентов. Биотинилированные эталонные антитела смешивали с серийными разведениями тестируемого антитела или немеченого эталонного антитела (контроль для определения "самоконкуренции") и получали смесь с различными молярными соотношениями (например, 1-кратным, 5-кратным, 10-кратным, 20-кратным или 100-кратным) тестируемого антитела (или немеченого эталонного антитела) и меченого эталонного антитела. Смесь антител добавляли в планшет для ELISA, покрытый полипептидом hGDF15. Затем планшет промывали и добавляли в планшет пероксидазу хрена (HRP), конъюгированную со стрептавидином, в качестве реагента для выявления. Количество меченого эталонного антитела, связанного с антигеном-мишенью, определяли после добавления хромогенного субстрата (например, ТМБ (3,3',5,5'-тетраметилбензидин) или ABTS (2,2"-азино-ди-(3-этилбензтиазолин-6-сульфонат)), которые известны из уровня техники. Показания оптической плотности (единицы OD) измеряли с помощью спектрометра SpectraMax® M2 (Molecular Devices). Единицы OD, соответствующие нулевому проценту ингибирования

ния, определяли в лунках без какого-либо конкурирующего антитела. Единицы OD, соответствующие 100% ингибированию, т.е. исходный уровень для анализа, определяли в лунках без меченого эталонного антитела или без тестируемого антитела. Процентное ингибирование меченого эталонного антитела к GDF15 тестируемым антителом (или немеченым эталонным антителом) в каждой концентрации рассчитывали следующим образом: $\% \text{ ингибирование} = (1 - (\text{единиц OD} - 100\% \text{ ингибирование}) / (0\% \text{ ингибирование} - 100\% \text{ ингибирование})) * 100$. Специалистам в данной области будет понятно, что конкурентный анализ может быть осуществлен с применением различных систем выявления, известных в данной области.

Конкурентный анализ может быть проведен в обоих направлениях, чтобы гарантировать, что присутствие метки не мешает или иным образом не ингибирует связывание. Например, в первом направлении метят эталонное антитело, а тестируемое антитело остается немеченым, и во втором направлении метят тестируемое антитело, а эталонное антитело остается немеченым.

Тестируемое антитело конкурирует с эталонным антителом за специфическое связывание с антигеном, если избыток одного антитела (например, 1-кратный, 5-кратный, 10-кратный, 20-кратный или 100-кратный) ингибирует связывание другого антитела, например, по меньшей мере на 50, 75, 90, 95 или 99%, что измеряют в конкурентном анализе связывания.

Два антитела связываются с тем же эпитопом, если, по сути, все аминокислотные мутации в антигене, которые снижают или устраняют связывание одного антитела, уменьшают или устраняют связывание другого. Два антитела связываются с перекрывающимися эпитопами, если только подмножество аминокислотных мутаций, которые уменьшают или устраняют связывание одного антитела, уменьшают или устраняют связывание другого.

II. Получение антител

Способы получения антител, таких как раскрытые в данном документе, известны в уровне техники. Например, молекулы ДНК, кодирующие вариабельные области легкой цепи и/или вариабельные области тяжелой цепи, можно химически синтезировать с использованием информации о последовательности, приведенной в данном документе. Синтетические молекулы ДНК можно лигировать с другими соответствующими нуклеотидными последовательностями, в том числе, например, последовательностями, кодирующими константную область, и последовательностями для контроля экспрессии, с получением общепринятых конструкций для экспрессии генов, кодирующих необходимые антитела. Получение определенных генных конструкций находится в пределах компетенции специалиста в данной области техники. Кроме того, последовательности, представленные в данном документе, можно клонировать из гибридом с помощью обычных методик гибридизации или методик на основе полимеразной цепной реакции (ПЦР) с применением синтетических зондов нуклеиновой кислоты, последовательности которых основаны на информации о последовательности, представленной в данном документе, или информации о последовательности из предшествующего уровня техники, что касается генов, кодирующих тяжелые и легкие цепи антител мыши в клетках гибридом.

Нуклеиновые кислоты, кодирующие необходимые антитела, можно внедрять (лигировать) в векторы экспрессии, которые можно вводить в клетки-хозяева с помощью общепринятых методик трансфекции или трансформации. Иллюстративные клетки-хозяева представляют собой клетки *E. coli*, клетки яичника китайского хомячка (CHO), клетки эмбриональной почки человека 293 (HEK 293), клетки HeLa, клетки почки новорожденного хомяка (ВНК), клетки почки обезьяны (COS), клетки гепатоцеллюлярной карциномы человека (например, Hep G2) и клетки миеломы, которые в ином случае не продуцируют белок IgG. Трансформированные клетки-хозяева можно выращивать в условиях, которые позволяют клеткам-хозяевам экспрессировать гены, которые кодируют вариабельные области легкой и/или тяжелой цепей иммуноглобулина.

Условия специфической экспрессии и очистки будут меняться в зависимости от задействованной системы экспрессии. Например, если ген должен экспрессироваться в *E. coli*, его сначала клонируют в вектор экспрессии путем помещения сконструированного гена ниже подходящего бактериального промотора, например, Trp или Tac, и прокариотической сигнальной последовательности. Экспрессируемый секретируемый белок накапливается в плотных телах или включениях и может быть собран после разрушения клеток с помощью френч-пресса или ультразвука. Плотные тела затем солибилизируют, а белки подвергают рефолдингу и расщеплению способами, известными в уровне техники.

Если сконструированный ген должен экспрессироваться в эукариотических клетках-хозяевах, например, клетках CHO, то сначала его встраивают в вектор экспрессии, содержащий подходящий эукариотический промотор, сигнал секреции, поли(A)-последовательность и стоп-кодон. Необязательно вектор или генная конструкция может содержать энхансеры и интроны. Такой вектор экспрессии необязательно содержит последовательности, кодирующие полную константную область или ее часть, что позволяет экспрессировать полную тяжелую или легкую цепь или ее часть. Генную конструкцию можно вводить в эукариотические клетки-хозяева с применением общепринятых методик. Клетки-хозяева экспрессируют V_L или V_H фрагменты, гетеродимеры V_L - V_H , одноцепочечные полипептиды V_H - V_L или V_L - V_H , полные тяжелые или легкие цепи иммуноглобулина или их части, причем каждую из них можно присоединять к фрагменту, имеющему другую функцию (например, цитотоксичность). В некоторых вариан-

тах осуществления клетку-хозяина трансфицируют одним вектором, экспрессирующим полипептид, с экспрессией полной тяжелой цепи или ее части (например, варибельной области тяжелой цепи) или полной легкой цепи или ее части (например, варибельной области легкой цепи). В некоторых вариантах осуществления клетку-хозяина трансфицируют одним вектором, кодирующим (а) полипептид, содержащий варибельную область тяжелой цепи, и полипептид, содержащий варибельную область легкой цепи; или (б) полную тяжелую цепь иммуноглобулина и полную легкую цепь иммуноглобулина. В некоторых вариантах осуществления клетку-хозяина подвергают совместной трансфекции более чем одним вектором экспрессии (например, одним вектором экспрессии, экспрессирующим полипептид, содержащий полную тяжелую цепь или ее часть или полную варибельную область тяжелой цепи или ее часть, и другим вектором экспрессии, экспрессирующим полипептид, содержащий полную легкую цепь или ее часть или полную варибельную область легкой цепи или ее часть).

Полипептид, содержащий варибельную область тяжелой цепи иммуноглобулина или варибельную область легкой цепи иммуноглобулина, можно получать путем выращивания (культивирования) клетки-хозяина, трансфицированной вектором экспрессии, кодирующим такую варибельную область, при условиях, которые допускают экспрессию полипептида. После экспрессии полипептид можно собирать и очищать или выделять с помощью методик, известных в уровне техники, например аффинных меток, таких как глутатион-S-трансферазные (GST) или гистидиновые метки.

Моноклональное антитело, которое связывается с hGDF15, или антигенсвязывающий фрагмент антитела можно получить путем выращивания (культивирования) клетки-хозяина, трансфицированной: (а) вектором экспрессии, кодирующим полную тяжелую цепь иммуноглобулина или ее часть, и отдельным вектором экспрессии, кодирующим полную легкую цепь иммуноглобулина или ее часть; или (б) одним вектором экспрессии, кодирующим обе цепи (например, полные легкую и тяжелую цепи или их части), при условиях, которые допускают экспрессию обеих цепей. Интактное антитело (или антигенсвязывающий фрагмент) можно собирать и очищать или выделять с помощью методик, известных в данной области, например, белка А, белка G, аффинных меток, таких как глутатион-S-трансферазные (GST) или гистидиновые метки. Экспрессия тяжелой цепи и легкой цепи из одного вектора экспрессии или из двух отдельных векторов экспрессии находится в пределах квалификации специалиста в данной области техники.

III. Модификации антител

Способы уменьшения или исключения антигенности антител и фрагментов антител известны в уровне техники. Если антитела следует вводить человеку, антитела предпочтительно "гуманизируют" для уменьшения или исключения антигенности у людей. Предпочтительно каждое гуманизированное антитело имеет такую же или практически такую же аффинность к антигену, что и негуманизированное антитело мыши, из которого оно было получено.

В одном подходе гуманизации создают химерные белки, в которых константные области иммуноглобулина мыши замещают на константные области иммуноглобулина человека. См., например, Morrison et al., 1984, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 81:6851-6855; Neuberger et al., 1984, *Nature* 312:604-608; патенты США №№ 6893625 (Robinson), 5500362 (Robinson) и 4816567 (Cabilly).

В подходе, известном как пересадка CDR, CDR варибельных областей легкой и тяжелой цепей пересаживают в каркасные области от другого вида. Например, мышинные CDR можно пересаживать в человеческие FR. В некоторых вариантах осуществления CDR варибельных областей легкой и тяжелой цепей антитела к GDF15 пересаживают в FR человека или консенсусные FR человека. Чтобы создать консенсусные FR человека, FR из нескольких аминокислотных последовательностей тяжелой цепи или легкой цепи человека выравнивают для определения консенсусной аминокислотной последовательности. Пересадки CDR описаны в патентах США №№ 7022500 (Queen), 6982321 (Winter), 6180370 (Queen), 6054297 (Carter), 5693762 (Queen), 5859205 (Adair), 5693761 (Queen), 5565332 (Hoogenboom), 5585089 (Queen), 5530101 (Queen); Jones et al. (1986) *Nature* 321: 522-525; Riechmann et al. (1988) *Nature* 332: 323-327; Verhoeven et al. (1988) *Science* 239: 1534-1536; и Winter (1998) *FEBS Lett* 430: 92-94.

В подходе, называемом "SUPERHUMANIZATION™", последовательности CDR человека выбирают из генов зародышевой линии человека на основе структурного сходства CDR человека с таковыми у антитела мыши, которое нужно гуманизировать. См., например, патент США № 6881557 (Foote); и Tan et al., 2002, *J. Immunol.* 169:1119-1125.

Другие способы снижения иммуногенности включают "реконструирование", "гиперхимеризацию" и "рекомбинацию/изменение поверхностных остатков". См., например, Vaswami et al., 1998, *Annals of Allergy, Asthma, & Immunol.* 81:105; Roguska et al., 1996, *Prot. Engineer* 9:895-904; и патент США № 6072035 (Hardman). В подходе рекомбинации/изменения поверхностных остатков доступные поверхностные аминокислотные остатки в антителе мыши замещают аминокислотными остатками, которые чаще обнаруживают в тех же положениях в антителе человека. Этот тип изменения поверхностных остатков антител описан, например, в патенте США № 5639641 (Pedersen).

Другой подход для преобразования антител мыши в форму, подходящую для медицинского применения у людей, известен как технология ACTIVMAV™ (Vaccinex, Inc, Рочестер, Нью-Йорк), которая

включает вектор, основанный на вирусе коровьей оспы, для экспрессии антител в клетках млекопитающих. Как утверждается, при этом получают высокие уровни комбинаторного разнообразия тяжелых и легких цепей IgG. См., например, патенты США № 6706477 (Zauderer), 6800442 (Zauderer) и 6872518 (Zauderer).

Другим подходом для преобразования антитела мыши в форму, подходящую для применения у людей, является технология, которая коммерчески применяется на практике в KaloBios Pharmaceuticals, Inc (Пало-Альто, Калифорния). Эта технология включает применение частной библиотеки "акцепторов" человека для получения "эпитоп-сфокусированной" библиотеки для отбора антител.

Другим подходом для модификации антитела мыши в форму, подходящую для применения у людей, является технология HUMAN ENGINEERING™, которая коммерчески применяется на практике в XOMA (US), LLC. См., например, публикацию РСТ № WO 93/11794 и патенты США №№ 5766886 (Studnicka), 5770196 (Studnicka), 5821123 (Studnicka) и 5869619 (Studnicka).

Любой подходящий подход, в том числе любой из вышеперечисленных подходов, можно применять для снижения или исключения иммуногенности антитела у человека.

Кроме того, можно создавать полностью человеческие антитела на мышах.

Полностью человеческие mAb, лишенные каких-либо последовательностей, отличных от человеческих, могут быть получены из трансгенных мышей с генами иммуноглобулина человека с помощью методик, упомянутых, например, в Lonberg et al., *Nature* 368:856-859, 1994; Fishwild et al., *Nature Biotechnology* 14:845-851, 1996; и Mendez et al., *Nature Genetics* 15:146-156, 1997. Полностью человеческие mAb также могут быть получены и оптимизированы из библиотек фагового дисплея с помощью методик, упомянутых, например, в Knappik et al., *J. Mol. Biol.* 296:57-86, 2000 и Krebs et al., *J. Immunol. Meth.* 254:67-84 2001).

IV. Терапевтические применения

Антитела, раскрытые в данном документе, могут быть применены при лечении различных нарушений, например, кахексии и/или саркопении. В некоторых вариантах осуществления антитела, раскрытые в данном документе (например, 01G06, 03G05, 04F08, 06C11, 08G01, 14F11 или 17B11), применяют для ингибирования потери мышечной массы, например потери мышечной массы, связанной с основным заболеванием. Основные заболевания, связанные с кахексией, включают без ограничения рак, хроническую сердечную недостаточность, хроническое заболевание почек, COPD, AIDS, рассеянный склероз, ревматоидный артрит, сепсис и туберкулез. В некоторых вариантах осуществления раскрытые антитела ингибируют потерю мышечной массы по меньшей мере на 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 98, 99 или 100%.

В некоторых вариантах осуществления потеря мышечной массы сопровождается потерей массы жировой ткани. Антитела, раскрытые в данном документе (например, 01G06, 03G05, 04F08, 06C11, 08G01, 14F11 или 17B11), могут ингибировать потерю массы жировой ткани по меньшей мере на 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 98, 99 или 100%.

В других вариантах осуществления антитела, раскрытые в данном документе (например, 01G06, 03G05, 04F08, 06C11, 08G01, 14F11 или 17B11), применяют при лечении одного или нескольких признаков, сопровождающих кахексию и/или саркопению, например, непреднамеренной потери массы тела. В некоторых вариантах осуществления антитела обращают вспять непреднамеренную потерю веса тела по меньшей мере на 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30 или 35%.

В другом варианте осуществления антитела, раскрытые в данном документе (например, 01G06, 03G05, 04F08, 06C11, 08G01, 14F11 или 17B11), применяют для ингибирования потери массы органа, например, потери массы органа, связанной с основным заболеванием. Основные заболевания, связанные с кахексией, включают, без ограничения, рак, хроническую сердечную недостаточность, хроническое заболевание почек, COPD, AIDS, рассеянный склероз, ревматоидный артрит, сепсис и туберкулез. В некоторых вариантах осуществления раскрытые антитела ингибируют потерю массы органа по меньшей мере на 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 98, 99 или 100%. В некоторых вариантах осуществления потеря массы органа наблюдается в сердце, печени, почке и/или селезенке. В некоторых вариантах осуществления потеря массы органа сопровождается потерей мышечной массы, потерей массы жировой ткани и/или непреднамеренной потерей веса.

Антитело 01G06, 03G05, 04F08, 06C11, 08G01, 14F11 или 17B11 можно применять в терапии. Например, антитело 01G06, 03G05, 04F08, 06C11, 08G01, 14F11 или 17B11 можно применять для лечения кахексии и/или саркопении. Применение антитела 01G06, 03G05, 04F08, 06C11, 08G01, 14F11 или 17B11 для лечения кахексии и/или саркопении у млекопитающего включает введение млекопитающему терапевтически эффективного количества антитела.

Саркопения, нарушения трофики мышц и значительная потеря мышечного веса могут происходить в отсутствие кахексии, пониженного аппетита или снижения веса тела. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления одно или несколько антител к GDF по настоящему изобретению (например, антитело 01G06, 03G05, 04F08, 06C11, 08G01, 14F11 или 17B11) можно применять для лечения субъекта, страдающего от саркопении, нарушения трофики мышц и/или значительной потери мышечного веса, или субъекта, у которого была диагностирована саркопения, нарушение трофики мышц и/или значительная потеря мышечного веса, независимо от того, имеет ли субъект, кахексию или снижение аппетита, или

они были у него диагностированы, или нет. Такой способ включает введение терапевтически эффективного количества одного или нескольких антител по настоящему изобретению субъекту, который нуждается в этом.

Слитые белки Fc-rhGDF15, раскрытые в данном документе, могут быть применены при лечении ожирения. В некоторых вариантах осуществления слитые белки hFc-rhGDF15, раскрытые в данном документе, применяют для ингибирования набора веса или для уменьшения веса тела по меньшей мере на 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 или 50%. Применение слитого белка hFc-hGDF15 для лечения ожирения у млекопитающего включает введение указанному млекопитающему терапевтически эффективного количества слитого белка.

Применяемые в данном документе выражения "лечить", "осуществлять лечение" и "лечение" означают лечение заболевания у млекопитающего, например у человека. Это включает в себя: (а) ингибирование заболевания, т.е. купирование его развития, и (и) облегчение заболевания, т.е. обеспечение регрессии болезненного состояния.

Обычно терапевтически эффективное количество активного компонента (например, антитела или слитого белка) находится в диапазоне от 0,1 до 100 мг/кг, например от 1 до 100 мг/кг, например от 1 до 10 мг/кг, например от 2,0 до 10 мг/кг. Вводимое количество будет зависеть от таких переменных, как тип и степень заболевания, или симптома, который нужно лечить, от общего состояния здоровья пациента, активности антитела или слитого белка *in vivo*, фармацевтического состава, периода полувыведения антитела или слитого белка из крови и пути введения. Начальная доза может повышаться за пределы верхнего уровня для того, чтобы быстро достичь желаемого уровня в крови или ткани. Кроме того, начальная доза может быть меньше оптимума, и дозу можно постепенно увеличивать в течение курса лечения. Дозу для человека можно оптимизировать, например, в стандартном исследовании с увеличением дозы из Фазы I, разработанном для серии опытов от 0,5 до 20 мг/кг. Частота доз может варьировать в зависимости от таких факторов, как путь введения, размер дозы, период полувыведения антитела или слитого белка из крови и болезнь, подлежащая лечению. Иллюстративные частоты доз составляют раз в день, раз в неделю и раз в две недели. В некоторых вариантах осуществления дозирование осуществляется один раз в две недели. Предпочтительным путем введения является парентеральный, например, внутривенная инфузия. Состав лекарственных препаратов на основе моноклонального антитела и лекарственных препаратов на основе слитого белка находится в пределах обычной практики в данной области. В некоторых вариантах осуществления антитело или слитый белок лиофилизируют, а затем восстанавливают в забуференном физиологическом растворе во время введения. Эффективное количество второго активного средства, например, противоопухолевого средства или других средств, обсуждаемых ниже, также будет соответствовать принципам, которые обсуждались выше, и будет выбрано таким образом, чтобы добиться требуемого терапевтического благоприятного воздействия у пациента.

Для терапевтического применения антитело предпочтительно комбинируют с фармацевтически приемлемым носителем. Применяемое в данном документе выражение "фармацевтически приемлемый носитель" означает буферы, носители и наполнители, подходящие для применения при контакте с тканями человека и животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции или другой проблемы или осложнения, соизмеримых с разумным соотношением польза/риск. Носитель(носители) должен(должны) быть "приемлемым(приемлемыми)" в смысле совместимости с другими ингредиентами составов и не быть вредным(вредными) для реципиента. Фармацевтически приемлемые носители включают буферы, растворители, дисперсионные среды, покрытия, изотонические и замедляющие абсорбцию средства и т.п., которые совместимы с фармацевтическим введением. Применение таких сред и средств для фармацевтически активных веществ известно в данной области техники.

Фармацевтические композиции, содержащие антитела или слитые белки, такие как раскрытые в данном документе, могут присутствовать в форме единичной дозы и могут быть получены любым подходящим способом. Фармацевтическая композиция должна быть составлена таким образом, чтобы быть совместимой с предполагаемым путем ее введения. Примерами путей введения являются внутривенное (IV), внутрикожное, ингаляционное, трансдермальное, местное, трансмукозальное и ректальное введение. Предпочтительным путем введения моноклональных антител является IV инфузия. Подходящие составы можно получать способами, известными в фармацевтической области. Например, см. Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th ed. (Mack Publishing Company, 1990). Компоненты состава, подходящие для парентерального введения, включают стерильный разбавитель, такой как вода для инъекций, физиологический раствор, нелетучие масла, полиэтиленгликоли, глицерин, пропиленгликоль или другие синтетические растворители; антибактериальные средства, такие как бензиловый спирт или метилпарабен; антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота или бисульфит натрия; хелатообразующие средства, такие как EDTA; буферы, такие как ацетатные, цитратные или фосфатные, и средства для регулирования тоничности, такие как хлорид натрия или декстроза.

Подходящие носители для внутривенного введения включают физиологический раствор, бактериостатическую воду, CremoPhor ELTM (BASF, Парсиппани, Нью-Джерси) или фосфатно-солевой буфер (PBS). Носитель должен быть стабильным при условиях производства и хранения, а также должен быть защищен от микроорганизмов. Носитель может быть растворителем или дисперсионной средой, содер-

жащей, например, воду, этанол, полиол (например, глицерин, пропиленгликоль и жидкий полиэтиленгликоль) и их подходящие смеси.

Фармацевтические составы предпочтительно являются стерильными. Стерилизация может выполняться, например, путем фильтрации через стерильные фильтрационные мембраны. Если композицию лиофилизируют, стерилизацию фильтрованием можно проводить до или после лиофилизации и восстановления.

Другие цитокины, участвующие в развитии кахексии наряду с путем GDF15 (т.е. MIC-1/PLAB/PDF/NAG-1), включают активин А и IL-6. Была выявлена связь повышенных уровней активина со связанной с раком кахексией и опухолями половых желез. См., например, Marino et al. (2013) CYTOKINE & GROWTH FACTOR REV. 24:477-484. Активин А является членом семейства TGF-бета и лигандом активинового рецептора 2 типа, ActRIIB. См., например, Zhou et al. (2010) CELL 142:531-543. Было продемонстрировано, что уровни циркулирующего IL-6 коррелируют с потерей веса у онкологических больных, а также со снижением выживаемости. См., например, Fearon et al. (2012) CELL METABOLISM 16:153-166.

Соответственно, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения один или несколько ингибиторов активина А или рецептора активина А, ActRIIB, IL-6 или рецептора IL-6 (IL-6R) могут быть введены в комбинации с (например, введены одновременно, введены до или введены после) анти-телом по настоящему изобретению, которое ингибирует активность GDF-15. Иллюстративные ингибиторы активина А или ActRIIB включают, например, антитело к активину А или его антигенсвязывающий фрагмент, антитело к ActRIIB или его антигенсвязывающий фрагмент, малую молекулу-ингибитор активина А, малую молекулу-ингибитор ActRIIB и рецептор-"ловушку" для ActRIIB, такой как растворимый рецептор ActRIIB, и слитый белок на основе растворимого рецептора ActRIIB и молекулы Fc (ActRIIB-Fc). См., например, Zhou et al. (2010), выше. Подходящие ингибиторы IL-6 или IL-6R включают антитело к IL-6 или его антигенсвязывающий фрагмент, антитело к IL-6R или его антигенсвязывающий фрагмент, малую молекулу-ингибитор IL-6, малую молекулу ингибитор-IL-6R и рецептор-"ловушку" для IL-6R, такой как растворимый рецептор IL-6, и слитый белок на основе растворимого рецептора IL-6 и молекулы Fc (IL6R-Fc). См., например, Enomoto et al. (2004) BIOCHEM. AND BIOPHYS. RES. COMM. 323:1096-1102; Argiles et al. (2011) EUR. J. PHARMACOL. 668:S81-S86; Tuca et al. (2013) ONCOLOGY/HEMATOLOGY 88:625-636. Подходящие ингибиторы IL-6 или IL-6R могут включать, например, тоцилизумаб (Actemra®, Hoffmann-LaRoche), гуманизированное моноклональное антитело к IL-6R, одобренное для лечения ревматоидного артрита; и сарилумаб/REGN88 (Regeneron), гуманизированное антитело к IL6R в клинической разработке для лечения ревматоидного артрита; и селуметиниб/AZD6244 (AstraZeneca), аллостерический ингибитор MEK, который продемонстрировал ингибирование выработки IL-6. Prado et al. (2012) BRITISH J. CANCER 106:1583-1586.

TNF α и IL-1 являются цитокинами, которые, как известно, включены в опосредование провоспалительного ответа, и которые также вовлечены в истощение мышц, анорексию и кахексию. Оказывается, что повышенные уровни циркулирующего TNF α ингибируют миогенез. TNF α , также известный как "кахектин", стимулирует секрецию интерлейкина-1 и вовлечен в индукцию кахексии. IL-1 является мощным триггером острой фазы воспалительного ответа, и было продемонстрировано, что инфузия IL-1 может привести к заметной потере веса и потери аппетита. Было продемонстрировано, что IL-1 вносит вклад в иницирование связанной с раком кахексии у мышей с аденокарциномой толстой кишки-26 мыши (Strassmann et al. (1993) J. IMMUNOL. 150:2341). См. также, Mathys and Billiau (1997) NUTRITION 13:763-770; Fong et al. (1989) AM. J. PHYSIOL. - REGULATORY, INTEGRATIVE AND COMPARATIVE PHYSIOL., 256:R659-R665. Таким образом, ингибиторы TNF α и ингибиторы IL-1, применяемые при лечении ревматоидного артрита, также могут быть полезны при лечении кахексии.

Соответственно, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения один или несколько ингибиторов TNF α или IL-1 могут быть введены в комбинации с (например, введены одновременно, введены до или введены после) анти-телом по настоящему изобретению, которое ингибирует активность GDF-15. Подходящие ингибиторы TNF α или IL-1 включают антитело к TNF α или его антигенсвязывающий фрагмент, антитело к IL-1 или его антигенсвязывающий фрагмент, малую молекулу-ингибитор TNF α или IL-1, и рецептор-"ловушку" для TNF α или IL-1, такой как растворимый рецептор TNF α или IL-1, и слитый белок на основе растворимой формы TNF α или IL-1 и молекулы Fc. Подходящие ингибиторы TNF α включают, например, этанерцепт (Enbrel®, Pfizer/Amgen), инфликсимаб (Remicade®, Janssen Biotech), адалимумаб (Humira®, Abbvie), голимумаб (Simponi®, Johnson and Johnson/Merck) и цертолизумаб пегол (Cimzia®, UCB). Подходящие ингибиторы IL-1 включают, например, антитело Xilonix® к IL-1 α (XBiotech), анакинру (Kinaret®, Amgen), канакинумаб (Ilaris®, Novartis) и рилонацепт (Arcalyst®, Regeneron). В некоторых вариантах осуществления ингибитор TNF α или ингибитор IL-1, которые, как правило, вводят системно при лечении ревматоидного артрита, можно вводить местно и непосредственно в опухоль.

Миостатин, также известный как GDF-8, является членом семейства пептидов TGF- β и отрицательным регулятором мышечной массы, что продемонстрировано увеличением мышечной массы у млекопи-

тающих с дефицитом миостатина. Миостатин является лигандом активинового рецептора 2 типа, ActRIIB. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения один или несколько ингибиторов миостатина или его рецептора могут быть введены в комбинации с (например, введены одновременно, введены до или введены после) антителом по настоящему изобретению, которое ингибирует активность GDF-15. Подходящие ингибиторы миостатина или ActRIIB включают антитело к миостатину или его антигенсвязывающий фрагмент, антитело к ActRIIB или его антигенсвязывающий фрагмент, малую молекулу-ингибитор миостатина, малую молекулу ингибитора ActRIIB и рецептор-"ловушку" для GDF-8, такой как растворимый ActRIIB, и слитый белок на основе растворимого ActRIIB и молекулы Fc. См., например, Lokireddy et al. (2012) BIOCHEM. J. 446(1):23-26. Ингибиторы миостатина, которые могут быть подходящими для настоящего изобретения, включают REGN1033 (Regeneron); см. Bauerlein et al. (2013) J. CACHEXIA SARCOPENIA MUSCLE: тезисы докладов 7-й конференции по кахексии, Кобе/Осака, Япония, 9-11 декабря 2013 г., тезис 4-06; LY2495655 (Lilly), гуманизированное антитело к миостатину в клинической разработке Eli Lilly; см. также "A PHASE 2 STUDY OF LY2495655 IN PATIENTS WITH PANCREATIC CANCER", доступна на www.clinicaltrials.gov/ct2/NCT01505530; идентификатор NML: NCT01505530; ACE-031 (Acceleron Pharma); и стамулумаб (Pfizer).

Такие средства, как грелин или миметики грелина, или другие стимуляторы секреции гормона роста (GHS), которые способны активировать рецептор GHS (GHS-R1a), также известный как грелиновый рецептор, могут быть полезны для увеличения потребления пищи и веса тела у человека. См. Guillory et al. (2013) в VITAMINS AND HORMONES vol. 92, chap.3; и Steinman и DeBoer (2013) VITAMINS AND HORMONES vol. 92, chap. 8. Подходящие миметики грелина включают анаморелин (Helsinn, Лугано, Швейцария); см. Temel et al. (2013) J. CACHEXIA SARCOPENIA MUSCLE: тезисы докладов 7-й конференции по кахексии, Кобе/Осака, Япония, 9-11 декабря 2013 г., тезис 5-01. Другие подходящие молекулы GHS могут быть идентифицированы, например, с помощью конкурентного анализа с рецептором для стимулятора секреции гормона роста и грелином, описанного в публикациях PCT №№ WO 2011/117254 и WO 2012/113103.

Агонисты андрогенового рецептора, включая малые молекулы и другие селективные модуляторы андрогенового рецептора (SARM), могут быть полезны для лечения кахексии и/или саркопении. См., например, Mohler et al. (2009) J. MED. Chem. 52:3597-3617; Nagata et al. (2011) BIOORGANIC AND MED. CHEM. LETTERS 21:1744-1747; и Chen et al. (2005) MOL. INTERV. 5: 173-188. В идеальном случае SARM должны действовать как полноценные агонисты, подобно тестостерону, в анаболических тканях-мишенях, таких как мышцы и кости, но должны демонстрировать только частичную или чистую антагонистическую активность в отношении андрогенового рецептора в ткани предстательной железы. См., например, Bovee et al. (2010) J. STEROID BIOCHEM. & MOL. BIOL. 118:85-92. Подходящие SARM могут быть идентифицированы, например, с применением способов и анализов, описанных в Zhang et al. (2006) BIOORG. MED. CHEM. LETT. 16:5763-5766; и Zhang et al. (2007) Bioorg. Med. Chem. Lett. 17:439-443. Подходящие SARM включают, например, GTx-024 (энобосарм, Ostarine®, GTx, Inc.), SARM в фазе II клинической разработки от компании GTx, Inc. См. также Dalton et al. (2011) J. CACHEXIA SARCOPENIA MUSCLE 2:153-161. Другие подходящие SARM включают 2-(2,2,2)-трифторэтил-бензимидазолы (Ng et al. (2007) BIOORG. MED. CHEM. LETT. 17:1784-1787) и JNJ-26146900 (Allan et al. (2007) J. STEROID BIOCHEM. & MOL. BIOL. 103:76-83).

Блокаторы β-адренергических рецепторов или бета-блокаторы были изучены в отношении их влияния на вес тела у субъектов с кахексией, и их связывают с частичной регрессией кахексии у больных с застойной сердечной недостаточностью. См., например, Hryniewicz et al. (2003) J. CARDIAC FAILURE 9:464-468. Бета-блокатор MT-102 (PsiOxus Therapeutics, Ltd.) прошел испытания в фазе 2 клинического исследования у пациентов с опухолевой кахексией. См. Coats et al. (2011) J. CACHEXIA SARCOPENIA MUSCLE 2:201-207.

Нокаутные по меланокортиновому рецептору мыши с генетическим дефектом в пути передачи сигнала с использованием меланокортина демонстрируют фенотип, противоположный кахексии: повышенный аппетит, увеличение мышечной массы тела и снижение обмена веществ. Таким образом, антагонизм меланокортина выявил способ потенциального лечения кахексии, связанной с хроническим заболеванием (DeBoer и Marks (2006) TRENDS IN ENDOCRINOLOGY AND METABOLISM 17:199-204). Соответственно, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения один или несколько ингибиторов пептида меланокортина или меланокортинового рецептора могут быть введены в комбинации (например, введены одновременно, введены до или введены после) с антителом по настоящему изобретению, которое ингибирует активность GDF-15. Подходящие ингибиторы меланокортинов или меланокортиновых рецепторов включают антитело к пептиду меланокортина или его антигенсвязывающий фрагмент, антитело к меланокортиновому рецептору или его антигенсвязывающий фрагмент, малую молекулу-ингибитор пептида меланокортина, малую молекулу-ингибитор меланокортинового рецептора и рецептор-"ловушку" для меланокортинового рецептора, такой как растворимый меланокортиновый рецептор, и слитый белок на основе растворимого меланокортинового рецептора и молекулы Fc. Подходящие ингибиторы меланокортиновых рецепторов включают, например, антагонист меланокортинового рецеп-

тора - пептид, родственный белку агути, (AgRP(83-132)), который продемонстрировал предотвращение симптомов, связанных кахексией в мышинной модели кахексии, связанной с раком (Jorpa et al. (2007) PEPTIDES 28: 636-642).

Противоопухолевые средства, особенно те, которые могут вызывать кахексию и повышать уровни GDF-15, такие как цисплатин, могут быть применены в способах по настоящему изобретению в комбинации с (например, введены одновременно, введены до или введены после) антителом к GDF-15 по настоящему изобретению. Многие пациенты с раком ослаблены в результате жестких курсов радио- и/или химиотерапии, что может ограничить способность пациента переносить такие способы терапии и, следовательно, ограничить схему приема. Некоторые противоопухолевые средства, такие как фторурацил, адриамицин, метотрексат и цисплатин, сами по себе способствуют развитию кахексии, например, индуцируя тяжелые желудочно-кишечные осложнения. См., например, Inui (2002) CANCER J. FOR CLINICIANS 52:72-91. Способами по настоящему изобретению, в которых противоопухолевое средство вводят в комбинации с антителом к GDF-15 по настоящему изобретению, можно снизить частоту случаев возникновения и/или тяжесть кахексии и, в конечном счете, повысить максимальную переносимую дозу такого противоопухолевого средства. Соответственно, эффективность лечения противоопухолевыми средствами, которые могут вызывать кахексию, можно улучшить за счет снижения частоты возникновения кахексии в качестве ограничивающего дозу неблагоприятного эффекта, и за счет обеспечения возможности введения более высоких доз данного противоопухолевого средства.

Таким образом, настоящее изобретение включает фармацевтические композиции, содержащие антитело к GDF-15 по настоящему изобретению в комбинации со средством, выбранным из группы, состоящей из: ингибитора активина А, ингибитора ActRIIB, ингибитора IL-6 или ингибитора IL-6R, грелина, миметика грелина или агониста GHS-R1a, SARM, ингибитора TNF α , ингибитора IL-1 α , ингибитора миостатина, бета-блокатора, ингибитора пептида меланокортина, ингибитора меланокортинового рецептора и противоопухолевого средства. Настоящее изобретение также включает способы лечения, профилактики или минимизации развития кахексии и/или саркопении у млекопитающего, включающие введение млекопитающему, которое нуждается в этом, фармацевтической композиции или композиций, содержащих эффективное количество антитела к GDF-15 по настоящему изобретению в комбинации с эффективным количеством ингибитора активина А, ингибитора ActRIIB, ингибитора IL-6 или ингибитора IL-6R, грелина, миметика грелина или агониста GHS-R1a, SARM, ингибитора TNF α , ингибитора IL-1 α , ингибитора миостатина, бета-блокатора, ингибитора пептида меланокортина, ингибитора меланокортинового рецептора.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение включает способ ингибирования потери мышечной массы, связанной с основным заболеванием, включающий введение млекопитающему, которое нуждается в этом, фармацевтической композиции или композиций, содержащих эффективное количество антитела к GDF-15 по настоящему изобретению в комбинации с эффективным количеством ингибитора активина А, ингибитора ActRIIB, ингибитора IL-6 или ингибитора IL-6R, грелина, грелин миметика или агониста GHS-R1a, SARM, ингибитора TNF α , ингибитора IL-1 α , ингибитора миостатина, бета-блокатора, ингибитора пептида меланокортина, ингибитора рецептора меланокортина для предотвращения или уменьшения потери мышечной массы. Основное заболевание может быть выбрано из группы, состоящей из рака, хронической сердечной недостаточности, хронического заболевания почек, COPD, AIDS, рассеянного склероза, ревматоидного артрита, сепсиса и туберкулеза. Кроме того, в некоторых вариантах осуществления потеря мышечной массы сопровождается потерей массы жировой ткани.

В следующих вариантах осуществления настоящее изобретение включает способ ингибирования или снижения непреднамеренной потери веса у млекопитающего, включающий введение млекопитающему, которое нуждается в этом, фармацевтической композиции или фармацевтических композиций, содержащих эффективное количество антитела к GDF-15 по настоящему изобретению в комбинации с эффективным количеством ингибитора активина А, ингибитора ActRIIB, ингибитора IL-6 или ингибитора IL-6R, грелина, миметика грелина или агониста GHS-R1a, SARM, ингибитора TNF α , ингибитора IL-1 α , ингибитора миостатина, бета-блокатора, ингибитора пептида меланокортина, ингибитора меланокортинового рецептора.

Некоторые противоопухолевые средства, такие как цисплатин, характеризуются одним или несколькими нежелательными побочными эффектами, которые влекут за собой возникновение или усугубление одного или нескольких синдромов, таких как кахексия, саркопения, мышечная атрофия, атрофии кости или непреднамеренная потеря веса тела. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение включает способ лечения рака, при предотвращении, сведении к минимуму или уменьшении частоты возникновения, частоты случаев или тяжести кахексии, саркопении или мышечной атрофии, атрофии кости или непреднамеренной потери веса тела у млекопитающего, включающий введение млекопитающему, которое нуждается в этом, фармацевтической композиции, содержащей эффективное количество антитела к GDF-15 по настоящему изобретению в комбинации с одним или несколькими противоопухолевыми средствами. В конкретных вариантах осуществления настоящее изобретение включает способ лечения рака, при предотвращении, сведении к минимуму или уменьшении частоты

возникновения, частоты случаев или тяжести кахексии, саркопении или мышечной атрофии, атрофии кости или непреднамеренной потери веса тела у млекопитающего, включающий введение млекопитающему, которое нуждается в этом, фармацевтической композиции, содержащей эффективное количество антитела к GDF-15 по настоящему изобретению в комбинации с одним или несколькими противоопухолевыми средствами, которые, как известно, вызывают или повышают частоту возникновения, частоту случаев или тяжесть кахексии, саркопении или мышечной атрофии, атрофии кости или непреднамеренной потери веса тела у млекопитающего.

Примеры

Следующие примеры являются только иллюстративными и не предназначены для ограничения объема или содержания настоящего изобретения любым образом.

Пример 1. Уровни GDF15 человека в сыворотке в ксенотрансплантатных моделях опухолей на мышах

В этом примере определяли количество hGDF15 в сыворотке мышей, несущих различные ксенотрансплантаты опухолей. Собирали сыворотку у трех мышей для каждой из следующих ксенотрансплантатных моделей опухолей: Chago, RPMI7951, PC3, TOV21G, HT-1080, K-562 и LS1034. Также собирали сыворотку у трех ранее не подвергавшихся воздействию мышей в качестве контроля. Уровни GDF15 человека в сыворотке определяли с помощью ELISA (R&D Systems, № по каталогу DY957E). Мыши, несущие ксенотрансплантаты опухолей человека, которые индуцируют кахексию, имели уровни hGDF15 в сыворотке выше 2 нг/мл, в то время как мыши, несущие ксенотрансплантаты опухолей человека, которые не индуцируют кахексию, имели уровни hGDF15 в сыворотке ниже 1 нг/мл (фиг. 2). У ранее не подвергавшихся воздействию мышей hGDF15 не обнаружили (контроль). Эти результаты указывают на то, что уровень GDF15 в сыворотке примерно 2 нг/мл является пороговым для индукции кахексии в этой модели на мышах. Аналогичные уровни hGDF15 также наблюдали в плазме при определении с помощью ELISA.

Пример 2. Модель кахексии на мышах, не несущих опухоли

Существующая модель кахексии на мышах, не несущих опухоли, основана на инъекции зрелого rhGDF15 мышам (Johnen et al. (1997) Nat. Med. 13:1333-1340). Зрелый rhGDF15 соответствует аминокислотам от 197 до 308 белка hGDF15. Зрелый rhGDF15 может быть получен в дрожжах *Pichia pastoris*, как описано в Fairlie et al. (2000) Gene 254:67-76). Отщепленный rhGDF15 соответствует аминокислотам от 197 до 308 белка hGDF15, высвобождаемого из слитого белка Fc-rhGDF15. На фиг. 3-4, описанных ниже, отщепленный rhGDF15 получали путем ферментативного расщепления слитого белка mFc-rhGDF15 с помощью фактора Ха и последующей очистки перед инъекцией мышам.

Для исследования периода полувыведения отщепленного rhGDF15 собирали плазму у группы из трех мышей после однократной дозы отщепленного rhGDF15 (1 мкг/г) в различные моменты времени (2, 5, 8, 11 и 23 часа). Уровни GDF15 человека в плазме определяли с помощью ELISA (R&D Systems, № по каталогу DY957E). Как представлено на фиг. 3, отщепленный rhGDF15 быстро выводился из плазмы после инъекции. Через 11 ч после инъекции количество отщепленного rhGDF15 в плазме было ниже 10 нг/мл и в течение 23 ч отщепленный rhGDF15 почти полностью выводился из плазмы.

Быстрое выведение отщепленного rhGDF15 у мышей, не несущих опухоли, дополнительно исследовали. Самок мышей ICR-SCID в возрасте восьми недель распределяли случайным образом в две группы по десять мышей в каждой. Мышам вводили дозу подкожно в бок каждые восемь часов в течение трех дней (в общей сложности девять доз) в ходе одного из следующих видов обработки: PBS (контроль) или отщепленный rhGDF15 при 1 мкг/г. Вес тела измеряли ежедневно. Статистические анализы проводили с применением двухфакторного ANOVA.

Как представлено на фиг. 4, отщепленный rhGDF15 индуцировал потерю веса тела. После девяти доз в течение периода трех дней вес тела в процентах снизился до 88% на 4 день ($p < 0,001$), но приблизительно через 24 ч после последней дозы мыши начали набирать вес. На 6 день, последний день эксперимента, вес тела в процентах увеличился до 94,8 процента ($p < 0,001$). Эти результаты указывают на то, что потеря веса, индуцированная отщепленным rhGDF15, не сохраняется в течение длительных периодов времени. Активность, наблюдаемая у отщепленного rhGDF15, описанная в данном документе, была аналогична той, которую наблюдали у зрелого rhGDF15 в существующей модели на мышах (Johnen et al., выше).

Существующая модель кахексии на мышах, не несущих опухоли, опирается на инъекцию больших количеств зрелого rhGDF15, доставляемого в виде нескольких доз в день для индукции потери мышечной массы и потери веса тела (Johnen et al., выше). По-видимому, в случае применения зрелого rhGDF15 или отщепленного rhGDF15 без постоянного введения доз у мышей не сохраняется потеря мышечной массы или потеря веса тела в течение длительных периодов времени. Это ограничивает полезность таких моделей. Более того, повторное введение доз требует частых манипуляций с этими мышами, что ведет к стрессу, который может поставить под угрозу надежность измерений потери веса тела. Например, как представлено на фиг. 4, мыши, обработанные несколькими дозами PBS, продемонстрировали снижение веса тела из-за стресса, обусловленного повторным введением доз и манипуляциями.

Пример 3. Слитые белки GDF15

Ввиду больших количеств зрелого rhGDF15 (или отщепленного rhGDF15) и интенсивности труда, необходимых для индукции кахексии в модели на мышах, не несущих опухоли (а также ввиду обусловленных этим ограничений таких моделей), были исследованы альтернативные формы rhGDF15 для индукции фенотипа кахексии у мышей.

В этом примере описано конструирование и получение двух слитых белков, состоящих из GDF15 и Fc-фрагмента иммуноглобулина, обозначенных как mFc-rhGDF15 (Fc IgG1 мыши, слитый с аминоконцом зрелого GDF15 человека) и rFc-rmGDF15 (Fc IgG1 кролика, слитый с аминоконцом зрелого GDF15 мыши). Слитые белки GDF15 разрабатывали с применением способов, известных в данной области техники. Из фрагментов с применением ПЦП с перекрывающимися праймерами конструировали последовательности ДНК для mFc-rhGDF15, содержащие (в следующем порядке): 5'-сайт рестрикции для HindIII, консенсусную последовательность Козак, участки, кодирующие аминоконцевую сигнальную последовательность, Fc IgG1 мыши, сайт расщепления для фактора Ха, полипептидный линкер (GGGGS) (SEQ ID NO: 139) и зрелый hGDF15, стоп-кодон и 3'-сайт рестрикции для EcoRI. Аминокислотные последовательности rFc-rmGDF15 преобразовывали в последовательности ДНК с оптимизированными кодонами и синтезировали содержащими (в следующем порядке): 5'-сайт рестрикции для HindIII, консенсусную последовательность Козак, участки, кодирующие аминоконцевую сигнальную последовательность, Fc IgG1 кролика, полипептидный линкер (GGGG) (SEQ ID NO: 265) и зрелый GDF15 мыши, стоп-кодон и 3'-сайт рестрикции для EcoRI.

Слитые белки GDF15 субклонировали в вектор экспрессии у млекопитающих pEE14.4 (Lonza, Базель, Швейцария) по сайтам HindIII и EcoRI с применением набора для клонирования продуктов ПЦП In-Fusion™ (Clontech, Маунтин-Вью, Калифорния). Слитые белки GDF15 стабильно экспрессировали в клетках CHO K1SV с применением GS System (Lonza Biologics) для получения больших количеств очищенного белка. Каждый вектор экспрессии линеаризовали и трансфицировали в клетки CHO K1SV. Стабильные клоны отбирали в присутствии сульфоксимида метионина. Секретируемые белки, продуцируемые стабильно трансфицированными клеточными линиями CHO K1SV, очищали с помощью белка А и гель-хроматографии.

Последовательность нуклеиновой кислоты и кодируемая последовательность белка, определяющая слитый белок Fc IgG1 мыши-зрелый GDF15 человека (mFc-rhGDF15), представлены ниже. mFc-rhGDF15 содержит Fc IgG1 мыши из аминокислот 1-222, сайт расщепления для фактора Ха из аминокислот 223-228, искусственную последовательность линкера из аминокислот 229-233 и зрелый hGDF15 из аминокислот 234-345.

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая слитый белок Fc IgG1 мыши-зрелый GDF15 человека (mFc-rhGDF15) (SEQ ID NO: 219)

```

1 ggggtgtaaac cctgcatctg cacgggtgccg gaggtgtcct cctgtctttat cttccctccc
61 aaacccaagg atgtgctgac aatcactttg actccaaaag tcacatgcgt agtcgtggac
121 atctcgaaag acgacccgga agtgcagttc tctgtggttg ttgatgatgt agaagtgcac
181 accgctcaaa cccagccgag ggaagaacag ttaaacagca cgttttaggag tgtgtcggaa
241 ctgcccatta tgcaccagga ttggcttaat ggaaggaggt tcaaatgtcg cgtgaatagt
301 gcggcgcttc cagcccctat tgaaaagact atttccaaa cgaagggtcg gcccaaagct
361 ccccaagtat acacaatccc tccgccgaaa gaacaaatgg caaaagacaa agtgagtttg
421 acgtgcatga tcacggcact tttcccgagg gatatacccg tcgaatggca atggaatggg
481 caacctgccg aaaactacaa gaatacaciaa ccattatagg ataccgatgg atcgtatttc
541 gtctactcaa agttgaacgt acagaagtca aattgggagg caggggaatac gttcacttgc
601 agtggtttgc acgaaggcct ccataaccac catacggaaa agtcaactgt cactcccccg
661 gaaaaaatcg agggcagaat ggatgggtga ggagggtcgg cgcgcaacgg ggaccactgt
721 ccgctcgggc cggggcggtg tgcgcgtctg cacacgggtc gcgcgtcgtg ggaagacctg
781 gcgtggggcg attgggtgct gtcgccacgg gaggtgcaag tgaccatgtg catcgccggc
841 tgcccagacc agttccgggc ggcaaacatg cacgcgcaga tcaagacgag cctgcaccgc
901 ctgaagcccg acacgggtgc agcgcctctg tgcgtgcccg ccagctacaa tcccatgggtg
961 ctcatctcaa agaccgacac cgggggtgtc ctccagacct atgatgacct gttagccaaa
1021 gactgccact gcata

```

Последовательность белка, определяющая слитый белок Fc IgG1 мыши-зрелый GDF15 человека (mFc-rhGDF15) (SEQ ID NO: 220)

```

1 gckpcictvp evssvfifpp kpkdvltitl tpkvtcvvvd iskddpevqf swfvddvevh
61 taqtqpreeq fnstfrsvse lpimhqdwln kgefkcrvns aafpapiekt isktkgrpka
121 pqvytipppk eqmakdkvsl tcmtdffpe ditvewqwnq qpaenykntq pimtdtgsyf
181 vysklmvqks nweagntftc svlheglhnh htekslshsp gkiegrmdgg ggsarngdhc
241 plpggrccrl htvrasledl gwadwvlsp evqvtmciga cpsqfraanm haqiktslhr
301 lkpdtpapc cvpasynpmv liqktdtgvs lqtyddllak dchci

```

Последовательность нуклеиновой кислоты и кодируемая последовательность белка, определяющая слитый белок Fc IgG1 кролика-зрелый GDF15 мыши (rFc-rmGDF15), представлены ниже. rFc-rmGDF15 содержит Fc IgG1 кролика из аминокислот 1-223, искусственную последовательность линкера из аминокислот 224-227 и зрелый GDF15 мыши из аминокислот 228-342.

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая слитый белок Fc IgG1 кролика-зрелый GDF15 мыши (rFc-rmGDF15) (SEQ ID NO: 221)

```

1 tcgaaaccca cttgccctcc tccggagctg ttgggcggac cctccgtgtt tatctttccc
61 ccgaagccga aagataccct tatgatctca cggacgccgg aggtcacttg cgtagtagtg
121 gatgtgtcgg aggatgaccc cgaagtccag ttcacctggg atatcaataa cgagcaagtg
181 aggacagcga ggcctccact tagggagcag cagttcaact ccacaattcg ggtcgtcagc
241 actttgcccc tcgctcatga ggactggctc cgcggaaaag agttcaagtg taaggtgcat
301 aacaaggcat tgccagcgcc tattgaaaag acaatctcga aggcgcgagg gcagccgctc
361 gagcccaaaag tgtatacgat gggacccccg agggaagaat tgtcgtcgcg ctacagtaagc
421 cttacgtgca tgattaacgg tttctaccct agcgacatca gcgtagagtg ggaagaagaat
481 ggaaaggcgg aggataacta caagacgact ccgcggtgctc tggattcgga tgggtcgtac
541 tttctgtata gcaaatgtgc agtcccgaac tcagaatggc agaggggtga cgtgttcacg
601 tgctccgtga tgcacgaagc acttcacaat cactacaccc agaaatcaat ctccggtgcc
661 ccaggcaaaag gtggaggagg gtcgggtcac gccaccctc gcgattcggt tccgctgggg
721 cctggtagat gctgtcatct cgagacagtc caggccacgc tggaggacct cgggtggtca
781 gactgggtcc tgtccccacg acaactgcag ctttcgatgt gcgtggggga atgtccgac
841 ttgtacagat cggcgaatac ccacgctcag attaaggcac gactccatgg tttgcagcca
901 gataaagtcc ccgcaccttg ctgtgtcccc agctcatata ctctgtcgt actcatgcat
961 cggacagaca gcggcggtgc gtttcaaagc tatgacgacc tcgtagcgag aggatgtcat
1021 tgcgcc

```

Последовательность белка, определяющая слитый белок Fc IgG1 кролика-зрелый GDF15 мыши (rFc-rmGDF15) (SEQ ID NO: 222)

```

1 skptcpped lggpsvfifp pkpkdtlmis rtpevtcvvv dvseddpevg ftwyinneqv
61 rtarpplreq qfnstirvvs tlpiahedwl rgkefkckvh nkalpapie kiskargqpl
121 epkvytmgpp reelssrsvs ltcningfyp sdisvewekn gkaednyktt pavldsdsy
181 flysklsvpt sewqrgdvft csmvhealhn hytqksisrs pgkggggsah ahprdsclpg
241 pgrrchletv qatledlgs dwlspgqlq lsmcvgcph lyrsanthaq ikarlhglqp
301 dkvpapccvp ssytpvvlmh rtdsgvslqt yddlvargch ca

```

Следующие последовательности представляют иллюстративные последовательности белка для слитых белков Fc IgG1 человека-зрелый GDF15 человека (hFc-rhGDF15). hFc-rhGDF15 Xa состоит из Fc IgG1 человека из аминокислот 1-227, сайта расщепления для фактора Xa из аминокислот 228-233, искусственной последовательности линкера из аминокислот 234-238 и зрелого hGDF15 из аминокислот 239-350. hFc-rhGDF15 состоит из Fc IgG1 человека из аминокислот 1-227, искусственной последовательности линкера из аминокислот 228-232 и зрелого hGDF15 из аминокислот 233-344.

Последовательность белка, определяющая слитый белок Fc IgG1 человека-зрелый GDF15 человека с сайтом расщепления для Xa (hFc-hGDF15 Xa) (SEQ ID NO: 223)

```

1 dkthtcppcp apellggpsv flfppkpkdt lmisrtpevt cvvvdvshed pevkfnwyvd
61 gvevhnaatk preeqynsty rvsvltvlh qdwlngkeyk ckvsnkappa piektiskak
121 gqprepqvyt lppsreemtk nqvsltcclvk gfypsdiave wesngqpenn ykttppvlds
181 dgsfflyskl tvdksrwqgg nvfscsvmhe alnhhytqks lslspgkieg rmdggggsar
241 ngdhcplpgg rccrlhtvra sledlgwadw vlsprevqvt mcigacpsqf raanmhaqik
301 tsihrllkpdv vpapccvpas ynpmvliqkt dtgvsllqtyd dllakdchci

```

Последовательность белка, определяющая слитый белок Fc IgG1 человека-зрелый GDF15 человека (hFc-hGDF15) (SEQ ID NO: 224)

```

1 dkthtcppcp apellggpsv flfppkpkdt lmisrtpevt cvvvdvshed pevkfnwyvd
61 gvevhnaatk preeqynsty rvsvltvlh qdwlngkeyk ckvsnkappa piektiskak
121 gqprepqvyt lppsreemtk nqvsltcclvk gfypsdiave wesngqpenn ykttppvlds
181 dgsfflyskl tvdksrwqgg nvfscsvmhe alnhhytqks lslspgkkgg gsarngdhcp
241 lgprccrlh tvasledlg wadwvlspre vqvtmcigac psqfraanmh aqiktshrl
301 kpdtpapcc vpasynpmvl iqktdtgvsll qtyddllakd chci

```

Пример 4. Модель кахексии, индуцированной Fc-rhGDF15

В этом примере описано создание модели кахексии, индуцированной Fc-GDF15, на мышах. Иммунокомпетентных (Balb/C) и иммунонекомпетентных мышей (CB17-Scid) распределяли случайным образом в три группы по десять мышей в каждой. Каждая группа получила один из следующих видов обработки: PBS (контроль), mFc-rhGDF15 (как описано в примере 3) или rFc-rmGDF15 (как описано в примере 3) в дозе 1 мкг/г. Самкам мышей в возрасте восемь недель вводили дозу подкожно в бок в течение трех дней (Balb/C) или один раз (CB17-Scid). Вес тела измеряли ежедневно.

Как представлено на фиг. 5A и 5B, введение mFc-rhGDF15 или rFc-rmGDF15 индуцировало потерю веса тела у иммунокомпетентных мышей (фиг. 5A) и иммунонекомпетентных мышей (фиг. 5B). Эти результаты указывают на то, что был достигнут устойчивый уровень активного rhGDF15, потому что независимо от дозы (одна в сравнении с тремя дозами) как mFc-rhGDF15, так и rFc-rmGDF15 индуцировали устойчивую потерю веса на протяжении периода измерений (7 дней).

Слитые белки, mFc-rhGDF15 и rFc-rmGDF15, дополнительно испытывали на иммунокомпетентных (C57BL6, Swiss Webster) и иммунонекомпетентных (ICR-SCID) линиях мышей. В каждой испытываемой линии мышей введение mFc-rhGDF15 или rFc-rmGDF15 индуцировало кахексию, что определяли по потере веса тела. Аналогичные результаты были получены независимо от того, вводили дозу mFc-rhGDF15 подкожно или интраперитонеально.

Также проводили исследование относительно того, насколько потеря веса, индуцированная mFc-rhGDF15, зависит от возраста мышей, обработанных слитым белком. Самок мышей линии Swiss Webster (иммунокомпетентных) разных возрастов (7, 13 и 25 недель) разделяли на две группы по десять особей и обрабатывали тремя дозами в день mFc-rhGDF15 или PBS (0,8 мкг/г, мыши в возрасте 7 недель; 0,6 мкг/г,

мышь в возрасте 13 недель; или 0,4 мкг/г, мышь в возрасте 25 недель). Потерю веса, индуцированную mFc-rhGDF15, наблюдали во всех трех возрастных популяциях мышей. В каждой возрастной популяции мышь теряла примерно 10% от своего веса тела после обработки mFc-rhGDF15, что определяли через десять дней после обработки.

В другом эксперименте индукцию кахексии с помощью mFc-rhGDF15 исследовали путем определения потери веса тела, потери мышечной массы, потери массы жировой ткани и уровней экспрессии двух молекулярных маркеров, являющихся индикаторами деградации мышц (т.е. mMuRF1 и атрогина мышь). MuRF1 и атрогин являются E3-убиквитинлигазами с повышенной экспрессией в нескольких моделях атрофии мышц и кахексии (Glass, D. (2010) *Curr. Opin. Clin. Nutr. Met. Care* 13: 225-229).

Самок мышь ICR-SCID в возрасте восьми недель разделяли случайным образом на десять групп по десять мышь в каждой. В пяти группах (по десять мышь в каждой) вводили дозу PBS (контроль) подкожно в бок, и в пяти группах (по десять мышь в каждой) вводили дозу 1,6 мкг/г mFc-rhGDF15 подкожно в бок в первый день. Вес тела измеряли ежедневно в течение до 17 дней. Одну контрольную группу и одну группу обработки умерщвляли в различные моменты времени (0, 1, 3, 7 и 16 дней после введения дозы). Жировую массу гонад и икроножные мышцы удаляли хирургическим путем у мышь из каждой группы в указанное время умерщвления и взвешивали. Ткани быстро замораживали в жидком азоте, и выделяли РНК из образцов икроножной мышь. С помощью qRT-PCR измеряли уровни мРНК mMuRF1 и атрогина мышь в образцах от соответствующих групп, собранных через 1, 7 и 16 дней после введения дозы. Статистические анализы проводили с применением двухфакторного ANOVA.

Как представлено на фиг. 6A, mFc-rhGDF15 индуцировал потерю веса тела у мышь ICR-SCID. Вес тела в процентах составлял 79,4% при измерении через 16 дней после одной дозы mFc-rhGDF15 ($p < 0,001$). mFc-rhGDF15 также индуцировал потерю жировой массы (жировой ткани), что наблюдали как потерю массы жировой ткани гонад (фиг. 6B; $p < 0,01$ на 7 день и $p < 0,001$ на 16 день) и потерю мышечной массы, что наблюдали как потерю массы икроножной мышь (фиг. 6C; $p < 0,05$ на 1 и 3 день и $p < 0,0001$ на 7 и 16 день). Введение mFc-rhGDF15 также повышало экспрессию генов двух ферментов, ассоциированных с деградацией мышц и кахексией, mMuRF1 (фиг. 6D; $p < 0,001$ на 1, 7 и 16 день) и атрогина мышь (фиг. 6E; $p < 0,001$ на 1 и 7 день и $p < 0,01$ на 16 день).

Эти результаты указывают на то, что mFc-rhGDF15 индуцирует кахексию у мышь.

Пример 5. mFc-rhGDF15 индуцирует кахексию с более длительным периодом полувыведения GDF15 из сыворотки

В этом примере определяли уровни hGDF15 в сыворотке после введения mFc-rhGDF15 для установления периода полувыведения rhGDF15 в этой модели. Самок "голых" мышь линии Balb/C в возрасте восьми недель разделяли случайным образом на две группы по двенадцать мышь в каждой. Мышам вводили дозу подкожно в бок каждые двенадцать часов в течение трех дней (в общей сложности шесть доз) в ходе одного из следующих видов обработки: PBS (контроль) или mFc-rhGDF15 в дозе 1,33 мкг/г. Вес тела измеряли ежедневно. Как представлено на фиг. 7, mFc-rhGDF15 индуцировал устойчивую потерю веса тела в течение по меньшей мере одной недели после последней инъекции.

В этом эксперименте уровни hGDF15 в сыворотке измеряли на 0,2, 5 и 8 день после введения последней дозы mFc-rhGDF15. Мышью умерщвляли в указанное время, и собирали сыворотку. Уровни GDF15 человека в сыворотке определяли с помощью ELISA (R&D Systems, № по каталогу DY957E). В табл. 1 представлены уровни в сыворотке (мкг/мл) в исследовании для каждой мышь.

Таблица 1

День после введения последней дозы	№ мышь	Обработка		GDF15 в сыворотке (мкг/мл); ELISA
		Средство	мкг/г	
0,2	1	mFc-rhGDF15	1,33	10,02
0,2	2	mFc-rhGDF15	1,33	9,54
0,2	3	mFc-rhGDF15	1,33	9,36
5	4	mFc-rhGDF15	1,33	8,24
5	5	mFc-rhGDF15	1,33	8,01
5	6	mFc-rhGDF15	1,33	6,59
8	7	mFc-rhGDF15	1,33	5,60
8	8	mFc-rhGDF15	1,33	5,52
8	9	mFc-rhGDF15	1,33	5,57

Результаты, приведенные в табл. 1, показывают, что высокие, устойчивые уровни hGDF15 присутствуют в сыворотке по меньшей мере через восемь дней после приема последней дозы mFc-rhGDF15.

Образцы сыворотки, полученные на 0,2 день и 5 день после введения последней дозы, также анализировали методом Вестерн-блоттинга (восстанавливающий гель; блотирование с антителом к hGDF15 (R&D Systems, № по каталогу AF957)) и количественно определяли с помощью Licor для установления стабильности mFc-rhGDF15 в сыворотке. Неожиданно наблюдали две полосы. Верхняя полоса составляла примерно 40 кДа и, по-видимому, соответствовала mFc-rhGDF15. Нижняя полоса составляла примерно 15 кДа и, по-видимому, соответствовала отщепленному зрелому rhGDF15. Это указывало на то, что в

сыворотке зрелый rhGDF15 высвобождался из mFc-rhGDF15. Количественное определение двух полос показало, что приблизительно 90% rhGDF15, присутствующего в сыворотке, находилось в форме mFc-rhGDF15, и приблизительно 10% общего rhGDF15 в сыворотке присутствовало в отщепленной зрелой форме (фиг. 8). Количественное определение показало небольшое снижение уровня mFc-rhGDF15 в образцах сыворотки, собранных через пять дней после введения последней дозы, но, на удивление, в сыворотке сохранялся постоянный уровень зрелого rhGDF15. Соотношение зрелого rhGDF15 и mFc-rhGDF15 немного увеличивалось с течением времени в результате снижения уровня mFc-rhGDF15 в сыворотке. Аналогичные результаты наблюдали при инъекции rFc-rhGDF15 мышам.

Результаты, представленные на фиг. 7-8 и в табл. 1, были неожиданными. Ожидалось, что очень малое количество зрелого rhGDF15 будет отщепляться (высвобождаться) от mFc-rhGDF15 в 0,2 день, если вообще таковое будет наблюдаться, и весь отщепленный rhGDF15 будет быстро выводиться из сыворотки, как наблюдали ранее.

Например, на фиг. 4 требовалась серия из девяти доз по 1 мкг/г на дозу (в общей сложности 9 мкг/г) отщепленного rhGDF15 для индукции значительной потери веса тела у мышей. Такие мыши набирали вес практически сразу после прекращения введения доз. В отличие от этого, одной дозы mFc-rhGDF15 в 0,1 мкг/г было достаточно для индукции значительной потери веса тела на протяжении по меньшей мере восьми дней (фиг. 9А; десять мышей ICR-SCID, которым вводили интраперитонеально дозу 0,1 мкг/г в 1 день). Результаты, приведенные в табл. 1, показывают, что уровни rhGDF15 в сыворотке были стабильными в течение по меньшей мере восьми дней, если rhGDF15 вводили в виде слитого белка mFc-rhGDF15.

Для определения источника активности, ведущей к устойчивой потере веса тела, провели исследования, чтобы связать наблюдаемую активность rhGDF15 со слитым белком mFc-rhGDF15, с высвобожденной зрелой формой rhGDF15 или с обоими. Как представлено на фиг. 9А, низкая доза mFc-rhGDF15 (0,1 мкг/г) приводила к потере веса тела, продолжавшейся в течение по меньшей мере восьми дней. Более низкая доза mFc-rhGDF15 (0,01 мкг/г) также индуцировала потерю веса тела, но эффект не сохранялся в течение более чем 3 дней после введения дозы.

В этом эксперименте плазму собирали у трех мышей, каждой из которых вводили дозу 0,1 мкг/г или 0,01 мкг/г через 5 дней после введения дозы. Общее содержание rhGDF15 определяли с помощью ELISA, как описано выше. Общие уровни rhGDF15 в плазме мышей, которым вводили дозу 0,1 мкг/г, составляли более 70 нг/мл, что согласуется с наблюдением, что эти мыши характеризовались значительной потерей веса (фиг. 9В). Общие уровни rhGDF15 в плазме мышей, которым вводили дозу 0,01 мкг/г, составляли приблизительно 3,3 нг/мл, но было замечено, что эти мыши набирали вес (фиг. 9А и фиг. 9В). Как представлено на фиг. 2, пороговый уровень hGDF15 для индукции кахексии у мышей, несущих опухоль, составляет примерно 2 нг/мл. Таким образом, если обе формы rhGDF15 проявляли активность (т.е. mFc-rhGDF15 и высвобожденный зрелый rhGDF15), то эти мыши должны были терять вес, но не набирать вес (т.е. общее содержание rhGDF15 3,3 нг/мл превышает пороговое значение для hGDF15, составляющее примерно 2 нг/мл).

Для определения того, какая форма представляла собой активную форму (т.е. mFc-rhGDF15 или высвобожденный зрелый rhGDF15), были рассмотрены данные на фиг. 8, которые показали, что примерно 90% общего rhGDF15 в сыворотке находилось в форме mFc-rhGDF15, а остальные 10% находились в высвобожденной зрелой форме. На основании этой экстраполяции определили, что примерно 3,0 нг/мл rhGDF15 (т.е. 90% от 3,3 нг/мл) в плазме присутствовало в форме mFc-rhGDF15. Опять-таки, если mFc-rhGDF15 проявлял активность, эти мыши должны были терять вес, а не набирать вес, потому что содержание mFc-rhGDF15 3,3 нг/мл превышает пороговое значение для hGDF15, составляющее примерно 2 нг/мл. Мыши, которым вводили дозу 0,1 мкг/г mFc-rhGDF15, служили в качестве внутреннего контроля, поскольку эти мыши характеризовались устойчивой потерей веса тела, что указывало на то, что по меньшей мере одна из двух форм должна быть активной. Расчет 10% от 70 нг/мл общего содержания rhGDF15 у этих мышей дает 7 нг/мл высвобожденного зрелого rhGDF15. Такое количество соответствует индукции наблюдаемой потери веса тела и пороговому значению, наблюдаемому на фиг. 2. Таким образом, данные свидетельствуют о том, что mFc-rhGDF15 не является активной формой белка, а только зрелый rhGDF15 является активным. Такие результаты были неожиданными, потому что: (а) не было никаких оснований, чтобы предсказать, что слитый белок с Fc (mFc-rhGDF15) будет неактивным; и (б) не было никаких оснований, чтобы предсказать, что слитый белок с Fc будет высвобождать зрелый rhGDF15 при наблюдаемой скорости.

Такие результаты указывают на то, что mFc-rhGDF15 поддерживает фенотип кахексии путем медленного высвобождения зрелого rhGDF15 в сыворотку. Такие результаты также указывают на то, что устойчивый уровень зрелого rhGDF15 в плазме или сыворотке может быть достигнут у мышей, не несущих опухоли, путем введения мышам mFc-rhGDF15. Таким образом, введение mFc-rhGDF15 мышам, не несущим опухоли, можно, в частности, применять в качестве модели кахексии на мышах с надежной и устойчивой потерей мышечной массы, потерей массы жировой ткани и потерей веса тела (см. фиг. 6А-С).

Пример 6. Антитела к GDF15

В этом примере описано получение моноклональных антител к GDF15. Процедуры иммунизации,

слияния и первичного скрининга проводили с применением традиционных способов, следуя протоколу многократной иммунизации с использованием нескольких участков (RTMMS). Пять мышей линии AJ и пять мышей линии Balb/c иммунизировали меченным 6XHis (SEQ ID NO: 266) рекомбинантным GDF15 человека (His-rhGDF15) (R&D Systems, Inc., Миннеаполис, Миннесота). Для последующего слияния отбирали двух мышей линии Balb/c, у которых в сыворотке была обнаружена самая высокая активность антител к GDF15 посредством твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA). Собирали селезенки и лимфатические узлы у соответствующих мышей. Собирали В-клетки и сливали с клетками миеломной линии.

Продукты слияния разводили серийно в сорока 96-луночных планшетах до уровня, близкого к клональному. Для последующего слияния отбирали двух мышей линии AJ, у которых в сыворотке была обнаружена самая высокая активность антител к GDF15 посредством ELISA. Собирали селезенки и лимфатические узлы у соответствующих мышей. Собирали В-клетки и сливали с клетками миеломной линии. Продукты слияния разводили серийно в сорока 96-луночных планшетах до уровня, близкого к клональному.

Приблизительно 3840 образцов надосадочной жидкости культуры слитых клеток подвергали скринингу посредством ELISA в отношении связывания с rhGDF15. В общей сложности для 172 образцов надосадочной жидкости, содержащих антитела к GDF15, дополнительно получали характеристики *in vitro*. Выбирали, субклонировали и размножали панель гибридом. Антитела выделяли, а затем очищали с помощью аффинной хроматографии на смоле с белком G в стандартных условиях.

Пример 7. Анализ последовательности антител

Изотип легкой цепи и изотип тяжелой цепи каждого моноклонального антитела в примере 6 определяли с применением набора для изотипирования моноклональных антител мышей IsoStrip™ в соответствии с инструкциями разработчика набора (Roche Applied Science, Индианаполис, Индиана). Было установлено, что все антитела содержат легкую каппа-цепь и тяжелую цепь IgG1 или IgG2b.

Вариабельные области тяжелой и легкой цепей моноклональных антител мыши секвенировали с применением 5'-RACE (быстрой амплификации концов кДНК). Общую РНК экстрагировали из каждой линии клеток гибридомы, продуцирующих моноклональные антитела, с применением набора для получения минипрепаратов RNeasy® в соответствии с инструкциями разработчика набора (Qiagen, Валенсия, Калифорния). Получали первую цепь кДНК полной длины, содержащую 5'-концы, с применением набора для RACE-амплификации кДНК SMARTer™ (Clontech, Маунтин-Вью, Калифорния) в соответствии с инструкциями разработчика набора для 5'-RACE.

Вариабельные области легкой (каппа) и тяжелой (IgG1 или IgG2b) цепей амплифицировали с помощью ПЦР с применением KOD-полимеразы для ПЦР с горячим стартом (EMD Chemicals, Гиббстаун, Нью-Джерси) в соответствии с инструкциями разработчика набора. Для амплификации 5'-концов кДНК в сочетании с набором для RACE-амплификации к ДНК SMARTer™ применяли праймер, представляющий собой смесь универсальных праймеров А (Clontech), смесь 5'-СТААТАСГАСТСАСТАТАГГГСААГСАГТGGTATCAACGCAGAGT-3' (SEQ ID NO: 233) и 5'-СТААТАСГАСТСАСТАТАГГГС-3' (SEQ ID NO: 225), в качестве 5'-праймера. Вариабельные области тяжелой цепи амплифицировали с применением вышеуказанных 5'-праймеров и специфического 3'-праймера для константной области IgG1, 5'-TATGCAAGGCTTACAACCACA-3' (SEQ ID NO: 226), или специфического 3'-праймера для константной области IgG2b, 5'-AGGACAGGGGTGATTGTTGA-3' (SEQ ID NO: 227). Вариабельные области каппа-цепи сначала амплифицировали с вышеуказанными 5'-праймерами и специфическим 3'-праймером для константной области каппа-цепи, 5'-СТСАТТСТГТТГААГСТСТТГАСААТ-3' (SEQ ID NO: 228). Легкие цепи были подвергнуты второму, гнездовому, раунду ПЦР с применением 5'-праймера, представляющего собой универсальный праймер А для гнездовой ПЦР (Clontech), 5'-AAGCAGTGGTATCAACGCAGAGT-3' (SEQ ID NO: 229), и специфического 3'-праймера для гнездовой ПЦР для константной области каппа-цепи, 5'-СГАСТГАГГСАСТССАГАТГТТ-3' (SEQ ID NO: 230). Отдельные продукты ПЦР очищали с применением набора для очистки продуктов ПЦР Qiaquick® либо выделяли с помощью электрофореза в агарозном геле и очищали с применением набора для выделения ДНК из геля Qiaquick® в соответствии с инструкциями разработчика набора (Qiagen). Продукты ПЦР затем клонировали в плазмиду pCR®-4Blunt с применением набора для клонирования продуктов ПЦР Zero Blunt® TOPO® в соответствии с инструкциями разработчика набора (Invitrogen) и вводили путем трансформации в бактерию DH5-α (Invitrogen) посредством стандартных методик молекулярной биологии. Плазмидную ДНК, выделенную из трансформированных бактериальных клонов, секвенировали с применением прямого праймера M13 (5'-GTαACGACGGCCAGT-3') (SEQ ID NO: 231) и обратного праймера M13 (5'-CAGGαCAGCTATGACC-3') (SEQ ID NO: 232) от Beckman Genomics (Дэнверс, Массачусетс) с применением стандартных способов дидеоксисеквенирования ДНК для идентификации последовательностей вариабельной области. Последовательности анализировали с применением программного обеспечения Vector NTI (Invitrogen) и вебсервера EVIGT/V-Quest (imgt.cines.fr) для идентификации и подтверждения последовательностей вариабельной области.

Последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующие, и последовательности белка, определяющие вариабельные области моноклональных антител мыши, приведены ниже (аминоконцевые последовательности сигнальных пептидов не показаны). Последовательности CDR (определение согласно Kabat) в аминокислотных последовательностях выделены жирным шрифтом и подчеркиванием.

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельную область тяжелой цепи антитела 01G06 (SEQ ID NO: 39)

```
1 gaggtcctgc tgcaacagtc tggacctgag ctggtgaagc ctggggcttc agtgaagata
61 ccttgcaagg cttctggata cacattcact gactacaaca tggactgggt gaagcagagc
121 catggaaaga gccttgagtg gattggacaa attaatccta acaatggtgg tattttcttc
181 aaccagaagt tcaaggga ggcacattg actgtagaca agtcctcca tacagccttc
241 atggaggtcc gcagcctgac atctgaggac actgcagtct attactgtgc aagagaggca
301 attactacgg taggcgctat ggactactgg ggtcaaggaa cctcagtcac cgtctcctca
```

Последовательность белка, определяющая вариабельную область тяжелой цепи антитела 01G06 (SEQ ID NO: 40)

```
1 evllqqsgpe lvkpgasvki pckasgytft dynmdwvkqs hgkslewigg inpnnggiff
61 ngkfkqkatl tvdkssntaf mevrltsed tavyycarea ittvgamdyw gqgtsvtvss
```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельную область каппа-цепи антитела 01G06 (SEQ ID NO: 75)

```
1 gacatccaga tgactcagtc tccagcctcc ctatctgcat ctgtgggaga aactgtcacc
61 atcacatgtc gaacaagtga gaattctcac aattatttag catggtatca gcagaaacag
121 ggaataatctc ctacgtcctc ggtctatgat gcaaaaacct tagcagatgg tgtgccatca
181 aggttcagtg gcagctggac aggaacacaa tattctctca agatcaacag cctgcagcct
241 gaagattttg ggagttatta ctgtcaacat ttttgagta gtccttacac gttcggaggg
301 gggaccaagc tggaaataaa a
```

Последовательность белка, определяющая вариабельную область каппа-цепи антитела 01G06 (SEQ ID NO: 76)

```
1 diqmtqspas lsasvgetvt itcrtsenlh nylawyqqkq gkspqllvyd aktladgvps
61 rfsqsgsgtg yslkinslqp edfgsyycqh fwsspytfgg gtkleik
```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельную область тяжелой цепи антитела 03G05 (SEQ ID NO: 41)

```
1 caggccaac tgcagcagcc tggggctgaa ctggtgaagc ctggggcttc agtgaagctg
61 tcttgcaagg cttctggcta caccttcacc agctactgga ttcactgggt gaaccagagg
121 cctggacaag gccttgagtg gattggagac attaatccta gcaacggccg tagtaagtat
181 aatgagaagt tcaagaacaa ggccacaatg actgcagaca aatcctcca cacagcctac
241 atgcaactca gcagcctgac atctgaggac tctgcggtct attactgtgc aagagagggt
301 ctggatggtg ctatggacta ctggggctcaa ggaacctcag tcaccgtctc ctca
```

Последовательность белка, определяющая вариабельную область тяжелой цепи антитела 03G05 (SEQ ID NO: 42)

```
1 qvqlqqpgae lvkpgasvkl sckasgytft sywihwvnr pgqglewigd inpsngrsky
61 nefkfnkatm tadkssntay mqlsltsed savyycarev ldgamdywgq gtsvtvss
```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельную область каппа-цепи антитела 03G05 (SEQ ID NO: 77)

```
1 gacatttgtg tgacccaatc tccagcttct ttggcttgtg ctctagggca gagggccacc
61 atctcctgca gagccagcga aagtgttgat aattatggca ttagttttat gaactggctc
121 caacagaac caggacagcc acccaactc ctcatctatg ctgcatccaa ccaaggctcc
181 ggggtccctg ccaggtttag tggcagtggt tctgggacag acttcagcct caacatccat
241 cctatggagg aggatgatac tgcaatgtat ttctgtcagc aaagtaagga ggttcctgtg
301 acgttcggtg gaggtccaa gctggaaatc aaa
```

Последовательность белка, определяющая вариабельную область каппа-цепи антитела 03G05 (SEQ ID NO: 78)

```
1 divltqspas lavslgqrat iscrasesvd nygisfmnwf qqkpgppkl liyaaanqgs
61 gvparfsgsg sgtdfslnih pmeeddtamy fcqqskevpw tfgggsklei k
```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельную область тяжелой цепи антитела 04F08 (SEQ ID NO: 43)

```
1 caggttactc tgaaagagtc tggccctggg atattgcagc cctcccagac cctcagctcg
61 acttggtctt tctctgggtt ttcactgagc acttatggtg tgggtgtgac ctggattcgt
121 cagccttcag gaaaggggtc ggagtggtg gcacacattt actgggatga tgacaagcgc
181 tataacccat ccttgaagag ccggctcaca atctccaag atacctcaa caaccagta
241 ttctcaaga tcaccagtgt ggacactgca gatactgcca catactactg tgctcaaacg
301 gggatatagta acttgtttgc ttactggggc caagggactc tggtcactgt ctctgca
```

Последовательность белка, определяющая вариабельную область тяжелой цепи антитела 04F08 (SEQ ID NO: 44)

```
1 qvtlkespg ilqpsqtls tcsfsgfsls tygmgtwir qpsgkglewl ahiywdddkr
61 ynpslksrlt iskdtstnnqv flkittsvda dtatyycat t gysnlfaywg qgtlvtvsa
```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельную область каппа-цепи антитела 04F08 (SEQ ID NO: 79)

```

1 gacattgtga tgacccagtc tcaaaaatc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc
61 gtcacctgca aggccagtca gaattgtggg actaatgtag cctgggtatca acagaaatta
121 ggacaatctc ctaaaacact gatttactcg gcatcctacc ggtacagtgg agtccctgat
181 cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcaa tgtgcagtct
241 gaagacttgg cagagtattt ctgtcagcaa tataacagct atccgtacac gttcggaggg
301 gggaccaagc tggaaataaa a

```

Последовательность белка, определяющая варибельную область каппа-цепи антитела 04F08 (SEQ ID NO: 80)

```

1 divmtqsqkf mstsvgdrvs vtckasqnvq tnvawyqqkl gqspkqliys asyrysgvpd
61 rftgsgsgtd ftiltlnvqs edlaeyfcqg ynsypytfgg gtkleik

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая варибельную область тяжелой цепи антитела 06C11 (SEQ ID NO: 45)

```

1 caggttactc tgaaagagtc tggccctggg atattgcagc cctcccagac cctcagtctg
61 acttggttctt tctctgggtt ttcactgaac acttatggta tgggtgtgag ctggattcgt
121 cagccttcag gaaagggtct ggagtggctg gcacacattt actgggatga tgacaagcgc
181 tataacccat ccctgaagag ccggctcaca atctccaagg atgcctcaa caaccgggtc
241 ttctcaaga tcaccagtgt ggacactgca gatactgcca catactactg tgctcaaaga
301 ggttatgatg attactgggg ttactggggc caagggactc tggtcactat ctctgca

```

Последовательность белка, определяющая варибельную область тяжелой цепи антитела 06C11 (SEQ ID NO: 46)

```

1 qvtlkespgg ilqpsqtllsl tcsfsgfsln tygmvgvwir qpsgkglewl ahiywdddkr
61 ynpslksrlt iskdasnrv flkitsvdt dtatyycarg gyddywywg qgtltvtisa

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая варибельную область каппа-цепи антитела 06C11 (SEQ ID NO: 81)

```

1 gacattgtga tgacccagtc tcaaaaatc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc
61 gtcacctgca aggccagtca gaattgtggg actaatgtag cctgggttca acagaaacca
121 ggtcaatctc ctaaagcact gatttactcg gcatcctacc ggtacagtgg agtccctgat
181 cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcaa tgtgcagtct
241 gaagacttgg cagagtattt ctgtcagcaa tataacaact atcctctcac gttcgggtgt
301 gggaccaagc tggagctgaa a

```

Последовательность белка, определяющая варибельную область каппа-цепи антитела 06C11 (SEQ ID NO: 82)

```

1 divmtqsqkf mstsvgdrvs vtckasqnvq tnvawfqqkp gqspkaliys asyrysgvpd
61 rftgsgsgtd ftiltlnvqs edlaeyfcqg ynnypltfga gtkleik

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая варибельную область тяжелой цепи антитела 08G01 (SEQ ID NO: 47)

```

1 gaggtcctgc tgcaacagtc tggacctgag gtgggtgaagc ctggggcttc agtgaagata
61 ccctgcaagg cttctggata cacattcact gactacaaca tggactgggt gaagcagagc
121 catggaaaga gccttgagtg gattggagag attaatccta acaatgggtg tactttctac
181 aaccagaagt tcaaggggcaa agccacattg actgtagaca agtcctccag cacagcctac
241 atggagctcc gcagcctgac atctgaggac actgcagtct attactgtgc aagagaggca
301 attactacgg taggcgctat ggactactgg ggtcaaggaa cctcagtcac cgtctcctca

```

Последовательность белка, определяющая варибельную область тяжелой цепи антитела 08G01 (SEQ ID NO: 48)

```

1 evllqqsgpe vvkpgasvki pckasgytft dynmdwvkqs hgkslewise inpnnggtfy
61 ngkfkgkatl tvdkssstay melrsltsed tavyycarea ittvgamdyw gqgtsvtvss

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая варибельную область каппа-цепи антитела 08G01 (SEQ ID NO: 83)

```

1 gacatccaga tgactcagtc tccagcctcc ctatctgcat ctgtgggaga aactgtcacc
61 atcacatgtc gagcaagtgg gaattattcac aattatttag catggtatca gcagaaacag
121 ggaaaatctc ctcagctcct ggtctataat gcaaaaacct tagcagatgg tgtgccatca
181 aggttcagtg gcagtggatc aggaacacaa tattctctca agatcaacag cctgcagcct
241 gaagattttg ggagttatta ctgtcaacat ttttgaggtt ctcttacac gttcggaggg
301 gggaccaagc tggaaataaa a

```

Последовательность белка, определяющая варибельную область каппа-цепи антитела 08G01 (SEQ ID NO: 84)

```

1 diqmtqspas lsasvgetvt itcrasgnih nylawyqqkq gkspqllvyn aktladgvps
61 rfgsgsgsgtq yslkinslqp edfsgsyycqh fwsspytfgg gtkleik

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая варибельную область тяжелой цепи антитела 14F11 (SEQ ID NO: 49)

```

1 caggttactc tgaaagagtc tggccctgga atattgcagc cctcccagac cctcagtctg
61 acttggttctt tctctgggtt ttcactgagc acttatggta tgggtgtagg ctggattcgt
121 cagccttcag gaaagggtct agagtggctg gcagacattt ggtgggatga cgataagtag
181 tataacccat ccctgaagag ccggctcaca atctccaagg atacctccag caatgaggtg
241 ttctcaaga tcgccattgt ggacactgca gatactgcca ctactactg tgctcgaaga
301 ggtcactact ctgctatgga ctactggggg caaggaaacct cagtcaccgt ctctca

```

Последовательность белка, определяющая варибельную область тяжелой цепи антитела 14F11 (SEQ ID NO: 50)

```

1 qvtlkespgg ilqpsqtllsl tcsfsgfsls tygmvgvwir qpsgkglewl adiwdddly
61 ynpslksrlt iskdtsnev flkiaivdt dtatyycarr ghysamdyw gqgtsvtvss

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая варибельную область каппа-цепи антите-

ла 14F11 (SEQ ID NO: 85)

```
1 gacattgtaa tgaccagtc tcaaaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc
61 gtcacctgca aggcagtc gaattgtgggt actaatgtag cctgggtatca acagaaacca
121 gggaactctc cttaaagcact gatttactcg ccattcctacc ggtacagtgg agtccctgat
181 cgcttcacag gcagtggtatc tgggacagat ttactctca ccattcagca tgtgcagtct
241 gaagacttgg cagaatattt ctgtcagcaa tataacagct atcctcacac gttcggaggg
301 gggaccaagc tggaaatgaa a
```

Последовательность белка, определяющая варибельную область каппа-цепи антитела 14F11 (SEQ ID NO: 86)

```
1 divmtsqskf mstsvgdrvs vtckasqnvq tnvawyqqkp gqspkaliys psyrysgvpd
61 rftgsgsgtd ftiltisnvs edlaeyfcqg ynsyphtfgg gtklemk
```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая варибельную область тяжелой цепи антитела 17B11 (SEQ ID NO: 51)

```
1 caggttactc tgaagagtc tggccctggg atattgcagc cctcccagac cctcagtcgt
61 acttggtctt tctctgggtt ttactgagc acttctggta tgggtgtgag ttggattcgt
121 cagccttcag gaaaggggtc ggagtggctg gcacacaatg actgggatga tgacaagcgc
181 tataagtcac ccctgaagag ccggctcaca atatccaagg atacctccag aaaccaggta
241 ttctcaaga tcaccagtgt ggacactgca gatactgcca catactactg tgctcgaaga
301 gttgggggat tagagggcta ttttgattac tggggccaag gcaccactct cacagtcctc
361 tca
```

Последовательность белка, определяющая варибельную область тяжелой цепи антитела 17B11 (SEQ ID NO: 52)

```
1 qvtlkesgpg ilqpsqtlsl tcsfsgfsls tsgmgvswir qpsgkglewl ahndwdddkr
61 yksslksrlt iskdtsrnqv flkitsvda dtatyycar vvglegyfdy wqggttltvs
121 s
```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая варибельную область каппа-цепи антитела 17B11 (SEQ ID NO: 87)

```
1 gacattgtgc tgacacagtc tctgtcttc ttagctgtat ctctggggca gagggccacc
61 atctcatgca gggccagcca aagtgtcagt acatctaggt ttagttatat gcactgggtc
121 caacagaaac caggacaggc acccaactc ctcatcaagt atgcatccaa cctagaatct
181 ggggtccctg ccaggttcag tggcagtggt tctgggacag acttcaccct caacatccat
241 cctgtggagg gggaggatac tgcaacatat tactgtcagc acagttggga gattccgtac
301 acgttcggag gggggaccaa gctggaaata aaa
```

Последовательность белка, определяющая варибельную область каппа-цепи антитела 17B11 (SEQ ID NO: 88)

```
1 divltqspas lavslggrat iscrasqsvs tsrfsymhwf gqkpggapkl likyasnles
61 gvparfsgsg sgtdftlnih pvegedtaty ycghsweipy tfggggtklei k
```

Аминокислотные последовательности, определяющие варибельные области тяжелых цепей иммуноглобулина для антител, полученных в примере 6, выравнены на фиг. 10. Аминоконцевые последовательности сигнальных пептидов (для экспрессии/секреции) не показаны. CDR₁, CDR₂ и CDR₃ (определение согласно Kabat) обозначены рамками. На фиг. 11 представлено выравнивание отдельных последовательностей CDR₁, CDR₂ и CDR₃ для каждого антитела.

Аминокислотные последовательности, определяющие варибельные области легких цепей иммуноглобулина для антител в примере 6, выравнены на фиг. 12. Аминоконцевые последовательности сигнальных пептидов (для экспрессии/секреции) не показаны. CDR₁, CDR₂ и CDR₃ обозначены рамками. На фиг. 13 представлено выравнивание отдельных последовательностей CDR₁, CDR₂ и CDR₃ для каждого антитела.

В табл. 2 приведены SEQ ID NO каждой последовательности, обсуждаемой в этом примере.

Таблица 2

SEQ. ID NO.	Нуклеиновая кислота или белок
39	01G06 Варибельная область тяжелой цепи—нуклеиновая кислота
40	01G06 Варибельная область тяжелой цепи—белок
75	01G06 Варибельная область легкой цепи (каппа)—нуклеиновая кислота
76	01G06 Варибельная область легкой цепи (каппа)—белок
1	01G06 CDR ₁ тяжелой цепи
7	01G06 CDR ₂ тяжелой цепи
15	01G06 CDR ₃ тяжелой цепи
21	01G06 CDR ₁ легкой цепи (каппа)
26	01G06 CDR ₂ легкой цепи (каппа)
32	01G06 CDR ₃ легкой цепи (каппа)

SEQ. ID NO.	Нуклеиновая кислота или белок
41	03G05 Варибельная область тяжелой цепи—нуклеиновая кислота
42	03G05 Варибельная область тяжелой цепи—белок
77	03G05 Варибельная область легкой цепи (каппа)—нуклеиновая кислота
78	03G05 Варибельная область легкой цепи (каппа)—белок
2	03G05 CDR ₁ тяжелой цепи
8	03G05 CDR ₂ тяжелой цепи
16	03G05 CDR ₃ тяжелой цепи
22	03G05 CDR ₁ легкой цепи (каппа)
27	03G05 CDR ₂ легкой цепи (каппа)
33	03G05 CDR ₃ легкой цепи (каппа)
43	04F08 Варибельная область тяжелой цепи—нуклеиновая кислота
44	04F08 Варибельная область тяжелой цепи—белок
79	04F08 Варибельная область легкой цепи (каппа)—нуклеиновая кислота
80	04F08 Варибельная область легкой цепи (каппа)—белок
3	04F08 CDR ₁ тяжелой цепи
9	04F08 CDR ₂ тяжелой цепи
17	04F08 CDR ₃ тяжелой цепи
23	04F08 CDR ₁ легкой цепи (каппа)
28	04F08 CDR ₂ легкой цепи (каппа)
34	04F08 CDR ₃ легкой цепи (каппа)
45	06C11 Варибельная область тяжелой цепи—нуклеиновая кислота
46	06C11 Варибельная область тяжелой цепи—белок
81	06C11 Варибельная область легкой цепи (каппа)—нуклеиновая кислота
82	06C11 Варибельная область легкой цепи (каппа)—белок
4	06C11 CDR ₁ тяжелой цепи
9	06C11 CDR ₂ тяжелой цепи
18	06C11 CDR ₃ тяжелой цепи
23	06C11 CDR ₁ легкой цепи (каппа)
28	06C11 CDR ₂ легкой цепи (каппа)
35	06C11 CDR ₃ легкой цепи (каппа)
47	08G01 Варибельная область тяжелой цепи—нуклеиновая кислота
48	08G01 Варибельная область тяжелой цепи—белок
83	08G01 Варибельная область легкой цепи (каппа)—нуклеиновая кислота
84	08G01 Варибельная область легкой цепи (каппа)—белок
1	08G01 CDR ₁ тяжелой цепи
10	08G01 CDR ₂ тяжелой цепи
15	08G01 CDR ₃ тяжелой цепи
24	08G01 CDR ₁ легкой цепи (каппа)
29	08G01 CDR ₂ легкой цепи (каппа)
32	08G01 CDR ₃ легкой цепи (каппа)
49	14F11 Варибельная область тяжелой цепи—нуклеиновая кислота
50	14F11 Варибельная область тяжелой цепи—белок

SEQ. ID NO.	Нуклеиновая кислота или белок
85	14F11 Варибельная область легкой цепи (каппа)— нуклеиновая кислота
86	14F11 Варибельная область легкой цепи (каппа)—белок
5	14F11 CDR ₁ тяжелой цепи
11	14F11 CDR ₂ тяжелой цепи
19	14F11 CDR ₃ тяжелой цепи
23	14F11 CDR ₁ легкой цепи (каппа)
30	14F11 CDR ₂ легкой цепи (каппа)
36	14F11 CDR ₃ легкой цепи (каппа)
51	17B11 Варибельная область тяжелой цепи—нуклеиновая кислота
52	17B11 Варибельная область тяжелой цепи—белок
87	17B11 Варибельная область легкой цепи (каппа)— нуклеиновая кислота
88	17B11 Варибельная область легкой цепи (каппа)—белок
6	17B11 CDR ₁ тяжелой цепи
12	17B11 CDR ₂ тяжелой цепи
20	17B11 CDR ₃ тяжелой цепи
25	17B11 CDR ₁ легкой цепи (каппа)
31	17B11 CDR ₂ легкой цепи (каппа)
37	17B11 CDR ₃ легкой цепи (каппа)

Последовательности CDR тяжелых цепей моноклональных антител мыши (определения согласно Kabat, Chothia и IMGT) показаны в табл. 3.

Таблица 3

Kabat				
	CDR1	CDR2	CDR3	Варибельная область, SEQ ID NO
01G06	DYNMD (SEQ ID NO:1)	QINPNNGGIFNQKFKG (SEQ ID NO:7)	EAITTVGAMDY (SEQ ID NO:15)	40
03G05	SYWIH (SEQ ID NO:2)	DINPSNGRSKYNEKFKN (SEQ ID NO:8)	EVLDGAMDY (SEQ ID NO:16)	42
04F08	TYGMGVT (SEQ ID NO:3)	HIYWDDDKRYNPSLKS (SEQ ID NO:9)	TGYSNLFAY (SEQ ID NO:17)	44
06C11	TYGMGVS (SEQ ID NO:4)	HIYWDDDKRYNPSLKS (SEQ ID NO:9)	RGYDDYWGY (SEQ ID NO:18)	46
08G01	DYNMD (SEQ ID NO:1)	EINPNNGGTFYNQKFKG (SEQ ID NO:10)	EAITTVGAMDY (SEQ ID NO:15)	48
14F11	TYGMGVG (SEQ ID NO:5)	DIWWDDDKYYNPSLKS (SEQ ID NO:11)	RGHYSAMDY (SEQ ID NO:19)	50
17B11	TSGMGVS (SEQ ID NO:6)	HNDWDDDKRYKSSLKS (SEQ ID NO:12)	RVGGLEGYFDY (SEQ ID NO:20)	52

Chothia				
	CDR1	CDR2	CDR3	Варибельная область, SEQ ID NO
01G06	GYTFTDY (SEQ ID NO:38)	NPNNGG (SEQ ID NO:143)	EAITTVGAMDY (SEQ ID NO:15)	40
03G05	GYTFTSY (SEQ ID NO:128)	NPSNGR (SEQ ID NO:144)	EVLDGAMDY (SEQ ID NO:16)	42
04F08	GFSLSTYGM (SEQ ID NO:130)	YWDDD (SEQ ID NO:145)	TGYSNLFAY (SEQ ID NO:17)	44
06C11	GFSLNTYGM (SEQ ID NO:132)	YWDDD (SEQ ID NO:145)	RGYDDYWGY (SEQ ID NO:18)	46
08G01	GYTFTDY (SEQ ID NO:38)	NPNNGG (SEQ ID NO:143)	EAITTVGAMDY (SEQ ID NO:15)	48
14F11	GFSLSTYGM (SEQ ID NO:130)	WWDDD (SEQ ID NO:146)	RGHYSAMDY (SEQ ID NO:19)	50
17B11	GFSLSTSGM (SEQ ID NO:134)	DWDDD (SEQ ID NO:147)	RVGGLEGYFDY (SEQ ID NO:20)	52
IMGT				
	CDR1	CDR2	CDR3	Варибельная область, SEQ ID NO
01G06	GYTFTDYN (SEQ ID NO:136)	INPNNGGI (SEQ ID NO:148)	AREAITTVGAMDY (SEQ ID NO:154)	40
03G05	GYTFTSYW (SEQ ID NO:138)	INPSNGRS (SEQ ID NO:149)	AREVLDGAMDY (SEQ ID NO:155)	42
04F08	GFSLSTYGMG (SEQ ID NO:140)	IYWDDDK (SEQ ID NO:150)	AQTGYSNLFAY (SEQ ID NO:156)	44
06C11	GFSLNTYGMG (SEQ ID NO:141)	IYWDDDK (SEQ ID NO:150)	AQRGYDDYWGY (SEQ ID NO:157)	46
08G01	GYTFTDYN (SEQ ID NO:136)	INPNNGGT (SEQ ID NO:151)	AREAITTVGAMDY (SEQ ID NO:154)	48
14F11	GFSLSTYGMG (SEQ ID NO:140)	IWWDDDK (SEQ ID NO:152)	ARRGHYSAMDY (SEQ ID NO:158)	50
17B11	GFSLSTSGMG (SEQ ID NO:142)	NDWDDDK (SEQ ID NO:153)	ARRVGGLEGYFDY (SEQ ID NO:159)	52

Последовательности CDR легких каппа-цепей моноклональных антител мыши (определения согласно Kabat, Chothia и IMGT) показаны в табл. 4.

Таблица 4

Kabat/Chothia				
	CDR1	CDR2	CDR3	Варибельная область, SEQ ID NO
01G06	RTSENHNYLA (SEQ ID NO:21)	DAKTLAD (SEQ ID NO:26)	QHFWSSPYT (SEQ ID NO:32)	76
03G05	RASESVDNYGISFMN (SEQ ID NO:22)	AASNQGS (SEQ ID NO:27)	QQSKEVPWT (SEQ ID NO:33)	78
04F08	KASQNVGTNVA (SEQ ID NO:23)	SASYRYS (SEQ ID NO:28)	QQYNSYPYT (SEQ ID NO:34)	80
06C11	KASQNVGTNVA (SEQ ID NO:23)	SASYRYS (SEQ ID NO:28)	QQYNNYPLT (SEQ ID NO:35)	82
08G01	RASGNIHNYLA (SEQ ID NO:24)	NAKTLAD (SEQ ID NO:29)	QHFWSSPYT (SEQ ID NO:32)	84
14F11	KASQNVGTNVA (SEQ ID NO:23)	SPSYRYS (SEQ ID NO:30)	QQYNSYPHT (SEQ ID NO:36)	86
17B11	RASQSVSTRFSYMH (SEQ ID NO:25)	YASNLES (SEQ ID NO:31)	QHSWEIPYT (SEQ ID NO:37)	88
IMGT				
	CDR1	CDR2	CDR3	Варибельная область, SEQ ID NO
01G06	ENLHNY (SEQ ID NO:160)	DAK	QHFWSSPYT (SEQ ID NO:32)	76
03G05	ESVDNYGISF (SEQ ID NO:161)	AAS	QQSKEVPWT (SEQ ID NO:33)	78
04F08	QNVGTN (SEQ ID NO:162)	SAS	QQYNSYPYT (SEQ ID NO:34)	80
06C11	QNVGTN (SEQ ID NO:162)	SAS	QQYNNYPLT (SEQ ID NO:35)	82
08G01	GNIHNY (SEQ ID NO:163)	NAK	QHFWSSPYT (SEQ ID NO:32)	84
14F11	QNVGTN (SEQ ID NO:162)	SPS	QQYNSYPHT (SEQ ID NO:36)	86
17B11	QSVSTRFSY (SEQ ID NO:164)	YAS	QHSWEIPYT (SEQ ID NO:37)	88

Для создания последовательностей полной тяжелой или каппа-цепи антитела каждую вышеуказанную последовательность варибельной области объединяют с соответствующей ей константной областью. Например, полная тяжелая цепь содержит последовательность варибельной области тяжелой цепи, после которой расположена последовательность константной области тяжелой цепи IgG1 или IgG2b мыши, а полная каппа-цепь содержит последовательность варибельной области каппа-цепи, после кото-

рой расположена последовательность константной области легкой каппа-цепи мыши.

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая константную область тяжелой цепи IgG1 мыши (SEQ ID NO: 165)

```

1  gccaaaaacga cccccccatc tgtctatcca ctggcccctg gatctgctgc caaaactaac
61  tccatggtga ccttgggatg cctgggtcaag ggctatttcc ctgagccagt gacagtgcac
121  tggaactctg gatccctgtc cagcgggtgtg cacaccttcc cagctgtcct gcagctctgac
181  ctctacactc tgagcagctc agtgactgtc ccctccagca cctggcccag cgagaccgtc
241  acctgcaacg ttgccacccc ggccagcagc accaagggtgg acaagaaaat tgtgcccagg
301  gatttgtggt gtaagccttg catatgtaca gtcccagaag tatcatctgt cttcatcttc
361  cccccaaagc ccaaggatgt gctcaccatt actctgactc ctaagggtcac gtgtgttgac
421  gtagacatca gcaaggatga tcccagggtc cagttcagct ggttttaga tgatgtggag
481  gtgcacacag ctacagacga accccgggag gagcagttca acagcacttt ccgctcagtc
541  agtgaacttc ccatcatgca ccaggactgg ctcaatggca aggagttcaa atgcagggtc
601  aacagtgacg ctttccctgc ccccatcgag aaaaccatct ccaaaaccaa aggcagaccg
661  aaggctccac aggtgtacac cattccacct cccaaggagc agatggccaa ggataaagtc
721  agtctgacct gcatgataac agacttcttc cctgaagaca ttactgtgga gtggcagtg
781  aatgggcagc cagcggagaa ctacaagaac actcagccca tcatggacac agatggctct
841  tacttctgtc acagcaagct caatgtgcag aagagcaact gggaggcagg aaatacttct
901  acctgctctg tgttacctga gggcctgcac aaccaccata ctgagaagag cctctccac
961  tctcctggtg aa

```

Последовательность белка, определяющая константную область тяжелой цепи IgG1 мыши (SEQ ID NO: 166)

```

1  akthppsvyp lapgsaaqtn smvtlgclvk gyfpepvtvt wnsqslssgv htfpavllqsd
61  lytlsssvtv psstwpsetv tcnvahpass tkvdkkivpr dgcgkpcict vpevssvfif
121  ppkpkdvlti tltpkvtcvv vdiskddpev qfswfvdvde vhtagtqpre eqfnstfrsv
181  selpimhqdw lngkefkcrv nsaaftpapie ktisktkgrp kapqvtytip pkegmakdkv
241  sltcmtdff peditvewq nggpaenykn tqpimtdtgs yfvysklvq ksnweagntf
301  tcsvlheglh nhhtekslsh spgk

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая константную область тяжелой цепи IgG2b мыши (SEQ ID NO: 167)

```

1  gccaaaacaa cccccccatc agtctatcca ctggcccctg ggtgtggaga tacaactggg
61  tcttccgtga ctctgggatg cctgggtcaag ggctacttcc ctgagtcagt gactgtgact
121  tggaactctg gatccctgtc cagcagtggtg cacaccttcc cagctctcct gcagctctgga
181  ctctacacta tgagcagctc agtgactgtc ccctccagca cctggccaag tcagaccgtc
241  acctgcagcg ttgttcaccc agccagcagc accacgggtgg acaaaaaact tgagcccagc
301  gggcccatth caacaatcaa cccctgtcct ccatgcaagg agtgtcacia atgccagct
361  cctaacctcg aggtgtgacc atccgtcttc atcttccctc caaatatcaa ggatgtactc
421  atgatctccc tgacacccaa ggtcacgtgt gtgggtgttg atgtgagcga ggatgaccca
481  gacgtccaga tcagctggtt tgtgaacaac gtggaagtac acacagctca gacacaaac
541  catagagagg attacaacag tactatccgg gtggtcagca ccctcccat ccagcaccag
601  gactggatga gtggcaagga gttcaaatgc aagggtcaaca acaaagacct cccatcacc
661  atcgagagaa ccatctcaaa aattaaaggg ctatgcagag ctccacaagt atacatcttg
721  ccgccaccag cagagcagtt gtccaggaaa gatgtcagtc tcaattgcct ggtcgtgggc
781  ttcaaccctg gagacatcag tctggagtgg accagcaatg ggcatacaga ggagaactac
841  aaggacaccg caccagtcct agactctgac ggttcttact tcatatatag caagctcaat
901  atgaaaacaa gcaagtggga gaaaacagat tccttctcat gcaacgtgag acacgagggt
961  ctgaaaaatt actacctgaa gaagaccatc tcccggctctc cgggtaaa

```

Последовательность белка, определяющая константную область тяжелой цепи IgG2b мыши (SEQ ID NO: 168)

```

1  akthppsvyp lapgcgdtg ssvtlgclvk gyfpepvtvt wnsqslsssv htfpallqsg
61  lytmsssvtv psstwpstqv tcnvahpass ttvdkkleps gpistinpcp pkechkcpa
121  pnleggpsvf ifppnikdvl misltpkvtc vvvdvseddp dvqlswfvnn vevhtagtqt
181  hredynstir vvstlpiqh dwmsgkefk kvnkdllpsp iertiskikg lvrapqvyl
241  ppaeqlsrk dvsltlclvg fnpgdisvew tsnghteeny kdtapvltds gsyfiyskl
301  mktskwektd sfscnvrheg lknlylkkti srspgk

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая константную область легкой каппа-цепи мыши (SEQ ID NO: 169)

```

1  cgggctgatg ctgcaccaac tgtatccatc ttcccaccat ccagtgcagca gttaacatct
61  ggaggtgcct cagtcgtgtg cttcttgaa aacttctacc ccaaagacat caatgtcaag
121  tggaagattg atggcagtg aacacaaaat gccgtcctga acagttggac tgatcaggac
181  agcaaagaca gcacctacag catgagcagc accctcacgt tgaccaagga cgagtatgaa
241  cgacataaca gctatacctg tgaggccact cacaagacat caacttcacc cattgtcaag
301  agcttcaaca ggaatgagtg t

```

Последовательность белка, определяющая константную область легкой каппа-цепи мыши (SEQ ID NO: 170)

```

1  radaaptvsi fppsseqqlts ggasvvcfln nfypkdinvk wkidgserqn gvlinswtddq
61  skdstysmss tltltkdeye rhnsytceat hktstspivk sfnrnec

```

Следующие последовательности представляют действительные или предполагаемые последовательности тяжелых и легких цепей полной длины (т.е. содержащие последовательности как вариабельной, так и константной областей) для каждого антитела, описанного в данном примере. Сигнальные последовательности для надлежащей секреции антител (например, сигнальные последовательности на 5'-конце последовательностей ДНК или amino-конце последовательностей белка) не показаны в последова-

тельностью тяжелых и легких цепей полной длины, раскрытых в данном документе, и не включены в конечный секретируемый белок. Также не показаны стоп-кодона для терминции трансляции, необходимые на 3'-конце последовательностей ДНК. Выбор сигнальной последовательности и/или стоп-кодона для экспрессии раскрытых последовательностей тяжелых цепей и легких цепей иммуноглобулина полной длины находится в пределах компетенции среднего специалиста в данной области. Также предполагается, что последовательности варибельной области можно лигировать с другими последовательностями константной области с получением активных тяжелой и легкой цепей иммуноглобулина полной длины.

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая последовательность тяжелой цепи полной длины (варибельную область тяжелой цепи и константную область IgG1) 01G06 (SEQ ID NO: 99)

```

1 gaggtcctgc tgaacagtc tggacctgag ctggtgaagc ctggggccttc agtgaagata
61 ccctgcaagg cttctggata cacattcact gactacaaca tggactgggt gaagcagagc
121 catggaaga gccttgagt gattggacaa attaatccta acaatgggtg tattttcttc
181 aaccagaagt tcaagggcaa ggccacattg actgtagaca agtcctccaa tacagccttc
241 atggaggtcc gcagcctgac atctgaggac actgcagtct attactgtgc aagagaggca
301 attactacgg taggcgctat ggactactgg ggtcaaggaa cctcagtcac cgtctcctca
361 gccaaaaacga ccccccatc tgtctatcca ctggcccctg gatctgctgc ccaaaactaac
421 tccatggtga ccctgggatg cctgggtcaag ggctatttcc ctgagccagt gacagtgaac
481 tggaactctg gatccctgtc cagcgggtgtg cacaccttcc cagctgtcct gcagctgtac
541 ctctacactc tgagcagctc agtgactgtc ccctccagca cctggcccag cgagaccgtc
601 acctgcaacg ttgccacccc ggccagcagc accaagggtg acaagaaaat tgtgcccagg
661 gattgtggtt gtaagccttg catatgtaca gtcccagaag tatcatctgt cttcatcttc
721 cccccaaagc ccaaggatgt gctcaccatt actctgactc ctaagggtcac gtgtgtgtgtg
781 gtagacatca gcaaggatga tcccagggtc cagttcagct ggtttgtaga tgatgtggag
841 gtgcacacag ctacagcga acccggggag gacgagttca acagcacttt ccgctcagtc
901 agtgaacttc ccatcatgca ccaggactgg ctcaatggca aggagttcaa atgcagggtc
961 aacagtgcag ctttcctgc ccccatcgag aaaaccatct ccaaaaccaa aggcagaccg
1021 aaggctccac aggtgtacac cattccacct cccaaggagc agatggccaa ggataaagtc
1081 agtctgacct gcatgataac agacttcttc cctgaagaca ttactgtgga gtggcagtg
1141 aatgggcagc cagcggagaa ctacaagaac actcagccca tcatggacac agatggctct
1201 tacttcgtct acagcaagct caatgtgcag aagagcaact gggaggcagg aaatactttc
1261 acctgctctg tgttacatga gggcctgcac aaccaccata ctgagaagag cctctccac
1321 tctcctggtg aa

```

Последовательность белка, определяющая последовательность тяжелой цепи полной длины (варибельную область тяжелой цепи и константную область IgG1) 01G06 (SEQ ID NO: 100)

```

1 evllqsgspe lvkpgasvki pckasgytft dynmdwvks hgkslewigq inpnnggiff
61 nqkfkkgkatl tvdkssntaf mevrsltsed tavyycarea ittvgamdyw gggtsvtvss
121 akttppsvyp lapgsaaqtn smvtlgclvk gyfpepvtvt wnsqslssgv htfpavlqsd
181 lytlsssvtv psstwpsetv tcnvahpass tkvdkkiivr dgcgkpcict vpevssvfif
241 ppkpkdvlti tltpkvtcvv vdiskddpev qfswfvdvde vhtaqtqpre eqfnstfrsv
301 selpimhqdw lngkefkcrv nsaaafapie ktisktkgrp kapqvvtipp pkeqmakdkv
361 sltcmtdff peditvewqw nggpaenykn tqpimtdtgs yfvysklnvq ksnweagntf
421 tcsvlheglh nhhtekslsh spgk

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая последовательность легкой цепи полной длины (варибельную область и константную область каппа-цепи) 01G06 (SEQ ID NO: 101)

```

1 gacatccaga tgactcagtc tccagcctcc ctatctgcat ctgtgggaga aactgtcacc
61 atcacatgtc gaacaagtga gaatcttcac aattatttag catggtatca gcagaaacag
121 ggaaaatctc ctcagctcct ggtctatgat gcaaaaacct tagcagatgg tgtgccatca
181 aggttcagtg gcagtggatc aggaacacaa tattctctca agatcaacag cctgcagcct
241 gaagattttg ggagttatta ctgtcaacat ttttgagta gtccttacac gttcggagg
301 gggaccaagc tggaaataaa acgggctgat gctgcaccaa ctgtatccat cttccacca
361 tccagtgaac agttaacatc tggagggtcc tcagtcgtgt gcttcttgaa caacttctac
421 cccaaagaca tcaatgtcaa gtggaagatt gatggcagtg aacgacaaa tggcgctcctg
481 aacagtttga ctgatcagga cagcaagac agcacctaca gcatgagcag caccctcacg
541 ttgaccaagg acgagtatga acgacataac agctatacct gtgaggccac tcacaagaca
601 tcaacttcac ccattgtcaa gagcttcaac aggaatgagt gt

```

Последовательность белка, определяющая последовательность легкой цепи полной длины (варибельную область и константную область каппа-цепи) 01G06 (SEQ ID NO: 102)

```

1 diqmtqspas lsasvgetvt itcrtsenlh nylawyqqkq gkspqllvyd aktladgvps
61 rfsqsgsgtg yslkinslqp edfgyycqh fwsspytfgg gtleikrad aaptvsifpp
121 sseqltsgga svvcflnnfy pkdinvkwi dgserqngvl nswtdqdsd stysmsstlt
181 ltkdeyerhn sytceathkt stspivksfn rnc

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая последовательность тяжелой цепи полной длины (варибельную область тяжелой цепи и константную область IgG1) 03G05 (SEQ ID NO: 103)

```

1 caggtccaac tgcagcagcc tggggctgaa ctggtgaagc ctggggcttc agtgaagctg
61 tctctgcaagg cttctggcta cacttcacc agctactgga ttcactgggt gaaccagagg
121 cctggacaag gccttgagtg gattggagac attaatccta gcaacggccg tagtaagtat
181 aatgagaagt tcaagaacaa ggccacaatg actgcagaca aatcctccaa cacagcctac
241 atgcaactca gcagcctgac atctgaggac tctgcgggtct attactgtgc aagagagggt
301 ctggatggtg ctatggacta ctggggctcaa ggaacctcag tcacctgtct ctgagccaaa
361 acgacacccc catctgtcta tccactggcc cctggatctg ctgcccacaa taactccatg
421 gtgaccctgg gatgcctggt caagggtat ttccctgagc cagtgcagct gacctggaac
481 tctggatccc tgtccagcgg tgtgcacacc ttccagctg tctgcagtc tgacctctac
541 actctgagca gctcagtgac tgtccctccc agcacctggc ccagcgagac cgtcacctgc
601 aacgttgccc acccgccagc cagcaccaag gtggacaaga aaattgtgcc cagggattgt
661 ggttgaagc cttgcatatg tacagtccca gaagtatcat ctgtcttcat cttccccc
721 aagcccaagg atgtgctcac cattactctg actcctaagg tcacgtgtgt tgtggtagac
781 atcagcaagg atgatccga ggtccagttc agctggtttg tagatgatgt ggagggtcac
841 acagctcaga cgcaaccccg ggaggagcag ttcaacagca ctttccgctc agtcagtga
901 cttcccatca tgcaccagga ctggctcaat ggcaaggagt tcaaatgcag ggtcaacagt
961 gcagctttcc ctgcccccat cgagaaaacc atctccaaaa ccaaggcag accgaaggct
1021 ccacaggtgt acaccattcc acctcccaag gagcagatgg ccaaggataa agtcagtctg
1081 acctgcatga taacagactt cttccctgaa gacattactg tggagtggca gtggaatggg
1141 cagccagcgg agaactaca gaacactcag cccatcatgg acacagatgg ctcttacttc
1201 gtctacagca agctcaatgt gcagaagagc aactgggagg caggaataac tttcacctgc
1261 tctgtgttac atgagggcct gcacaaccac catactgaga agagcctctc cactctctct
1321 ggtaaa

```

Последовательность белка, определяющая последовательность тяжелой цепи полной длины (вариабельную область тяжелой цепи и константную область IgG1) 03G05 (SEQ ID NO: 104)

```

1 qvqlqppgae lvkpgasvkl sckasgytft sywihwvnr pggglewignr inpsngrsky
61 nekfkknkatm tadvksntay mqlssltsed savyycarev ldgamdywgq gtsvvtssak
121 ttpsvvpla pgsaaqtnsm vtlgclvkgy fpepvtvtwn sgslssgvht fpavqlsdlly
181 tlsssvtpps stwpssetvc nvahpasstk vdkkivprdc gckpcictvp evssvfifpp
241 kpkdvlitil tpkvtcvvvd iskddpevqf swfvddvevh taqtgpreeq fntsfsvse
301 lpimhqdwln gkefkcrvns aafpapiekt isktkgrpka pqvytipppk eqmakdkvsl
361 tcmtdffpe ditvewqwnq gpaenykntq pimtdtgsyf vysklnvqks nweagntftc
421 svlheglhnh htekslshsp gk

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая последовательность легкой цепи полной длины (вариабельную область и константную область каппа-цепи) 03G05 (SEQ ID NO: 105)

```

1 gacattgtgt tgacccaatc tccagcttct ttggctgtgt ctctagggca gaggggccacc
61 atctcctgca gagccagcga aagtgttgat aattatggca ttagttttat gaactggttc
121 caacagaaac caggacagcc acccaaaact ctcactctatg ctgcatccaa ccaaggctcc
181 ggggtccctg ccaggtttag tggcagtgagg tctgggacag acttcagcct caacatccat
241 cctatggagg aggatgatac tgcaatgtat ttctgtcagc aaagtaagga ggttccgtgg
301 acgttccgtg gagggtccaa gctggaaatc aaacgggctg atgctgcacc aactgtatcc
361 atcttccccc catccagtga gcagttaaca tctggagggt cctcagtcgt gtgcttcttg
421 aacaacttct accccaaaga catcaatgtc aagtggaaaga ttgatggcag tgaacgacaa
481 aatggcgtcc tgaacagttg gactgatcag gacagcaaag acagcaccta cagcatgagc
541 agcaccccca cggtgaccaa ggacgagtat gaacgacata acagctatac ctgtgaggcc
601 actcacaaga catcaacttc acccattgtc aagagcttca acaggaatga gtgt

```

Последовательность белка, определяющая последовательность легкой цепи полной длины (вариабельную область и константную область каппа-цепи) 03G05 (SEQ ID NO: 106)

```

1 divltqspas lavslgqrat iscrasesvd nygisfmnwf gqkpggppkl liyaasnqgs
61 gvparfsgsg sgtdfslnih pmeeddtamy fcqqskvwpw tfgggsklei kradaaptvs
121 ifppsseqilt sggasvvcfl nnfypkdivn kwkidgserq ngvlswtdq dskdstysms
181 stltltkdey erhnsytcea thktstspiv ksfnrnec

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая последовательность тяжелой цепи полной длины (вариабельную область тяжелой цепи и константную область IgG1) 04F08 (SEQ ID NO: 107)

```

1 caggttactc tgaagagtc tggccctggg atattgcagc cctccagac cctcagtcgt
61 acttgttctt tctctgggtt ttcactgagc acttatggta tgggtgtgac ctggattcgt
121 cagccttcag gaaagggtct ggagtggctg gcacacattt actgggatga tgacaaggac
181 tataacccat ccctgaagag ccggctcaca atctccaagg atacctccaa caaccaggta
241 ttectcaaga tcaccagtgt ggacactgca gatactgcca catactactg tgctcaaacg
301 gggatatagta acttgtttgc ttactggggc caagggactc tgggtactgt ctctgcagcc
361 aaaacgacac cccatctgt ctatccactg gccctggat ctgtgccc aactaactcc
421 atgggtgacc tgggatgcct ggtcaagggc tatctccctg agccagtgc agtgacctg
481 aactctggat ccctgtccag cgggtgtgac acctccag ctgtcctgca gtctgacctc
541 tacactctga gcagctcagt gactgtcccc tccagcacct ggcccagcga gaccgtcacc
601 tgcaacgttg cccaccggc cagcagcacc aagggtggca agaaaattgt gccagggat
661 tgtggttgta agccttgcat atgtacagtc ccagaagtat catctgtctt catcttcccc
721 ccaaaagcca aggatgtgct caccattact ctgactccta aggtcacgtg tgtgtgtgta
781 gacatcagca aggatgatcc cgaggtccag ttcagctggt ttgatagta tgtggaggtg
841 cacacagctc agacgcaacc ccgggaggag cagttcaaca gcacttccg ctcagtcagt
901 gaacttccca tcatgcacca ggactggctc aatggcaagg agttcaaatg cagggtcaac
961 agtgacagct tccctgcccc catcgagaaa accatctcca aaaccaaagg cagaccgaag
1021 gctccacagg gtacacccat tccactcccc aaggagcaga tggccaagga taaagtcatg
1081 ctgacctgca tgataacaga cttcttccct gaagacatta ctgtggagtg gcagtggaat
1141 gggcagccag cggagaacta caagaacact cagcccatca tggacacaga tggctcttac
1201 ttgctctaca gcaagctcaa tgtgcagaag agcaactggg aggcaggaaa tactttcacc
1261 tgctctgtgt tacatgaggg cctgcacaa caccatactg agaagagcct ctcccactct
1321 cctggtaaa

```

Последовательность белка, определяющая последовательность тяжелой цепи полной длины (вариабельную область тяжелой цепи и константную область IgG1) 04F08 (SEQ ID NO: 108)

```

1 qvtlkesgpg ilqpsqtlsl tcsfsgfsls tygmgtwir qpsgkglewl ahiywdddkr
61 ynpslksrllt iskdtsnnqv flkitsvdtat datyycagt gysnlfaywg qgtltvtvsa
121 kttppsvypl apgsaaqtns mvtlgclvkg yfpepvtvtw nsgslssgvh tfpavlqsd
181 ytlsssvtvp sstwpsetvt cnvahpasst kvdkkivprd cgckpcictv pevssvfifp
241 pkpkdvltit ltpkvtcvvv diskddpevq fswfvdddev htaqtqpree qfnstfrsvs
301 elpimhqdlw ngkefkcrvn saafpapie ktsktkgrp apqvytippp keqmakdkvs
361 ltcmitdfff editvewqwn gqpaenyknt qpimdtgdsy fvysklmvqk snweagntft
421 csvlheglhn hhtekslshs pgk

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая последовательность легкой цепи полной длины (вариабельную область и константную область каппа-цепи) 04F08 (SEQ ID NO: 109)

```

1 gacattgtga tgaccacagtc tcaaaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc
61 gtcacgtgca aggcacagtc gaattgtgggt actaatgtag cctgggtatca acagaaatta
121 gacaaatctc ctaaaacact gatttactcg gcattcctacc ggtacagtgg agtccctgat
181 cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcaa tgtgcagtct
241 gaagacttgg cagagtattt ctgtcagcaa tataacagct atccgtacac gttcggaggg
301 gggaccaagc tggaaataaa acgggctgat gctgcacca ctgtatccat cttccacca
361 tccagtgaag agttaacatc tggaggtgcc tcagtcgtgt gcttcttgaa caacttctac
421 tccaaagaca tcaatgtcaa gtggaagatt gatggcagtg aacgacaaa tggcgctctg
481 aacagtttga ctgatcagga cagcaaaagac agcacctaca gcatgagcag caccctcacg
541 ttgaccaagg acgagtatga acgacataac agctatacct gtgaggccac tcacaagaca
601 tcaacttcac ccattgtcaa gagcttcaac aggaatgagt gt

```

Последовательность белка, определяющая последовательность легкой цепи полной длины (вариабельную область и константную область каппа-цепи) 04F08 (SEQ ID NO: 110)

```

1 divmtqsqkf mstsvgdrvs vtckasqnvq tnvwyyqkl gqspktliys asyrysgvdp
61 rftgsgsgtd flltisnvqs edlaeyfcqq ynsypytfgg gtleikrad aaptvsifpp
121 sseqltsgga svvcflnnfy pkdinvkwki dgserqngvl nswtdqdskd stysmsstlt
181 ltkdeyerhn sytceathkt stspivksfn rne

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая последовательность тяжелой цепи полной длины (вариабельную область тяжелой цепи и константную область IgG1) 06C11 (SEQ ID NO: 111)

```

1 caggttactc tgaagagtc tggccctggg atattgcagc cctcccagac cctcagctcg
61 actgttctct tctctgggtt ttcactgaac acttatggta tgggtgtgag ctggattcgt
121 cagccttcag gaaagggtct ggagtggctg gcacacattt actgggatga tgacaagcgc
181 tataacccat ccctgaagag ccggtctaca atctccaagg atgcctcaa caaccgggtc
241 ttcctcaaga tcaccagtgt ggacactgca gatactgcca catactactg tgctcaaaga
301 gggtatgatg attactgggg ttactggggc caagggactc tggctactat cctctgaccc
361 aaaacgacac ccccatctgt ctatccactg gccctggat ctgctgcccc aactaactcc
421 atggtgaccc tgggatgcct ggtcaagggc tatttccctg agccagtgc agtgacctg
481 aactctggat ccctgtccag cgggtgtgcac accttcccag ctgtcctgca gtctgacctc
541 tacactctga gcagctcagt gactgtcccc tccagcacct ggcccagcga gaccgtcacc
601 tgcaacgttg cccaccgggc cagcagcacc aagggtggaca agaaaattgt gccagggat
661 tgtggttga agccttgcat atgtacagtc ccagaagtat catctgtctt catcttcccc
721 ccaaagccca aggatgtgct caccattact ctgactccta aggtcagctg tgttggtgta
781 gacatcagca aggatgatcc cgaggtccag ttcagctggg ttgtagatga tgtggagggtg
841 cacacagctc agacgcaacc ccgggaggag cagttcaaca gcactttccg ctacgtcagt
901 gaacttccca tcatgcacca ggactggctc aatggcaagg agttcaaag cagggtcaac
961 agtgcagctt tccctgcccc catcgagaaa accatctcca aaaccaaagg cagaccgaag
1021 gctccacagg tgtacacat tccacctccc aaggagcaga tggccaagga taaagtcagt
1081 ctgacctgca tgataacaga cttcttccct gaagacatta ctgtggagt gacgtggaat
1141 gggcagccag cggagaacta caagaacact cagcccatca tggacacaga tggctcttac
1201 ttcgtctaca gcaagctcaa tgtgcagaag agcaactggg aggcaggaat tactttcac
1261 tgctctgtgt tacatgaggg cctgcacaa caccatactg agaagagcct ctccactct
1321 cctggtaaa

```

Последовательность белка, определяющая последовательность тяжелой цепи полной длины (вариабельную область тяжелой цепи и константную область IgG1) 06C11 (SEQ ID NO: 112)

```

1 qvtlkesgpg ilqpsqtlsl tcsfsgfsln tygmgtwir qpsgkglewl ahiywdddkr
61 ynpslksrllt iskdasnrv flkitsvdtat datyycagr gyddywywg qgtltvtisaa
121 kttppsvypl apgsaaqtns mvtlgclvkg yfpepvtvtw nsgslssgvh tfpavlqsd
181 ytlsssvtvp sstwpsetvt cnvahpasst kvdkkivprd cgckpcictv pevssvfifp
241 pkpkdvltit ltpkvtcvvv diskddpevq fswfvdddev htaqtqpree qfnstfrsvs
301 elpimhqdlw ngkefkcrvn saafpapie ktsktkgrp apqvytippp keqmakdkvs
361 ltcmitdfff editvewqwn gqpaenyknt qpimdtgdsy fvysklmvqk snweagntft
421 csvlheglhn hhtekslshs pgk

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая последовательность легкой цепи полной длины (вариабельную область и константную область каппа-цепи) 06C11 (SEQ ID NO: 113)

```

1 gacattgtga tgaccagtc tcaaaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc
61 gtcacctgca aggccagtc gaattgtggg actaatgtag cctgggttca acagaaacca
121 ggtaaatctc ctaaagcact gatttactcg gcatcttacc ggtacagtgg agtccctgat
181 cgcttcacag gcagtgatc tgggacagat ttcatctca ccatcagcaa tgtgcagctc
241 gaagacctgg cagagtattt ctgtcagcaa tataacaact atcctctcac gttcgggtgt
301 gggaccaagc tggagctgaa acgggctgat gctgcacaa ctgtatccat cttccacca
361 tccagtggag agttaacatc tggagggtgc tcagtcgtgt gcttcttgaa caacttctac
421 cccaaagaca tcaatgtcaa gtggaagatt gatggcagtg aacgacaaaa tggcgctctg
481 aacagttgga ctgatcagga cagcaaagac agcacctaca gcatgagcag caccctcacg
541 ttgaccaagg acgagtatga acgacataac agctatacct gtgaggccac tcacaagaca
601 tcaacttcac ccattgtcaa gagcttcaac aggaatgagt gt

```

Последовательность белка, определяющая последовательность легкой цепи полной длины (вариабельную область и константную область каппа-цепи) 06C11 (SEQ ID NO: 114)

```

1 divmtqsqkf mstsvgdrvs vtckasqnvq tnvwfqqkp gqspkaliys asyrysgvpd
61 rftgsgsgtd filtisnvqs edlaeyfcqg ynnpyltfga gtklelkrad aaptvsifpp
121 sseqltsgga svvcflnnfy pkdinvkwki dgserqngvl nswtdqdsd stysmsstlt
181 ltkdeyerhn sytceathkt stspivksfn rne

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая последовательность тяжелой цепи полной длины (вариабельную область тяжелой цепи и константную область IgG2b) 08G01 (SEQ ID NO: 115)

```

1 gaggtcctgc tgcaacagtc tggacctgag gtggtgaagc ctggggcttc agtgaagata
61 ccttgcaagg cttctggata cacattcact gactacaaca tggactgggt gaagcagagc
121 catggaaga gccttgagtg gattggagag attaatccta acaatgggtg tactttctac
181 aaccagaagt tcaagggcaa gcccacattg actgtagaca agtcctccag cacagcctac
241 atggagctcc gcagcctgac atctgaggac actgcagctc attactgtgc aagagaggca
301 attactacgg taggcgctat ggactactgg ggtcaaggaa cctcagtcac cgtctcctca
361 gccaaaaaca ccccccatc agtctatcca ctggccctg ggtgtggaga tacaactgg
421 tctccctgta ctctgggatg cctggtcaag ggctacttcc ctgagtcagt gactgtgact
481 tggaaactcg gatccctgtc cagcagtggt cacaccttcc cagctctcct gcagtcctga
541 ctctacacta tgagcagctc agtgactgtc cctccagca cctggccaag tcagaccgtc
601 acctgcagcg ttgctcacc agccagcagc accacggtgg acaaaaaact tgagcccagc
661 gggcccatct caacaatcaa cccctgtcct ccatgcaagg agtgtcaca atgcccagct
721 cctaaccctc aggggtggacc atccgtcttc atcttccctc caaatatcaa ggatgtactc
781 atgatctccc tgacacccaa ggtcacgtgt gtggtggtgg atgtgagcga ggatgaccca
841 gacgtccaga tcagctggtt tgtgaacaa gtggaagtac acacagctca gacacacacc
901 catagagagg attacaacag tactatccgg gtggtcagca cctcccccac ccagcaccag
961 gactggatga gtggcaagga gttcaaatgc aaggtaaca acaaaagacct cccatcaccc
1021 atcgagagaa ccatctcaaa aattaaaggg ctagtacagc ctccacaagt atacatcttg
1081 ccgccaccag cagagcagtt gtccaggaaa gatgtcagtc tcacttgctt ggtcgtgggc
1141 ttcaaccctg gagacatcag tgtggagtgg accagcaatg ggcatacaga ggagaactac
1201 aaggacaccg caccagtcct agactctgac ggttcttact tcataatata caagctcaat
1261 atgaaaaaaa gcaagtggga gaaaacagat tccttctcat gcaacgtgag acacgagggt
1321 ctgaaaaaatt actacctgaa gaagaccatc tcccgggtctc cgggtaaa

```

Последовательность белка, определяющая последовательность тяжелой цепи полной длины (вариабельную область тяжелой цепи и константную область IgG2b) 08G01 (SEQ ID NO: 116)

```

1 evllqqsgpe vvkpgasvki pckasgytft dynmdwvqks hgkslewise inpnnggtfy
61 nqkfkkgatl tvdkssstay melrsltsed tavyycarea ittvgamdyw gqgtsvtvss
121 akttpsvyp lapgcgdtg ssvtlgclvk gyfpevtvt wnsqslsssv htfpallqsg
181 lytmsssvtv psstwpstqv tcsvahpass ttvdkklepe gpistinpcp pckechkcpa
241 pnleggpsvf ifppnikdvl misltpkvtc vvvdvseddp dvqiswfvnn vevhtaqtqt
301 hredynstir vvstlpihq dwmsgkefk kvnnkdldsp iertiskikg lvrappvyil
361 ppaeqlsrk dvsiltclvvg fnpgdisvew tsnghteeny kdtapvllds gsyfiyskln
421 mktskwektd fsfscnvrheg lknyylkkti srspgk

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая последовательность легкой цепи полной длины (вариабельную область и константную область каппа-цепи) 08G01 (SEQ ID NO: 117)

```

1 gacatccaga tgactcagtc tccagcctcc ctatctgcat ctgtgggaga aactgtcacc
61 atcacatgtc gagcaagtgg gaataattcac aattatttag catggtatca gcagaaacag
121 ggaaaaatctc ctacagctcct ggtctataat gcaaaaacct tagcagatgg tgtgccatca
181 aggttcagtg gcagtgatc aggaacacaa tattctctca agatcaacag cctgcagcct
241 gaagattttg ggagttatta ctgtcaacat ttttgagtt ctccctacac gttcggaggg
301 gggaccaagc tggaaataaa acgggctgat gctgcacaa ctgtatccat cttccacca
361 tccagtggagc agttaacatc tggagggtgc tcagtcgtgt gcttcttgaa caacttctac
421 cccaaagaca tcaatgtcaa gtggaagatt gatggcagtg aacgacaaaa tggcgctctg
481 aacagttgga ctgatcagga cagcaaagac agcacctaca gcatgagcag caccctcacg
541 ttgaccaagg acgagtatga acgacataac agctatacct gtgaggccac tcacaagaca
601 tcaacttcac ccattgtcaa gagcttcaac aggaatgagt gt

```

Последовательность белка, определяющая последовательность легкой цепи полной длины (вариабельную область и константную область каппа-цепи) 08G01 (SEQ ID NO: 118)

```

1 diqmtqspas lsasvgetvt itcrasgnih nylawyqqkq gkspqllvyn aktladgvps
61 rftgsgsgtg yslkinslqp edfsgsyycq fwsspytfgg gtklelkrad aaptvsifpp
121 sseqltsgga svvcflnnfy pkdinvkwki dgserqngvl nswtdqdsd stysmsstlt
181 ltkdeyerhn sytceathkt stspivksfn rne

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая последовательность тяжелой цепи полной длины (вариабельную область тяжелой цепи и константную область IgG1) 14F11 (SEQ ID NO: 119)

```

1 cagggttactc tgaagagatc tggccctgga atattgcagc cctcccagac cctcagtcctg
61 acttgtttctt tctctgggtt ttacttgagc acttatggta tgggtgtagg ctggattcgt
121 cagccttcag gaaagggctc agagtggctg gcagacattt ggtgggatga cgataagtac
181 tataacccat ccctgaagag cgggtccaca atctccaagg atacctccag caatgaggta
241 ttctcaaga tcgcatctgt ggacactgca gatactgcca ctactactg tgctcgaaga
301 ggtcactact ctgctatgga ctactgggtt caaggaacct cagtcaccgt ctctcagcc
361 aaaacgacac ccccatctgt ctatccactg gccctggat ctgctgcca aactaactcc
421 atgggtgaccc tgggatgcct ggtcaagggc tatttccctg agccagtgc agtgacctg
481 aactctggat ccctgtccag cgggtgtcac accttcccag ctgtcctgca gtctgacctc
541 tacactctga gcagctcagt gactgtcccc tccagcacct ggcccagcga gaccgtcacc
601 tgcaacgttg cccaccggc cagcagcacc aagggtggaca agaaaattgt gcccagggat
661 tgtggttgta agccttgcac atgtacagtc ccagaagtat catctgtctt catcttcccc
721 ccaaagccca aggatgtgct caccattact ctgactccta aggtcacgtg tgttgggtgta
781 gacatcagca aggatgatcc cgaggtccag ttcagctggt ttgtagatga tgtggagggtg
841 cacacagctc agacgcaacc ccgggaggag cagttcaaca gcactttccg ctacgtcagt
901 gaacttccca tcatgcacca ggactggctc aatggcaagg agttcaaatg cagggtcaac
961 agtgacagctt tccctgcccc catcgagaaa accatctcca aaaccaaagg cagaccgaag
1021 gctccacagg tgtacacctt tccacctccc aaggagcaga tggccaagga taaagtcagt
1081 ctgacctgca tgataacaga ctcttccct gaagacatta ctgtggagtg gccagtgaat
1141 gggcagccag cggagaacta caagaacact cagcccatca tggacacaga tggctcttac
1201 ttctgtctaca gcaagctcaa tgtgcagaag agcaactggg aggcaggaaa tactttcacc
1261 tgctctgtgt tacatgaggg cctgcacaa caccatactg agaagagcct ctcccactct
1321 cctggtataa

```

Последовательность белка, определяющая последовательность тяжелой цепи полной длины (вариабельную область тяжелой цепи и константную область IgG1) 14F11 (SEQ ID NO: 120)

```

1 qvtlkesgpg ilqpsqtlls tcsfsgfsls tygmvgwir qpsgkglewl adiwdddky
61 ynpslksrlt iskdtsnevf flkiaivdta dtaitycarr ghysamydwg qgtsvvtvsa
121 kttppsvypl apgsaaqtms mvtlglvkg yfpepvtvtw nsgslssgvh tfpavlqsd
181 ytlsssvtvp sstwpsetvt cnvahpasst kvdkkiuprd cgckpcictv pevsvfifp
241 pkpkdvlitit ltpkvtcvvv diskddpevq fswfvddev htaqtqpre qfnstfrsvs
301 elpimhqdw ngkefkcrrn saafpapie tisktkgrpk apqvtytipp keqmakdkvs
361 ltcmitdffp editvewqwn gpaenyknt qpimdtgdsy fvysklvqk snweagntft
421 csvlheglhn hhtekslshs pgk

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая последовательность легкой цепи полной длины (вариабельную область и константную область каппа-цепи) 14F11 (SEQ ID NO: 121)

```

1 gacattgtaa tgaccagtc tcaaaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc
61 gtcacctgca aggcagtcga gaatgtgggt actaatgtag cctggtatca acagaaacca
121 gtcgaatctc ctaaagcact gatttactcg ccactctacc ggtacagtgg agtccctgat
181 cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccacagcaa tgtgcagtct
241 gaagacttgg cagaatattt ctgtcagcaa tataacagct atcctcacac gttcggaggg
301 gggaccaaagc tggaaatgaa acgggctgat gctgcaccaa ctgtatccat ctccacaca
361 tccagtgcag agttaacatc tggaggtgcc tcagtcgtgt gcttcttgaa caacttctac
421 cccaaagaca tcaatgtcaa gtggaagatt gatggcagtg aacgacaaaa tggcgtcctg
481 aacagttgga ctgatcagga cagcaaaagc agcacctaca gcacagcag caccctcagc
541 ttgaccaagg acgagtatga acgacataac agctataact gtgaggccac tcacaagaca
601 tcaacttcac ccattgtcaa gagcttcaac aggaatgagt gt

```

Последовательность белка, определяющая последовательность легкой цепи полной длины (вариабельную область и константную область каппа-цепи) 14F11 (SEQ ID NO: 122)

```

1 divmtsqkfq mstsvgdrvs vtckasqnvq tnvwyyqqkp gqspkaliys psyrysgvdp
61 rftgsgsgtd ftltisnvqs edlaeyfcqg ynsyphftfg gtklemkrad aaptvsiifp
121 sseqltsgga svvcflnnfy pkdinvkwki dgserqngvl nswtdqdskd stysmsstlt
181 ltkdeyerhn sytceathkt stspivksfn rnc

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая последовательность тяжелой цепи полной длины (вариабельную область тяжелой цепи и константную область IgG1) 17B11 (SEQ ID NO: 123)

```

1 cagggttactc tgaagagatc tggccctggg atattgcagc cctcccagac cctcagtcctg
61 acttgtttctt tctctgggtt ttacttgagc acttctggta tgggtgtgag ttggtatcgt
121 cagccttcag gaaagggctc ggagtggctg gcacacaatg actgggatga tgacaagcgc
181 tataagtcac ccctgaagag cgggtccaca atatccaagg atacctccag aaaccaggta
241 ttctcaaga tcaccagtgt ggacactgca gatactgcca cataactactg tgctcgaaga
301 gttgggggat tagagggcta ttttgattac tggggccaag gcaccactct cagactctcc
361 tcagccaaaa cgacaccccc atctgtctat ccactggccc ctggatctgc tgcccaaat
421 aactccatgg tgaccctggg atgcctggtc aagggtattt tccctgagcc agtgacagt
481 acctggaact ctggatccct gtccagcggg gtgcacacct tccagctgt cctcagctct
541 gacctctaca ctctgagcag ctgagtgact gtccctccca gcacctggcc cagcgagacc
601 gtcacctgca acgttgccca cccggccagc agcaccaagg tggacaagaa aattgtgccc
661 agggattgtg gttgtaagcc ttgcattatgt acagtccag aagtatcatc tgtcttcatc
721 ttcccccaa agcccaagga tgtgtcacc attactctga ctctaagggt caggtgtgtt
781 tgggtagaca tcagcaagga tgatccgag gtccagttca gctggttgt agatgatgt
841 gaggtgcaca cagctcagac gcaaccccg gaggagcagt tcaacagcac ttccgctca
901 gtcagtgaac ttccatcat gcaccaggac tggctcaatg gcaaggagt caaatgcagg
961 gtaaacagtg cagcttctcc tgccccatc gagaaaaaca tctccaaaac caaaggcaga
1021 ccgaaggctc cacaggtgta caccattcca cctcccaagg agcagatggc caaggataaa
1081 gtcagtctga cctgcagat aacagacttc ttccctgaag acattactgt ggagtggcag
1141 tggaatgggc agccagggga gaactacaag aacactcagc ccatcatgga cacagatggc
1201 tcttactctg tctacagcaa gctcaatgtg cagaagagca actgggagggc aggaataact
1261 ttcacctgct ctgtgttaca tgagggcctg cacaaaccac ataactgaga gagcctctcc
1321 cactctcctg gtaaa

```

Последовательность белка, определяющая последовательность тяжелой цепи полной длины (вариабельную область тяжелой цепи и константную область IgG1) 17B11 (SEQ ID NO: 124)

1 qvtlkesgpg ilqpsqtlsl tcsfsgfsls tsgmgvswir qpsgkglewl ahndwdddkr
 61 yksslksrlt iskdtstrnqv flkitsvdtat dtatyycarr vgglegyfdy wgqgttlvtvs
 121 saktttpsvy plapgsaaqt nsmvtlgclv kgyfpepvtv twnsqslssg vhtfpavlqs
 181 dlytlsssvt vpsstwpset vtcnvahpas stkvdkkivp rdcgckpcic tpevssvfi
 241 fppkpkdvlt itltpkvtcv vvdiskddpe vqfswfvddv evhtaqtqpr eeqfnstftrs
 301 vselpimhqd wlngkefkcr vnsaafpapi ektisktkgr pkapqvvtip ppkeqmakdk
 361 vsltcmtdf fpeditvewq wngqpaenyk ntqpmtdtdg syfvysklvn qksnwaeant
 421 ftcsvlhegl hnhhteksls hspgk

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая последовательность легкой цепи полной длины (вариабельную область и константную область каппа-цепи) 17B11 (SEQ ID NO: 125)

1 gacattgtgc tgacacagtc tcctgcttcc ttagctgtat ctctggggca gaggccacc
 61 atctcatgca gggccagcca aagtgtcagt acatctaggt ttagttatat gcaactgttc
 121 caacagaaac caggacaggc acccaaaactc ctcacatcagt atgcatccaa cctagaatct
 181 ggggtccctg ccaggttcag tggcagtggtg tctgggacag acttcaccct caacatccat
 241 cctgtggagg gggaggatac tgcaacatat tactgtcagc acagttggga gattccgtac
 301 acgttcggag gggggaccaa gctggaaata aaacgggctg atgctgcacc aactgtatcc
 361 atcttccac catccagtga gcagttaaca tctggaggtg cctcagtcgt gtgcttcttg
 421 aacaacttct accccaaaga catcaatgtc aagtggaga ttgatggcag tgaacgacaa
 481 aatggcggtc tgaacagttg gactgatcag gacagcaaag acagcaccta cagcatgagc
 541 agcacctca cgttgaccaa ggacgagtat gaacgcata acagctatac ctgtgaggcc
 601 actcacaaga catcaacttc acccattgtc aagagcttca acaggaatga gtgt

Последовательность белка, определяющая последовательность легкой цепи полной длины (вариабельную область и константную область каппа-цепи) 17B11 (SEQ ID NO: 126)

1 divltqspas lavslgqrat iscrasqsvs tsrfsymhwf qkpggqapkl likyasnlcs
 61 gvparrfsgsg sgttdftlnih pvegedtaty yqhsweipy tfgggtklei kradaaptvs
 121 ifppsseqlt sggasvvcfl nnfypkdiv kwkidgserq ngvlnswtdq dskdstysms
 181 stltltkdey erhnsytcea thktstspiv ksfnrnc

В табл. 5 показано соответствие между последовательностями полной длины антител, описанных в данном примере, и таковыми, представленными в перечне последовательностей.

Таблица 5

SEQ ID NO.	Нуклеиновая кислота или белок
99	01G06: вариабельная область тяжелой цепи + константная область IgG1—нуклеиновая кислота
100	01G06: вариабельная область тяжелой цепи + константная область IgG1—белок
101	01G06: вариабельная область + константная область каппа-цепи—нуклеиновая кислота
102	01G06: вариабельная область + константная область каппа-цепи—белок
103	03G05: вариабельная область тяжелой цепи + константная область IgG1—нуклеиновая кислота
104	03G05: вариабельная область тяжелой цепи + константная область IgG1—белок
105	03G05: вариабельная область + константная область каппа-цепи—нуклеиновая кислота
106	03G05: вариабельная область + константная область каппа-цепи—белок
107	04F08: вариабельная область тяжелой цепи + константная область IgG1—нуклеиновая кислота
108	04F08: вариабельная область тяжелой цепи + константная область IgG1—белок
109	04F08: вариабельная область + константная область каппа-цепи—нуклеиновая кислота
110	04F08: вариабельная область + константная область каппа-цепи—белок
111	06C11: вариабельная область тяжелой цепи + константная область IgG1—нуклеиновая кислота
112	06C11: вариабельная область тяжелой цепи + константная область IgG1—белок
113	06C11: вариабельная область + константная область каппа-цепи—нуклеиновая кислота
114	06C11: вариабельная область + константная область каппа-цепи—белок
115	08G01: вариабельная область тяжелой цепи + константная область IgG2b—нуклеиновая кислота
116	08G01: вариабельная область тяжелой цепи + константная область IgG2b—белок
117	08G01: вариабельная область + константная область каппа-цепи—нуклеиновая кислота
118	08G01: вариабельная область + константная область каппа-цепи—белок
119	14F11: вариабельная область тяжелой цепи + константная область IgG1—нуклеиновая кислота
120	14F11: вариабельная область тяжелой цепи + константная

	область IgG1—белок
121	14F11: переменная область + константная область каппа-цепи—нуклеиновая кислота
122	14F11: переменная область + константная область каппа-цепи—белок
123	17B11: переменная область тяжелой цепи + константная область IgG1—нуклеиновая кислота
124	17B11: переменная область тяжелой цепи + константная область IgG1—белок
125	17B11: переменная область + константная область каппа-цепи—нуклеиновая кислота
126	17B11: переменная область + константная область каппа-цепи—белок

Пример 8. Аффинность связывания

Аффинность связывания и кинетические параметры связывания антител с меченным 6X His (SEQ ID NO: 266) рекомбинантным GDF15 человека (His-rhGDF15 (R&D Systems, Inc.)), немеченным рекомбинантным GDF15 человека (rhGDF15 (Peprotech, Роки Хилл, Нью-Джерси)) и рекомбинантным GDF15 человека, полученным при слиянии Fc мыши с GDF15 человека (mFc-rhGDF15) либо являющимся вариантом, в котором Fc был ферментативно удален (отщепленным rhGDF15), определяли методом поверхностного плазмонного резонанса с применением прибора Biacore® T100 (GE Healthcare, Пискаутауэй, Нью-Джерси).

Антитело кролика к IgG мыши (GE Healthcare) иммобилизовали на сенсорных чипах CM4 со слоем карбоксиметилированного декстрана (GE Healthcare) посредством реакции сочетания с аминами в соответствии со стандартным протоколом. Анализы проводили при 37°C с применением PBS, содержащего 0,05% поверхностно-активного вещества P20, в качестве подвижного буфера. Антитела захватывались в отдельные проточные ячейки при скорости потока 10 мкл/мин. Время введения варьировали для каждого антитела так, чтобы достичь R_{max} от 30 до 60 RU. 250 мкг/мл Fc мыши (Jackson ImmunoResearch, Вест-Гроув, Пенсильвания) вводили при 30 мкл/мин. в течение 120 с для блокирования неспецифического связывания захваченных антител с частью рекомбинантного белка GDF15, представляющей собой Fc мыши, в случае необходимости. Буфер, mFc-rhGDF15, отщепленный rhGDF15, His-rhGDF15 или rhGDF15, разбавленные подвижным буфером, вводили последовательно на эталонную поверхность (без захваченных антител) и активную поверхность (с антителами, подлежащими испытанию) в течение 240 секунд при 60 мкл/мин. Фазу диссоциации отслеживали в течение периода до 1500 секунд. Поверхность затем регенерировали путем двух 60-секундных введений 10 mM глицина-HCl, pH 1,7 при скорости потока 30 мкл/мин. Диапазон концентрации GDF15 в испытании составлял от 30 до 0,625 нМ.

Кинетические параметры определяли с использованием кинетической функции программного обеспечения BIAevaluation (GE Healthcare) с вычитанием двух контрольных реакций. Для каждого антитела определяли следующие кинетические параметры: k_a (константа скорости ассоциации), k_d (константа скорости диссоциации) и K_D (равновесная константа диссоциации). Значения кинетических параметров моноклональных антител в комплексе с mFc-rhGDF15, отщепленным rhGDF15, His-rhGDF15 или rhGDF15 обобщены в табл. 6, 7, 8 и 9 соответственно.

Таблица 6. Связывание антител с mFc-rhGDF15

Антитело	k_a (1/M*s)	k_d (1/c)	K_D (M)	n
01G06	5,6E+06	7,0E-04	2,1E-10	7
03G05	1,0E+07	6,4E-04	6,9E-11	3
04F08	3,6E+06	6,4E-04	1,9E-10	3
06C11	4,5E+06	6,8E-04	1,7E-10	5
08G01	6,0E+06	1,1E-03	1,9E-10	4
14F11	1,7E+06	3,3E-04	2,2E-10	4
17B11	3,7E+06	5,1E-04	1,4E-10	3

Данные в табл. 6 демонстрируют, что K_D при связывании антител с mFc-rhGDF15 составляет приблизительно 250 пМ или менее, 200 пМ или менее, 150 пМ или менее, 100 пМ или менее, 75 пМ или менее или 50 пМ или менее.

Значения кинетических параметров моноклональных антител в комплексе с отщепленным rhGDF15 обобщены в табл. 7.

Таблица 7. Связывание антител с отщепленным rhGDF15

Антитело	k_a (1/M*s)	k_d (1/c)	K_D (M)	n
01G06	7,5E+06	8,6E-04	1,1E-10	1
06C11	1,2E+07	2,0E-03	1,7E-10	2
14F11	5,7E+06	6,0E-04	1,1E-10	1

Данные в табл. 7 демонстрируют, что K_D при связывании антител 01G06, 06C11 и 14F11 с отщепленным rhGDF15 составляет приблизительно 200 пМ или менее, 150 пМ или менее или 100 пМ или менее.

Значения кинетических параметров моноклональных антител в комплексе с His-rhGDF15 обобщены в табл. 8.

Таблица 8. Связывание антител с His-rhGDF15

Антитело	k_a (1/M*с)	k_d (1/с)	K_D (М)	n
01G06	1,4E+07	1,1E-03	8,1E-11	2
06C11	2,9E+07	1,5E-03	5,1E-11	2
14F11	4,4E+06	4,2E-04	9,6E-11	1

Данные в табл. 8 демонстрируют, что K_D при связывании антител 01G06, 06C11 и 14F11 с His-rhGDF15 составляет приблизительно 150 пМ или менее, 100 пМ или менее, 75 пМ или менее или 50 пМ или менее.

Значения кинетических параметров моноклональных антител в комплексе с rhGDF15 обобщены в табл. 9.

Таблица 9. Связывание антител с rhGDF15

Антитело	k_a (1/M*с)	k_d (1/с)	K_D (М)	n
01G06	2,1E+07	1,9E-03	9,3E-11	1
06C11	2,2E+07	4,6E-03	2,1E-10	1
14F11	3,1E+07	2,2E-03	7,1E-11	1

Данные в табл. 9 демонстрируют, что K_D при связывании антител 01G06, 06C11 и 14F11 с rhGDF15 составляет приблизительно 250 пМ или менее, 200 пМ или менее, 150 пМ или менее, 100 пМ или менее, 75 пМ или менее или 50 пМ или менее.

Пример 9. Регрессия кахексии в модели с индукцией mFc-rhGDF15

В данном примере демонстрируется регрессия кахексии (на что указывает потеря веса тела) при применении антител 01G06, 03G05, 04F08, 06C11, 14F11 или 17B11 в модели кахексии, индуцированной mFc-rhGDF15. mFc-rhGDF15 (2 мкг/г) вводили подкожно в бок самкам мышей ICR-SCID в возрасте 8 недель. Вес тела измеряли ежедневно. Когда вес тела достигал 93%, мышей распределяли случайным образом в семь групп по десять мышей в каждой. Каждая группа получала один из следующих видов обработки: IgG мыши в качестве контроля, 01G06, 03G05, 04F08, 06C11, 14F11 или 17B11 в дозе 10 мг/кг. Обработку проводили один раз путем интраперитонеальной инъекции. Обработка антителами 01G06, 03G05, 04F08, 06C11, 14F11 или 17B11 приводила к увеличению веса тела по сравнению с начальным весом или приблизительно 100% ($p < 0,001$) (фиг. 14 и табл. 10).

Таблица 10

Группа	Обработка		% веса тела	Анализ ANOVA (по сравнению с mIgG)
	Средство	мг/кг		
1	mIgG	10	77,1	данные отсутствуют
2	01G06	10	94,1	$p < 0,001$
3	03G05	10	95,1	$p < 0,001$
4	04F08	10	95,8	$p < 0,001$
5	06C11	10	93,8	$p < 0,001$
7	14F11	10	95,4	$p < 0,001$
8	17B11	10	92,8	$p < 0,001$

Данные на фиг. 14 и в табл. 10 указывают на то, что раскрытые антитела к GDF15 могут способствовать регрессии кахексии в модели с индукцией mFc-rhGDF15 на мышах (т.е. модели на мышах, не несущих опухоли).

Пример 10. Регрессия кахексии в ксенотрансплантатной модели опухоли HT-1080

В данном примере демонстрируется регрессия кахексии (на что указывает потеря веса тела) при применении антител 01G06, 03G05, 04F08, 06C11, 08G01, 14F11 или 17B11 в ксенотрансплантатной модели фибросаркомы HT-1080. Клетки HT-1080 выращивали в культуре при 37°C в атмосфере 5% CO₂ с применением минимальной поддерживающей среды Игла (ATCC, № по каталогу 30-2003), содержащей 10% F×BS. Клетки инокулировали подкожно в бок самкам мышей ICR-SCID в возрасте 8 недель в количестве 5×10^6 клеток на мышь в 50% матригеле. Вес тела измеряли ежедневно. Когда вес тела достигал 93%, мышей распределяли случайным образом в восемь групп по десять мышей в каждой. Каждая группа получала один из следующих видов обработки: IgG мыши в качестве контроля, 01G06, 03G05, 04F08, 06C11, 08G01, 14F11 или 17B11 в дозе 10 мг/кг. Обработку проводили каждые три дня путем интраперитонеальной инъекции. Обработка антителами 01G06, 03G05, 04F08, 06C11, 08G01, 14F11 или 17B11 приводила к увеличению веса тела по сравнению с начальным весом или приблизительно 100% ($p < 0,001$) (фиг. 15 и табл. 11).

Таблица 11

Группа	Обработка		% веса тела	Анализ ANOVA (по сравнению с mIgG)
	Средство	мг/кг		
1	mIgG	10	81,4	данные отсутствуют
2	01G06	10	103,3	p<0,001
3	03G05	10	106,1	p<0,001
4	04F08	10	104,3	p<0,001
5	06C11	10	106,6	p<0,001
6	08G01	10	105,3	p<0,001
7	14F11	10	99,6	p<0,001
8	17B11	10	103,7	p<0,001

Данные на фиг. 15 и в табл. 11 указывают на то, что раскрытые антитела к GDF15 могут способствовать регрессии кахексии в ксенотрансплантатной модели фибросаркомы HT-1080.

Проводили дополнительные исследования с антителом 01G06 для демонстрации регрессии кахексии в данной модели на мышах. Клетки HT-1080 выращивали и инокулировали подкожно в бок самкам мышей ICR-SCID в возрасте 8 недель, как описано выше. Когда вес тела достигал 93%, мышей распределяли случайным образом в две группы по десять мышей в каждой. Каждая группа получала один из следующих видов обработки: IgG мыши в качестве контроля или 01G06 в дозе 10 мг/кг. Обработку проводили один раз путем интраперитонеальной инъекции. Как представлено на фиг. 16А, обработка антителом 01G06 приводила к увеличению веса тела по сравнению с начальным весом до 100% (p<0,001) (фиг. 16А).

Потребление пищи определяли путем взвешивания запасов продовольствия, выдаваемых мышам ежедневно (фиг. 16В). Значительное увеличение потребления пищи наблюдали в группе, обработанной 01G06, в течение первых трех дней после обработки. По истечении этого времени не наблюдали никаких существенных изменений по сравнению с контрольной группой (mIgG).

Потребление воды определяли путем взвешивания запасов воды, выдаваемых мышам ежедневно. Существенных изменений в потреблении воды между группами не наблюдали.

В этом эксперименте умерщвляли группу из десяти мышей в момент введения дозы (исходный уровень или 93% веса тела, без обработки) и в конце исследования (через семь дней после введения дозы mIgG или 01G06). Жировую массу гонад и икроножные мышцы удаляли хирургическим путем и взвешивали, как описано выше в примере 4, и ткани быстро замораживали в жидком азоте. Выделяли РНК из образцов икроножных мышц для определения уровней мРНК mMuRF1 и атрогина мышцы с помощью RT-PCR, как описано в примере 4.

Как представлено на фиг. 16С, значительное снижение массы жировой ткани гонад наблюдали через семь дней после введения дозы mIgG, но не в группе, обработанной антителом 01G06. Кроме того, у мышей, обработанных mIgG, обнаружили значительную потерю массы икроножных мышц по сравнению с группой на исходном уровне, в то время как у группы мышей, обработанной антителом 01G06, такого не обнаружили (фиг. 16D). Кроме того, уровни маркеров деградации мышц, mMuRF1 и атрогина мышцы, были значительно более высокими в группе mIgG по сравнению с группой 01G06 (фиг. 16Е).

Эти результаты указывают на то, что раскрытые антитела к GDF15 могут способствовать регрессии кахексии, что определяют по потере мышечной массы, потере жировой массы и непреднамеренной потере веса в ксенотрансплантатной модели опухоли HT-1080.

Пример 11. Регрессия кахексии в ксенотрансплантатной модели опухоли HT-1080

В данном примере демонстрируется регрессия кахексии (на что указывает потеря веса тела) при применении антитела 01G06 в ксенотрансплантатной модели фибросаркомы HT-1080. Клетки HT-1080 выращивали в культуре при 37°C в атмосфере 5% CO₂ с применением минимальной поддерживающей среды Игла (ATCC, № по каталогу 30-2003), содержащей 10% FBS. Клетки инокулировали подкожно в бок самкам мышей ICR-SCID в возрасте 8 недель в количестве 5×10⁶ клеток на мышью в 50% матрикеле. Вес тела измеряли ежедневно. Когда вес тела достигал 80%, мышей распределяли случайным образом в две группы по пять мышей в каждой. Каждая группа получала один из следующих видов обработки: IgG мыши в качестве контроля, 01G06 в дозе 2 мг/кг в 1 день и 7 день. Обработку проводили путем интраперитонеальной инъекции. Обработка антителом 01G06 приводила к увеличению веса тела по сравнению с начальным весом или приблизительно 100% (p<0,001) (фиг. 17А и табл. 12).

Таблица 12

Группа	Обработка		% веса тела	Анализ ANOVA (по сравнению с mIgG)
	Средство	мг/кг		
1	mIgG	2	66,4	данные отсутствуют
2	01G06	2	97,16	p<0,001

Данные на фиг. 17А-В и в табл. 12 указывают на то, что раскрытые антитела к GDF15 могут способствовать регрессии кахексии в ксенотрансплантатной модели фибросаркомы HT-1080.

В этом эксперименте умерщвляли группу из пяти мышей в момент введения доз (исходный уровень или потеря веса тела до 80%, без обработки) и в конце исследования (через семь дней после введения дозы mIgG или 01G06). Печень, сердце, селезенку, почки, жировую массу гонад и икроножные мышцы удаляли хирургическим путем и взвешивали. Как представлено на фиг. 17B, наблюдали значительную потерю массы печени, сердца, селезенки, почек, массы жировой ткани гонад и массы икроножных мышц через семь дней после введения дозы mIgG, но не в группе, обработанной антителом 01G06. Кроме того, у мышей, обработанных антителом 01G06, обнаружили значительный прирост массы печени и гонад по сравнению с группой на исходном уровне (фиг. 17B).

Эти результаты указывают на то, что раскрытые антитела к GDF15 могут способствовать регрессии кахексии, что определяют по потере массы ключевых органов, потере мышечной массы, потере жировой массы и непреднамеренной потере веса в ксенотрансплантатной модели опухоли HT-1080.

Пример 12. Регрессия кахексии в ксенотрансплантатной модели опухоли K-562

В данном примере демонстрируется регрессия кахексии (на что указывает потеря веса тела) при применении антител 01G06, 03G05, 04F08, 06C11, 08G01, 14F11 или 17B11 в ксенотрансплантатной модели лейкоза K-562. Клетки K-562 выращивали в культуре при 37°C в атмосфере 5% CO₂ с применением среды Дульбекко, модифицированной по способу Исков (ATCC, № по каталогу 30-2005), содержащей 10% FBS. Клетки инокулировали подкожно в бок самкам мышей CB17SCRFMF в возрасте 8 недель в количестве $2,5 \times 10^6$ клеток на мышью в 50% матрикеле. Вес тела измеряли ежедневно. Когда вес тела достигал 93%, мышей распределяли случайным образом в восемь групп по десять мышей в каждой. Каждая группа получала один из следующих видов обработки: IgG мыши в качестве контроля, 01G06, 03G05, 04F08, 06C11, 08G01, 14F11 или 17B11 в дозе 10 мг/кг. Обработку проводили каждые три дня путем интраперитонеальной инъекции. Обработка антителами 01G06, 03G05, 04F08, 06C11, 08G01, 14F11 или 17B11 приводила к увеличению веса тела по сравнению с начальным весом или приблизительно 100% ($p < 0,001$) (фиг. 18 и табл. 13).

Таблица 13

Группа	Обработка		% веса тела	Анализ ANOVA (по сравнению с mIgG)
	Средство	мг/кг		
1	mIgG	10	90,4	данные отсутствуют
2	01G06	10	106,5	$p < 0,001$
3	03G05	10	109,8	$p < 0,001$
4	04F08	10	108,9	$p < 0,001$
5	06C11	10	109,5	$p < 0,001$
6	08G01	10	107,2	$p < 0,001$
7	14F11	10	107,0	$p < 0,001$
8	17B11	10	105,3	$p < 0,001$

Данные на фиг. 18 и в табл. 13 указывают на то, что раскрытые антитела к GDF15 могут способствовать регрессии кахексии в ксенотрансплантатной модели опухоли K-562.

Пример 13. Дополнительные ксенотрансплантатные модели опухолей

Антитело 01G06 испытывали в дополнительных ксенотрансплантатных моделях опухолей, в том числе в ксенотрансплантатной модели опухоли яичника TOV-21G и ксенотрансплантатной модели опухоли толстой кишки LS1034. В каждой модели применение антитела 01G06 обращало вспять потерю веса тела по сравнению с контролем с PBS ($p < 0,001$ для модели TOV-21G и $p < 0,01$ для модели LS1034).

Пример 14. Гуманизация антител к GDF15

В данном примере описана гуманизация и химеризация трех мышиных антител, обозначенных как 01G06, 06C11 и 14F11, и характеристика полученных гуманизированных антител. Гуманизированные антитела к GDF15 разрабатывали, подвергали созреванию аффинности посредством направленного мутагенеза CDR и оптимизировали с применением способов, известных в данной области техники. Аминокислотные последовательности преобразовывали в последовательности ДНК с оптимизированными кодонами и синтезировали содержащими (в следующем порядке): 5'-сайт рестрикции для HindIII, консенсусную последовательность Козак, участки, кодирующие аминоконцевую сигнальную последовательность, гуманизированную переменную область и константную область IgG1 или каппа-цепи человека, стоп-кодон и 3'-сайт рестрикции для EcoRI.

Также конструировали химерные (переменная область от мыши и константная область от человека) тяжелые (IgG1 человека) и легкие (каппа-цепь человека) цепи 01G06, 06C11 и 14F11. Для получения химерных антител переменные области от мыши сливали с константной областью от человека и синтезировали последовательности ДНК с оптимизированными кодонами, содержащие (в следующем порядке): 5'-сайт рестрикции для HindIII, консенсусную последовательность Козак, участки, кодирующие аминоконцевую сигнальную последовательность, переменную область от мыши и константную область IgG1 или каппа-цепи человека, стоп-кодон и 3'-сайт рестрикции для EcoRI.

Гуманизированные и химерные тяжелые цепи субклонировали в pEE6.4 (Lonza, Базель, Швейцария) по сайтам HindIII и EcoRI с применением набора для клонирования продуктов ПЦР In-Fusion™ (Clontech,

Маунтин-Вью, Калифорния). Гуманизированные и химерные легкие каппа-цепи субклонировали в pEE14.4 (Lonza) по сайтам HindIII и EcoRI с применением набора для клонирования продуктов ПЦР In-Fusion™.

Гуманизированные цепи антител или химерные цепи антител вводили в клетки 293Т путем транзientной трансфекции для продуцирования антитела. Антитело очищали или применяли в надосадочной жидкости среды для культуры клеток для последующего анализа *in vitro*. Связывание химерных и гуманизированных антител с GDF15 человека определяли, как описано ниже. Результаты обобщены в табл. 24-27.

Каждая из возможных комбинаций переменных областей тяжелой цепи иммуноглобулина и легкой цепи иммуноглобулина химерного или гуманизированного 01G06 приведена ниже в табл. 14.

Таблица 14

Название антитела	Переменная область легкой цепи	Переменная область тяжелой цепи
Hu01G06-1	Химерная каппа-цепь Ch01G06 (SEQ ID NO:76)	Химерная тяжелая цепь Ch01G06 (SEQ ID NO:40)
Hu01G06-14	Химерная каппа-цепь Ch01G06 (SEQ ID NO:76)	IGHV1-18 тяжелой цепи Hu01G06 (SEQ ID NO:54)
Hu01G06-15	Химерная каппа-цепь Ch01G06 (SEQ ID NO:76)	IGHV1-69 тяжелой цепи Hu01G06 (SEQ ID NO:56)
Hu01G06-147	Химерная каппа-цепь Ch01G06 (SEQ ID NO:76)	IGHV1-18 M69L тяжелой цепи Sh01G06 (SEQ ID NO:58)
Hu01G06-148	Химерная каппа-цепь Ch01G06 (SEQ ID NO:76)	IGHV1-18 M69L K64Q G44S тяжелой цепи Sh01G06 (SEQ ID NO:60)
Название антитела	Переменная область легкой цепи	Переменная область тяжелой цепи
Hu01G06-149	Химерная каппа-цепь Ch01G06 (SEQ ID NO:76)	IGHV1-18 M69L K64Q тяжелой цепи Sh01G06 (SEQ ID NO:62)

Hu01G06-150	Химерная каппа-цепь Ch01G06 (SEQ ID NO:76)	IGHV1-69 T30S I69L тяжелой цепи Sh01G06 (SEQ ID NO:64)
Hu01G06-151	Химерная каппа-цепь Ch01G06 (SEQ ID NO:76)	IGHV1-69 T30S K64Q I69L тяжелой цепи Sh01G06 (SEQ ID NO:66)
Hu01G06-4	IGKV1-39 каппа-цепи Hu01G06 (SEQ ID NO:90)	Химерная тяжелая цепь Ch01G06 (SEQ ID NO:40)
Hu01G06-46	IGKV1-39 каппа-цепи Hu01G06 (SEQ ID NO:90)	IGHV1-18 тяжелой цепи Hu01G06 (SEQ ID NO:54)
Hu01G06-52	IGKV1-39 каппа-цепи Hu01G06 (SEQ ID NO:90)	IGHV1-69 тяжелой цепи Hu01G06 (SEQ ID NO:56)
Hu01G06-100	IGKV1-39 каппа-цепи Hu01G06 (SEQ ID NO:90)	IGHV1-18 M69L тяжелой цепи Sh01G06 (SEQ ID NO:58)
Hu01G06-102	IGKV1-39 каппа-цепи Hu01G06 (SEQ ID NO:90)	IGHV1-18 M69L K64Q G44S тяжелой цепи Sh01G06 (SEQ ID NO:60)
Hu01G06-101	IGKV1-39 каппа-цепи Hu01G06 (SEQ ID NO:90)	IGHV1-18 M69L K64Q тяжелой цепи Sh01G06 (SEQ ID NO:62)
Hu01G06-103	IGKV1-39 каппа-цепи Hu01G06 (SEQ ID NO:90)	IGHV1-69 T30S I69L тяжелой цепи Sh01G06 (SEQ ID NO:64)
Hu01G06-104	IGKV1-39 каппа-цепи Hu01G06 (SEQ ID NO:90)	IGHV1-69 T30S K64Q I69L тяжелой цепи Sh01G06 (SEQ ID NO:66)
Hu01G06-152	IGKV1-39 S43A V48I каппа-цепи Hu01G06 (SEQ ID NO:92)	Химерная тяжелая цепь Ch01G06 (SEQ ID NO:40)
Hu01G06-71	IGKV1-39 S43A V48I каппа-цепи Hu01G06 (SEQ ID NO:92)	IGHV1-18 тяжелой цепи Hu01G06 (SEQ ID NO:54)
Hu01G06-77	IGKV1-39 S43A V48I каппа-цепи Hu01G06 (SEQ ID NO:92)	IGHV1-69 тяжелой цепи Hu01G06 (SEQ ID NO:56)
Hu01G06-110	IGKV1-39 S43A V48I каппа-цепи Hu01G06 (SEQ ID NO:92)	IGHV1-18 M69L тяжелой цепи Sh01G06 (SEQ ID NO:58)
Hu01G06-112	IGKV1-39 S43A V48I каппа-цепи Hu01G06 (SEQ ID NO:92)	IGHV1-18 M69L K64Q G44S тяжелой цепи Sh01G06 (SEQ ID NO:60)
Hu01G06-111	IGKV1-39 S43A V48I каппа-цепи Hu01G06 (SEQ ID NO:92)	IGHV1-18 M69L K64Q тяжелой цепи Sh01G06 (SEQ ID NO:62)
Hu01G06-113	IGKV1-39 S43A V48I каппа-цепи Hu01G06 (SEQ ID NO:92)	IGHV1-69 T30S I69L тяжелой цепи Sh01G06 (SEQ ID NO:64)
Hu01G06-114	IGKV1-39 S43A V48I каппа-цепи Hu01G06 (SEQ ID NO:92)	IGHV1-69 T30S K64Q I69L тяжелой цепи Sh01G06 (SEQ ID NO:66)
Hu01G06-122	IGKV1-39 S43A V48I каппа-цепи Hu01G06 (SEQ ID NO:92)	IGHV1-18 тяжелой цепи Hu01G06 F1 (SEQ ID NO:246)
Hu01G06-119	IGKV1-39 S43A V48I каппа-цепи Hu01G06 (SEQ ID NO:92)	IGHV1-18 тяжелой цепи Hu01G06 F2 (SEQ ID NO:248)
Hu01G06-135	IGKV1-39 S43A V48I каппа-цепи Hu01G06 (SEQ ID NO:92)	IGHV1-69 тяжелой цепи Hu01G06 F1 (SEQ ID NO:250)

Hu01G06-138	IGKV1-39 S43A V48I каппа-цепи Hu01G06(SEQ ID NO:92)	IGHV1-69 тяжелой цепи Hu01G06 F2 (SEQ ID NO:252)
Hu01G06-153	IGKV1-39 V48I каппа-цепи Hu01G06 (SEQ ID NO:94)	Химерная тяжелая цепь Ch01G06 (SEQ ID NO:40)
Hu01G06-69	IGKV1-39 V48I каппа-цепи Hu01G06 (SEQ ID NO:94)	IGHV1-18 тяжелой цепи Hu01G06 (SEQ ID NO:54)
Hu01G06-75	IGKV1-39 V48I каппа-цепи Hu01G06 (SEQ ID NO:94)	IGHV1-69 тяжелой цепи Hu01G06 (SEQ ID NO:56)
Hu01G06-105	IGKV1-39 V48I каппа-цепи Hu01G06 (SEQ ID NO:94)	IGHV1-18 M69L тяжелой цепи Sh01G06 (SEQ ID NO:58)
Hu01G06-107	IGKV1-39 V48I каппа-цепи Hu01G06 (SEQ ID NO:94)	IGHV1-18 M69L K64Q G44S тяжелой цепи Sh01G06 (SEQ ID NO:60)
Hu01G06-106	IGKV1-39 V48I каппа-цепи Hu01G06 (SEQ ID NO:94)	IGHV1-18 M69L K64Q тяжелой цепи Sh01G06 (SEQ ID NO:62)
Hu01G06-108	IGKV1-39 V48I каппа-цепи Hu01G06 (SEQ ID NO:94)	IGHV1-69 T30S I69L тяжелой цепи Sh01G06 (SEQ ID NO:64)
Hu01G06-109	IGKV1-39 V48I каппа-цепи Hu01G06 (SEQ ID NO:94)	IGHV1-69 T30S K64Q I69L тяжелой цепи Sh01G06 (SEQ ID NO:66)
Hu01G06-154	IGKV1-39 каппа-цепи Hu01G06 F2 (SEQ ID NO:254)	Химерная тяжелая цепь Ch01G06 (SEQ ID NO:40)
Hu01G06-155	IGKV1-39 каппа-цепи Hu01G06 F2 (SEQ ID NO:254)	IGHV1-18 тяжелой цепи Hu01G06 (SEQ ID NO:54)
Hu01G06-156	IGKV1-39 каппа-цепи Hu01G06 F2 (SEQ ID NO:254)	IGHV1-69 тяжелой цепи Hu01G06 (SEQ ID NO:56)
Hu01G06-157	IGKV1-39 каппа-цепи Hu01G06 F2 (SEQ ID NO:254)	IGHV1-18 M69L тяжелой цепи Sh01G06 (SEQ ID NO:58)
Hu01G06-158	IGKV1-39 каппа-цепи Hu01G06 F2 (SEQ ID NO:254)	IGHV1-18 M69L K64Q G44S тяжелой цепи Sh01G06 (SEQ ID NO:60)
Hu01G06-159	IGKV1-39 каппа-цепи Hu01G06 F2 (SEQ ID NO:254)	IGHV1-18 M69L K64Q тяжелой цепи Sh01G06 (SEQ ID NO:62)
Hu01G06-160	IGKV1-39 каппа-цепи Hu01G06 F2 (SEQ ID NO:254)	IGHV1-69 T30S I69L тяжелой цепи Sh01G06 (SEQ ID NO:64)
Hu01G06-161	IGKV1-39 каппа-цепи Hu01G06 F2 (SEQ ID NO:254)	IGHV1-69 T30S K64Q I69L тяжелой цепи Sh01G06 (SEQ ID NO:66)
Hu01G06-130	IGKV1-39 каппа-цепи Hu01G06 F2 (SEQ ID NO:254)	IGHV1-18 тяжелой цепи Hu01G06 F1 (SEQ ID NO:246)
Hu01G06-127	IGKV1-39 каппа-цепи Hu01G06 F2 (SEQ ID NO:254)	IGHV1-18 тяжелой цепи Hu01G06 F2 (SEQ ID NO:248)
Hu01G06-143	IGKV1-39 каппа-цепи Hu01G06 F2 (SEQ ID NO:254)	IGHV1-69 тяжелой цепи Hu01G06 F1 (SEQ ID NO:250)
Hu01G06-146	IGKV1-39 каппа-цепи Hu01G06 F2 (SEQ ID NO:254)	IGHV1-69 тяжелой цепи Hu01G06 F2 (SEQ ID NO:252)

Каждая из возможных комбинаций переменных областей тяжелой цепи иммуноглобулина и легкой цепи иммуноглобулина химерного или гуманизированного 06C11 приведена ниже в табл. 15.

Таблица 15

Название антитела	Варибельная область легкой цепи	Варибельная область тяжелой цепи
Hu06C11-1	Химерная каппа-цепь Ch06C11 (SEQ ID NO:82)	Химерная тяжелая цепь Ch06C11 (SEQ ID NO:46)
Hu06C11-7	Химерная каппа-цепь Ch06C11 (SEQ ID NO:82)	IGHV2-70 тяжелой цепи HE LM 06C11 (SEQ ID NO:68)
Hu06C11-10	Химерная каппа-цепь Ch06C11 (SEQ ID NO:82)	IGHV2-5 тяжелой цепи Hu06C11 (SEQ ID NO:70)
Hu06C11-12	IGKV1-16 каппа-цепи Sh06C11 (SEQ ID NO:96)	Химерная тяжелая цепь Ch06C11 (SEQ ID NO:46)
Hu06C11-27	IGKV1-16 каппа-цепи Sh06C11 (SEQ ID NO:96)	IGHV2-70 тяжелой цепи HE LM 06C11 (SEQ ID NO:68)
Hu06C11-30	IGKV1-16 каппа-цепи Sh06C11 (SEQ ID NO:96)	IGHV2-5 тяжелой цепи Hu06C11 (SEQ ID NO:70)

Каждая из возможных комбинаций вариабельных областей тяжелой цепи иммуноглобулина и легкой цепи иммуноглобулина химерного или гуманизированного 14F11 приведена ниже в табл. 16.

Таблица 16

Название антитела	Варибельная область легкой цепи	Варибельная область тяжелой цепи
Hu14F11-1	Химерная каппа-цепь Ch14F11 (SEQ ID NO:86)	Химерная тяжелая цепь Ch14F11 (SEQ ID NO:50)
Hu14F11-14	Химерная каппа-цепь Ch14F11 (SEQ ID NO:86)	IGHV2-5 тяжелой цепи Sh14F11 (SEQ ID NO:72)
Hu14F11-15	Химерная каппа-цепь Ch14F11 (SEQ ID NO:86)	IGHV2-70 тяжелой цепи Sh14F11 (SEQ ID NO:74)
Hu14F11-11	IGKV1-16 каппа-цепи Hu14F11 (SEQ ID NO:98)	Химерная тяжелая цепь Ch14F11 (SEQ ID NO:50)
Hu14F11-39	IGKV1-16 каппа-цепи Hu14F11 (SEQ ID NO:98)	IGHV2-5 тяжелой цепи Sh14F11 (SEQ ID NO:72)
Hu14F11-47	IGKV1-16 каппа-цепи Hu14F11 (SEQ ID NO:98)	IGHV2-70 тяжелой цепи Sh14F11 (SEQ ID NO:74)

Каждая из возможных комбинаций вариабельных областей тяжелой цепи иммуноглобулина и легкой цепи иммуноглобулина химерных 04F08, 06C11 и 14F11 приведена ниже в табл. 17.

Таблица 17

Варибельная область легкой цепи	Варибельная область тяжелой цепи
Химерная каппа-цепь 04F08 (SEQ ID NO:80)	Химерная тяжелая цепь Ch06C11 (SEQ ID NO:46)
Химерная каппа-цепь 04F08 (SEQ ID NO:80)	Химерная тяжелая цепь Ch14F11 (SEQ ID NO:50)
Химерная каппа-цепь Ch06C11 (SEQ ID NO:82)	Химерная тяжелая цепь 04F08 (SEQ ID NO:44)
Химерная каппа-цепь Ch06C11 (SEQ ID NO:82)	Химерная тяжелая цепь Ch14F11 (SEQ ID NO:50)
Химерная каппа-цепь Ch14F11 (SEQ ID NO:86)	Химерная тяжелая цепь 04F08 (SEQ ID NO:44)
Химерная каппа-цепь Ch14F11 (SEQ ID NO:86)	Химерная тяжелая цепь Ch06C11 (SEQ ID NO:46)

Каждая из возможных комбинаций вариабельных областей тяжелой цепи иммуноглобулина и легкой цепи иммуноглобулина химерного 01G06 и химерного 08G01 приведена ниже в табл. 18.

Таблица 18

Варибельная область легкой цепи	Варибельная область тяжелой цепи
Химерная каппа-цепь Ch01G06 (SEQ ID NO:76)	Химерная тяжелая цепь 08G01 (SEQ ID NO:48)
Химерная каппа-цепь 08G01 (SEQ ID NO:84)	Химерная тяжелая цепь Ch01G06 (SEQ ID NO:40)

Последовательности нуклеиновой кислоты и кодируемые последовательности белка, определяющие вариабельные области химерных и гуманизированных антител 01G06, 06C11 и 14F11, обобщены ниже (аминоконцевые последовательности сигнальных пептидов не показаны). Последовательности CDR (определение согласно Kabat) в аминокислотных последовательностях показаны жирным шрифтом и подчеркнуты.

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариabельную область химерной тяжелой цепи Ch01G06 (SEQ ID NO: 127)

```
1 gaagtgtgtg tgcagcagtc agggccggag ttggtaaaac cgggagcgtc ggtgaaaatc
61 ccgtgcaaaag cgtcggggta tacgtttacg gactataaca tggattgggt gaaacagtcg
121 catgggaaat cgcttgaatg gattggtcag atcaatccga ataattggag aatcttcttt
181 aatcagaagt ttaaaggaaa agcgacgctt acagtcgata agtcgtcgaa cagggcgctt
241 atggaagtac ggtcgcttac gtcggaagat acggcggctt attactgtgc gagggaggcg
301 attacgacgg tgggagcgat ggactattgg ggacaaggga cgtcggtcac ggtatcgtcg
```

Последовательность белка, определяющая вариabельную область химерной тяжелой цепи Ch01G06 (SEQ ID NO: 40)

```
1 evllqsgpe lvkpgasvki pckasgytft dynmdwvkqs hgkslewig inpnnggiff
61 ngkfkqkatl tvdkssntaf mevrltsed tavyycarea ittvgamdyw gqgtsvtvss
```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариabельную область IGHV1-18 тяжелой цепи Hu01G06 (SEQ ID NO: 53)

```
1 caagtccaac ttgtgcagtc ggggtcggaa gtcaaaaagc cgggagcgtc ggtgaaagta
61 tcgtgtaaaag cgtcgggata tacgtttacg gactataaca tggactgggt acgacaggca
121 ccggggaaat cgcttgaatg gattggacag attaatccga acaatggggg tatcttcttt
181 aatcagaaat tcaaaggacg ggcgacgttg acggtcgata catcgacgaa tacggcgctat
241 atggaattga ggtcgcttcg ctcggacgat acggcggctt attactgcgc cagggaggcg
301 atcacgacgg tagggcgcat ggattattgg ggacagggga cgcttgtagc ggtatcgtcg
```

Последовательность белка, определяющая вариabельную область IGHV1-18 тяжелой цепи Hu01G06 (SEQ ID NO: 54)

```
1 qvqlvqgae vkkpgasvkv sckasgytft dynmdwvrqa pgkslewig inpnnggiff
61 ngkfkqratl tvdtstntay melrslrdd tavyycarea ittvgamdyw gqgtlvtvss
```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариabельную область IGHV1-69 тяжелой цепи Hu01G06 (SEQ ID NO: 55)

```
1 caagtccaac ttgtccagtc gggagcggaa gtgaagaaac cggggtcgtc ggtcaaaagta
61 tcgtgtaaaag cgtcgggata tacgtttacg gactataaca tggattgggt acgacaggct
121 ccggggaaat cattggaatg gattggacag attaatccga acaatggggg tatcttcttt
181 aatcaaaagt ttaaaggagc ggcgacgttg acggtcgata aatcgacaaa tacggcgctat
241 atggaattgt cgtcgcttcg gtcggaggac acggcgggtt attactgcgc gagggaggcg
301 atcacgacgg tcggggcgat ggattattgg ggacagggga cgcttgtagc ggtatcgtcg
```

Последовательность белка, определяющая вариabельную область IGHV1-69 тяжелой цепи Hu01G06 (SEQ ID NO: 56)

```
1 qvqlvqgae vkkpgssvkv sckasgytft dynmdwvrqa pgkslewig inpnnggiff
61 ngkfkqratl tvdkstntay melsslrdd tavyycarea ittvgamdyw gqgtlvtvss
```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариabельную область IGHV1-18 M69L тяжелой цепи Sh01G06 (SEQ ID NO: 57)

```
1 cagggtccagc ttgtgcaatc gggagcggaa gtgaagaaac cgggagcgtc ggtaaaagtc
61 tcgtgcaaaag cgtcggggta tacgtttacg gactataaca tggactgggt gcgccaagcg
121 cctggacagg gtcttgaatg gatggggcag attaatccga ataattggag gatcttcttt
181 aatcagaaat tcaaaggaa ggtaacgctg acgacagaca cgtcaacatc gacggcctat
241 atggaattgc ggtcgcttcg atcagatgat acggcgggtt actattgtgc gagggaggcg
301 attacgacgg tgggagcgat ggattattgg ggacagggga cgttggtaac ggtatcgtcg
```

Последовательность белка, определяющая вариabельную область IGHV1-18

M69L тяжелой цепи Sh01G06 (SEQ ID NO: 58)

```
1 qvqlvqgae vkkpgasvkv sckasgytft dynmdwvrqa pgqglewmng inpnnggiff
61 ngkfkqrvtl ttdtststay melrslrdd tavyycarea ittvgamdyw gqgtlvtvss
```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариabельную область IGHV1-18 M69L K64Q G44S тяжелой цепи Sh01G06 (SEQ ID NO: 59)

```
1 cagggtccagc ttgtgcaatc gggagcggaa gtgaagaaac cgggagcgtc ggtaaaagtc
61 tcgtgcaaaag cgtcggggta tacgtttacg gactataaca tggactgggt gcgccaagcg
121 cctggacaga gccttgaatg gatggggcag attaatccga ataattggag gatcttcttt
181 aatcagaaat tccagggaag ggtaacgctg acgacagaca cgtcaacatc gacggcctat
241 atggaattgc ggtcgcttcg atcagatgat acggcgggtt actattgtgc gagggaggcg
301 attacgacgg tgggagcgat ggattattgg ggacagggga cgttggtaac ggtatcgtcg
```

Последовательность белка, определяющая вариabельную область IGHV1-18 M69L K64Q G44S тяжелой цепи Sh01G06 (SEQ ID NO: 60)

```
1 qvqlvqgae vkkpgasvkv sckasgytft dynmdwvrqa pgqglewmng inpnnggiff
61 ngkfkqrvtl ttdtststay melrslrdd tavyycarea ittvgamdyw gqgtlvtvss
```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариabельную область IGHV1-18 M69L K64Q тяжелой цепи Sh01G06 (SEQ ID NO: 61)

```
1 cagggtccagc ttgtgcaatc gggagcggaa gtgaagaaac cgggagcgtc ggtaaaagtc
61 tcgtgcaaaag cgtcggggta tacgtttacg gactataaca tggactgggt gcgccaagcg
121 cctggacagg gtcttgaatg gatggggcag attaatccga ataattggag gatcttcttt
181 aatcagaaat tccagggaag ggtaacgctg acgacagaca cgtcaacatc gacggcctat
241 atggaattgc ggtcgcttcg atcagatgat acggcgggtt actattgtgc gagggaggcg
301 attacgacgg tgggagcgat ggattattgg ggacagggga cgttggtaac ggtatcgtcg
```

Последовательность белка, определяющая вариabельную область IGHV1-18 M69L K64Q тяжелой

цепи Sh01G06 (SEQ ID NO: 62)

1 qvqlvsgae vkkpgasvkv sckasgytft dynmdwvrqa pgqglewmgg inpnnggiff
61 ngkfqgrvtl ttdtststay melrslrdd tavyycarea ittvgamdyw gqgtlvtvss

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариательную область IGHV1-69 T30S I69L тяжелой цепи Sh01G06 (SEQ ID NO: 63)

1 caagtacagc ttgtacagtc gggagcggaa gtcaagaaac cgggacgctc ggtcaaagtg
61 tcgtgtaaag cgtcgggata tacgttttagc gactataaca tggattgggt gcgacaagcg
121 cctgggcagg gacttgaatg gatgggtcag atcaatccga ataattgggg aatctttttc
181 aatcagaagt ttaaaggag ggtaacgctg acggcggata aaagcacgct aacggcgat
241 atggagtgtg cgtcgttgcg gtcggaggac acggcggctc attactgcgc gagggaaagc
301 attacgacgg tgggagcgat ggattattgg gggcagggaa cgcttgtaac ggtgtcatcg

Последовательность белка, определяющая вариательную область IGHV1-69 T30S I69L тяжелой цепи Sh01G06 (SEQ ID NO: 64)

1 qvqlvsgae vkkpgssvkv sckasgytfs dynmdwvrqa pgqglewmgg inpnnggiff
61 ngkfkgrvtl tadtststay melsslrdd tavyycarea ittvgamdyw gqgtlvtvss

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариательную область IGHV1-69 T30S K64Q I69L тяжелой цепи Sh01G06 (SEQ ID NO: 65)

1 caagtacagc ttgtacagtc gggagcggaa gtcaagaaac cgggacgctc ggtcaaagtg
61 tcgtgtaaag cgtcgggata tacgttttagc gactataaca tggattgggt gcgacaagcg
121 cctgggcagg gacttgaatg gatgggtcag atcaatccga ataattgggg aatctttttc
181 aatcagaagt ttcaaggag ggtaacgctg acggcggata aaagcacgct aacggcgat
241 atggagtgtg cgtcgttgcg gtcggaggac acggcggctc attactgcgc gagggaaagc
301 attacgacgg tgggagcgat ggattattgg gggcagggaa cgcttgtaac ggtgtcatcg

Последовательность белка, определяющая вариательную область IGHV1-69 T30S K64Q I69L тяжелой цепи Sh01G06 (SEQ ID NO: 66)

1 qvqlvsgae vkkpgssvkv sckasgytfs dynmdwvrqa pgqglewmgg inpnnggiff
61 ngkfqgrvtl tadtststay melsslrdd tavyycarea ittvgamdyw gqgtlvtvss

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариательную область IGHV1-18 тяжелой цепи Hu01G06 F1 (SEQ ID NO: 245)

1 caggtccagc ttgtgcaatc gggagcggaa gtgaagaaac cgggagcgtc ggtaaaagt
61 tcgtgcaaaag cgtcgggata tacgttttagc gactataaca tggactgggt gcgccaagcg
121 cctggacaga gccttgaatg gatggggcag attaatccgt acaatcacct gatcttcttt
181 aatcagaaat tccagggaag ggtaacgctg acgacagaca cgtaacatc gacggcctat
241 atggaattgc ggtcgttgcg atcagatgat acggcggctc actattgtgc gagggagcg
301 attacgacgg tgggagcgat ggattattgg ggacagggga cgcttgtaac ggtatcgtcg

Последовательность белка, определяющая вариательную область IGHV1-18 тяжелой цепи Hu01G06 F1 (SEQ ID NO: 246)

1 qvqlvsgae vkkpgasvkv sckasgytft dynmdwvrqa pgqglewmgg inpnngliff
61 ngkfqgrvtl ttdtststay melrslrdd tavyycarea ittvgamdyw gqgtlvtvss

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариательную область IGHV1-18 тяжелой цепи Hu01G06 F2 (SEQ ID NO: 247)

1 caggtccagc ttgtgcaatc gggagcggaa gtgaagaaac cgggagcgtc ggtaaaagt
61 tcgtgcaaaag cgtcgggata tacgttttagc gactataaca tggactgggt gcgccaagcg
121 cctggacaga gccttgaatg gatggggcag attaatccga ataattggact gatcttcttt
181 aatcagaaat tccagggaag ggtaacgctg acgacagaca cgtaacatc gacggcctat
241 atggaattgc ggtcgttgcg atcagatgat acggcggctc actattgtgc gagggagcg
301 attacgacgg tgggagcgat ggattattgg ggacagggga cgcttgtaac ggtatcgtcg

Последовательность белка, определяющая вариательную область IGHV1-18 тяжелой цепи Hu01G06 F2 (SEQ ID NO: 248)

1 qvqlvsgae vkkpgasvkv sckasgytft dynmdwvrqa pgqglewmgg inpnngliff
61 ngkfqgrvtl ttdtststay melrslrdd tavyycarea ittvgamdyw gqgtlvtvss

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариательную область IGHV1-69 тяжелой цепи Hu01G06 F1 (SEQ ID NO: 249)

1 caagtacagc ttgtacagtc gggagcggaa gtcaagaaac cgggacgctc ggtcaaagt
61 tcgtgtaaag cgtcgggata tacgttttagc gactataaca tggattgggt gcgacaagcg
121 cctgggcagg gacttgaatg gatgggtcag atcaatccga ataattgggt gatctttttc
181 aatcagaagt ttaaaggag ggtaacgctg acggcggata aaagcacgct aacggcgat
241 atggagtgtg cgtcgttgcg gtcggaggac acggcggctc attactgcgc gagggaaagc
301 attacgacgg tgggagcgat ggattattgg gggcagggaa cgcttgtaac ggtgtcatcg

Последовательность белка, определяющая вариательную область IGHV1-69 тяжелой цепи Hu01G06 F1 (SEQ ID NO: 250)

1 qvqlvsgae vkkpgssvkv sckasgytfs dynmdwvrqa pgqglewmgg inpnngliff
61 ngkfkgrvtl tadtststay melsslrdd tavyycarea ittvgamdyw gqgtlvtvss

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариательную область IGHV1-69 тяжелой цепи Hu01G06 F2 (SEQ ID NO: 251)

1 caagtacagc ttgtacagtc gggagcggaa gtcaagaaac cgggatcgtc ggtcaaagt
 61 tcgtgtaaaag cgctcgggata tacgttttagc gactataaca tggattgggt ggcacaagcg
 121 cctgggcagg gacttgaatg gatgggtcag atcaatccgt acaatcacct gatctttttc
 181 aatcagaagt ttaaaggag ggtaacgctg acggcggata aaagcacgtc aacggcgat
 241 atggagtgtg cgctcgttcg gtcggaggac acggcggctc attactgctg gaggaagcg
 301 attacgacgg tgggagcgat ggattattgg gggcaggga cgttgtaac ggtgtcatcg

Последовательность белка, определяющая варибельную областьIGHV1-69 тяжелой цепиHu01G06 F2 (SEQ ID NO: 252)

1 qvqlvqsgae vkkpgssvkv sckasgytfs dynmdwvrqa pggglewmgg inpynhliff
 61 ngkfkgrrvtl tadkststay melsslr sed tavyycare a ittvgamdyw gqgtlvtvss

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая варибельную область химерной тяжелой цепи Ch06C11 (SEQ ID NO: 129)

1 caggtgacac tcaaagaatc aggacccgga atccttcagc ccagccagac cttgtcgtc
 61 acttggtcgt tctccggtt cagcctgaat acttatggga tgggtgtgtc atggatcagg
 121 caaccgtccg ggaaggatt ggagtggctc gcgcacatct actgggacga tgacaaacgc
 181 tacaatcctt cgctgaagag ccgattgacg atttccaagg atgcctcgaa caaccgggta
 241 tttcttaaga tcacgtcggg cgatacggca gacacggcga cctattactg cgcccaaaga
 301 gggtagcatg actattgggg atattggggc caggggacac tcgtcacaat ttcagct

Последовательность белка, определяющая варибельную область химерной тяжелой цепи Ch06C11 (SEQ ID NO: 46)

1 qvtlkespg ilqpsqtlsl tcsfsgfsln tygmvgswir qpsgkglewl ahiywdddkr
 61 ynpslksrlt iskdasnrv flkitsvda dtatyycar g yddywgyw gqgtlvtvss

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая варибельную областьIGHV2-70 тяжелой цепи HE LM 06C11 (SEQ ID NO: 67)

1 caggtgactt tgaagaatc cgggtcccgca ttggtaaagc caaccagac acttacgctc
 61 acatgtacat tttccggtt cagcttgaac acttacggga tgggagtgtc gtggattcgg
 121 caacctccg ggaaggctct ggagtggctg gcgcacatct actgggatga tgacaaaagg
 181 tataaccct cacttaaaac gagactgacg atctcgaagg acacaagcaa gaatcaggtc
 241 gtccctacga ttacgaatgt agaccgggtg gatactgccg tctattactg cgcgcagcgc
 301 gggtatgatg actactgggg atattggggc cagggcacc tcgtgacct ctcgta

Последовательность белка, определяющая варибельную областьIGHV2-70 тяжелой цепи HE LM 06C11 (SEQ ID NO: 68)

1 qvtlkesgpa lvkptqtltl tctfsgfsln tygmvgswir qppgkglewl ahiywdddkr
 61 ynpslksrlt iskdtsknv vltitnvdv dtavyycar g yddywgyw gqgtlvtvss

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая варибельную областьIGHV2-5 тяжелой цепи Hu06C11 (SEQ ID NO: 69)

1 caagtaacgc tcaaggagtc cggaccacc ttggtgaagc cgacgcagac cttgactctt
 61 acgtgcactt tctcggggtt ttcactgaat acgtacggga tgggtgtctc atggatcagg
 121 caacctccg ggaagggtt ggaatggctg gcgcacatct actgggatga cgataagaga
 181 tataacccaa gcctcaagtc gcggtccacc attacaaaag atacatcgaa aaatcaggtc
 241 gtacttacta tcacgaacat ggaccgggtg gacacagcaa catattactg tgccagcgc
 301 ggctatgacg attattgggg ttactgggga cagggaaacac tggtcacggt gtccagc

Последовательность белка, определяющая варибельную областьIGHV2-5 тяжелой цепи Hu06C11 (SEQ ID NO: 70)

1 qvtlkesgpt lvkptqtltl tctfsgfsln tygmvgswir qppgkglewl ahiywdddkr
 61 ynpslksrlt itkdtsknv vltitnmdpv dtatyycar g yddywgyw gqgtlvtvss

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая варибельную область химерной тяжелой цепи Ch14F11 (SEQ ID NO: 131)

1 caggtcacgc tgaagagtc aggtcccgga atccttcaac cttcgcagac attgtcactc
 61 acatgttctt tctcggggtt ctcgctctcg acttatggca tgggtgtagg atggattcgg
 121 cagccacgc ggaagggtt tgagtgggtg gcggatatct ggtgggacga cgacaaatc
 181 tacaatccga gcctgaagtc ccgcctcacc atttcgaaag atacgtcatc aaacgaagtc
 241 tttttgaaga tcgccatcgt ggacacggcg gatacagcga cgtattactg cgccagcgc
 301 ggacactaca gcgcaatgga ttattgggga caggggacct cgtgactgt gtcgtcc

Последовательность белка, определяющая варибельную область химерной тяжелой цепи Ch14F11 (SEQ ID NO: 50)

1 qvtlkespg ilqpsqtlsl tcsfsgfsls tygmvgswir qpsgkglewl adiwdddky
 61 ynpslksrlt iskdtssnev flkiaivda dtatyycar g hysamdyw gqtsvtvss

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая варибельную областьIGHV2-5 тяжелой цепи Sh14F11 (SEQ ID NO: 71)

1 cagatcactt tgaagaaaag cggaccgacc ttggtcaagc ccacacaaac cctcacgctc
 61 acgtgtacat tttcggggtt ctcgcttca acttacggga tgggagttagg gtggattcgc
 121 cagccgcctg gtaaacggtt ggagtggctt gcagacatct ggtgggacga cgataagtac
 181 tataatccct cgctcaagtc cagactgacc atcacgaaag atacgagcaa gaaccaggtc
 241 gtgctgacaa tgactaacat ggaccagtg gatacggcta catattactg cgccagcgc
 301 ggtcactact cagcgatgga ttattggggc cagggaaacac tggtaacggt gtcgtcc

Последовательность белка, определяющая варибельную областьIGHV2-5 тяжелой цепи Sh14F11 (SEQ ID NO: 72)

1 qitlkesgpt lvkptqtltl tctfsgfsls tygmvgwir qppgkalewl adiwdddky
61 ynpslksrlt itkdtsknqv vltmtndpvt dtavyycar ghysamdywg qgtlvtvss

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая варибельную область IGHV2-70 тяжелой цепи Sh14F11 (SEQ ID NO: 73)

1 caagtgaact tcaaggagtc cggaccgcgc ctggtcaaac caacgcagac actgacgctc
61 acatgcacct tcagcggatt ttcgttgta acgtacggca tgggtgtggg gtggattcgc
121 cagcctccgg ggaagccct tgaatggtg cggacatct ggtgggatga tgacaagtac
181 tataatccct cacttaagtc acggttgacg atctcgaaa acaccagcaa gaaccaggtg
241 gtgctgacaa tgactaacat ggaccgcgtc gatacagcg tctactattg tgctagaagg
301 ggacactact cgcgaatgga ttattggggt caggggacgc tcgtaaccgt gtcgtcg

Последовательность белка, определяющая варибельную область IGHV2-70 тяжелой цепи Sh14F11 (SEQ ID NO: 74)

1 qvtlkesgpa lvkptqtltl tctfsgfsls tygmvgwir qppgkalewl adiwdddky
61 ynpslksrlt iskdtsknqv vltmtndpvt dtavyycar ghysamdywg qgtlvtvss

[00406] Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая варибельную область химерной каппа-цепи Ch01G06 (SEQ ID NO: 133)

1 gacatccaaa tgaccagtc acccgcgagc ctttcagcgt cggtcggaga aacggtcagc
61 atcacgtgcc ggacatcaga gaatttcgat aactacctcg cgtggtatca acagaagcag
121 gggaagtcgc ccagttgct tgtatagat gcgaaaacgt tggcggatgg ggtgccgtcc
181 agattctcgg gatcgggctc ggggacgcag tactcgctca agatcaattc gctgcagccg
241 gaggactttg ggtcgacta ttgtcagcat ttttggtcat caccgtatac atttgagggt
301 ggaacgaaac ttgagattaa g

Последовательность белка, определяющая варибельную область химерной каппа-цепи Ch01G06 (SEQ ID NO: 76)

1 diqmtqspas lsasvgetvt itcrtsenlh nylawyqqkq gkspqllvyd aktladgvps
61 rfsqsgsgtq yslkinslqp edfsgsyycqh fwsspytfgg gtkleik

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая варибельную область IGKV1-39 каппа-цепи Hu01G06 (SEQ ID NO: 89)

1 gacatccaaa tgaccagtc gccgtcgctc ctttcagcgt cggtagggga tcgggtcaca
61 attacgtgcc gaacgtcaga gaatttcgat aactacctcg cgtggtatca gcagaagccc
121 gggaagtcac cgaactcct tgtctacgat gcgaaaacgc tggcggatgg agtgccgtcg
181 agattctcgg gaagcggatc cgttacggac tatacgctta cgatctcatc gctccagccc
241 gaggactttg cgacgtacta ttgtcagcat ttttggtcgt cgcctacac atttgggcag
301 gggaaccaag tggaatcaa g

Последовательность белка, определяющая варибельную область IGKV1-39 каппа-цепи Hu01G06 (SEQ ID NO: 90)

1 diqmtqspss lsasvgdrvt itcrtsenlh nylawyqqkp gkspkllvyd aktladgvps
61 rfsqsgsgtd ytltisslqp edfatyyccqh fwsspytfgq gtkleik

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая варибельную область IGKV1-39 S43A V48I каппа-цепи Hu01G06 (также упоминаемую в данном документе как варибельная область IGKV1-39 каппа-цепи Hu01G06 F1; SEQ ID NO: 91)

1 gacatccaaa tgaccagtc gccgtcgctc ctttcagcgt cggtagggga tcgggtcaca
61 attacgtgcc gaacgtcaga gaatttcgat aactacctcg cgtggtatca gcagaagccc
121 gggaagggccc cgaactcct tatctacgat gcgaaaacgc tggcggatgg agtgccgtcg
181 agattctcgg gaagcggatc cgttacggac tatacgctta cgatctcatc gctccagccc
241 gaggactttg cgacgtacta ttgtcagcat ttttggtcgt cgcctacac atttgggcag
301 gggaaccaag tggaatcaa g

Последовательность белка, определяющая варибельную область IGKV1-39 S43A V48I каппа-цепи Hu01G06 (также упоминаемую в данном документе как варибельная область IGKV1-39 каппа-цепи Hu01G06 F1; SEQ ID NO: 92)

1 diqmtqspss lsasvgdrvt itcrtsenlh nylawyqqkp gkapklliyd aktladgvps
61 rfsqsgsgtd ytltisslqp edfatyyccqh fwsspytfgq gtkleik

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая варибельную область IGKV1-39 V48I каппа-цепи Hu01G06 (SEQ ID NO: 93)

1 gacatccaaa tgaccagtc gccgtcgctc ctttcagcgt cggtagggga tcgggtcaca
61 attacgtgcc gaacgtcaga gaatttcgat aactacctcg cgtggtatca gcagaagccc
121 gggaagtcac cgaactcct tatctacgat gcgaaaacgc tggcggatgg agtgccgtcg
181 agattctcgg gaagcggatc cgttacggac tatacgctta cgatctcatc gctccagccc
241 gaggactttg cgacgtacta ttgtcagcat ttttggtcgt cgcctacac atttgggcag
301 gggaaccaag tggaatcaa g

Последовательность белка, определяющая варибельную область IGKV1-39 V48I каппа-цепи Hu01G06 (SEQ ID NO: 94)

1 diqmtqspss lsasvgdrvt itcrtsenlh nylawyqqkp gkspklliyd aktladgvps
61 rfsqsgsgtd ytltisslqp edfatyyccqh fwsspytfgq gtkleik

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая варибельную область IGKV1-39 каппа-цепи Hu01G06 F1 (также упоминаемую в данном документе как варибельная область IGKV1-39 S43A V48I каппа-цепи Hu01G06; SEQ ID NO: 91)

```

1 gacatccaaa tgaccagtc gccgtcgctg ctttcagcgt cggtagggga tcgggtcaca
61 attacgtgcc gaacgtcaga gaatttgcac aactacctcg cgtgggtatca gcagaagccc
121 gggaaggccc cgaactcct tatctacgat gcgaaaacgc tggcggatgg agtgccgctcg
181 agattctcgg gaagcggatc cggtagcgac tatacgttta cgtatctcatc gctccagccc
241 gaggactttg cgacgtacta ttgtcagcat ttttggtcgt cgccctacac atttgggcag
301 gggaccaagt tggaaatcaa g

```

Последовательность белка, определяющая вариabельную область IGKV1-39 каппа-цепи Hu01G06 F1 (также упоминаемую в данном документе как вариabельная область IGKV1-39 S43 A V48I каппа-цепи Hu01G06; SEQ ID NO: 92)

```

1 diqmtqspss lsasvgdrvt itcrtsenlh nylawyqqkp gkapklliyd aktladgvps
61 rfsqsgsgtd ylttisslqp edfatyycqh fwsspytfgg gtleik

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариabельную область IGKV1-39 каппа-цепи Hu01G06 F2 (SEQ ID NO: 253)

```

1 gacatccaaa tgaccagtc gccgtcgctg ctttcagcgt cggtagggga tcgggtcaca
61 attacgtgcc gaacgtcaga gaatttgcac aactacctcg cgtgggtatca gcagaagccc
121 gggaagtcac cgaactcct tatctacgat gcgaaaacgc tggcggatgg agtgccgctcg
181 agattctcgg gaagcggatc cggtagcgac tatacgttta cgtatctcatc gctccagccc
241 gaggactttg cgacgtacta ttgtcagcat ttttggtcgt acccctacac atttgggcag
301 gggaccaagt tggaaatcaa g

```

Последовательность белка, определяющая вариabельную область IGKV1-39 каппа-цепи Hu01G06 F2 (SEQ ID NO: 254)

```

1 diqmtqspss lsasvgdrvt itcrtsenlh nylawyqqkp gkspklliyd aktladgvps
61 rfsqsgsgtd ylttisslqp edfatyycqh fwspdytfgg gtleik

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариabельную область химерной каппа-цепи Ch06C11 (SEQ ID NO: 135)

```

1 gatatcgta tgaccagtc ccagaagttc atgtcaactt cagtgggaga cagagtgtcc
61 gtcacatgta aagcctcgca aaatgtggga accaacgtag cgtgggttcca gcagaaccc
121 ggcaaatcac cgaaggcact gatctactcg gccagctata ggtactcggg agtaccagat
181 cggtttacgg ggtcggggag cgggacggac tttatcctca ctatttccaa tgtccagtcg
241 gaggaccttg cgaataactt ctgccagcag tataacaact atccctcac gtttggtgct
301 ggtacaaaat tggagttgaa g

```

Последовательность белка, определяющая вариabельную область химерной каппа-цепи Ch06C11 (SEQ ID NO: 82)

```

1 divmtqsqkf mstsvgdrvs vtckasqnvq tnvawfqkp gqspkaliys asyrysgvpd
61 rftgsgsgtd fittisnvqs edlaeyfcqg ynnypltfga gtleik

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариabельную область IGKV1-16 каппа-цепи Sh06C11 (SEQ ID NO: 95)

```

1 gacatccaaa tgacccaatc gccctcctcc ctctccgcat cagttagggga ccgcgtcaca
61 attacttgca aagcgtcgca gaacgtcgga acgaatgtgg cgtgggttcca gcagaagccc
121 ggaaaagctc cgaagagctt gatctactcg gcctcatata ggtattcggg tgtgccgagc
181 cggtttagcg ggtcggggag aggtactgat ttacagctca caatttcac gttgcagcca
241 gaagatttcg ccacatatta ctgtcagcag tacaacaatt accctctgac gttcgccag
301 ggaaccaaac ttgagatcaa g

```

Последовательность белка, определяющая вариabельную область IGKV1-16 каппа-цепи Sh06C11 (SEQ ID NO: 96)

```

1 diqmtqspss lsasvgdrvt itckasqnvq tnvawfqkp gkapksliys asyrysgvps
61 rfsqsgsgtd ftttisslqp edfatyycqg ynnypltfgg gtleik

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариabельную область химерной каппа-цепи Ch14F11 (SEQ ID NO: 137)

```

1 gacatcgta tgacacagtc acagaaatcc atgtccacat ccgtcgggtga tagagtatcc
61 gtcacgtgta aggcctcgca aaacgtagga actaatgtgg cgtgggtatca acagaagcca
121 ggacagtcac ccaaagcact catctacagc ccctcatatc ggtacagcgg ggtgccgagc
181 aggttcacgg gatcggggag cgggaccgat tttactatga ccatttcgaa tgtccagtcg
241 gaggaccttg cggaataact ctgccagcag tataactcgt accctcacac gtttgagggt
301 ggcactaagt tggagatgaa a

```

Последовательность белка, определяющая вариabельную область химерной каппа-цепи Ch14F11 (SEQ ID NO: 86)

```

1 divmtqsqkf mstsvgdrvs vtckasqnvq tnvawyqqkp gqspkaliys psyrysgvpd
61 rftgsgsgtd ftttisslqp edlaeyfcqg ynsyphtfgg gtleik

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вариabельную область IGKV1-16 каппа-цепи Hu14F11 (SEQ ID NO: 97)

```

1 gatattcaga tgacacagtc accctcgtcg ctctcagctt ccgtaggcga cagggtcact
61 attacgtgta aagcatcaca gaacgtcgga acgaatgtgg cgtgggttcca gcagaagccc
121 gggaagagcc ccaaagcgct tatctactcc ccgtcgtatc ggtattccgg tgtgccaaagc
181 agattttcgg ggtcagggtc gggaactgac tttaccctga ccatctcgtc cctccaaccg
241 gaagatttcg ccacgtactt ctgccagcag tacaacagct atccctcacac attcggacaa
301 gggacaaaagt tggagattaa a

```

[Последовательность белка, определяющая вариabельную область IGKV1-16 каппа-цепи Hu14F11 (SEQ ID NO: 98)]

1 diqmtqspss lsasvgdrvt itckasqnvq tnvawfqgkp gkspkaliys psvrysgvps
61 rfsgsgsgtd ftltisslqp edfatyfcgg ynsyphtfqg gtkleik

Аминокислотные последовательности, определяющие переменные области тяжелых цепей иммуноглобулина для антител, полученных в примере 13, выравнены на фиг. 19. Аминоконцевые последовательности сигнальных пептидов (для надлежащей экспрессии/секреции) не показаны. CDR₁, CDR₂ и CDR₃ (определение согласно Kabat) обозначены рамками. На фиг. 20 представлено выравнивание отдельных последовательностей CDR₁, CDR₂ и CDR₃ для каждой из последовательностей переменных областей, представленных на фиг. 19.

Аминокислотные последовательности, определяющие переменные области легких цепей иммуноглобулина для антител в примере 13, выравнены на фиг. 21. Аминоконцевые последовательности сигнальных пептидов (для надлежащей экспрессии/секреции) не показаны. CDR₁, CDR₂ и CDR₃ обозначены рамками. На фиг. 22 представлено выравнивание отдельных последовательностей CDR₁, CDR₂ и CDR₃ для каждой из последовательностей переменных областей, представленных на фиг. 21.

Табл. 19 представляет собой карту соответствий, на которой приведены SEQ ID NO каждой последовательности, обсуждаемой в данном примере.

Таблица 19

SEQ ID NO	Нуклеиновая кислота или белок
127	Переменная область химерной тяжелой цепи Ch01G06—нуклеиновая кислота
40	Переменная область химерной тяжелой цепи Ch01G06—белок
1	CDR ₁ химерной тяжелой цепи Ch01G06
7	CDR ₂ химерной тяжелой цепи Ch01G06
15	CDR ₃ химерной тяжелой цепи Ch01G06
53	Переменная область IGHV1-18 тяжелой цепи Hu01G06—нуклеиновая кислота
54	Переменная область IGHV1-18 тяжелой цепи Hu01G06—белок
1	CDR ₁ IGHV1-18 тяжелой цепи Hu01G06
7	CDR ₂ IGHV1-18 тяжелой цепи Hu01G06
15	CDR ₃ IGHV1-18 тяжелой цепи Hu01G06
55	Переменная область IGHV1-69 тяжелой цепи Hu01G06—нуклеиновая кислота
56	Переменная область IGHV1-69 тяжелой цепи Hu01G06—белок
1	CDR ₁ IGHV1-69 тяжелой цепи Hu01G06
7	CDR ₂ IGHV1-69 тяжелой цепи Hu01G06
15	CDR ₃ IGHV1-69 тяжелой цепи Hu01G06
57	Переменная область IGHV1-18 M69L тяжелой цепи Sh01G06—нуклеиновая кислота
58	Переменная область IGHV1-18 M69L тяжелой цепи Sh01G06—белок
1	CDR ₁ IGHV1-18 M69L тяжелой цепи Sh01G06
7	CDR ₂ IGHV1-18 M69L тяжелой цепи Sh01G06
15	CDR ₃ IGHV1-18 M69L тяжелой цепи Sh01G06

SEQ ID NO	Нуклеиновая кислота или белок
59	Вариабельная область IGHV1-18 M69L K64Q G44S тяжелой цепи Sh01G06—нуклеиновая кислота
60	Вариабельная область IGHV1-18 M69L K64Q G44S тяжелой цепи Sh01G06—белок
1	CDR ₁ IGHV1-18 M69L K64Q G44S тяжелой цепи Sh01G06
13	CDR ₂ IGHV1-18 M69L K64Q G44S тяжелой цепи Sh01G06
15	CDR ₃ IGHV1-18 M69L K64Q G44S тяжелой цепи Sh01G06
61	Вариабельная область IGHV1-18 M69L K64Q тяжелой цепи Sh01G06—нуклеиновая кислота
62	Вариабельная область IGHV1-18 M69L K64Q тяжелой цепи Sh01G06—белок
1	CDR ₁ IGHV1-18 M69L K64Q тяжелой цепи Sh01G06
13	CDR ₂ IGHV1-18 M69L K64Q тяжелой цепи Sh01G06
15	CDR ₃ IGHV1-18 M69L K64Q тяжелой цепи Sh01G06
63	Вариабельная область IGHV1-69 T30S I69L тяжелой цепи Sh01G06—нуклеиновая кислота
64	Вариабельная область IGHV1-69 T30S I69L тяжелой цепи Sh01G06—белок
1	CDR ₁ IGHV1-69 T30S I69L тяжелой цепи Sh01G06
7	CDR ₂ IGHV1-69 T30S I69L тяжелой цепи Sh01G06
15	CDR ₃ IGHV1-69 T30S I69L тяжелой цепи Sh01G06
65	Вариабельная область IGHV1-69 T30S K64Q I69L тяжелой цепи Sh01G06—нуклеиновая кислота
66	Вариабельная область IGHV1-69 T30S K64Q I69L тяжелой цепи Sh01G06—белок
1	CDR ₁ IGHV1-69 T30S K64Q I69L тяжелой цепи Sh01G06
13	CDR ₂ IGHV1-69 T30S K64Q I69L тяжелой цепи Sh01G06
15	CDR ₃ IGHV1-69 T30S K64Q I69L тяжелой цепи Sh01G06
245	Вариабельная область IGHV1-18 тяжелой цепи Hu01G06 F1—нуклеиновая кислота
246	Вариабельная область IGHV1-18 тяжелой цепи Hu01G06 F1—белок
1	CDR ₁ IGHV1-18 тяжелой цепи Hu01G06 F1
236	CDR ₂ IGHV1-18 тяжелой цепи Hu01G06 F1
15	CDR ₃ IGHV1-18 тяжелой цепи Hu01G06 F1
247	Вариабельная область IGHV1-18 тяжелой цепи Hu01G06 F2—нуклеиновая кислота
248	Вариабельная область IGHV1-18 тяжелой цепи Hu01G06 F2—белок
1	CDR ₁ IGHV1-18 тяжелой цепи Hu01G06 F2
237	CDR ₂ IGHV1-18 тяжелой цепи Hu01G06 F2
15	CDR ₃ IGHV1-18 тяжелой цепи Hu01G06 F2
259	Вариабельная область IGHV1-69 тяжелой цепи Hu01G06 F1—нуклеиновая кислота
250	Вариабельная область IGHV1-69 тяжелой цепи Hu01G06 F1—белок
1	CDR ₁ IGHV1-69 тяжелой цепи Hu01G06 F1
238	CDR ₂ IGHV1-69 тяжелой цепи Hu01G06 F1
15	CDR ₃ IGHV1-69 тяжелой цепи Hu01G06 F1
251	Вариабельная область IGHV1-69 тяжелой цепи Hu01G06 F2—нуклеиновая кислота
252	Вариабельная область IGHV1-69 тяжелой цепи Hu01G06 F2—белок
1	CDR ₁ IGHV1-69 тяжелой цепи Hu01G06 F2
239	CDR ₂ IGHV1-69 тяжелой цепи Hu01G06 F2
15	CDR ₃ IGHV1-69 тяжелой цепи Hu01G06 F2
129	Вариабельная область химерной тяжелой цепи Ch01G06—нуклеиновая кислота
46	Вариабельная область химерной тяжелой цепи Ch01G06—белок
4	CDR ₁ химерной тяжелой цепи Ch06C11
9	CDR ₂ химерной тяжелой цепи Ch06C11
18	CDR ₃ химерной тяжелой цепи Ch06C11

SEQ ID NO	Нуклеиновая кислота или белок
67	Варибельная область IGHV2-70 тяжелой цепи HE LM 06C11—нуклеиновая кислота
68	Варибельная область IGHV2-70 тяжелой цепи HE LM 06C11—белок
4	CDR ₁ IGHV2-70 тяжелой цепи HE LM 06C11
14	CDR ₂ IGHV2-70 тяжелой цепи HE LM 06C11
18	CDR ₃ IGHV2-70 тяжелой цепи HE LM 06C11
69	Варибельная область IGHV2-5 тяжелой цепи Hu06C11—нуклеиновая кислота
70	Варибельная область IGHV2-5 тяжелой цепи Hu06C11—белок
4	CDR ₁ IGHV2-5 тяжелой цепи Hu06C11
9	CDR ₂ IGHV2-5 тяжелой цепи Hu06C11
18	CDR ₃ IGHV2-5 тяжелой цепи Hu06C11
131	Варибельная область химерной тяжелой цепи Ch14F11—нуклеиновая кислота
50	Варибельная область химерной тяжелой цепи Ch14F11—белок
5	CDR ₁ химерной тяжелой цепи Ch14F11
11	CDR ₂ химерной тяжелой цепи Ch14F11
19	CDR ₃ химерной тяжелой цепи Ch14F11
71	Варибельная область IGHV2-5 тяжелой цепи Sh14F11—нуклеиновая кислота
72	Варибельная область IGHV2-5 тяжелой цепи Sh14F11—белок
5	CDR ₁ IGHV2-5 тяжелой цепи Sh14F11
11	CDR ₂ IGHV2-5 тяжелой цепи Sh14F11
19	CDR ₃ IGHV2-5 тяжелой цепи Sh14F11
73	Варибельная область IGHV2-70 тяжелой цепи Sh14F11—нуклеиновая кислота
74	Варибельная область IGHV2-70 тяжелой цепи Sh14F11—белок
5	CDR ₁ IGHV2-70 тяжелой цепи Sh14F11
11	CDR ₂ IGHV2-70 тяжелой цепи Sh14F11
19	CDR ₃ IGHV2-70 тяжелой цепи Sh14F11
133	Варибельная область химерной легкой цепи (каппа) Ch01G06—нуклеиновая кислота
76	Варибельная область химерной легкой цепи (каппа) Ch01G06—белок
21	CDR ₁ химерной легкой цепи (каппа) Ch01G06
26	CDR ₂ химерной легкой цепи (каппа) Ch01G06
32	CDR ₃ химерной легкой цепи (каппа) Ch01G06
89	Варибельная область IGKV1-39 легкой цепи (каппа) Hu01G06—нуклеиновая кислота
90	Варибельная область IGKV1-39 легкой цепи (каппа) Hu01G06—белок
21	CDR ₁ IGKV1-39 легкой цепи (каппа) Hu01G06
26	CDR ₂ IGKV1-39 легкой цепи (каппа) Hu01G06
32	CDR ₃ IGKV1-39 легкой цепи (каппа) Hu01G06
91	Варибельная область IGKV1-39 S43A V48I легкой цепи (каппа) Hu01G06—нуклеиновая кислота
92	Варибельная область IGKV1-39 S43A V48I легкой цепи (каппа) Hu01G06—белок
21	CDR ₁ IGKV1-39 S43A V48I легкой цепи (каппа) Hu01G06
26	CDR ₂ IGKV1-39 S43A V48I легкой цепи (каппа) Hu01G06
32	CDR ₃ IGKV1-39 S43A V48I легкой цепи (каппа) Hu01G06
93	Варибельная область IGKV1-39 V48I легкой цепи (каппа) Hu01G06—нуклеиновая кислота
94	Варибельная область IGKV1-39 V48I легкой цепи (каппа) Hu01G06—белок
21	CDR ₁ IGKV1-39 V48I легкой цепи (каппа) Hu01G06
26	CDR ₂ IGKV1-39 V48I легкой цепи (каппа) Hu01G06
32	CDR ₃ IGKV1-39 V48I легкой цепи (каппа) Hu01G06
SEQ ID NO	Нуклеиновая кислота или белок
91	Варибельная область IGKV1-39 легкой цепи (каппа) Hu01G06 F1—нуклеиновая кислота
92	Варибельная область IGKV1-39 легкой цепи (каппа) Hu01G06 F1—белок
21	CDR ₁ IGKV1-39 легкой цепи (каппа) Hu01G06 F1
26	CDR ₂ IGKV1-39 легкой цепи (каппа) Hu01G06 F1
32	CDR ₃ IGKV1-39 легкой цепи (каппа) Hu01G06 F1
253	Варибельная область IGKV1-39 легкой цепи (каппа) Hu01G06 F2—нуклеиновая кислота
254	Варибельная область IGKV1-39 легкой цепи (каппа) Hu01G06 F2—белок
21	CDR ₁ IGKV1-39 легкой цепи (каппа) Hu01G06 F2
26	CDR ₂ IGKV1-39 легкой цепи (каппа) Hu01G06 F2
244	CDR ₃ IGKV1-39 легкой цепи (каппа) Hu01G06 F2
135	Варибельная область химерной легкой цепи (каппа) Ch06C11—нуклеиновая кислота
82	Варибельная область химерной легкой цепи (каппа) Ch06C11—белок
23	CDR ₁ химерной легкой цепи (каппа) Ch06C11

28	CDR ₂ химерной легкой цепи (каппа) Ch06C11
35	CDR ₃ химерной легкой цепи (каппа) Ch06C11
95	Вариабельная область IGKV1-16 легкой цепи (каппа) Sh06C11—нуклеиновая кислота
96	Вариабельная область IGKV1-16 легкой цепи (каппа) Sh06C11—белок
23	CDR ₁ IGKV1-16 легкой цепи (каппа) Sh06C11
28	CDR ₂ IGKV1-16 легкой цепи (каппа) Sh06C11
35	CDR ₃ IGKV1-16 легкой цепи (каппа) Sh06C11
137	Вариабельная область химерной легкой цепи (каппа) Ch14F11—нуклеиновая кислота
86	Вариабельная область химерной легкой цепи (каппа) Ch14F11—белок
23	CDR ₁ химерной легкой цепи (каппа) Ch14F11
30	CDR ₂ химерной легкой цепи (каппа) Ch14F11
36	CDR ₃ химерной легкой цепи (каппа) Ch14F11
97	Вариабельная область IGKV1-16 легкой цепи (каппа) Hu14F11—нуклеиновая кислота
98	Вариабельная область IGKV1-16 легкой цепи (каппа) Hu14F11—белок
23	CDR ₁ IGKV1-16 легкой цепи (каппа) Hu14F11
30	CDR ₂ IGKV1-16 легкой цепи (каппа) Hu14F11
36	CDR ₃ IGKV1-16 легкой цепи (каппа) Hu14F11

Последовательности CDR тяжелых цепей гуманизированных моноклональных антител (определения согласно Kabat, Chothia и IMGT) показаны в табл. 20.

Таблица 20

Kabat				
	CDR1	CDR2	CDR3	Вариабельная область, SEQ ID NO
Химерная Ch01G06	DYNMD (SEQ ID NO:1)	QINPNNGGIFFNQKFKG (SEQ ID NO:7)	EAITTVGAMDY (SEQ ID NO:15)	40
IGHV1-18 Hu01G06	DYNMD (SEQ ID NO:1)	QINPNNGGIFFNQKFKG (SEQ ID NO:7)	EAITTVGAMDY (SEQ ID NO:15)	54
IGHV1-69 Hu01G06	DYNMD (SEQ ID NO:1)	QINPNNGGIFFNQKFKG (SEQ ID NO:7)	EAITTVGAMDY (SEQ ID NO:15)	56
IGHV1-18 M69L Sh01G06	DYNMD (SEQ ID NO:1)	QINPNNGGIFFNQKFKG (SEQ ID NO:7)	EAITTVGAMDY (SEQ ID NO:15)	58
IGHV1-18 M69L K64Q G44S Sh01G06	DYNMD (SEQ ID NO:1)	QINPNNGGIFFNQKFQG (SEQ ID NO:13)	EAITTVGAMDY (SEQ ID NO:15)	60
IGHV1-18 M69L K64Q Sh01G06	DYNMD (SEQ ID NO:1)	QINPNNGGIFFNQKFQG (SEQ ID NO:13)	EAITTVGAMDY (SEQ ID NO:15)	62
IGHV1-69 T30S I69L Sh01G06	DYNMD (SEQ ID NO:1)	QINPNNGGIFFNQKFKG (SEQ ID NO:7)	EAITTVGAMDY (SEQ ID NO:15)	64
IGHV1-69 T30S K64Q I69L Sh01G06	DYNMD (SEQ ID NO:1)	QINPNNGGIFFNQKFQG (SEQ ID NO:13)	EAITTVGAMDY (SEQ ID NO:15)	66
IGHV1-18 Hu01G06 F1	DYNMD (SEQ ID NO:1)	QINPNHLIFFNQKFQG (SEQ ID NO: 236)	EAITTVGAMDY (SEQ ID NO:15)	246
IGHV1-18 Hu01G06 F2	DYNMD (SEQ ID NO:1)	QINPNGLIFFNQKFQG (SEQ ID NO: 237)	EAITTVGAMDY (SEQ ID NO:15)	248
IGHV1-69 Hu01G06 F1	DYNMD (SEQ ID NO:1)	QINPNGLIFFNQKFKG (SEQ ID NO: 238)	EAITTVGAMDY (SEQ ID NO:15)	250
IGHV1-69 Hu01G06 F2	DYNMD (SEQ ID NO:1)	QINPNHLIFFNQKFKG (SEQ ID NO: 239)	EAITTVGAMDY (SEQ ID NO:15)	252
Химерная Ch06C11	TYGMGVS (SEQ ID NO:4)	HIYWDDDKRYNP SLKS (SEQ ID NO:9)	RGYDDYWG Y (SEQ ID NO:18)	46
IGHV2-70 HE LM 06C11	TYGMGVS (SEQ ID NO:4)	HIYWDDDKRYNP SLKT (SEQ ID NO:14)	RGYDDYWG Y (SEQ ID NO:18)	68
IGHV2-5 Hu06C11	TYGMGVS (SEQ ID NO:4)	HIYWDDDKRYNP SLKS (SEQ ID NO:9)	RGYDDYWG Y (SEQ ID NO:18)	70
Химерная Ch14F11	TYGMGVG (SEQ ID NO:5)	DIWWDDDKYYNP SLKS (SEQ ID NO:11)	RGHYSAMDY (SEQ ID NO:19)	50
IGHV2-5 Sh14F11	TYGMGVG (SEQ ID NO:5)	DIWWDDDKYYNP SLKS (SEQ ID NO:11)	RGHYSAMDY (SEQ ID NO:19)	72
IGHV2-70 Sh14F11	TYGMGVG (SEQ ID NO:5)	DIWWDDDKYYNP SLKS (SEQ ID NO:11)	RGHYSAMDY (SEQ ID NO:19)	74

Chothia				
	CDR1	CDR2	CDR3	Вариабельная область, SEQ ID NO
Химерная Ch01G06	GYTFTDY (SEQ ID NO:38)	NPNNGG (SEQ ID NO:143)	EAITTVGAMDY (SEQ ID NO:15)	40
IGHV1-18 Hu01G06	GYTFTDY (SEQ ID NO:38)	NPNNGG (SEQ ID NO:143)	EAITTVGAMDY (SEQ ID NO:15)	54
IGHV1-69 Hu01G06	GYTFTDY (SEQ ID NO:38)	NPNNGG (SEQ ID NO:143)	EAITTVGAMDY (SEQ ID NO:15)	56
IGHV1-18 M69L Sh01G06	GYTFTDY (SEQ ID NO:38)	NPNNGG (SEQ ID NO:143)	EAITTVGAMDY (SEQ ID NO:15)	58
IGHV1-18 M69L K64Q G44S Sh01G06	GYTFTDY (SEQ ID NO:38)	NPNNGG (SEQ ID NO:143)	EAITTVGAMDY (SEQ ID NO:15)	60
IGHV1-18 M69L K64Q Sh01G06	GYTFTDY (SEQ ID NO:38)	NPNNGG (SEQ ID NO:143)	EAITTVGAMDY (SEQ ID NO:15)	62
IGHV1-69 T30S I69L Sh01G06	GYTFSDY (SEQ ID NO:234)	NPNNGG (SEQ ID NO:143)	EAITTVGAMDY (SEQ ID NO:15)	64
IGHV1-69 T30S K64Q I69L Sh01G06	GYTFSDY (SEQ ID NO:234)	NPNNGG (SEQ ID NO:143)	EAITTVGAMDY (SEQ ID NO:15)	66
IGHV1-18 Hu01G06 F1	GYTFTDY (SEQ ID NO:38)	NPYNHL (SEQ ID NO:240)	EAITTVGAMDY (SEQ ID NO:15)	246
IGHV1-18 Hu01G06 F2	GYTFTDY (SEQ ID NO:38)	NPNNGL (SEQ ID NO:241)	EAITTVGAMDY (SEQ ID NO:15)	248
IGHV1-69 Hu01G06 F1	GYTFSDY (SEQ ID NO:234)	NPNNGL (SEQ ID NO:241)	EAITTVGAMDY (SEQ ID NO:15)	250
IGHV1-69 Hu01G06 F2	GYTFSDY (SEQ ID NO:234)	NPYNHL (SEQ ID NO:240)	EAITTVGAMDY (SEQ ID NO:15)	252
Химерная Ch06C11	GFSLNTYGM (SEQ ID NO:132)	YWDDD (SEQ ID NO:145)	RGYDDYWG (SEQ ID NO:18)	46
IGHV2-70 HE LM 06C11	GFSLNTYGM (SEQ ID NO:132)	YWDDD (SEQ ID NO:145)	RGYDDYWG (SEQ ID NO:18)	68
IGHV2-5 Hu06C11	GFSLNTYGM (SEQ ID NO:132)	YWDDD (SEQ ID NO:145)	RGYDDYWG (SEQ ID NO:18)	70
Химерная Ch14F11	GFSLSTYGM (SEQ ID NO:130)	WWDDD (SEQ ID NO:146)	RGHYSAMDY (SEQ ID NO:19)	50
IGHV2-5 Sh14F11	GFSLSTYGM (SEQ ID NO:130)	WWDDD (SEQ ID NO:146)	RGHYSAMDY (SEQ ID NO:19)	72
IGHV2-70 Sh14F11	GFSLSTYGM (SEQ ID NO:130)	WWDDD (SEQ ID NO:146)	RGHYSAMDY (SEQ ID NO:19)	74

IMGT				
	CDR1	CDR2	CDR3	Вариабельная область, SEQ ID NO
Химерная Ch01G06	GYTFTDYN (SEQ ID NO:136)	INPNNGGI (SEQ ID NO:148)	AREAITTVGAMDY (SEQ ID NO:154)	40
IGHV1-18 Hu01G06	GYTFTDYN (SEQ ID NO:136)	INPNNGGI (SEQ ID NO:148)	AREAITTVGAMDY (SEQ ID NO:154)	54
IGHV1-69 Hu01G06	GYTFTDYN (SEQ ID NO:136)	INPNNGGI (SEQ ID NO:148)	AREAITTVGAMDY (SEQ ID NO:154)	56
IGHV1-18 M69L K64Q G44S Sh01G06	GYTFTDYN (SEQ ID NO:136)	INPNNGGI (SEQ ID NO:148)	AREAITTVGAMDY (SEQ ID NO:154)	58
IGHV1-18 M69L K64Q Sh01G06	GYTFTDYN (SEQ ID NO:136)	INPNNGGI (SEQ ID NO:148)	AREAITTVGAMDY (SEQ ID NO:154)	60
IGHV1-18 M69L K64Q Sh01G06	GYTFTDYN (SEQ ID NO:136)	INPNNGGI (SEQ ID NO:148)	AREAITTVGAMDY (SEQ ID NO:154)	62
IGHV1-69 T30S I69L Sh01G06	GYTFSDYN (SEQ ID NO:235)	INPNNGGI (SEQ ID NO:148)	AREAITTVGAMDY (SEQ ID NO:154)	64
IGHV1-69 T30S K64Q I69L Sh01G06	GYTFSDYN (SEQ ID NO:235)	INPNNGGI (SEQ ID NO:148)	AREAITTVGAMDY (SEQ ID NO:154)	66
IGHV1-18 Hu01G06 F1	GYTFTDYN (SEQ ID NO:136)	INPNHLI (SEQ ID NO:242)	AREAITTVGAMDY (SEQ ID NO:154)	246
IGHV1-18 Hu01G06 F2	GYTFTDYN (SEQ ID NO:136)	INPNGLI (SEQ ID NO:243)	AREAITTVGAMDY (SEQ ID NO:154)	248
IGHV1-69 Hu01G06 F1	GYTFSDYN (SEQ ID NO:235)	INPNGLI (SEQ ID NO:243)	AREAITTVGAMDY (SEQ ID NO:154)	250
IGHV1-69 Hu01G06 F2	GYTFSDYN (SEQ ID NO:235)	INPNHLI (SEQ ID NO:242)	AREAITTVGAMDY (SEQ ID NO:154)	252
Химерная Ch06C11	GFSLNTYGMG (SEQ ID NO:141)	IYWDDDK (SEQ ID NO:150)	AQRGYDDYWG (SEQ ID NO:157)	46
IGHV2-70 HE LM 06C11	GFSLNTYGMG (SEQ ID NO:141)	IYWDDDK (SEQ ID NO:150)	AQRGYDDYWG (SEQ ID NO:157)	68
Hu06C11 IGHV2-5	GFSLNTYGMG (SEQ ID NO:141)	IYWDDDK (SEQ ID NO:150)	AQRGYDDYWG (SEQ ID NO:157)	70
Химерная Ch14F11	GFSLSTYGMG (SEQ ID NO:140)	IWWDDDK (SEQ ID NO:152)	ARRGHYSAMDY (SEQ ID NO:158)	50
IGHV2-5 Sh14F11	GFSLSTYGMG (SEQ ID NO:140)	IWWDDDK (SEQ ID NO:152)	ARRGHYSAMDY (SEQ ID NO:158)	72
IGHV2-70 Sh14F11	GFSLSTYGMG (SEQ ID NO:140)	IWWDDDK (SEQ ID NO:152)	ARRGHYSAMDY (SEQ ID NO:158)	74

Последовательности CDR легких каппа-цепей гуманизированных моноклональных антител (определения согласно Kabat, Chothia и IMGT) показаны в табл. 21.

Таблица 21

Kabat/Chothia				
	CDR1	CDR2	CDR3	Вариабельная область, SEQ ID NO
Химерная Ch01G06	RTSENLHNYLA (SEQ ID NO:21)	DAKTLAD (SEQ ID NO:26)	QHFWSPPYT (SEQ ID NO:32)	76
IGKV1-39 Hu01G06	RTSENLHNYLA (SEQ ID NO:21)	DAKTLAD (SEQ ID NO:26)	QHFWSPPYT (SEQ ID NO:32)	90
IGKV1-39 S43A V48I Hu01G06 (также известная как IGKV1-39 Hu01G06 F1)	RTSENLHNYLA (SEQ ID NO:21)	DAKTLAD (SEQ ID NO:26)	QHFWSPPYT (SEQ ID NO:32)	92
IGKV1-39 V48I Hu01G06	RTSENLHNYLA (SEQ ID NO:21)	DAKTLAD (SEQ ID NO:26)	QHFWSPPYT (SEQ ID NO:32)	94
IGKV1-39 Hu01G06 F1 (также известная как IGKV1-39 S43A V48I Hu01G06)	RTSENLHNYLA (SEQ ID NO:21)	DAKTLAD (SEQ ID NO:26)	QHFWSPPYT (SEQ ID NO:32)	92
IGKV1-39 Hu01G06 F2	RTSENLHNYLA (SEQ ID NO:21)	DAKTLAD (SEQ ID NO:26)	QHFWSPPYT (SEQ ID NO:244)	254
Химерная Ch06C11	KASQNVGTNVA (SEQ ID NO:23)	SASYRYS (SEQ ID NO:28)	QQYNNYPLT (SEQ ID NO:35)	82
IGKV1-16 Sh06C11	KASQNVGTNVA (SEQ ID NO:23)	SASYRYS (SEQ ID NO:28)	QQYNNYPLT (SEQ ID NO:35)	96
Химерная Ch14F11	KASQNVGTNVA (SEQ ID NO:23)	SPSYRYS (SEQ ID NO:30)	QQYNSYPHT (SEQ ID NO:36)	86
IGKV1-16 Hu14F11	KASQNVGTNVA (SEQ ID NO:23)	SPSYRYS (SEQ ID NO:30)	QQYNSYPHT (SEQ ID NO:36)	98
IMGT				
	CDR1	CDR2	CDR3	Вариабельная область, SEQ ID NO
Химерная Ch01G06	ENLHNY (SEQ ID NO:160)	DAK	QHFWSPPYT (SEQ ID NO:32)	76
IGKV1-39 Hu01G06	ENLHNY (SEQ ID NO:160)	DAK	QHFWSPPYT (SEQ ID NO:32)	90
IGKV1-39 S43A V48I Hu01G06 (также известная как IGKV1-39 Hu01G06 F1)	ENLHNY (SEQ ID NO:160)	DAK	QHFWSPPYT (SEQ ID NO:32)	92
IGKV1-39 V48I Hu01G06	ENLHNY (SEQ ID NO:160)	DAK	QHFWSPPYT (SEQ ID NO:32)	94
IGKV1-39 Hu01G06 F1 (также известная как IGKV1-39 S43A V48I Hu01G06)	ENLHNY (SEQ ID NO:160)	DAK	QHFWSPPYT (SEQ ID NO:32)	92
IGKV1-39 Hu01G06 F2	ENLHNY (SEQ ID NO:160)	DAK	QHFWSPPYT (SEQ ID NO:244)	254
Химерная Ch06C11	QNVGTN (SEQ ID NO:162)	SAS	QQYNNYPLT (SEQ ID NO:35)	82
IGKV1-16 Sh06C11	QNVGTN (SEQ ID NO:162)	SAS	QQYNNYPLT (SEQ ID NO:35)	96
Химерная Ch14F11	QNVGTN (SEQ ID NO:162)	SPS	QQYNSYPHT (SEQ ID NO:36)	86
IGKV1-16 Hu14F11	QNVGTN (SEQ ID NO:162)	SPS	QQYNSYPHT (SEQ ID NO:36)	98

Для создания последовательностей полных химерных и гуманизированных тяжелых или каппа-цепей антител каждую вышеуказанную последовательность вариабельной области объединяют с соответствующей ей константной областью от человека. Например, полная тяжелая цепь содержит последовательность вариабельной области тяжелой цепи, после которой расположена последовательность константной области тяжелой цепи IgG1 человека. Полная каппа-цепь содержит последовательность вариабельной области каппа-цепи, после которой расположена последовательность константной области легкой каппа-цепи человека.

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая константную область тяжелой цепи IgG1 человека (SEQ ID NO: 171)

```

1 gcctcaacaa aaggaccaag tgtgttccca ctgccccta gcagcaagag tacatccggg
61 ggcactgcag cactcggctg cctcgtcaag gattattttc cagagccagt aaccgtgagc
121 tggaacagtg gagcactcac ttctgggtgc catacttttc ctgctgtcct gcaaaactct
181 ggcctgtact cactcagctc cgtcgtgacc gtgccatctt catctctggg cactcagacc
241 tacatctgta atgtaaacca caagcctagc aatactaagg tcgataagcg ggtggaaccc
301 aagagctgag acaagactca cacttgctcc ccattgacct cctggcggtg
361 ccagcgtctt ttttgttccc accaaagcct aaagatactc tgatgataag tagaacaccc
421 gaggtgacat gtgtgtgtgt agacgtttcc cagcaggacc cagaggttaa gttcaactgg
481 tacgttgatg gactcgaagt acataatgct aagaccaagc ctgagagagg gcaagtataat
541 agtacatacc gtgtagtcaag tgttctcaca gtgctgcacc aagactggct caacggcaaa
601 gaatacaaat gcaaaagtgc caacaaagca ctcccagccc ctatcgagaa gactattagt
661 aaggcaaaag ggcagcctcg tgaaccacag gtgtacactc tgccaccagg tagagaggaa
721 atgacaaaag accaagtctc attgacctgc ctggtgaaag gcttctaccc cagcgacatc
781 gccgttgagt gggagagtaa cggtcagcct gagaacaatt acaagacaac cccccagtg
841 ctggatagtg acgggtcttt ctttctgtac agtaagctga ctgtggacaa gtcccgtggt
901 cagcagggtg acgtcttcag ctgttccgtg atgcacgagg cattgcacaa ccactacacc
961 cagaagtcac tgagcctgag ccagggaag

```

Последовательность белка, определяющая константную область тяжелой цепи IgG1 человека (SEQ ID NO: 172)

```
1 astkgpsvfp lapsskstsg gtaalgclvk dyfpepvtvs wnsгалtsgv htfpavlqss
61 glyslssvvt vpssslgtqt yicnvnhkps ntkvdkrvep kscdkthtcp pcpapellgg
121 psvflfppkp kdtlmisrtp evtcvvvdvs hedpevkfnw yvdgvevhna ktkpreeqyn
181 styrvvsvlt vlhqdwlngk eyckvsnka lpapiektis kakggprepq vytlppsree
241 mtknqvsltc lvkgfypsdi avewesngqp ennykttppv ldsdgsffly skltvdksrw
301 qqgnvfscsv mhealhnhyt qkslslspgk
```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая константную область легкой каппа-цепи человека (SEQ ID NO: 173)

```
1 cgcacagttg ctgccccag cgtgttcatt ttcccaccta gcgatgagca gctgaaaagc
61 ggtactgcct ctgtcgtatg cttgctcaac aacttttacc cactgagagg taaggtgcag
121 tggaaagtgg ataatgcact tcaatctgga aacagtcaag agtccgtgac agaacaggac
181 agcaaaagact caacttattc actctcttcc accctgactc tgtccaaggc agactatgaa
241 aaacacaagg tatacgctcg cgaggttaca caccagggtt tgtctagtcc tgtcaccaag
301 tccttcaata ggggcgaatg t
```

Последовательность белка, определяющая константную область легкой каппа-цепи человека (SEQ ID NO: 174)

```
1 rtvaapsvfi fppsdeqlks gtasvvclln nfypreakvq wkvdnalqsg nsqesvteqd
61 skdstyslss tltslkadye khkvyacevt hqglsspvtk sfnrgec
```

Следующие последовательности представляют действительные или предполагаемые последовательности тяжелых и легких цепей полной длины (т.е. содержащие последовательности как варибельной, так и константной областей) для каждого антитела, описанного в данном примере. Сигнальные последовательности для надлежащей секреции антител (например, сигнальные последовательности на 5'-конце последовательностей ДНК или аминоконце последовательностей белка) не показаны в последовательностях тяжелых и легких цепей полной длины, раскрытых в данном документе, и не включены в конечный секретируемый белок. Также не показаны стоп-кодона для терминации трансляции, необходимые на 3'-конце последовательностей ДНК. Выбор сигнальной последовательности и/или стоп-кодона для экспрессии раскрытых последовательностей тяжелых цепей и легких цепей иммуноглобулина полной длины находится в пределах компетенции среднего специалиста в данной области. Также предполагается, что последовательности варибельной области можно лигировать с другими последовательностями константной области с получением активных тяжелой и легкой цепей иммуноглобулина полной длины.

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая химерную тяжелую цепь полной длины Ch01G06 (варибельную область тяжелой цепи мыши и константную область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 175)

```
1 gaagtgttgt tgcagcagtc agggccggag ttggtaaaac cgggagcgtc ggtgaaaatc
61 ccgtgcaaag cgtcggggtg tacgtttacg gactataaca tggattgggt gaaacagctg
121 catgggaaat cgcttgaatg gattggtcag atcaatccga ataattggag aatcttcttt
181 aatcagaagt ttaaaggaaa agcagcgtt acagtcgata agtcgtcgaa cacggcgctc
241 atggaagtac ggtcgcttac gtcggaagat acggcggtct attactgtgc gagggaggcg
301 attacgacgg tgggagcgat ggactattgg ggacaaggga cgtcggtcac ggtatcgctg
361 gccacaaca aaggaccaag tgtgttccca ctgcgcccta gcagcaagag tacatccggg
421 ggcactgcag cactcggctg cctcgtcaag gattattttc cagagccagt aaccgtgagc
481 tggaaacagt gagcactcac ttctggtgtc catacttttc ctgctgtcct gcaaagctct
541 ggctgtact cactcagctc cgtcgtgacc gtgccatctt catctctggg cactcagacc
601 tacatctgta atgtaaacca caagcctagc aataactaagg tcgataaagg ggtggaacc
661 aagagctgcg acaagactca cacttgtccc ccatgccctg cccctgaact tctgggcggt
721 ccagcgtct ttttgttccc accaaagcct aaagatactc tgatgataag tagaacacc
781 gaggtgacat gtgttgttgt agacgtttcc cagcaggacc cagaggttaa gttcaactgg
841 tacgttgatg gagtcgaagt acataatgct aagaccaagc ctagagagga gcagataat
901 agtacatacc gtgtagtcag tgttctcaca gtgctgcacc aagactggct caacggcaaa
961 gaatacaaat gcaaagtgtc caacaaagca ctcccagccc ctatcgagaa gactattagt
1021 aaggcaagg ggcagcctcg tgaaccacag gtgtacactc tgccaccag tagagaggaa
1081 atgacaaaga accaagtctc attgacctgc ctgggtgaaag gcttctaccc cagcgacatc
1141 gccgttgagt gggagagtaa cggtcagcct gagaacaatt acaagacaac cccccagtg
1201 ctggatagtg acgggtcttt ctttctgtac agtaagctga ctgtggacaa gtcccgtg
1261 cagcagggtg acgtcttcag ctgttccgtg atgcacgagg cattgcacaa ccactacacc
1321 cagaagtcac tgagcctgag cccaggggaa
```

Последовательность белка, определяющая химерную тяжелую цепь полной длины Ch01G06 (варибельную область тяжелой цепи мыши и константную область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 176)

```
1 evllqqsgpe lvkpgasvki pckasgytft dynmdwvkqs hgkslewigq inpnnggiff
61 nqkfkgkatl tvdkssntaf mevrsltse tavyycarea ittvgamdyw gggtsvtvss
121 astkgpsvfp lapsskstsg gtaalgclvk dyfpepvtvs wnsгалtsgv htfpavlqss
181 glyslssvvt vpssslgtqt yicnvnhkps ntkvdkrvep kscdkthtcp pcpapellgg
241 psvflfppkp kdtlmisrtp evtcvvvdvs hedpevkfnw yvdgvevhna ktkpreeqyn
301 styrvvsvlt vlhqdwlngk eyckvsnka lpapiektis kakggprepq vytlppsree
361 mtknqvsltc lvkgfypsdi avewesngqp ennykttppv ldsdgsffly skltvdksrw
421 qqgnvfscsv mhealhnhyt qkslslspgk
```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая тяжелую цепь полной длины Hu01G06 с

IGHV1-18 (гуманизированную переменную область тяжелой цепи и константную область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 177)

```

1 caagtgcac ttgtgcagtc ggtgctggaa gtcaaaaagc cgggagcgtc ggtgaaagta
61 tcgtgtaaa cgtcgggata tacgtttacg gactataaca tggactgggt acgacaggca
121 ccggggaaat cgttggatg gatcgacagc attaatccga acaatggggg aattttcttt
181 aatcagaaat tcaaaaggac ggcgacgttg acggtcgata catcgacgaa tacggcgat
241 atggaattga ggtcgcttcg ctgcgacgat acggcggtct attactgccc caggaggcgc
301 atcacgacgg tagggcgat ggattattgg ggacagggga cgcttgtagc ggtatcgctc
361 gcctcaacaa aaggaccaag tgtgttccca ctgcccccta gcagcaagag tacatccggg
421 ggcaactgcag cactcggctg cctcgtaag gattattttc cagagccagt aaccgtgagc
481 tggacagtg gagcaactac ttctggtgtc cactattttc ctgctgtcct gcaagctctc
541 ggctgtact cactcagctc cgtcgtgacc gtgccatctt catctctggg cactcagacc
601 tacatctgta atgtaaacca caagcctagc aataactaag tcgataagcg ggtggaaccc
661 aagagctgag acaagactca cacttgtccc ccatgccctg cccctgaact tctggcggt
721 cccagcgtct tttgttccc accaaagcct aaagatactc tgatgataag tagaacaccc
781 gaggtgacat gtgtgttgt agacgtttcc cagcaggacc cagaggttaa gttcaactgg
841 tacgttgatg gagtcgaagt acataatgct aagaccaagc ctagagagga gcagtataat
901 agtacatacc gtgtagtcag tgttctcaca gtgctgcacc aagactggct caacggcaaa
961 gaatacaaat gcaaaagtgc caacaaagca ctcccagccc ctatcgagaa gactattagt
1021 aaggcaaaag gcagcctcg tgaaccacag gtgtacactc tgccaccagc tagagaggaa
1081 atgacaaaga accaagtctc attgacctgc ctggtgaaag gcttctaccc cagcgacatc
1141 gccgttgagt gggagagtaa cgtcagcctc gagaacaatt acaagacaac cccccagtg
1201 ctgtagatg acgggtcttt ctttctgtac agtaagctga ctgtggacaa gtcccgtgg
1261 cagcagggtg acgtcttcag ctgttccgtg atgcacgagg cattgcacaa ccactacacc
1321 cagaagtcac tgagcctgag cccagggaag

```

Последовательность белка, определяющая тяжелую цепь полной длины Hu01G06 с IGHV1-18 (гуманизированную переменную область тяжелой цепи и константную область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 178)

```

1 qvqlvqsgae vkkpgasvkv sckasgytft dynmdwvrqa pgkslewigq inpnnggiff
61 nqkfkgratl tvdtstntay melrslrdd tavyycaarea ittvgamdyw gqgtlvtvss
121 astkgpsvfp lapsskstsg gtaalgclvk dyfpepvtvs wnsгалтsgv htfpavlqss
181 glyslssvvt vpssslgtqt yicnvnhkps ntkvdkrvep kscdkthtcp pcpapellgg
241 psvflfppkp kdtlmisrtp evtcvvvdvs hedpevkfnw yvdgvevhna ktkpreeqyn
301 styrvvsvlt vlhqdwlngk eyckvsnka lpapiektis kakgqprepq vytlppsree
361 mtknqvsltc lvkgfypsdi avewesngqp ennykttppv ldsdgsffly skltvdksrw
421 qqgnvfscsv mhealhnhyt qkslspsgk

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая тяжелую цепь полной длины Hu01G06 с IGHV1-69 (гуманизированную переменную область тяжелой цепи и константную область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 179)

```

1 caagtccagc ttgtccagtc gggagcggaa gtgaagaaac cggggtcgtc ggtcaaagta
61 tcgtgtaaa cgtcgggata tacgtttacg gactataaca tggattgggt acgacaggct
121 ccggggaaat catttggaatg gattggacag attaatccga acaatggggg tatcttcttt
181 aatcaaaagt ttaaaaggag ggcgacgttg acggtggaca aatcgacaaa tacggcgat
241 atggaattgt cgtcgcttcg gtcggaggac acggcggtgt attactgccc caggaggcgc
301 atcacgacgg tcggggcgat ggattattgg ggacagggaa cgcttgtagc ggtatcgctc
361 gcctcaacaa aaggaccaag tgtgttccca ctgcccccta gcagcaagag tacatccggg
421 ggcaactgcag cactcggctg cctcgtaag gattattttc cagagccagt aaccgtgagc
481 tggacagtg gagcaactac ttctggtgtc cactattttc ctgctgtcct gcaagctctc
541 ggctgtact cactcagctc cgtcgtgacc gtgccatctt catctctggg cactcagacc
601 tacatctgta atgtaaacca caagcctagc aataactaag tcgataagcg ggtggaaccc
661 aagagctgag acaagactca cacttgtccc ccatgccctg cccctgaact tctggcggt
721 cccagcgtct tttgttccc accaaagcct aaagatactc tgatgataag tagaacaccc
781 gaggtgacat gtgtgttgt agacgtttcc cagcaggacc cagaggttaa gttcaactgg
841 tacgttgatg gagtcgaagt acataatgct aagaccaagc ctagagagga gcagtataat
901 agtacatacc gtgtagtcag tgttctcaca gtgctgcacc aagactggct caacggcaaa
961 gaatacaaat gcaaaagtgc caacaaagca ctcccagccc ctatcgagaa gactattagt
1021 aaggcaaaag gcagcctcg tgaaccacag gtgtacactc tgccaccagc tagagaggaa
1081 atgacaaaga accaagtctc attgacctgc ctggtgaaag gcttctaccc cagcgacatc
1141 gccgttgagt gggagagtaa cgtcagcctc gagaacaatt acaagacaac cccccagtg
1201 ctgtagatg acgggtcttt ctttctgtac agtaagctga ctgtggacaa gtcccgtgg
1261 cagcagggtg acgtcttcag ctgttccgtg atgcacgagg cattgcacaa ccactacacc
1321 cagaagtcac tgagcctgag cccagggaag

```

Последовательность белка, определяющая тяжелую цепь полной длины Hu01G06 с IGHV1-69 (гуманизированную переменную область тяжелой цепи и константную область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 180)

```

1 qvqlvqsgae vkkpgssvkv sckasgytft dynmdwvrqa pgkslewigq inpnnggiff
61 nqkfkgratl tvdkstntay melsslrdd tavyycaarea ittvgamdyw gqgtlvtvss
121 astkgpsvfp lapsskstsg gtaalgclvk dyfpepvtvs wnsгалтsgv htfpavlqss
181 glyslssvvt vpssslgtqt yicnvnhkps ntkvdkrvep kscdkthtcp pcpapellgg
241 psvflfppkp kdtlmisrtp evtcvvvdvs hedpevkfnw yvdgvevhna ktkpreeqyn
301 styrvvsvlt vlhqdwlngk eyckvsnka lpapiektis kakgqprepq vytlppsree
361 mtknqvsltc lvkgfypsdi avewesngqp ennykttppv ldsdgsffly skltvdksrw
421 qqgnvfscsv mhealhnhyt qkslspsgk

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая тяжелую цепь полной длины Sh01G06 с IGHV1-18 M69L (гуманизированную переменную область тяжелой цепи и константную область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 181)

```

1 caggtccagc ttgtgcaatc gggagcggaa gtgaagaaac cgggagcgtc ggtaaaagtc
61 tcgtgcaaag cgtcggggta tacgtttacg gactataaca tggactgggt gcgccaagcg
121 cctggacagg gtcttgaatg gatggggcag attaatccga ataatggagg gatcttcttt
181 aatcagaaat tcaaagggaag ggtaacgctg acgacagaca cgtcaacatc gacggcctat
241 atggaattgc ggtcgttgcg atcagatgat acggcggtct actattgtgc gagggagcgg
301 attacgacgg tgggagcgat ggattattgg ggacagggga cgttggtaac ggtatcgtcg
361 gcctcaacaa aaggaccaag tgtgttccca ctgcgcccta gcagcaagag tacatccggg
421 ggcaactgcag cactcggctg cctcgtcaag gattattttc cagagccagt aaccgtgagc
481 tggaaacagt gagcactcac ttctgggtgc catacttttc ctgctgtcct gcaaaagctct
541 ggctgtact cactcagctc cgtcgtgacc gtgccatctt catctctggg cactcagacc
601 tacatctgta atgtaaacca caagcctagc aataactaagg tcgataagcg ggtggaaccc
661 aagagctgcg acaagactca cacttgctcc ccatgccctg cccctgaact tctgggctgt
721 ccagcgtctt ttttgttccc accaaagcct aaagatactc tgatgataag tagaacaccc

781 gaggtgacat gtgttggtgt agacgtttcc cagcaggacc cagaggttaa gttcaactgg
841 tacgttgatg gagtcgaagt acataatgct aagaccaagc ctagagagga gcagataaat
901 agtacatacc gtgtagtcag tgttctcaca gtgctgcacc aagactggct caacggcaaa
961 gaatacaaat gcaaaagtgt caacaaagca ctcccagccc ctatcgagaa gactattagt
1021 aaggcaaaag ggcagcctcg tgaaccacag gtgtacactc tgccacccag tagagaggaa
1081 atgacaaaaga accaagtctc attgacctgc ctggtgaaa gcttctaccc cagcgacatc
1141 gccgttgagt gggagagtaa cggtcagcct gagaacaatt acaagacaac cccccagtg
1201 ctggatagtg acgggtcttt ctttctgtac agtaagctga ctgtggacaa gtcccgcctg
1261 cagcagggta acgtcttcag ctgttccgtg atgcacgagg cattgcacaa ccactacacc
1321 cagaagtcac tgagcctgag cccagggaag

```

Последовательность белка, определяющая тяжелую цепь полной длины Sh01G06 с IGHV1-18 M69L (гуманизированную переменную область тяжелой цепи и константную область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 182)

```

1 qvqlvqsgae vkkpgasvkv sckasgytft dynmdwvrqa pggglewmqg inpnnggiff
61 nqkfkgrvlt ttdtststay melrslrsdd tavvyccarea ittvgamdyw gqgtlvtvss
121 astkgpsvfp lapsskstsg gtaalgclvk dyfpepvtvs wnsгалтsgv htfpavlqss
181 glyslssvvt vpssslgtqt yicnvnhkps ntkvdkrvep kscdkthtcp pcpapellgg
241 psvflfppkp kdtlmisrtp evtcvvvdvs hedpevkfnw yvdgvevhna ktkpreeqyn
301 styrvsvlt vlhqdwlngk eyckvsnka lpapiektis kakggprep qvylppsrree
361 mtknqvsltc lvkgfypsdi avewesngqp ennykttppv ldsdgsffly skltvdksrw
421 qqgnvfscsv mhealhnhyt qkslspspgk

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая тяжелую цепь полной длины Sh01G06 с IGHV1-18 M69L K64Q G44S (гуманизированную переменную область тяжелой цепи и константную область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 183)

```

1 caggtccagc ttgtgcaatc gggagcggaa gtgaagaaac cgggagcgtc ggtaaaagtc
61 tcgtgcaaag cgtcggggta tacgtttacg gactataaca tggactgggt gcgccaagcg
121 cctggacaga gccttgaatg gatggggcag attaatccga ataatggagg gatcttcttt
181 aatcagaaat tccagggaag ggtaacgctg acgacagaca cgtcaacatc gacggcctat
241 atggaattgc ggtcgttgcg atcagatgat acggcggtct actattgtgc gagggagcgg
301 attacgacgg tgggagcgat ggattattgg ggacagggga cgttggtaac ggtatcgtcg
361 gcctcaacaa aaggaccaag tgtgttccca ctgcgcccta gcagcaagag tacatccggg
421 ggcaactgcag cactcggctg cctcgtcaag gattattttc cagagccagt aaccgtgagc
481 tggaaacagt gagcactcac ttctgggtgc catacttttc ctgctgtcct gcaaaagctct
541 ggctgtact cactcagctc cgtcgtgacc gtgccatctt catctctggg cactcagacc
601 tacatctgta atgtaaacca caagcctagc aataactaagg tcgataagcg ggtggaaccc
661 aagagctgcg acaagactca cacttgctcc ccatgccctg cccctgaact tctgggctgt
721 ccagcgtctt ttttgttccc accaaagcct aaagatactc tgatgataag tagaacaccc
781 gaggtgacat gtgttggtgt agacgtttcc cagcaggacc cagaggttaa gttcaactgg
841 tacgttgatg gagtcgaagt acataatgct aagaccaagc ctagagagga gcagataaat
901 agtacatacc gtgtagtcag tgttctcaca gtgctgcacc aagactggct caacggcaaa
961 gaatacaaat gcaaaagtgt caacaaagca ctcccagccc ctatcgagaa gactattagt
1021 aaggcaaaag ggcagcctcg tgaaccacag gtgtacactc tgccacccag tagagaggaa
1081 atgacaaaaga accaagtctc attgacctgc ctggtgaaa gcttctaccc cagcgacatc
1141 gccgttgagt gggagagtaa cggtcagcct gagaacaatt acaagacaac cccccagtg
1201 ctggatagtg acgggtcttt ctttctgtac agtaagctga ctgtggacaa gtcccgcctg
1261 cagcagggta acgtcttcag ctgttccgtg atgcacgagg cattgcacaa ccactacacc
1321 cagaagtcac tgagcctgag cccagggaag

```

Последовательность белка, определяющая тяжелую цепь полной длины Sh01G06 с IGHV1-18 M69L K64Q G44S (гуманизированную переменную область тяжелой цепи и константную область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 184)

```

1 qvqlvqsgae vkkpgasvkv sckasgytft dynmdwvrqa pggglewmqg inpnnggiff
61 nqkfkgrvlt ttdtststay melrslrsdd tavvyccarea ittvgamdyw gqgtlvtvss
121 astkgpsvfp lapsskstsg gtaalgclvk dyfpepvtvs wnsгалтsgv htfpavlqss
181 glyslssvvt vpssslgtqt yicnvnhkps ntkvdkrvep kscdkthtcp pcpapellgg
241 psvflfppkp kdtlmisrtp evtcvvvdvs hedpevkfnw yvdgvevhna ktkpreeqyn
301 styrvsvlt vlhqdwlngk eyckvsnka lpapiektis kakggprep qvylppsrree
361 mtknqvsltc lvkgfypsdi avewesngqp ennykttppv ldsdgsffly skltvdksrw
421 qqgnvfscsv mhealhnhyt qkslspspgk

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая тяжелую цепь полной длины Sh01G06 с IGHV1-18 M69L K64Q (гуманизированную переменную область тяжелой цепи и константную область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 185)

```

1 caggtccagc ttgtgcaatc gggagcggaa gtgaagaaac cgggagcgtc ggtaaaagtc
61 tcgtgcaaaag cgtcggggta tacgtttacg gactataaca tggactgggt gcgccaagcg
121 cctggacagg gtcttgaatg gatggggcag attaatccga ataattggag gatcttcttt
181 aatcagaaat tccagggaag ggtaacgctg acgacagaca cgtcaacatc gacggcctat
241 atggaattgc ggtcgttgcg atcagatgat acggcggctc actattgtgc gagggaggcg
301 attacgacgg tgggagcgat ggattattgg ggacagggga cgttggtaac ggatcgtcg
361 gcctcaacaa aaggaccaag tgtgttccca ctgccccta gcagcaagag tacatccggg
421 ggactgcag cactcggctg cctcgtcaag gattattttc cagagccagt aacctgtagc
481 tggaacagtg gagcactcac ttctgggtgc cactactttc ctgctgtcct gcaaagctct
541 ggctgtact cactcagctc cgtcgtgacc gtgccatctt catctctggg cactcagacc
601 tacatctgta atgtaaacca caagcctagc aataactaag tcgataagcg ggtggaaccc
661 aagagctgcg acaagactca cacttgtccc ccatgcccctg cccctgaact tctgggcggt
721 cccagcgtct ttttgttccc accaaagcct aaagatactc tgatgataag tagaacaccc
781 gaggtgacat gtgttgttgt agacgtttcc cagcaggacc cagagggttaa gttcaactgg
841 tacgttgatg gagtcgaagt acataatgct aagaccaagc ctagagagga gcagtataat
901 agtacatacc gtgtagtcag tgttctcaca gtgctgcacc aagactggct caacggcaaa
961 gaatacaaat gcaaagtgtc caacaaagca ctcccagccc ctatcgagaa gactattagt
1021 aaggcaaaag ggagcctcgc tgaaccacag gtgtacactc tgccaccagc tagagaggaa
1081 atgacaaaga accaagtctc attgacctgc ctggtgaaag gcttctaccc cagcgacatc
1141 gccgttgagt gggagagtaa cggtcagcct gagaacaatt acaagacaac cccccagtg
1201 ctggatagtg acgggtcttt ctttctgtac agtaagctga ctgtggacaa gtcccgcgtg
1261 cagcagggta acgtcttcag ctgttccgtg atgcacgagg cattgcacaa ccactacacc
1321 cagaagtcac tgagcctgag cccagggaag

```

Последовательность белка, определяющая тяжелую цепь полной длины Sh01G06 с IGHV1-18 M69L K64Q (гуманизированную переменную область тяжелой цепи и константную область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 186)

```

1 qvqlvqsgae vkkpgasvkv sckasgytft dynmdwvrqa pgqglewmqg inpnnggiff
61 nqkfggrvlt tdtstststay melrslrdd tavyycaarea ittvgamdyw gqgtlvtvss
121 astkgpsvfp lapsskstsg gtaalgclvk dyfpepvtvs wnsгалтsgv htfpavlgss
181 glyslssvvt vpssslgtgt yicnvnhkps ntkvdkrvep kscdkthtcp pcpapellgg
241 psvflfppkp kdtlmisrtp evtcvvvdvs hedpevkfnw yvdgvevhna ktkpreeqyn
301 styrvsvlt vlhqdwlngk eykckvsnka lpapiektis kakgqprep qvlylpsree
361 mtknqvsltc lvkgfypsdi avewesngqp ennykttppv ldsdgsffly skltvdkswr
421 qqgnvfscsv mhealhnhyt qkslslspgk

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая тяжелую цепь полной длины Sh01G06 с IGHV1-69 T30S I69L (гуманизированную переменную область тяжелой цепи и константную область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 187)

```

1 caagtacagc ttgtacagtc gggagcggaa gtcaagaaac cgggatcgtc ggtcaaagtg
61 tcgtgtaaaag cgtcgggata tacgttttagc gactataaca tggattgggt gcgccaagcg
121 cctgggacagg gacttggaatg gatgggctcag atcaatccga ataattgggg aatcttcttc
181 aatcagaagt ttaaaggag ggtaacgctg acggcgggata aaagcacgct aacggcgtat
241 atggagttgt cgtcgttgcg gtcggaggac acggcggctc attactgcgc gagggaaagcg
301 attacgacgg tgggagcgat ggattattgg gggcaggga cgttgtaac ggtgtcatcg
361 gcctcaacaa aaggaccaag tgtgttccca ctgccccta gcagcaagag tacatccggg
421 ggactgcag cactcggctg cctcgtcaag gattattttc cagagccagt aacctgtagc
481 tggaacagtg gagcactcac ttctgggtgc cactactttc ctgctgtcct gcaaagctct
541 ggctgtact cactcagctc cgtcgtgacc gtgccatctt catctctggg cactcagacc
601 tacatctgta atgtaaacca caagcctagc aataactaag tcgataagcg ggtggaaccc
661 aagagctgcg acaagactca cacttgtccc ccatgcccctg cccctgaact tctgggcggt
721 cccagcgtct ttttgttccc accaaagcct aaagatactc tgatgataag tagaacaccc
781 gaggtgacat gtgttgttgt agacgtttcc cagcaggacc cagagggttaa gttcaactgg
841 tacgttgatg gagtcgaagt acataatgct aagaccaagc ctagagagga gcagtataat
901 agtacatacc gtgtagtcag tgttctcaca gtgctgcacc aagactggct caacggcaaa
961 gaatacaaat gcaaagtgtc caacaaagca ctcccagccc ctatcgagaa gactattagt
1021 aaggcaaaag ggagcctcgc tgaaccacag gtgtacactc tgccaccagc tagagaggaa
1081 atgacaaaga accaagtctc attgacctgc ctggtgaaag gcttctaccc cagcgacatc
1141 gccgttgagt gggagagtaa cggtcagcct gagaacaatt acaagacaac cccccagtg
1201 ctggatagtg acgggtcttt ctttctgtac agtaagctga ctgtggacaa gtcccgcgtg
1261 cagcagggta acgtcttcag ctgttccgtg atgcacgagg cattgcacaa ccactacacc
1321 cagaagtcac tgagcctgag cccagggaag

```

Последовательность белка, определяющая тяжелую цепь полной длины Sh01G06 с IGHV1-69 T30S I69L (гуманизированную переменную область тяжелой цепи и константную область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 188)

```

1 qvqlvqsgae vkkpgssvkv sckasgytfs dynmdwvrqa pgqglewmqg inpnnggiff
61 nqkfggrvlt tadkstststay melsslrdd tavyycaarea ittvgamdyw gqgtlvtvss
121 astkgpsvfp lapsskstsg gtaalgclvk dyfpepvtvs wnsгалтsgv htfpavlgss
181 glyslssvvt vpssslgtgt yicnvnhkps ntkvdkrvep kscdkthtcp pcpapellgg
241 psvflfppkp kdtlmisrtp evtcvvvdvs hedpevkfnw yvdgvevhna ktkpreeqyn
301 styrvsvlt vlhqdwlngk eykckvsnka lpapiektis kakgqprep qvlylpsree
361 mtknqvsltc lvkgfypsdi avewesngqp ennykttppv ldsdgsffly skltvdkswr
421 qqgnvfscsv mhealhnhyt qkslslspgk

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая тяжелую цепь полной длины Sh01G06 с IGHV1-69 T30S K64Q I69L (гуманизированную переменную область тяжелой цепи и константную область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 189)

```

1 caagtacagc ttgtacagtc gggagcggaa gtcaagaaac cgggacgctc ggtcaaagtg
61 tcgtgtaaaag cgtcggggata tacgttttagc gactataaca tggattgggt ggcacaagcg
121 cctgggcagg gacttgaatg gatgggtcag atcaatccga ataattgggg aatctttttc
181 aatcagaagt ttccagggag ggtaacgctg acggcgggata aaagcacgctc aacggcgctat
241 atggagttgt cgtcgttgctg gtcggaggac acggcgggtct attactgcgc gagggaaagcg
301 attacgacgg tgggagcgat ggattattgg gggcagggaa cgcttgtaac ggtgtcatcg
361 gcctcaacaa aaggaccaag tgtgttccca ctgcgcccta gcagcaagag tacatccggg
421 ggcactgcag cactcggctg cctcgtcaag gattattttc cagagccagt aaccgtgagc
481 tggaacagtg gagcactcac ttctggtgtc cactactttc ctgctgtcct gcaaaagctct
541 ggcctgtact cactcagctc cgtcgtgacc gtgccatctt catctctggg cactcagacc
601 tacatctgta atgtaaacca caagcctagc aataactaag tcgataagcg ggtggaaccc
661 aagagctgag acaagactca cacttgctcc ccatgcctg cccctgaact tctgggcggt
721 cccagcgtct ttttgttccc accaaagcct aaagatactc tgatgataag tagaacaccc
781 gaggtgacat gtgttgttgt agacgtttcc cagcaggacc cagaggttaa gttcaactgg
841 tacgttgatg gagtcgaagt acataatgct aagaccaagc ctagagagga gcagtataat
901 agtacatacc gtgtagtcag tgttctcaca gtgctgcacc aagactggct caacggcaaa
961 gaatacaaat gcaaaagtgc caacaaagca ctcccagccc ctatcgagaa gactattagt
1021 aaggcaaaag ggcagcctcg tgaaccacag gtgtacactc tgccaccag tagagaggaa
1081 atgacaaaaga accaagtctc attgacctgc ctggtgaaag gcttctaccc cagcgacatc
1141 gccgttgagt gggagagtaa cggtcagcct gagaacaatt acaagacaac cccccagtg
1201 ctggatagtg acgggtcttt ctttctgtac agtaagctga ctgtggacaa gtcccgtctg
1261 cagcagggta acgtcttcag ctgttccgtg atgcacgagg cattgcacaa ccactacacc
1321 cagaagtcac tgagcctgag cccagggaaag

```

Последовательность белка, определяющая тяжелую цепь полной длины Sh01G06 с IGHV1-69 T30S K64Q I69L (гуманизированную варибельную область тяжелой цепи и константную область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 190)

```

1 qvqlvqsgae vkkpgssvkv sckasgytfs dynmdwvrqa pggglewmqg inpnnggiff
61 nqkfqgrvtl tadkststay melsslr sed tavyycarea ittvgamdyw gggtlvtvss
121 astkgpsvfp lapsskstsg gtaalgclvk dyfpepvtvs wnsгалтsgv htfpavlqss
181 glyslssvvt vpssslgtgt yicnvnhkps ntkvdkrvep kscdkthtcp pcpapellgg
241 psvflfppkp kdtlmsirtp evtcvvvdvs hedpevkfnw yvdgvevhna ktkpreeqyn
301 styrvsvlt vlhqdwlngk eykckvsnka lpapiektis kaggqprepq vytlppsree
361 mtknqvsltc lvkgfypsdi avewesngqp ennykttppv ldsdgsffly skltvdksrw
421 qggnvfscsv mhealhnhyt qkslsispqk

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая тяжелую цепь полной длины Nu01G06 F1 с IGHV1-18 (гуманизированную варибельную область тяжелой цепи и константную область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 255)

```

1 caggctccagc ttgtgcaatc gggagcggaa gtgaagaaac cgggagcgtc ggtaaaagtc
61 tcgtgcaaaag cgtcggggata tacgttttagc gactataaca tggactgggt ggcacaagcg
121 cctggacaga gccttgaatg gatggggcag attaatccgt acaatcacct gatcttcttt
181 aatcagaaat tccagggag ggtaacgctg acgacagaca cgtcaacatc gacggcctat
241 atggaattgc ggtcgttgctg atcagatgat acggcgggtct actattgtgc gagggaggcg
301 attacgacgg tgggagcgat ggattattgg ggacagggga cgttggttaac ggtatcgctg
361 gcctcaacaa aaggaccaag tgtgttccca ctgcgcccta gcagcaagag tacatccggg
421 ggcactgcag cactcggctg cctcgtcaag gattattttc cagagccagt aaccgtgagc
481 tggaacagtg gagcactcac ttctggtgtc cactactttc ctgctgtcct gcaaaagctct
541 ggcctgtact cactcagctc cgtcgtgacc gtgccatctt catctctggg cactcagacc
601 tacatctgta atgtaaacca caagcctagc aataactaag tcgataagcg ggtggaaccc
661 aagagctgag acaagactca cacttgctcc ccatgcctg cccctgaact tctgggcggt
721 cccagcgtct ttttgttccc accaaagcct aaagatactc tgatgataag tagaacaccc
781 gaggtgacat gtgttgttgt agacgtttcc cagcaggacc cagaggttaa gttcaactgg
841 tacgttgatg gagtcgaagt acataatgct aagaccaagc ctagagagga gcagtataat
901 agtacatacc gtgtagtcag tgttctcaca gtgctgcacc aagactggct caacggcaaa
961 gaatacaaat gcaaaagtgc caacaaagca ctcccagccc ctatcgagaa gactattagt
1021 aaggcaaaag ggcagcctcg tgaaccacag gtgtacactc tgccaccag tagagaggaa
1081 atgacaaaaga accaagtctc attgacctgc ctggtgaaag gcttctaccc cagcgacatc
1141 gccgttgagt gggagagtaa cggtcagcct gagaacaatt acaagacaac cccccagtg
1201 ctggatagtg acgggtcttt ctttctgtac agtaagctga ctgtggacaa gtcccgtctg
1261 cagcagggta acgtcttcag ctgttccgtg atgcacgagg cattgcacaa ccactacacc
1321 cagaagtcac tgagcctgag cccagggaaag

```

Последовательность белка, определяющая тяжелую цепь полной длины Nu01G06 F1 с IGHV1-18 (гуманизированную варибельную область тяжелой цепи и константную область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 256)

```

1 qvqlvqsgae vkkpgasvkv sckasgytft dynmdwvrqa pggslwmgq inpnynhliff
61 nqkfqgrvtl ttdtststay melrslr sed tavyycarea ittvgamdyw gggtlvtvss
121 astkgpsvfp lapsskstsg gtaalgclvk dyfpepvtvs wnsгалтsgv htfpavlqss
181 glyslssvvt vpssslgtgt yicnvnhkps ntkvdkrvep kscdkthtcp pcpapellgg
241 psvflfppkp kdtlmsirtp evtcvvvdvs hedpevkfnw yvdgvevhna ktkpreeqyn
301 styrvsvlt vlhqdwlngk eykckvsnka lpapiektis kaggqprepq vytlppsree
361 mtknqvsltc lvkgfypsdi avewesngqp ennykttppv ldsdgsffly skltvdksrw
421 qggnvfscsv mhealhnhyt qkslsispqk

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая тяжелую цепь полной длины Nu01G06 F2 с IGHV1-18 (гуманизированную варибельную область тяжелой цепи и константную область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 257)

```

1  caggtccagc ttgtgcaatc gggagcggaa gtgaagaaac cgggagcgtc ggtaaaagtc
61  tcgtgcaaaag cgtcggggta tacgtttacg gactataaca tggactgggt gcgccaagcg
121 cctggacaga gccttgaatg gatggggcag attaatccga ataatggact gatctctttt
181 aatcagaaat tccagggaag ggtaacgctg acgacagaca cgtcaacatc gacggcctat
241 atggaattgc ggtcgttgcg atcagatgat acggcgggtc actattgtgc gagggaggcg
301 attacgacgg tgggagcgat ggattattgg ggacagggga cgttggtaac ggtatcgctg
361 gcctcaacaa aaggaccaag tgtgttccca ctgcgcccta gcagcaagag tacatccggg
421 ggcaactgcag cactcggctg cctcgtcaag gattattttc cagagccagt aaccgtgagc
481 tggaaacagt gagcactcac ttctggtgtc catacttttc ctgctgtcct gcaaaagctct
541 ggccgtgtact cactcagctc cgtcgtgacc gtgccatctt catctctggg cactcagacc
601 tacatctgta atgtaaacca caagcctagc aatactaagg tcgataagcg ggtggaaccc
661 aagagctgcg acaagactca cacttgtccc ccatgccctg cccctgaact tctgggcggg
721 cccagcgtct ttttgttccc accaaagcct aaagatactc tgatgataag tagaacaccc
781 gaggtgacat gtgttgttgt agacgtttcc cagcaggacc cagaggttaa gttcaactgg
841 tacgttgatg gagtcgaagt acataatgct aagaccaagc ctagagagga gcagtataat
901 agtacatacc gtgtagtcag tgttctcaca gtgctgcacc aagactggct caacggcaaa
961 gaatacaaat gcaaagtgtc caacaaagca ctcccagccc ctatcgagaa gactattagt
1021 aaggcaaaag ggcagcctcg tgaaccacag gtgtacactc tgccacccag tagagaggaa
1081 atgacaaaga accaagtctc attgacctgc ctggtgaaag gcttctaccc cagcgacatc
1141 gccgttgagt gggagagtaa cggtcagcct gagaacaatt acaagacaa cccccagtg
1201 ctggatagtg acgggtcttt ctttctgtac agtaagctga ctgtggacaa gtcccgtgg
1261 cagcagggta acgtcttcag ctgttccgtg atgcacgagg cattgcacaa ccactacacc
1321 cagaagtcac tgagcctgag cccagggaag

```

Последовательность белка, определяющая тяжелую цепь полной длины Nu01G06 F2 с IGHV1-18 (гуманизированную вариательную область тяжелой цепи и константную область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 258)

```

1  qvqlvqsgae vkkpgasvkv sckasgytft dynmdwvrqa pgqslwmgq inpnngliff
61  nqkfkggrvtl ttdkststay melrslrsdd tavvyccarea ittvgamdyw gqgtlvtvss
121 astkpgpsvfp lapsskstsg gtaalgclvk dyfpepvtvs wnsгалтsgv htfpavlqss
181 glyslssvvt vpssslgtgt yicnvnhkps ntkvdkrvep kscdkthtcp pcpapellgg
241 psvflfppkp kdtlmisrtp evtcvvvdvs hedpevkfnw yvdgvevhna ktkpreeqyn
301 styrvvsvlt vlhqdwlngk eyckvsnka lpapiektis kakgqprepq vytlppsree
361 mtknqvsltc lvkgfypsdi avewesngqp ennykttppv ldsdgsffly skltvdksrw
421 qqgnvfscsv mhealhnhyt qkslsispkg

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая тяжелую цепь полной длины Nu01G06 F1 с IGHV1-69 (гуманизированную вариательную область тяжелой цепи и константную область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 259)

```

1  caagtacagc ttgtacagtc gggagcggaa gtcaagaaac cgggacgctc ggtcaaagtg
61  tcgtgtaaaag cgtcgggata tacgttttagc gactataaca tggattgggt gcgacaagcg
121 cctgggcagg gacttgaatg gatgggtcag atcaatccga ataatgggtc gatctttttc
181 aatcagaagt ttaaaggag ggtaacgctg acggcggata aaagcacgctc aacggcgtat
241 atggagtgtg cgtcgttgcg gtcggaggac acggcgggtc attactgcgc gagggaagcg
301 attacgacgg tgggagcgat ggattattgg gggcagggaa cgcttgtaac ggtgtcatcg
361 gcctcaacaa aaggaccaag tgtgttccca ctgcgcccta gcagcaagag tacatccggg
421 ggcaactgcag cactcggctg cctcgtcaag gattattttc cagagccagt aaccgtgagc
481 tggaaacagt gagcactcac ttctggtgtc catacttttc ctgctgtcct gcaaaagctct
541 ggccgtgtact cactcagctc cgtcgtgacc gtgccatctt catctctggg cactcagacc
601 tacatctgta atgtaaacca caagcctagc aatactaagg tcgataagcg ggtggaaccc
661 aagagctgcg acaagactca cacttgtccc ccatgccctg cccctgaact tctgggcggg
721 cccagcgtct ttttgttccc accaaagcct aaagatactc tgatgataag tagaacaccc
781 gaggtgacat gtgttgttgt agacgtttcc cacgaggacc cagaggttaa gttcaactgg
841 tacgttgatg gagtcgaagt acataatgct aagaccaagc ctagagagga gcagtataat
901 agtacatacc gtgtagtcag tgttctcaca gtgctgcacc aagactggct caacggcaaa
961 gaatacaaat gcaaagtgtc caacaaagca ctcccagccc ctatcgagaa gactattagt
1021 aaggcaaaag ggcagcctcg tgaaccacag gtgtacactc tgccacccag tagagaggaa
1081 atgacaaaga accaagtctc attgacctgc ctggtgaaag gcttctaccc cagcgacatc
1141 gccgttgagt gggagagtaa cggtcagcct gagaacaatt acaagacaa cccccagtg
1201 ctggatagtg acgggtcttt ctttctgtac agtaagctga ctgtggacaa gtcccgtgg
1261 cagcagggta acgtcttcag ctgttccgtg atgcacgagg cattgcacaa ccactacacc
1321 cagaagtcac tgagcctgag cccagggaag

```

Последовательность белка, определяющая тяжелую цепь полной длины Nu01G06 F1 с IGHV1-69 (гуманизированную вариательную область тяжелой цепи и константную область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 260)

```

1  qvqlvqsgae vkkpgssvkv sckasgytfs dynmdwvrqa pgqslwmgq inpnngliff
61  nqkfkggrvtl tadkststay melsslr sed tavvyccarea ittvgamdyw gqgtlvtvss
121 astkpgpsvfp lapsskstsg gtaalgclvk dyfpepvtvs wnsгалтsgv htfpavlqss
181 glyslssvvt vpssslgtgt yicnvnhkps ntkvdkrvep kscdkthtcp pcpapellgg
241 psvflfppkp kdtlmisrtp evtcvvvdvs hedpevkfnw yvdgvevhna ktkpreeqyn
301 styrvvsvlt vlhqdwlngk eyckvsnka lpapiektis kakgqprepq vytlppsree
361 mtknqvsltc lvkgfypsdi avewesngqp ennykttppv ldsdgsffly skltvdksrw
421 qqgnvfscsv mhealhnhyt qkslsispkg

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая тяжелую цепь полной длины Nu01G06 F2 с IGHV1-69 (гуманизированную вариательную область тяжелой цепи и константную область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 261)

```

1 caagtacagc ttgtacagtc gggagcggaa gtcaagaaac cgggacgctc ggtcaaaagt
61 tcgtgttaaag cgtcgggata tacgttttagc gactataaca tggattgggt gcgacaagcg
121 cctgggcagg gacttgaatg gatgggtcag atcaatccgt acaatcacct gatctttttc
181 aatcagaagt ttaaaaggag ggtaacgctg acggcggata aaagcacgctc aacggcggtat
241 atggagttgt cgtcgttgcg gtccggaggac acggcggtct attactgcgc gagggaaagcg
301 attacgacgg tgggagcgat ggattattgg gggcagggaa cgcttgtaac ggtgtatacg
361 gctcaacaa aaggaccaag tgtgttccca ctgcccccta gcagcaagag tacatccggg
421 ggcactgcag cactcggctg cctcgtcaag gattattttc cagagccagt aaccgtgagc
481 tgggaacagtg gagcactcac ttctggtgtc catacttttc ctgctgtcct gcaaaagctct
541 ggcctgtact cactcagctc cgtcgtgacc gtgccatctt catctctggg cactcagacc
601 tacatctgta atgtaaacca caagcctagc aataactaagg tcgataagcg ggtggaaccc
661 aagagctgcg acaagactca cacttgctcc ccatgccctg cccctgaact tctgggcggg
721 ccagcgtct ttttgttccc accaaagcct aaagatactc tgatgataag tagaacaccc
781 gaggtgacat gtgtgttgtg agacgtttcc cagcaggacc cagaggttaa gttcaactgg
841 tacgttgatg gagtcgaagt acataatgct aagaccaagc ctagagagga cggtataaat
901 agtacatacc gtgtagtcag tgttctcaca gtgctgcacc aagactggct caacggcaaa
961 gaatacaaat gcaaaagtgc caacaaagca ctcccagccc ctatcgagaa gactattagt
1021 aaggcaaaag ggcagcctcg tgaaccacag gtgtacactc tgccaccagc gcgagagaa
1081 atgacaaaag accaagtctc attgacctgc ctggtgaaag gcttctaccc cagcgacatc
1141 gccgttgagt gggagagtaa cggtcagcct gagaacaatt acaagacaac cccccagtg
1201 ctggatagtg acgggtcttt ctttctgtac agtaagctga ctgtggacaa gtcccgtcg
1261 cagcagggtg acgtcttcag ctgttccgtg atgcacgagg cattgcacaa ccactacacc
1321 cagaagtcac tgagcctgag cccagggaag

```

Последовательность белка, определяющая тяжелую цепь полной длины Nu01G06 F2 с IGHV1-69 (гуманизированную вариательную область тяжелой цепи и константную область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 262)

```

1 qvqlvqsgae vkkpgssvkv sckasgytfs dynmdwvrqa pgqglewmqg inpynhliff
61 nqkfkgrvtl tadkststay melsslr sed tavyycaarea ittvgamdyw gqgtltvtvss
121 astkqpsvfp lapsskstsg gtaalgclvk dyfpepvtvs wnsгалтsgv htfpavllqss
181 glyslssvvt vpssslgtgt yicvnvhkps ntkvdkrvep kscdkthtcp pcpapellgg
241 psvflfppkp kdtlmisrtp evtcvvvdvs hedpevkfnw yvdgvevha ktkpreeqyn
301 styrvsvlt vlhqdlngk eyckvsnka lpapiektis kagqgprepq vytlppsree
361 mtknqvsltc lvkgfypsdi avewesngqp ennykttppv ldsdgsffly skltvdkrsr
421 qqgnvfscsv mhealhnhyt qkslsispqk

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая химерную тяжелую цепь полной длины Ch06C11 (вариательную область тяжелой цепи мыши и константную область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 191)

```

1 caggtgacac tcaaaagaatc aggaccggga atccttcagc ccagccagac cttgtcgtcg
61 acttgttcgt tctccggttt cagcctgaat acttatggga tgggtgtgtc atggatcagg
121 caaccgtccg ggaaggatt ggagtggtc cgcacatct actgggacga tgacaaacgc
181 tacaatcctt cgtgtaagag ccgattgacg atttccaagg atgcctcgaa caaccgggta
241 tttcttaaga tcacgtcgtg cgatacggca gacacggcga cctattactg cgcccaaaga
301 gggtagcatg actattgggg atattggggc caggggacac tcgtcacaat ttcagctgcc
361 tcaacaaaag gaccaagtgt gttcccactc gccctagca gcaagagtac atccgggggc
421 actgcagcac tcggctgcct cgtcaaggat tattttccag agccagtaac cgtgagctgg
481 aacagtggag cactcacttc tgggtgtccat acttttctct ctgtctcgca aagctctggc
541 ctgtactcac tcagctccgt cgtgaccgtg ccatcttcat ctctgggcac tcagacctac
601 atctgtaatg taaaccacaa gcctagcaat actaaggctg ataagcgggt ggaacccaag
661 agctgcgaca agactcacac ttgtcccca tgccctgccc ctgaaattct gggcggtccc
721 agcgtctttt tgttcccacc aaagcctaaa gatactctga tgataagtag aacacccgag
781 gtgacatgtg ttgttgtaga cgtttccac gaggaccag aggttaagtt caactgtgac
841 gttgatggag tcgaagtaca taatgctaag accaagccta gagaggagca gtataatagt
901 acataccgtg tagtcagtgt tctcacagt ctcgaccaag actggctcaa cggcaaaaga
961 tacaatgca aagtgtccaa caaagcactc ccagcccta tcgagaagac tattagtaag
1021 gcaaaagggc agcctcgtga accacagggt tacactctgc caccagtag agaggaaatg
1081 acaaaagacc aagtctcatt gacctgcctg gtgaaaggct tctacccag cgacatcgcc
1141 gttgagtggg agagtaacgg tcagcctgag aacaattaca agacaacccc ccagtgctg
1201 gatagtgcg ggtctttctt tctgtacagt aagctgactg tggacaagtc ccgctggcag
1261 cagggtaacg tcttcagctg ttccgtgatg cagcaggcat tgcacaacca ctacacccag
1321 aagtcactga gcctgagccc aggggaag

```

Последовательность белка, определяющая химерную тяжелую цепь полной длины Ch06C11 (вариательную область тяжелой цепи мыши и константную область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 192)

```

1 qvtlkesgpg ilqpsqtlsl tcsfsgfsln tygmgswir qpsgkglewl ahlywdddkr
61 ynpslksrll iskdasnnrv flkitsvdta dtatyycagr gyddywywg ggtltvtisaa
121 stkgpsvfpl apsskstsgg taalgcclvd yfpepvtvsw nsgaltsgvh tfpavllqssg
181 lyslssvvtv pssslgtqty icvnvhkpsn tkvdkrvep scdkthtcp cpapellggp
241 svflfppkp dtlmisrtp vtcvvvdvsh edpevkfnw yvdgvevha ktkpreeqyn
301 tyrvsvltv lhqdlngke yckvsnka papiektisk akqgprepqv ytlppsreem
361 tknqvsltl vkgfypsdi vewesngqp nnykttppv ldsdgsffly skltvdkrsr
421 qgnvfscsv mhealhnhyt qkslsispqk

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая тяжелую цепь полной длины HE LM 06C11 с IGHV2-70 (гуманизированную вариательную область тяжелой цепи и константную область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 193)

```

1 caggtgactt tgaagaatc cggteccgca ttggtaaagc caaccagac acttacgctc
61 acatgtacat ttcccgatt cagcttgaac acttacggga tgggagtgtc gtggattcgg
121 caacctccgg ggaaggctct ggagtggctg gcgcacatct actgggatga tgacaaaagg
181 tataaccctt cacttaaac gagactgacg atctcgaagg acacaagcaa gaatcaggtc
241 gtcttcacga ttacgaatgt agaccgggtg gatactgccc tctattactg cgcgcaacgc
301 ggtgatgatg actactgggg atattggggg cagggcaccc tcgtgacctat ctogtcagcc
361 tcaacaaaag gaccaagtgt gttccactc gcccttagca gcaagagtac atccgggggc
421 actgcagcac tcggctgcct cgtcaaggat tattttccag agccagtaac cgtgagctgg
481 aacagtggag cactcacttc tgggtgccat acttttcctg ctgtcctgca aagctctggc
541 ctgtactcac tcagctccgt cgtgaccgtg ccatcttcat ctctggggac tcagacctac
601 atctgtaatg taaaccacaa gcctagcaat actaaggctg ataagcgggt ggaacccaag
661 agctgcgaca agactcacac ttgtcccca tgccctgccc ctgaacttct gggcggtccc
721 agcgtctttt tgttccacc aaagcctaaa gatactctga tgataagtag aacacccgag
781 gtgacatgtg ttgttgtaga cgtttccac gaggacccag aggttaagtt caactggtac
841 gttgatggag tcgaagtaca taatgctaag accaagccta gagaggagca gtataatagt
901 acataccgtg tagtcagtgt tctcacagt ctgcaccaag actggctcaa cggcaaaaga
961 tacaatatga aagtgtccaa caaagcactc ccagccccta tcgagaagac tattagtaag
1021 gcaaaggggc agcctcgtga accacagggt tacactctgc caccagtag agaggaaatg
1081 acaagaacc aagtctcatt gacctgcctg gtgaaaggct tctaccccag cgacatcgcc
1141 gttgatggg agagtaacgg tcagcctgag aacaattaca agacaacccc cccagtgctg
1201 gatagtgcg ggtctttctt tctgtacagt aagctgactg tggacaagtc ccgctggcag
1261 cagggtaacg tcttcagctg ttccgtgatg cagcaggcat tgcacaacca ctacaccag
1321 aagtcactga gcctgagccc agggaaag

```

Последовательность белка, определяющая тяжелую цепь полной длины HE LM 06C11 сIGHV2-70 (гуманизированную варибельную область тяжелой цепи и константную область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 194)

```

1 qvtlkesgpa lvkptqtltl tctfsgfsln tygmvgswir qppgkalewl ahiywdddkr
61 ynpslklrlt iskdtstknqv vltitnvdpv dtavyycagr gyddywywg qgtlvtvssa
121 stkgpsvfpl apsskstsgg taalgclvkd yfpepvtvsw nsgaltsgvh tfpavlqssg
181 lylslssvvtv pssslgtqty icnvnhkpsn tkvdkrvepk scdkthtcpp cpapellggp
241 svflfppkpk dtlmisrtpe vtcvvvdvsh edpevkfnwy vdgvevhnak tkpreeqyns
301 tyrvvsvltv lhqdwlngke ykckvsnkal papiektisk akqgprepqv ytlppsreem
361 tknqvsltcl vkgyfypsia vewesngqpe nnykttppvl dsdgsfflys kltvdksrwq
421 qgnvfscsvm healhnhytq kslslspgk

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая тяжелую цепь полной длины Hu06C11 сIGHV2-5 (гуманизированную варибельную область тяжелой цепи и константную область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 195)

```

1 caagtaacgc tcaaggagtc cggaccacc ttggtgaagc cgacgcagac cttgactctt
61 acgtgcactt tctcgggggtt ttcactgaat acgtacggga tgggtgtctc atggatcagg
121 caacctccgg ggaaggatt ggaatggctg gcgcacatct actgggatga cgataagaga
181 tataacccaa gcctcaagtc cgggctcacc attacaaaag atacatcgaa aaacacagtc
241 gtacttacta tcacgaacat ggaccccggt gacacagcaa catattactg tgcccagcgc
301 ggctatgacg attattgggg ttaactgggga cagggaacac tgggtcacggt gtccagcgcc
361 tcaacaaaag gaccaagtgt gttccactc gcccttagca gcaagagtag atccgggggc
421 actgcagcac tcggctgcct cgtcaaggat tattttccag agccagtaac cgtgagctgg
481 aacagtggag cactcacttc tgggtgccat acttttcctg ctgtcctgca aagctctggc
541 ctgtactcac tcagctccgt cgtgaccgtg ccatcttcat ctctggggac tcagacctac
601 atctgtaatg taaaccacaa gcctagcaat actaaggctg ataagcgggt ggaacccaag
661 agctgcgaca agactcacac ttgtcccca tgccctgccc ctgaacttct gggcggtccc
721 agcgtctttt tgttccacc aaagcctaaa gatactctga tgataagtag aacacccgag
781 gtgacatgtg ttgttgtaga cgtttccac gaggacccag aggttaagtt caactggtac
841 gttgatggag tcgaagtaca taatgctaag accaagccta gagaggagca gtataatagt
901 acataccgtg tagtcagtgt tctcacagt ctgcaccaag actggctcaa cggcaaaaga
961 tacaatatga aagtgtccaa caaagcactc ccagccccta tcgagaagac tattagtaag
1021 gcaaaggggc agcctcgtga accacagggt tacactctgc caccagtag agaggaaatg
1081 acaagaacc aagtctcatt gacctgcctg gtgaaaggct tctaccccag cgacatcgcc
1141 gttgatggg agagtaacgg tcagcctgag aacaattaca agacaacccc cccagtgctg
1201 gatagtgcg ggtctttctt tctgtacagt aagctgactg tggacaagtc ccgctggcag
1261 cagggtaacg tcttcagctg ttccgtgatg cagcaggcat tgcacaacca ctacaccag
1321 aagtcactga gcctgagccc agggaaag

```

Последовательность белка, определяющая тяжелую цепь полной длины Hu06C11 сIGHV2-5 (гуманизированную варибельную область тяжелой цепи и константную область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 196)

```

1 qvtlkesgpt lvkptqtltl tctfsgfsln tygmvgswir qppgkglewl ahiywdddkr
61 ynpslksrlt itkdtstknqv vltitnmdpv dtatyycaqr gyddywywg qgtlvtvssa
121 stkgpsvfpl apsskstsgg taalgclvkd yfpepvtvsw nsgaltsgvh tfpavlqssg
181 lylslssvvtv pssslgtqty icnvnhkpsn tkvdkrvepk scdkthtcpp cpapellggp
241 svflfppkpk dtlmisrtpe vtcvvvdvsh edpevkfnwy vdgvevhnak tkpreeqyns
301 tyrvvsvltv lhqdwlngke ykckvsnkal papiektisk akqgprepqv ytlppsreem
361 tknqvsltcl vkgyfypsia vewesngqpe nnykttppvl dsdgsfflys kltvdksrwq
421 qgnvfscsvm healhnhytq kslslspgk

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая химерную тяжелую цепь полной длины Ch14F11 (варибельную область тяжелой цепи мыши и константную область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 197)

```

1 cagggtcacgc tgaagagagtc aggtcccga atccttcaac ctctgcagac attgtcactc
61 acatgttctct tctccgggtt ctgcgtctcg acttatggca tgggtgtagg atggattcgg
121 cagcccagcg ggaaggggct tgagtgggtg gcggatatct ggtgggacga cgacaataac
181 tacaatccga gcctgaagtc ccgcctcacc atttcgaaag atacgtcatc aaacgaagtc
241 tttttgaaga tcgccatcgt ggacacggcg gatacagcga cgtattactg cgcgaagaag
301 ggacactaca gcgcaatgga ttattgggga caggggacct cgggtgactgt gtcgtccgcc
361 tcaacaaaag gaccaagtgt gttcccaact gcccttagca gcaagagtag atccgggggc
421 actgcagcac tcggctgcct cgtcaaggat tattttccag agccagtaac cgtgagctgg
481 aacagtggag cactcacttc tgggtgccat acttttctcg ctgtcctgca aagctctggc
541 ctgtactcac tcagctccgt cgtgaccgtg ccatcttcat ctctggggcac tcagacctac
601 atctgtaatg taaaccacaa gcctagcaat actaaggctg ataagcgggt ggaacccaag
661 agctgcgaca agactcacac ttgtcccca tgcctgccc ctgaacttct gggcggtccc
721 agcgtctttt tgttcccacc aaagcctaaa gatactctga tgataagtag aacaccggag
781 gtgacatgtg ttgtgttaga cgtttccac gaggaccag aggttaagtt caactggtag
841 gttgatggag tcgaagtaca taatgctaag accaagccta gagaggagca gtataatagt
901 acataccgtg tagtcagtgt tctcacagtg ctgcaccaag actggctcaa cggcaaaaga
961 tacaatgca aagtgtccaa caaagcactc ccagccccta tcgagaagac tattagtagt
1021 gcaaaagggc agcctcgtga accacagggt tacactctgc caccagtag agaggaaatg
1081 acaagaacc aagtctcatt gacctgcctg gtgaaaggct tctaccccag cgacatcgcc
1141 gttgagtgag agagtaacgg tcagcctgag aacaattaca agacaacccc ccagtgctg
1201 gatagtgacg ggtctttctt tctgtacagt aagctgactg tggacaagtc ccgctggcag
1261 cagggtaacg tcttcagctg ttccgtgatg cagcaggcat tgcacaacca ctacaccag
1321 aagtcactga gcctgagccc agggaaag

```

Последовательность белка, определяющая химерную тяжелую цепь полной длины Ch14F11 (вариантную область тяжелой цепи мыши и константную область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 198)

```

1 qvtlkesgpg ilqpsqtlsl tcsfsgfsls tygmvgwir qpsgkglewl adiwdddky
61 ynpslksrlt iskdtssnev flkiaivdta dtatyycarr ghysamdywg qgtsvtvssa
121 stkgpsvfpl apsskstsgg taalgclvkd yfpepvtvsw nsgaltsgvh tfpavlqssg
181 lyslssvvtv pssslgtqty icnvnhkpsn tkvdkrvepk scdkthtcpp cpapellggp
241 svflfppkpk dtlmisrtpe vtcvvdvsh edpevkfnwy vdgvevhnak tkpreeqyns
301 tyrvvsvltv lhqdwlngke ykckvsnkal papiektisk akqgprepv ytlppsreem
361 tknqvsltcl vkgyfypsia vewesngqpe nnykttppvl dsdgsfflys kltvdksrwq
421 qgnvfscsvm healhnhytq kslslspgk

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая тяжелую цепь полной длины Sh14F11 с IGHV2-5 (гуманизированную вариательную область тяжелой цепи и константную область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 199)

```

1 cagatcactt tgaagaaaag cggaccgacc ttggtcaagc ccacacaaac cctcacgctc
61 acgtgtacat ttccgggggt ctgcgtttca acttacggga tgggagtagg gtggattcgc
121 cagccgcctg gtaagcggtt ggagtggctt gcagacatct ggtgggacga cgataagtag
181 tataatccct cgctcaagtc cagactgacc atcacgaaaag atacgagcaa gaaccaggtc
241 gtgctgacaa tgactaacat ggaccagtg gatacggcta catattactg cgccagggcg
301 ggtcactact cagcgatgga ttattggggc cagggaaacac tggtaacggt gtcgtccgcc
361 tcaacaaaag gaccaagtgt gttcccaact gcccttagca gcaagagtag atccgggggc
421 actgcagcac tcggctgcct cgtcaaggat tattttccag agccagtaac cgtgagctgg
481 aacagtggag cactcacttc tgggtgccat acttttctcg ctgtcctgca aagctctggc
541 ctgtactcac tcagctccgt cgtgaccgtg ccatcttcat ctctggggcac tcagacctac
601 atctgtaatg taaaccacaa gcctagcaat actaaggctg ataagcgggt ggaacccaag
661 agctgcgaca agactcacac ttgtcccca tgcctgccc ctgaacttct gggcggtccc
721 agcgtctttt tgttcccacc aaagcctaaa gatactctga tgataagtag aacaccggag
781 gtgacatgtg ttgtgttaga cgtttccac gaggaccag aggttaagtt caactggtag
841 gttgatggag tcgaagtaca taatgctaag accaagccta gagaggagca gtataatagt
901 acataccgtg tagtcagtgt tctcacagtg ctgcaccaag actggctcaa cggcaaaaga
961 tacaatgca aagtgtccaa caaagcactc ccagccccta tcgagaagac tattagtagt
1021 gcaaaagggc agcctcgtga accacagggt tacactctgc caccagtag agaggaaatg
1081 acaagaacc aagtctcatt gacctgcctg gtgaaaggct tctaccccag cgacatcgcc
1141 gttgagtgag agagtaacgg tcagcctgag aacaattaca agacaacccc ccagtgctg
1201 gatagtgacg ggtctttctt tctgtacagt aagctgactg tggacaagtc ccgctggcag
1261 cagggtaacg tcttcagctg ttccgtgatg cagcaggcat tgcacaacca ctacaccag
1321 aagtcactga gcctgagccc agggaaag

```

Последовательность белка, определяющая тяжелую цепь полной длины Sh14F11 с IGHV2-5 (гуманизированную вариательную область тяжелой цепи и константную область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 200)

```

1 qitlkesgpt lvkptqtltl tctfsgfsls tygmvgwir qppgkalewl adiwdddky
61 ynpslksrlt itkdtksnqv vltmtnmdpv dtatyycarr ghysamdywg qgtltvtvssa
121 stkgpsvfpl apsskstsgg taalgclvkd yfpepvtvsw nsgaltsgvh tfpavlqssg
181 lyslssvvtv pssslgtqty icnvnhkpsn tkvdkrvepk scdkthtcpp cpapellggp
241 svflfppkpk dtlmisrtpe vtcvvdvsh edpevkfnwy vdgvevhnak tkpreeqyns
301 tyrvvsvltv lhqdwlngke ykckvsnkal papiektisk akqgprepv ytlppsreem
361 tknqvsltcl vkgyfypsia vewesngqpe nnykttppvl dsdgsfflys kltvdksrwq
421 qgnvfscsvm healhnhytq kslslspgk

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая тяжелую цепь полной длины Sh14F11 с IGHV2-70 (гуманизированную вариательную область тяжелой цепи и константную область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 201)

```

1 caagtgactc tcaaggagtc cggaccgcc ctggtcaaac caacgcagac actgacgctc
61 acatgcacct tcagcggatt ttcgttgta acgtacggca tgggtgtggg gtggattcgc
121 cagcctccgg ggaagccct tgaatggtg gcggacatct ggtgggatga tgacaagtac
181 tataatccct cacttaagtc acggttgacg atctcgaaag acaccagcaa gaaccaggta
241 gtgctgacaa tgaactaacat ggaccggctc gatacagcgg tctactattg tgctagaagg
301 ggacactact ccgcaatgga ttattggggt caggggacgc tcgtaaccgt gtcgctcgcc
361 tcaacaaaag gaccaagtgt gttccactc gccctagca gcaagagtag atccgggggc
421 actgcagcac tcggctgcct cgtcaaggat tattttccag agccagtaac cgtgagctgg
481 aacagtggag cactcacttc tgggtgtccat acttttcctg ctgtcctgca aagctctggc
541 ctgtactcac tcagctccgt cgtgaccgtg ccatcttcat ctctgggac tcagacctac
601 atctgtaatg taaaccacaa gcctagcaat actaaggctg ataagcgggt ggaaccacaag
661 agctgcgaca agactcacac ttgtccccc tgccctgccc ctgaacttct gggcggtccc
721 agcgtctttt tgttccacc aaagcctaaa gatactctga tgataagtag aacaccgag
781 gtgacatgtg ttgtttaga cgtttccac gaggaccag aggttaagtt caactggtac
841 gttgatggag tcgaagtaca taatgctaag accaagccta gagaggagca gtataatagt
901 acataccgtg tagtcagtgt tctcacagt ctgcaccaag actgggtcaa cggcaagaa
961 tacaatgca aagtgtccaa caaagcactc ccagccccta tcgagaagac ttttagtaag
1021 gcaaggggc agcctcgta accacaggtg tacactctgc caccagtag agaggaaatg
1081 acaagaacc aagtctcatt gacctgcctg gtgaaaggct tctaccccag cgacatcgcc
1141 gttgagtggg agagtaacgg tcagcctgag aacaattaca agacaacccc ccagtgctg
1201 gatagtgcg ggtctttctt tctgtacagt aagctgactg tggacaagtc ccgctggcag
1261 cagggtacg tcttcagctg ttccgtgatg cagagggcat tgcacaacca ctacaccag
1321 aagtcactga gctgagccc agggaaag

```

Последовательность белка, определяющая тяжелую цепь полной длины Sh14F11 с IGHV2-70 (гуманизированную варибельную область тяжелой цепи и константную область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 202)

```

1 qvtlkesgpa lvkptqtltl tctfsgfsls tygmvgwir qppgkalewl adiwdddky
61 ynpslksrlt iskdtsknqv vltmtnmdpv dtavyycarr ghysamdywg qgtlvtvssa
121 stkppsvfpl apsskstsgg taalgcclvkd yfpepvtvsw nsgaltsgvh tfpavlqssg
181 lyslssvvtv pssslgtqty icnvnhkpsn tkvdkrvepk scdkthtcpp cpapellggp
241 svflfppkpk dtlmisrtpc vtcvvvdvsh edpevkfnwy vdgvevhnak tkpreeqyns
301 tyrvvsvltv lhqdwlngke ykckvsnkal papiektisk akqgprepqv ytlppsreem
361 tknqvsltcl vkgfyfysdia vewesnggpe nnykttppvl dsdgsfflys kltvdksrwq
421 qgnvfscsvm healhnhytq kslslspgk

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая химерную легкую цепь полной длины Ch01G06 (варибельную область каппа-цепи мыши и константную область каппа-цепи человека) (SEQ ID NO: 203)

```

1 gacatccaaa tgaccagtc acccgcgagc ctttcggcgt cggtcggaga aacggtcacg
61 atcacgtgcc ggacatcaga gaatctccat aactacctcg cgtgggtatca acagaagcag
121 gggaagtcgc ccagttgct tgtatacgat gcgaaaacgt tggcggatgg ggtgccgtcc
181 agattctcgg gatcgggctc ggggacgcag tactcgctca agatcaattc gctgcagccg
241 gaggactttg ggtcgacta ttgtcagcat ttttggtcat caccgtatac atttgagggt
301 ggaacgaaaac ttgagattaa gcgcacagtt gctgccccca cgtgtgtcat ttcccacct
361 agcgatgagc agctgaaaag cggtagtccc tctgtcgtat gcttgctcaa caacttttac
421 ccacgtgagg ctaagggtgca gtggaaagtg gataatgcac ttcaatctgg aaacagtcaa
481 gagtccgtga cagaacagga cagcaaaagc tcaacttatt cactctcttc caccctgact
541 ctgtccaagg cagactatga aaaacacaag gtatacgccg gcgaggttac acaccagggt
601 ttgtctagtc ctgtcaccaa gtccttcaat agggggcgaat gt

```

[00474] Последовательность белка, определяющая химерную легкую цепь полной длины Ch01G06 (варибельную область каппа-цепи мыши и константную область каппа-цепи человека) (SEQ ID NO: 204)

```

1 digmtqspas lsaavgetvt itcrtsenlh nylawyqqkq gkspqllvyd aktladgvps
61 rfsqsgsgtg yslkinslqp edfgsyycqh fwsspytfgg gtleikrtv aapsvfifpp
121 sdeqlkshta svcllnnfy preakvqkwk dnalqsgnsq esvteqdskd styslsstlt
181 lskadyekhk vyacevthqg lsspvtksfm rgce

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая легкую цепь полной длины Hu01G06 с IGKV1-39 (гуманизированную варибельную область каппа-цепи и константную область каппа-цепи человека) (SEQ ID NO: 205)

```

1 gacatccaaa tgaccagtc gccgtcgctg ctttcagcgt cggtagggga tcgggtcaca
61 attacgtgcc gaacgtcaga gaatttgcct aactacctcg cgtgggtatca gcagaagccc
121 gggaagtcac cgaaactcct tgtctacgat gcgaaaacgc tggcggatgg agtgccgtcg
181 agattctcgg gaagcggatc cggtagcgac tatacgctta cgatctcatc gctccagccc
241 gaggactttg cgacgtacta ttgtcagcat ttttggtcgt cgccctacac atttgggcag
301 gggaccaagt tggaaatcaa gcgcacagtt gctgccccca cgtgtgtcat ttcccacct
361 agcgatgagc agctgaaaag cggtagtccc tctgtcgtat gcttgctcaa caacttttac
421 ccacgtgagg ctaagggtgca gtggaaagtg gataatgcac ttcaatctgg aaacagtcaa
481 gagtccgtga cagaacagga cagcaaaagc tcaacttatt cactctcttc caccctgact
541 ctgtccaagg cagactatga aaaacacaag gtatacgccg gcgaggttac acaccagggt
601 ttgtctagtc ctgtcaccaa gtccttcaat agggggcgaat gt

```

Последовательность белка, определяющая легкую цепь полной длины Hu01G06 с IGKV1-39 (гуманизированную варибельную область каппа-цепи и константную область каппа-цепи человека) (SEQ ID NO: 206)

```

1 diqmtqspss lsasvgdrvt itcrtsenlh nylawyqqkp gkspkllvyd aktladgvps
61 rfsqsgsgtd ytltisslqp edfatyyqch fwsspytfqg gtleikrtv aapsvfifpp
121 sdeqlksqta svvcllnfy breakvqkwv dnalqsgnsq esvteqdsd styslsstlt
181 lskadyekhh vyacevthqg lsspvtksfm rgec

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая легкую цепь полной длины Hu01G06 с IGKV1-39 S43A V48I (гуманизированную варибельную область каппа-цепи и константную область каппа-цепи человека) (также упоминаемую в данном документе как легкая цепь полной длины Hu01G06 F1 с IGFV1-39; SEQ ID NO: 207)

```

1 gacatccaaa tgaccagtc gccgtcgtcg ctttcagcgt cggtagggga tcgggtcaca
61 attacgtgcc gaacgtcaga gaatttgcgt aactacctcg cgtgggtatca gcagaagccc
121 gggaaggccc cgaaactcct tatctacgat gcgaaaacgc tggcggatgg agtgccgtcg
181 agattctcgg gaagcggatc cggtagcgac tatacgttta cgtatctatc gtcacagccc
241 gaggaacttg cgacgtacta ttgtcagcat ttttgggtcg cgcctacac atttgggcag
301 gggaccaagt tggaaatcaa gcgcacagtt gctgccccca cgtgtgtcat ttccccacct
361 agcgtgagc agctgaaaag cggtagtcgc tctgtcgtat gcttgctcaa caacttttac
421 ccacgtgagg ctaaggtgca gtgaaaagt gataatgcac ttcaatctgg aaacagtcaa
481 gagtccgtga cagaacagga cagcaaagac tcaacttatt cactctcttc caccctgact
541 ctgtccaagg cagactatga aaacacaaag gtatacgctt gcgaggttac acaccagggt
601 ttgtctagtc ctgtcaccaa gtccctcaat aggggcgaat gt

```

Последовательность белка, определяющая легкую цепь полной длины Hu01G06 с IGKV1-39 S43A V48I (гуманизированную варибельную область каппа-цепи и константную область каппа-цепи человека) (также упоминаемую в данном документе как легкая цепь полной длины Hu01G06 F1 с IGFV1-39; SEQ ID NO: 208)

```

1 diqmtqspss lsasvgdrvt itcrtsenlh nylawyqqkp gkapklliyd aktladgvps
61 rfsqsgsgtd ytltisslqp edfatyyqch fwsspytfqg gtleikrtv aapsvfifpp
121 sdeqlksqta svvcllnfy breakvqkwv dnalqsgnsq esvteqdsd styslsstlt
181 lskadyekhh vyacevthqg lsspvtksfm rgec

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая легкую цепь полной длины Hu01G06 с IGKV1-39 V48I (гуманизированную варибельную область каппа-цепи и константную область каппа-цепи человека) (SEQ ID NO: 209)

```

1 gacatccaaa tgaccagtc gccgtcgtcg ctttcagcgt cggtagggga tcgggtcaca
61 attacgtgcc gaacgtcaga gaatttgcgt aactacctcg cgtgggtatca gcagaagccc
121 gggaagtcac cgaaactcct tatctacgat gcgaaaacgc tggcggatgg agtgccgtcg
181 agattctcgg gaagcggatc cggtagcgac tatacgttta cgtatctatc gtcacagccc
241 gaggaacttg cgacgtacta ttgtcagcat ttttgggtcg cgcctacac atttgggcag
301 gggaccaagt tggaaatcaa gcgcacagtt gctgccccca cgtgtgtcat ttccccacct
361 agcgtgagc agctgaaaag cggtagtcgc tctgtcgtat gcttgctcaa caacttttac
421 ccacgtgagg ctaaggtgca gtgaaaagt gataatgcac ttcaatctgg aaacagtcaa
481 gagtccgtga cagaacagga cagcaaagac tcaacttatt cactctcttc caccctgact
541 ctgtccaagg cagactatga aaacacaaag gtatacgctt gcgaggttac acaccagggt
601 ttgtctagtc ctgtcaccaa gtccctcaat aggggcgaat gt

```

Последовательность белка, определяющая легкую цепь полной длины Hu01G06 с IGKV1-39 V48I (гуманизированную варибельную область каппа-цепи и константную область каппа-цепи человека) (SEQ ID NO: 210)

```

1 diqmtqspss lsasvgdrvt itcrtsenlh nylawyqqkp gkspklliyd aktladgvps
61 rfsqsgsgtd ytltisslqp edfatyyqch fwsspytfqg gtleikrtv aapsvfifpp
121 sdeqlksqta svvcllnfy breakvqkwv dnalqsgnsq esvteqdsd styslsstlt
181 lskadyekhh vyacevthqg lsspvtksfm rgec

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая легкую цепь полной длины Hu01G06 F1 с IGKV1-39 (гуманизированную варибельную область каппа-цепи и константную область каппа-цепи человека) (также упоминаемую в данном документе как легкая цепь полной длины Hu01G06 с IGKV1-39 S43A V48I; SEQ ID NO: 207)

```

1 gacatccaaa tgaccagtc gccgtcgtcg ctttcagcgt cggtagggga tcgggtcaca
61 attacgtgcc gaacgtcaga gaatttgcgt aactacctcg cgtgggtatca gcagaagccc
121 gggaaggccc cgaaactcct tatctacgat gcgaaaacgc tggcggatgg agtgccgtcg
181 agattctcgg gaagcggatc cggtagcgac tatacgttta cgtatctatc gtcacagccc
241 gaggaacttg cgacgtacta ttgtcagcat ttttgggtcg cgcctacac atttgggcag
301 gggaccaagt tggaaatcaa gcgcacagtt gctgccccca cgtgtgtcat ttccccacct
361 agcgtgagc agctgaaaag cggtagtcgc tctgtcgtat gcttgctcaa caacttttac
421 ccacgtgagg ctaaggtgca gtgaaaagt gataatgcac ttcaatctgg aaacagtcaa
481 gagtccgtga cagaacagga cagcaaagac tcaacttatt cactctcttc caccctgact
541 ctgtccaagg cagactatga aaacacaaag gtatacgctt gcgaggttac acaccagggt
601 ttgtctagtc ctgtcaccaa gtccctcaat aggggcgaat gt

```

Последовательность белка, определяющая легкую цепь полной длины Hu01G06 F1 с IGKV1-39 (гуманизированную варибельную область каппа-цепи и константную область каппа-цепи человека) (также упоминаемую в данном документе как легкая цепь полной длины Hu01G06 с IGKV1-39 S43A V48I; SEQ ID NO: 208)

```

1 diqmtqspss lsasvgdrvt itcrtsenlh nylawyqqkp gkapklliyd aktladgvps
61 rfsqsgsgtd ytltisslqp edfatyyqch fwsspytfqg gtleikrtv aapsvfifpp
121 sdeqlksqta svvcllnfy breakvqkwv dnalqsgnsq esvteqdsd styslsstlt
181 lskadyekhh vyacevthqg lsspvtksfm rgec

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая легкую цепь полной длины Hu01G06 F2 с

IGKV1-39 (гуманизированную переменную область каппа-цепи и константную область каппа-цепи человека) (SEQ ID NO: 263)

```

1 gacatccaaa tgaccagtc gccgtcgtcg ctttcagcgt cggtagggga tcgggtcaca
61 attacgtgcc gaacgtcaga gaatttgcac aactacctcg cgtgggtatca gcagaagccc
121 ggggaagtcac cgaaactcct tatctacgat gcgaaaacgc tggcggatgg agtgccgtcg
181 agattctcgg gaagcggatc cggtagcgac tatacgctta cgatctcatc gctccagccc
241 gaggactttg cgacgtacta ttgtcagcat ttttggtcgg acccctacac atttgggagc
301 gggaccaagt tggaaatcaa gcgcacagtt gctgccccca gcgtgttcat tttccacact
361 agcgatgagc agctgaaaag cggtagtcgc tctgtcgtat gcttgctcaa caacttttac
421 ccacgtgagg ctaagggtga gtggaaagt gataatgcac ttcaatctgg aaacagtcaa
481 gagtccgtga cagaacagga cagcaaagac tcaacttatt cactctcttc caccctgact
541 ctgtccaagg cagactatga aaaacacaag gtatacgctt gcgaggttac acaccagggg
601 ttgtctagtc ctgtcaccaa gtccttcaat aggggcgaat gt

```

Последовательность белка, определяющая легкую цепь полной длины Hu01G06 F2 с IGKV1-39 (гуманизированную переменную область каппа-цепи и константную область каппа-цепи человека) (SEQ ID NO: 264)

```

1 diqmtqspss lsasvgrdrv itcrtsenlh nylawyqqkp gkspklliyl aktladgvps
61 rfsqsgsgtd ylttisslqp edfatyyqcw fwsdpytfqg gtleikrtv aapsvfifpp
121 sdeqlksgta svvcllnfy preakvqkwv dnalqsgnsq esvteqdsd styslsstlt
181 lskadyekhk vyacevthqg lsspvtksfm rgec

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая химерную легкую цепь полной длины Ch06C11 (вариантную область каппа-цепи мыши и константную область каппа-цепи человека) (SEQ ID NO: 211)

```

1 gatatactga tgaccagtc ccagaagttc atgtcaactt cagtgggaga cagagtgtcc
61 gtcacatgta aagcctcgca aaatgtggga accaacgtag cgtgggttcca gcagaaacct
121 ggccaatcac cgaaggcact gatctactcg gccagctata ggtactcggg agtaccagat
181 cgggtttacgg ggtcggggag cgggacggac tttatcttca ctatttccaa tgtccagtcg
241 gaggaccttg cgaataactt ctgccagcag tataacaact atccctcacc gtttgggtgt
301 ggtacaaaat tggagttgaa gcgcacagtt gctgccccca gcgtgttcat tttccacact
361 agcgatgagc agctgaaaag cggtagtcgc tctgtcgtat gcttgctcaa caacttttac
421 ccacgtgagg ctaagggtga gtggaaagt gataatgcac ttcaatctgg aaacagtcaa
481 gagtccgtga cagaacagga cagcaaagac tcaacttatt cactctcttc caccctgact
541 ctgtccaagg cagactatga aaaacacaag gtatacgctt gcgaggttac acaccagggg
601 ttgtctagtc ctgtcaccaa gtccttcaat aggggcgaat gt

```

Последовательность белка, определяющая химерную легкую цепь полной длины Ch06C11 (вариантную область каппа-цепи мыши и константную область каппа-цепи человека) (SEQ ID NO: 212)

```

1 divmtqsqkf mstsvgrdrv vtckasqnv tnvawfqqkp gqspkaliys asyrysgvpd
61 rftqsgsgtd ftiltlnvqs edlaeyfcq ynnpyltfqa gtleikrtv aapsvfifpp
121 sdeqlksgta svvcllnfy preakvqkwv dnalqsgnsq esvteqdsd styslsstlt
181 lskadyekhk vyacevthqg lsspvtksfm rgec

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая легкую цепь полной длины Sh06C11 с IGKV1-16 (гуманизированную переменную область каппа-цепи и константную область каппа-цепи человека) (SEQ ID NO: 213)

```

1 gacatccaaa tgacccaatc gccctcctcc ctctccgcat cagttagggga ccgcgtcaca
61 attacttgca aagcgtcgca gaacgtcgga acgaatgtgg cgtgggttcca gcagaagccc
121 ggaagagctc cgaagagctt gatctactcg gccctcatata ggtattcggg tgtgcccagc
181 cgggtttacgg ggtcgggggc aggtactgat ttcacgctca caatttcatc gttgcagcca
241 gaagatttcg ccacatatta ctgtcagcag tacaacaatt accctctgac gttcggccag
301 ggaacccaac ttgagatcaa gcgcacagtt gctgccccca gcgtgttcat tttccacact
361 agcgatgagc agctgaaaag cggtagtcgc tctgtcgtat gcttgctcaa caacttttac
421 ccacgtgagg ctaagggtga gtggaaagt gataatgcac ttcaatctgg aaacagtcaa
481 gagtccgtga cagaacagga cagcaaagac tcaacttatt cactctcttc caccctgact
541 ctgtccaagg cagactatga aaaacacaag gtatacgctt gcgaggttac acaccagggg
601 ttgtctagtc ctgtcaccaa gtccttcaat aggggcgaat gt

```

Последовательность белка, определяющая легкую цепь полной длины Sh06C11 с IGKV1-16 (гуманизированную переменную область каппа-цепи и константную область каппа-цепи человека) (SEQ ID NO: 214)

```

1 diqmtqspss lsasvgrdrv itckasqnv tnvawfqqkp gkapksliys asyrysgvps
61 rfsqsgsgtd ftiltisslqp edfatyyqcw ynnpyltfqa gtleikrtv aapsvfifpp
121 sdeqlksgta svvcllnfy preakvqkwv dnalqsgnsq esvteqdsd styslsstlt
181 lskadyekhk vyacevthqg lsspvtksfm rgec

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая химерную легкую цепь полной длины Ch14F11 (вариантную область каппа-цепи мыши и константную область каппа-цепи человека) (SEQ ID NO: 215)

```

1 gacatcgtga tgacacagtc acagaaatc atgtccacat ccgtcgggtga tagagtatcc
61 gtcacgtgta aggcctcgca aaacgtagga actaatgtgg cgtgggtatca acagaagcca
121 ggacagtcac ccaaagcact catctacagc ccctcatatc ggtacagcgg ggtgccggac
181 aggttcacgg gatcggggag cgggaccgat tttacactga ccatttcgaa tgtccagtcg
241 gaggaccttg cggaatactt ctgccagcag tataactcgt accctcacac gtttggaggt
301 ggcactaagt tggagatgaa acgcacagtt gctgccccca gcgtgttcat tttcccacct
361 agcgaatgagc agctgaaaag cgtactgccc tctgtcgtat gcttgcctca caacttttac
421 ccacgtgagg ctaaggtgca gtggaaagtg gataatgcac ttcaatctgg aaacagtcaa
481 gagtccgtga cagaacagga cagcaaaagc tcaacttatt cactctcttc caccctgact
541 ctgtccaagg cagactatga aaaacacaag gtatacgccg gcgaggttac acaccagggt
601 ttgtctagtc ctgtcaccaa gtcccttcaat aggggcgaat gt

```

Последовательность белка, определяющая химерную легкую цепь полной длины Ch14F11 (варианбельную область каппа-цепи мыши и константную область каппа-цепи человека) (SEQ ID NO: 216)

```

1 divmtqsqkf mstsvgdrvs vtckasqnvq tnvwyyqqkp gqspkaliys psyrysgvpd
61 rftgsgsgtd fttltsnvqs edlaeyfcqq ynsyphftgg gtklemkrvt aapsvfifpp
121 sdeqlkshta svvcllnnfy preakvqwkvn dnalqsgnsq esvteqdskd styslsstlt
181 lskadyekhh vyacevthqg lsspvtksfm rgec

```

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая легкую цепь полной длины Hu14F11 с IGKV1-16 (гуманизированную варибельную область каппа-цепи и константную область каппа-цепи человека) (SEQ ID NO: 217)

```

1 gatattccaga tgacacagtc accctcgtcg ctctcagctt ccgtaggcga cagggtcact
61 attacgtgta aagcatcaca gaacgtcgga acgaatgtgg cgtgggttca gcagaagccc
121 gggaagagcc ccaaagcgct tatctactcc ccgtcgtatc ggtattccgg tgtgccaaagc
181 agatttttcgg ggtcagggttc gggaactgac tttaccctga ccattctctc cctccaaccg
241 gaagattttcg ccacgtactt ctgccagcag tacaacagct atccctcacac attcggacaa
301 gggacaaaagt tggagattaa acgcacagtt gctgccccca gcgtgttcat tttcccacct
361 agcgaatgagc agctgaaaag cgtactgccc tctgtcgtat gcttgcctca caacttttac
421 ccacgtgagg ctaaggtgca gtggaaagtg gataatgcac ttcaatctgg aaacagtcaa
481 gagtccgtga cagaacagga cagcaaaagc tcaacttatt cactctcttc caccctgact
541 ctgtccaagg cagactatga aaaacacaag gtatacgccg gcgaggttac acaccagggt
601 ttgtctagtc ctgtcaccaa gtcccttcaat aggggcgaat gt

```

Последовательность белка, определяющая легкую цепь полной длины Hu14F11 с IGKV1-16 (гуманизированную варибельную область каппа-цепи и константную область каппа-цепи человека) (SEQ ID NO: 218)

```

1 diqmtqspss lsasvgdrvt itckasqnvq tnvwfqqkp gkspkaliys psyrysgvps
61 rfsgsgsgtd fttltslqg edfatyfcqq ynsyphftgg gtkleikrvt aapsvfifpp
121 sdeqlkshta svvcllnnfy preakvqwkvn dnalqsgnsq esvteqdskd styslsstlt
181 lskadyekhh vyacevthqg lsspvtksfm rgec

```

Табл. 22 представляет собой карту соответствий, на которой приведены SEQ ID NO каждой последовательности, обсуждаемой в данном примере.

Таблица 22

SEQ ID NO.	Нуклеиновая кислота или белок
171	Константная область IgG1 человека—нуклеиновая кислота
172	Константная область IgG1 человека—белок
173	Константная область каппа-цепи человека—нуклеиновая кислота
174	Константная область каппа-цепи человека—белок
175	Гуманизированная химерная тяжелая цепь Ch01G06: варибельная область от человека + константная область IgG1 человека—нуклеиновая кислота
176	Гуманизированная химерная тяжелая цепь Ch01G06: варибельная область от человека + константная область IgG1 человека—белок
177	Гуманизированная тяжелая цепь Hu01G06: варибельная область IGHV1-18 от человека + константная область IgG1 человека—нуклеиновая кислота
178	Гуманизированная тяжелая цепь Hu01G06: варибельная область IGHV1-18 от человека + константная область IgG1 человека—белок
179	Гуманизированная тяжелая цепь Hu01G06: варибельная область IGHV1-69 от человека + константная область IgG1 человека—нуклеиновая кислота
180	Гуманизированная тяжелая цепь Hu01G06: варибельная область IGHV1-69 от человека + константная область IgG1 человека—белок
181	Гуманизированная тяжелая цепь Sh01G06: варибельная область IGHV1-18 M69L от человека + константная область IgG1 человека—нуклеиновая кислота
182	Гуманизированная тяжелая цепь Sh01G06: варибельная область IGHV1-18 M69L от человека + константная область IgG1 человека—белок
183	Гуманизированная тяжелая цепь Sh01G06: варибельная область IGHV1-18 M69L K64Q G44S от человека + константная область IgG1 человека—нуклеиновая кислота
184	Гуманизированная тяжелая цепь Sh01G06: варибельная область IGHV1-18 M69L K64Q G44S от человека + константная область IgG1 человека—белок
185	Гуманизированная тяжелая цепь Sh01G06: варибельная область IGHV1-18 M69L K64Q от человека + константная область IgG1 человека—нуклеиновая кислота
186	Гуманизированная тяжелая цепь Sh01G06: варибельная область IGHV1-18 M69L K64Q от человека + константная область IgG1 человека—белок
187	Гуманизированная тяжелая цепь Sh01G06: варибельная область IGHV1-69 T30S I69L от человека + константная область IgG1 человека—нуклеиновая кислота
188	Гуманизированная тяжелая цепь Sh01G06: варибельная область IGHV1-69 T30S I69L от человека + константная область IgG1 человека—белок
189	Гуманизированная тяжелая цепь Sh01G06: варибельная область IGHV1-69 T30S K64Q I69L от человека + константная область IgG1 человека—нуклеиновая кислота

[illegible]

SEQ ID NO.	Нуклеиновая кислота или белок
209	Гуманизированная цепь Hu01G06: переменная область IGKV1-39 V48I от человека + константная область каппа-цепи человека—нуклеиновая кислота
210	Гуманизированная цепь Hu01G06: переменная область IGKV1-39 V48I от человека + константная область каппа-цепи человека—белок
207	Гуманизированная цепь Hu01G06 F1: переменная область IGKV1-39 от человека + константная область каппа-цепи человека—нуклеиновая кислота
208	Гуманизированная цепь Hu01G06 F1: переменная область IGKV1-39 от человека + константная область каппа-цепи человека—белок
263	Гуманизированная цепь Hu01G06: переменная область IGKV1-39 F2 от человека + константная область каппа-цепи человека—нуклеиновая кислота
264	Гуманизированная цепь Hu01G06: переменная область IGKV1-39 F2 от человека + константная область каппа-цепи человека—белок
211	Гуманизированная химерная цепь Ch06C11: переменная область от человека + константная область каппа-цепи человека—нуклеиновая кислота
212	Гуманизированная химерная цепь Ch06C11: переменная область от человека + константная область каппа-цепи человека—белок
213	Гуманизированная цепь Sh06C11: переменная область IGKV1-16 от человека + константная область каппа-цепи человека—нуклеиновая кислота
214	Гуманизированная цепь Sh06C11: переменная область IGKV1-16 от человека + константная область каппа-цепи человека—белок
215	Гуманизированная химерная цепь Ch14F11: переменная область от человека + константная область каппа-цепи человека—нуклеиновая кислота
216	Гуманизированная химерная цепь Ch14F11: переменная область от человека + константная область каппа-цепи человека—белок
217	Гуманизированная цепь Hu14F11: переменная область IGKV1-16 от человека + константная область каппа-цепи человека—нуклеиновая кислота
218	Гуманизированная цепь Hu14F11: переменная область IGKV1-16 от человека + константная область каппа-цепи человека—белок

В табл. 23 ниже представлены антитела, содержащие химерные тяжелую и легкую цепи иммуноглобулина и иллюстративные комбинации химерных или гуманизированных тяжелой и легкой цепей иммуноглобулина полной длины.

Таблица 23

Название антитела	Легкая цепь	Тяжелая цепь
Hu01G06-1	Гуманизированная химерная цепь Ch01G06: переменная область от человека + константная область каппа-цепи человека (SEQ ID NO:204)	Гуманизированная химерная тяжелая цепь Ch01G06: переменная область от человека + константная область IgG1 человека (SEQ ID NO:176)
Hu01G06-46	Гуманизированная цепь Hu01G06: переменная область IGKV1-39 от человека + константная область каппа-цепи человека (SEQ ID NO:206)	Гуманизированная тяжелая цепь Hu01G06: переменная область IGHV1-18 от человека + константная область IgG1 человека (SEQ ID NO:178)
Hu01G06-52	Гуманизированная цепь Hu01G06: переменная область IGKV1-39 от человека + константная область каппа-цепи человека (SEQ ID NO:206)	Гуманизированная тяжелая цепь Hu01G06: переменная область IGHV1-69 от человека + константная область IgG1 человека (SEQ ID NO:180)
Hu01G06-100	Гуманизированная цепь Hu01G06: переменная область IGKV1-39 от человека + константная область каппа-цепи человека (SEQ ID NO:206)	Гуманизированная тяжелая цепь Sh01G06: переменная область IGHV1-18 M69L от человека + константная область IgG1 человека (SEQ ID NO:182)

[illegible]

[illegible]

Название антитела	Легкая цепь	Тяжелая цепь
Hu14F11-1	Гуманизированная химерная цепь Ch14F11: переменная область от человека + константная область kappa-цепи человека (SEQ ID NO:216)	Гуманизированная химерная тяжелая цепь Ch14F11: переменная область от человека + константная область IgG1 человека (SEQ ID NO:198)
Hu14F11-23	Гуманизированная химерная цепь Ch14F11: переменная область от человека + константная область kappa-цепи человека (SEQ ID NO:216)	Гуманизированная химерная тяжелая цепь Ch06C11: переменная область от человека + константная область IgG1 человека (SEQ ID NO:192)
Hu14F11-24	Гуманизированная химерная цепь Ch06C11: переменная область от человека + константная область kappa-цепи человека (SEQ ID NO:212)	Гуманизированная химерная тяжелая цепь Ch14F11: переменная область от человека + константная область IgG1 человека (SEQ ID NO:198)
Hu14F11-39	Гуманизированная цепь Hu14F11: переменная область IGKV1-16 от человека + константная область kappa-цепи человека (SEQ ID NO:218)	Гуманизированная тяжелая цепь Sh14F11: переменная областьIGHV2-5 от человека + константная область IgG1 человека (SEQ ID NO:200)
Hu14F11-47	Гуманизированная цепь Hu14F11: переменная область IGKV1-16 от человека + константная область kappa-цепи человека (SEQ ID NO:218)	Гуманизированная тяжелая цепь Sh14F11: переменная областьIGHV2-70 от человека + константная область IgG1 человека (SEQ ID NO:202)

Конструкции антител, содержащие химерные тяжелую и легкую цепи полной длины, указаны ниже.

Химерное 01G06 (Hu01G06-1) = химерная тяжелая цепь полной длины Ch01G06 (переменная область тяжелой цепи мыши и константная область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 176) и химерная легкая цепь полной длины Ch01G06 (переменная область kappa-цепи мыши и константная область kappa-цепи человека) (SEQ ID NO: 204)

Химерное 06C11 (Hu06C11-1) = химерная тяжелая цепь полной длины Ch06C11 (переменная область тяжелой цепи мыши и константная область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 192) и химерная легкая цепь полной длины Ch06C11 (переменная область kappa-цепи мыши и константная область kappa-цепи человека) (SEQ ID NO: 212)

Химерное 14F11 (Hu14F11-1) = химерная тяжелая цепь полной длины Ch14F11 (переменная область тяжелой цепи мыши и константная область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 198) и химерная легкая цепь полной длины Ch14F11 (переменная область kappa-цепи мыши и константная область kappa-цепи человека) (SEQ ID NO: 216)

Пятнадцать возможных конструкций антител, содержащих тяжелую и легкую цепи иммуноглобулина полной длины, содержащие гуманизированные переменные области, указаны ниже.

Hu01G06-46 = тяжелая цепь полной длины Hu01G06 с IGHV1-18 (гуманизированная переменная область тяжелой цепи и константная область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 178) и легкая цепь полной длины Hu01G06 с IGKV1-39 (гуманизированная переменная область kappa-цепи и константная область kappa-цепи человека) (SEQ ID NO: 206)

Hu01G06-52 = тяжелая цепь полной длины Hu01G06 с IGHV1-69 (гуманизированная переменная область тяжелой цепи и константная область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 180) и легкая цепь полной длины Hu01G06 с IGKV1-39 (гуманизированная переменная область kappa-цепи и константная область kappa-цепи человека) (SEQ ID NO: 206)

Hu01G06-107 = тяжелая цепь полной длины Sh01G06 с IGHV1-18 M69L K64Q G44S (гуманизированная переменная область тяжелой цепи и константная область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 184) и легкая цепь полной длины Hu01G06 с IGKV1-39 V48I (гуманизированная переменная область kappa-цепи и константная область kappa-цепи человека) (SEQ ID NO: 210)

Hu01G06-108 = тяжелая цепь полной длины Sh01G06 с IGHV1-69 T30S I69L (гуманизированная переменная область тяжелой цепи и константная область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 188) и легкая цепь полной длины Hu01G06 с IGKV1-39 V48I (гуманизированная переменная область kappa-цепи и константная область kappa-цепи человека) (SEQ ID NO: 210)

Hu01G06-112 = тяжелая цепь полной длины Sh01G06 с IGHV1-18 M69L K64Q G44S (гуманизированная переменная область тяжелой цепи и константная область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 184) и легкая цепь полной длины

Hu01G06 с IGKV1-39 S43A V48I (гуманизированная переменная область kappa-цепи и константная область kappa-цепи человека) (SEQ ID NO: 208)

Hu01G06-113 = тяжелая цепь полной длины Sh01G06 с IGHV1-69 T30S I69L (гуманизированная переменная область тяжелой цепи и константная область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 188) и легкая цепь полной длины Hu01G06 с IGKV1-39 S43A V48I (гуманизированная переменная область kappa-цепи и константная область kappa-цепи человека) (SEQ ID NO: 208)

Hu01G06-122 = тяжелая цепь полной длины Hu01G06 F1 с IGHV1-18 (гуманизированная переменная область тяжелой цепи и константная область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 256) и легкая цепь полной длины Hu01G06 F1 с IGKV1-39 (гуманизированная переменная область каппа-цепи и константная область каппа-цепи человека) (SEQ ID NO: 208)

Hu01G06-127 = тяжелая цепь полной длины Hu01G06 F2 с IGHV1-18 (гуманизированная переменная область тяжелой цепи и константная область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 258) и легкая цепь полной длины Hu01G06 F2 с IGKV1-39 (гуманизированная переменная область каппа-цепи и константная область каппа-цепи человека) (SEQ ID NO: 264)

Hu01G06-135 = тяжелая цепь полной длины Hu01G06 F1 с IGHV1-69 (гуманизированная переменная область тяжелой цепи и константная область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 260) и легкая цепь полной длины Hu01G06 F1 с IGKV1-39 (гуманизированная переменная область каппа-цепи и константная область каппа-цепи человека) (SEQ ID NO: 208)

Hu01G06-138 = тяжелая цепь полной длины Hu01G06 F2 с IGHV1-69 (гуманизированная переменная область тяжелой цепи и константная область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 262) и легкая цепь полной длины Hu01G06 F1 с IGKV1-39 (гуманизированная переменная область каппа-цепи и константная область каппа-цепи человека) (SEQ ID NO: 208)

Hu01G06-146 = тяжелая цепь полной длины Hu01G06 F2 с IGHV1-69 (гуманизированная переменная область тяжелой цепи и константная область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 262) и легкая цепь полной длины Hu01G06 F2 с IGKV1-39 (гуманизированная переменная область каппа-цепи и константная область каппа-цепи человека) (SEQ ID NO: 264)

Hu06C11-27 = тяжелая цепь полной длины HE LM 06C11 с IGHV2-70 (гуманизированная переменная область тяжелой цепи и константная область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 194) и легкая цепь полной длины Sh06C11 с IGKV1-16 (гуманизированная переменная область каппа-цепи и константная область каппа-цепи человека) (SEQ ID NO: 214)

Hu06C11-30 = тяжелая цепь полной длины Hu06C11 с IGHV2-5 (гуманизированная переменная область тяжелой цепи и константная область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 196) и легкая цепь полной длины Sh06C11 с IGKV1-16 (гуманизированная переменная область каппа-цепи и константная область каппа-цепи человека) (SEQ ID NO: 214)

Hu14F11-39 = тяжелая цепь полной длины Sh14F11 с IGHV2-5 (гуманизированная переменная область тяжелой цепи и константная область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 200) и легкая цепь полной длины Hu14F11 с IGKV1-16 (гуманизированная переменная область каппа-цепи и константная область каппа-цепи человека) (SEQ ID NO: 218)

Hu14F11-47 = тяжелая цепь полной длины Sh14F11 с IGHV2-70 (гуманизированная переменная область тяжелой цепи и константная область IgG1 человека) (SEQ ID NO: 202) и легкая цепь полной длины Hu14F11 с IGKV1-16 (гуманизированная переменная область каппа-цепи и константная область каппа-цепи человека) (SEQ ID NO: 218)

Пример 15. Аффинность связывания гуманизированных и химерных моноклональных антител к GDF15

Аффинность связывания и кинетические параметры связывания химерных и гуманизированных антител с mFc-rhGDF15 определяли методом поверхностного плазмонного резонанса с применением прибора BIAcore® T100 (GE Healthcare, Пискатауэй, Нью-Джерси).

Антитело козы к IgG человека (специфичное к Fc-фрагменту, Jackson ImmunoResearch, Вест-Гроув, Пенсильвания) иммобилизовали на сенсорных чипах CM4 со слоем карбоксиметилированного декстрана посредством реакции сочетания с аминами в соответствии со стандартным протоколом. Анализы проводили при 37°C с применением PBS, содержащего 0,05% поверхностно-активного вещества P20, в качестве подвижного буфера. Антитела захватывались в отдельные проточные ячейки при скорости потока 10 мкл/мин. Время введения варьировали для каждого антитела так, чтобы достичь R_{max} от 30 до 60 RU. Буфер или mFc-rhGDF15, разбавленный подвижным буфером, вводили последовательно на эталонную поверхность (без захваченных антител) и активную поверхность (с антителами, подлежащими испытанию) в течение 240 с при 60 мкл/мин. Фазу диссоциации отслеживали в течение периода до 1200 с. Поверхность затем регенерировали путем двух 60-секундных введений 10 mM глицина-HCl, pH 2,25 при скорости потока 30 мкл/мин. Диапазон концентрации GDF15 в испытании составлял от 20 до 0,625 nM.

Кинетические параметры определяли с использованием кинетической функции программного обеспечения BIAevaluation (GE Healthcare) с вычитанием двух контрольных реакций. Для каждого антитела определяли следующие кинетические параметры: k_a (константа скорости ассоциации), k_d (константа скорости диссоциации) и K_D (равновесная константа диссоциации). Значения кинетических параметров очищенных моноклональных антител в комплексе с mFc-rhGDF15 обобщены в табл. 24.

Таблица 24

Антитело	k_a (1/M*с)	k_d (1/с)	K_D (M)	n
Hu01G06-1	4,2E+06	6,4E-04	1,6E-10	8
Hu01G06-46	3,6E+06	3,8E-04	1,1E-10	11
Hu01G06-52	3,6E+06	3,6E-04	9,9E-11	10
Hu06C11-1	5,3E+06	8,4E-04	1,8E-10	2
Hu06C11-27	4,7E+06	8,2E-04	1,8E-10	2
Hu06C11-30	4,8E+06	8,7E-04	1,8E-10	2
Hu14F11-1	3,0E+06	4,6E-04	1,6E-10	2
Hu14F11-39	3,0E+06	1,9E-04	6,6E-11	2
Hu14F11-47	3,3E+06	1,8E-04	6,5E-11	2

Результаты в табл. 24 демонстрируют, что химерное и каждое из гуманизированных антител характеризуются высокой скоростью ассоциации (k_a), очень низкой скоростью диссоциации (k_d) и очень высокой аффинностью (K_D). В частности, антитела характеризуются аффинностью, варьирующей в диапазоне от приблизительно 65 до приблизительно 200 пМ.

Значения кинетических параметров химерного 01G06 (Hu01G06-1), двух исходных лидерных гуманизированных моноклональных антител 01G06 (Hu01G06-46 и -52) и вариантов гуманизированного моноклонального антитела 01G06 с оптимизированной последовательностью Hu01G06 100-114 (в надосадочной жидкости) в комплексе с mFc-rhGDF15 обобщены в табл. 25.

Таблица 25

Антитело	k_a (1/M*с)	k_d (1/с)	K_D (M)	n
Hu01G06-1	4,9E+06	7,1E-04	1,4E-10	3
Hu01G06-46	4,1E+06	4,3E-04	1,0E-10	3
Hu01G06-52	5,0E+06	4,4E-04	8,9E-11	3
Hu01G06-100	4,1E+06	6,2E-04	1,5E-10	3
Hu01G06-101	4,4E+06	6,3E-04	1,4E-10	3
Hu01G06-102	4,4E+06	4,6E-04	1,1E-10	3
Hu01G06-103	4,4E+06	4,7E-04	1,1E-10	3
Hu01G06-104	4,5E+06	5,2E-04	1,2E-10	3
Hu01G06-105	4,3E+06	5,6E-04	1,3E-10	3
Hu01G06-106	4,3E+06	7,0E-04	1,6E-10	3
Hu01G06-107	4,1E+06	4,7E-04	1,2E-10	3
Hu01G06-108	4,2E+06	4,6E-04	1,2E-10	3
Hu01G06-109	4,6E+06	5,6E-04	1,3E-10	4
Hu01G06-110	4,3E+06	5,8E-04	1,4E-10	4
Hu01G06-111	4,3E+06	6,6E-04	1,6E-10	3
Hu01G06-112	4,7E+06	5,3E-04	1,2E-10	3
Hu01G06-113	4,5E+06	4,8E-04	1,1E-10	3
Hu01G06-114	4,5E+06	5,4E-04	1,3E-10	3

Результаты в табл. 25 демонстрируют, что антитела с оптимизированной последовательностью, Hu01G06 100-114, характеризуются аффинностью связывания, варьирующей в диапазоне от приблизительно 89 до приблизительно пМ.

Аффинность связывания и кинетические параметры связывания mFc-rhGDF15 с вариантами моноклональных антител с тяжелой цепью - химерным антителом 14F11 (Hu14F11-1), антителом с химерной легкой цепью 14F11 и химерной тяжелой цепью 06C11 (Hu14F11-23), а также антителом с химерной легкой цепью 06C11 и химерной тяжелой цепью 14F11 (Hu14F11-24) (в надосадочной жидкости) - определяли с помощью биослойной интерферометрии (BLI) на приборе Octet™ QK (ForteBio, Inc., Менло-Парк, Калифорния). Анализ на Octet проводили при 30°C с применением 1X буфера для кинетического анализа (ForteBio, Inc.) в качестве аналитического буфера. Применяли биодатчики для захвата антител к Fc IgG человека (АНС) (ForteBio, Inc.) для захвата антител человека датчиками. Датчики насыщали в аналитическом буфере в течение 300 с перед анализом. Антитела загружали на датчики путем погружения датчиков в раствор надосадочной жидкости с антителами на 220 с, что обычно приводило к уровню захвата 1,5-2 нм. Исходный уровень устанавливали путем погружения датчиков в 1X аналитический буфер на 200 с. Затем отслеживали ассоциацию в 400 нМ растворе белка mFc-rhGDF15 в течение 220 с с последующей диссоциацией в течение 600 с в буфере в отдельности.

Кинетические параметры для Hu14F11-1, Hu14F11-23 и Hu14F11-24 определяли с помощью кинетической функции программного обеспечения для анализа ForteBio версии 7.0. Определяли кинетические параметры антитела, k_a , k_d и K_D .

Значения кинетических параметров вариантов моноклональных антител с тяжелой цепью Hu14F11-1, Hu14F11-23 и Hu14F11-24 (в надосадочной жидкости) в комплексе с mFc-rhGDF15 обобщены в табл. 26.

Таблица 26

Антитело	k_a (1/M*с)	k_d (1/с)	K_D (M)	n
Hu14F11-1	6,3E+05	1,9E-05	3,2E-11	3
Hu14F11-23	3,4E+05	6,2E-05	1,8E-10	1
Hu14F11-24	7,1E+05	2,2E-04	3,1E-10	1

Результаты в табл. 26 демонстрируют, что Hu14F11-23 и Hu14F11-24 (т.е. антитела, которые состо-

ят из одной химерной цепи 06C11 (тяжелой или легкой) в комбинации с одной химерной цепью 14F11 (тяжелой или легкой)), сохраняют связывание с GDF15. В частности, эти антитела характеризуются высокой аффинностью, варьирующей в диапазоне от приблизительно 180 до приблизительно 310 пМ.

Пример 16. Аффинность связывания гуманизированных моноклональных антител к GDF15, подвергшихся созреванию аффинности

Аффинность связывания и кинетические параметры связывания химерных и гуманизированных антител с mFc-rhGDF15, отщепленным rhGDF15, зрелым рекомбинантным GDF15 мыши, слитым с Fc кролика (rFc-rmGDF15), и зрелым рекомбинантным GDF15 яванского макака, слитым с Fc мыши (mFc-rcGDF15), определяли методом поверхностного плазмонного резонанса с применением прибора BIAcore® T100 (GE Healthcare, Пискатауэй, Нью-Джерси).

Антитело козы к IgG человека (специфичное к Fc-фрагменту, Jackson ImmunoResearch, Вест-Гроув, Пенсильвания) иммобилизовали на сенсорных чипах CM4 со слоем карбоксиметилированного декстрана посредством реакции сочетания с аминами в соответствии со стандартным протоколом. Анализы проводили при 37°C с применением PBS, содержащего 0,05% поверхностно-активного вещества P20, в качестве подвижного буфера. Антитела захватывались в отдельные проточные ячейки при скорости потока 10 мкл/мин. Время введения варьировали для каждого антитела так, чтобы достичь R_{max} от 30 до 60 RU. Буфер, mFc-rhGDF15, отщепленный rhGDF15, rFc-rmGDF15 или mFc-rcGDF15, разбавленные подвижным буфером, вводили последовательно на эталонную поверхность (без захваченных антител) и активную поверхность (с антителами, подлежащими испытанию) в течение 240 с при 60 мкл/мин. Фазу диссоциации отслеживали в течение периода до 1500 с. Поверхность затем регенерировали путем двух 60-секундных введений 10 мМ глицина-HCl, pH 2,25 при скорости потока 30 мкл/мин. Диапазон концентрации GDF15 в испытании для каждого белка GDF15 составлял от 5 до 0,3125 нМ (двукратные разведения).

Кинетические параметры определяли с использованием кинетической функции программного обеспечения BIAevaluation (GE Healthcare) с вычитанием двух контрольных реакций. Для каждого антитела определяли следующие кинетические параметры: k_a (константа скорости ассоциации), k_d (константа скорости диссоциации) и K_D (равновесная константа диссоциации). Значения кинетических параметров очищенных моноклональных антител в комплексе с mFc-rhGDF15, зрелым GDF15 человека, rFc-rmGDF15 и mFc-rcGDF15 обобщены в табл. 27.

Таблица 27

Белок	Антитело	k_a (1/M*с)	k_d (1/с)	K_D (M)	n
mFc-rhGDF15	Hu01G06-122	5,9E+06	2,1E-05	6,5E-12	5
	Hu01G06-127	4,6E+06	4,2E-05	1,8E-11	4
	Hu01G06-135	5,3E+06	4,4E-05	1,4E-11	5
	Hu01G06-138	5,9E+06	4,1E-05	1,1E-11	5
	Hu01G06-146	5,3E+06	2,6E-05	9,3E-12	5
Отщепленный rhGDF15	Hu01G06-122	7,9E+06	3,4E-05	7,9E-12	4
	Hu01G06-127	6,1E+06	3,6E-05	1,0E-11	4
	Hu01G06-135	7,3E+06	6,2E-05	1,0E-11	4
	Hu01G06-138	7,9E+06	2,5E-05	4,5E-12	4
	Hu01G06-146	6,5E+06	5,2E-05	1,1E-11	4
mFc-rcGDF15	Hu01G06-122	2,3E+06	2,4E-05	1,0E-11	4
	Hu01G06-127	1,8E+06	1,6E-05	9,5E-12	4
	Hu01G06-135	2,2E+06	7,9E-05	3,8E-11	4
	Hu01G06-138	2,3E+06	5,3E-05	2,5E-11	4
	Hu01G06-146	2,0E+06	1,5E-05	8,0E-12	4
rFc-rmGDF15	Hu01G06-122	2,2E+07	1,4E-03	6,3E-11	2
	Hu01G06-127	3,9E+07	2,1E-03	5,1E-11	2
	Hu01G06-135	3,7E+07	1,9E-03	5,5E-11	2
	Hu01G06-138	1,9E+07	8,0E-04	4,4E-11	2
	Hu01G06-146	1,1E+07	7,2E-04	6,3E-11	2

Результаты в табл. 27 демонстрируют, что химерное и каждое из гуманизированных антител характеризуются высокой скоростью ассоциации (k_a), очень низкой скоростью диссоциации (k_d) и очень высокой аффинностью (K_D). В частности, антитела характеризуются аффинностью, варьирующей в диапазоне от менее 5 пМ (например, приблизительно 4,5 пМ) до приблизительно 65 пМ.

Пример 17. Регрессия кахексии в ксенотрансплантатной модели фибросаркомы HT-1080

В данном примере демонстрируется регрессию кахексии (на что указывает потеря веса тела) при применении гуманизированных антител 01G06, 06C11, 14F11 в ксенотрансплантатной модели фибросаркомы HT-1080. Клетки HT-1080 выращивали в культуре при 37°C и инокулировали подкожно в бок самкам мышей ICR-SCID в возрасте 8 недель, как описано выше в примере 10. Вес тела измеряли ежедневно. Когда вес тела достигал 93%, мышей разделяли случайным образом на группы по десять мышей в каждой. Каждая группа получала один из следующих видов обработки: IgG мыши в качестве контроля, 01G06, 06C11, 14F11 и их соответствующие гуманизированные варианты в дозе 2 мг/кг. Обработку проводили один раз в день путем интраперитонеальной инъекции. Обработка антителами 01G06, Hu01G06-46 и Hu01G06-52 приводила к увеличению веса тела по сравнению с начальным весом до 100% ($p < 0,001$)

(фиг. 23). Статистический анализ проводили с применением ANOVA. Результаты, демонстрирующие обращение вспять потери веса тела за день в модели HT-1080, показаны на фиг. 23 и в табл. 28 соответственно.

Таблица 28

Группа	Обработка		% веса тела	Анализ ANOVA (по сравнению с mIgG)
	Средство	мг/кг		
1	mIgG	2	79,5	данные отсутствуют
2	01G06	2	87,6	$p<0,001$
3	Hu01G06-46	2	95,4	$p<0,001$
4	Hu01G06-52	2	87,8	$p<0,001$

Данные на фиг. 23 и в табл. 28 указывают на то, что антитела 01G06, Hu01G06-46 и Hu01G06-52 могут способствовать регрессии кахексии в ксенотрансплантатной модели фибросаркомы HT-1080.

Обработка антителами 06C11, Hu06C11-27 и Hu06C11-30 приводила к увеличению веса тела по сравнению с начальным весом или приблизительно 100% ($p<0,001$) (фиг. 24). Статистический анализ проводили с применением ANOVA. Результаты, демонстрирующие обращение вспять потери веса тела в модели HT-1080, показаны на фиг. 24 и в табл. 29.

Таблица 29

Группа	Обработка		% веса тела	Анализ ANOVA (по сравнению с mIgG)
	Средство	мг/кг		
1	mIgG	2	87,7	данные отсутствуют
2	06C11	2	93,6	$p<0,001$
3	Hu06C11-27	2	93,2	$p<0,001$
4	Hu06C11-30	2	89,8	$p<0,01$

Данные на фиг. 24 и в табл. 29 указывают на то, что антитела 06C11, Hu06C11-27 и Hu06C11-30 могут способствовать регрессии кахексии в ксенотрансплантатной модели фибросаркомы HT-1080.

Обработка антителами 14F11, Hu14F11-39 и Hu14F11-47 приводила к увеличению веса тела по сравнению с начальным весом или приблизительно 100% ($p<0,001$) (фиг. 25). Статистический анализ проводили с применением ANOVA.

Результаты, демонстрирующие обращение вспять потери веса тела в модели HT-1080, показаны на фиг. 25 и в табл. 30.

Таблица 30

Группа	Обработка		% веса тела	Анализ ANOVA (по сравнению с mIgG)
	Средство	мг/кг		
1	mIgG	2	87,7	данные отсутствуют
2	14F11	2	96,6	$p<0,001$
3	Hu14F11-39	2	90,5	$p<0,001$
4	Hu14F11-47	2	90,7	$p<0,001$

Данные на фиг. 25 и в табл. 30 указывают на то, что антитела 14F11, Hu14F11-39 и Hu14F11-47 могут способствовать регрессии кахексии в ксенотрансплантатной модели фибросаркомы HT-1080.

Обработка гуманизированными антителами 01G06 (т.е. антителами Hu01G06-122, Hu01G06-127, Hu01G06-135, Hu01G06-138 и Hu01G06-146) приводила к увеличению веса тела по сравнению с начальным весом или приблизительно 100% ($p<0,001$) (фиг. 26). Статистический анализ проводили с применением ANOVA. Обработку с помощью IgG человека (hIgG) применяли в качестве контроля. Результаты, демонстрирующие обращение вспять потери веса тела в модели HT-1080, показаны на фиг. 26 и в табл. 31.

Таблица 31

Группа	Обработка		% веса тела	Анализ ANOVA (по сравнению с hIgG)
	Средство	мг/кг		
1	hIgG	2	84,2	данные отсутствуют
2	Hu01G06-122	2	96,3	$p<0,001$
3	Hu01G06-127	2	96,1	$p<0,001$
4	Hu01G06-135	2	93,5	$p<0,001$
5	Hu01G06-138	2	91,9	$p<0,001$
6	Hu01G06-146	2	92,7	$p<0,001$

Данные на фиг. 26 и в табл. 31 указывают на то, что гуманизированные антитела к GDF15 Hu01G06-122, Hu01G06-127, Hu01G06-135, Hu01G06-138 и Hu01G06-146 могут способствовать регрессии кахексии в ксенотрансплантатной модели фибросаркомы HT-1080.

Пример 18. Регрессия кахексии в модели с индукцией mFc-rhGDF15

В данном примере демонстрируется регрессия кахексии (на что указывает потеря веса тела) при применении гуманизированных антител 01G06 (т.е. антител Hu01G06-122, Hu01G06-127, Hu01G06-135,

Hu01G06-138 или Hu01G06-146) в модели кахексии, индуцированной mFc-rhGDF15. mFc-rhGDF15 (1 мкг/г) вводили подкожно в бок самкам мышей ICR-SCID в возрасте 8 недель. Вес тела измеряли ежедневно. Когда вес тела достигал 93%, мышей разделяли случайным образом на шесть групп по десять мышей в каждой. Каждая группа получала один из следующих видов обработки: IgG человека (hIgG) в качестве контроля, Hu01G06-122, Hu01G06-127, Hu01G06-135, Hu01G06-138 или Hu01G06-146 в дозе 2 мг/кг. Обработку проводили один раз путем интраперитонеальной инъекции. Обработка антителами Hu01G06-122, Hu01G06-127, Hu01G06-135, Hu01G06-138 или Hu01G06-146 приводила к увеличению веса тела по сравнению с начальным весом или приблизительно 100% ($p < 0,001$) (фиг. 27 и табл. 32).

Таблица 32

Группа	Обработка		% веса тела	Анализ ANOVA (по сравнению с hIgG)
	Средство	мг/кг		
1	hIgG	2	70,6	данные отсутствуют
2	Hu01G06-122	2	101,7	$p < 0,001$
3	Hu01G06-127	2	103,2	$p < 0,001$
4	Hu01G06-135	2	102,5	$p < 0,001$
5	Hu01G06-138	2	101,8	$p < 0,001$
6	Hu01G06-146	2	102,5	$p < 0,001$

Данные на фиг. 27 и в табл. 32 указывают на то, что раскрытые антитела к GDF15 могут способствовать регрессии кахексии в модели с индукцией mFc-rhGDF15 на мышах (т.е. модели на мышах, не несущих опухоли).

Эти результаты указывают на то, что гуманизированные антитела к GDF15 могут способствовать регрессии кахексии в модели кахексии, индуцированной mFc-rhGDF15.

Пример 19. Регрессия кахексии с зависимостью "доза-ответ" в ксенотрансплантатной модели фибросаркомы HT-1080

В данном примере демонстрируется регрессия кахексии с зависимостью "доза-ответ" (на что указывает потеря веса тела) при применении гуманизированных антител Hu01G06-127 и Hu01G06-135 в ксенотрансплантатной модели фибросаркомы HT-1080. Клетки HT-1080 выращивали в культуре при 37°C и инокулировали подкожно в бок самкам мышей ICR-SCID в возрасте 8 недель, как описано выше в примере 10. Вес тела измеряли ежедневно. Когда вес тела достигал 93%, мышей разделяли случайным образом на группы по десять мышей в каждой. Каждая группа получала один из следующих видов обработки: IgG человека в качестве контроля (hIgG; 20 мг/кг), Hu01G06-127 (20, 2 или 0,2 мг/кг) и Hu01G06-135 (20, 2 или 0,2 мг/кг). Обработку проводили один раз в день путем внутривенной инъекции. Обработка антителами Hu01G06-127 и Hu01G06-135 в дозе 20 мг/кг приводила к увеличению веса тела по сравнению с начальным весом до 108% ($p < 0,001$) (фиг. 28). Обработка антителами Hu01G06-127 и Hu01G06-135 в дозе 2 мг/кг приводила к незначительному снижению веса тела по сравнению с контролем (hIgG) относительно начального веса до 88-85% ($p < 0,001$) (фиг. 28). Статистический анализ проводили с применением ANOVA. Результаты, демонстрирующие изменения веса тела в конце исследования в модели HT-1080, показаны на фиг. 28 и в табл. 33.

Таблица 33

Группа	Обработка		% веса тела	Анализ ANOVA (по сравнению с hIgG)
	Средство	мг/кг		
1	hIgG	20	75,2	данные отсутствуют
2	Hu01G06-127	20	108,9	$p < 0,001$
3	Hu01G06-127	2,0	88,1	$p < 0,001$
4	Hu01G06-127	0,2	80,0	незначимо
5	Hu01G06-135	20	108,6	$p < 0,001$
6	Hu01G06-135	2,0	85,2	$p < 0,01$
7	Hu01G06-135	0,2	77,3	незначимо

Данные на фиг. 28 и в табл. 33 указывают на то, что антитела Hu01G06-127 и Hu01G06-135 могут способствовать регрессии кахексии в ксенотрансплантатной модели фибросаркомы HT-1080 в зависимости от дозы.

Пример 20. Обращение вспять потери мышечной и жировой массы в ксенотрансплантатной модели опухоли HT-1080

В данном примере демонстрируется регрессия кахексии (на что указывают потеря веса тела, потеря мышечной массы и потеря массы жировой ткани) при применении антитела 01G06 в ксенотрансплантатной модели фибросаркомы HT-1080. Клетки HT-1080 выращивали в культуре при 37°C в атмосфере 5% CO₂ с применением минимальной поддерживающей среды Игла (ATCC, № по каталогу 30-2003), содержащей 10% FBS. Клетки инокулировали подкожно в бок самкам мышей ICR-SCID в возрасте 8 недель в количестве 5×10^6 клеток на мышь в 50% матригеле. В качестве контрольной группы без опухоли (имитация инокуляции) отбирали когорту из десяти самок мышей ICR-SCID в возрасте 8 недель с одинаковым

весом тела для подкожной инокуляции в бок матригеля. Вес тела измеряли ежедневно. Когда вес тела у мышей, несущих опухоль, достигал 91%, мышей разделяли случайным образом на две группы по десять мышей в каждой. Каждая группа получала один из следующих видов обработки: IgG человека (hIgG) в качестве контроля или Nu01G06-127 в дозе 10 мг/кг в 1, 3 и 6 день. Обработку проводили путем интраперитонеальной инъекции. Обработка антителом Nu01G06-127 приводила к увеличению веса тела до 105% от исходного веса по сравнению с мышами контрольной группы, не несущими опухоли (имитация инокуляции, $p < 0,001$) (фиг. 29А и табл. 34).

Таблица 34

Группа	Обработка		% веса тела	Анализ ANOVA (по сравнению с hIgG)
	Средство	мг/кг		
1	hIgG	10	84,3	данные отсутствуют
2	Nu01G06-127	10	105,4	$p < 0,001$
2	Контрольная группа без опухоли, имитация инокуляции	Отсутствует	101,9	$p < 0,001$

Данные на фиг. 29А и в табл. 34 указывают на то, что раскрытое антитело к GDF15 может способствовать полной регрессии кахексии в ксенотрансплантатной модели фибросаркомы HT-1080.

В этом эксперименте умерщвляли группу из десяти мышей в момент введения дозы (исходный уровень или потеря веса тела до 91%, без обработки) и в конце исследования (через восемь дней после введения дозы hIgG или Nu01G06-127, а также в случае мышей из контрольной группы без опухоли с имитацией инокуляции). Жировую массу гонад и икроножные мышцы удаляли хирургическим путем и взвешивали. Как представлено на фиг. 29В, наблюдали значительную потерю массы жировой ткани гонад через семь дней после введения дозы hIgG, но не в группе, обработанной антителом Nu01G06-127, по сравнению с контрольной группой на исходном уровне (потеря веса тела до 91%). Более того, обработка с помощью Nu01G06-127 не только предотвращала дальнейшую потерю жировой массы (по сравнению с группой на исходном уровне), но также способствовала восстановлению нормальных уровней массы жировой ткани гонад (по сравнению с контрольной группой без опухоли с имитацией инокуляции) (фиг. 29В).

Кроме того, наблюдали значительную потерю массы икроножных мышц через семь дней после введения дозы hIgG, но не в группе, обработанной антителом Nu01G06-127, по сравнению с контрольной группой на исходном уровне (потеря веса тела до 91%) (фиг. 29С). Обработка с помощью Nu01G06-127 не только предотвращала дальнейшую потерю мышечной массы (по сравнению с группой на исходном уровне), но также способствовала восстановлению нормальных уровней массы икроножных мышц (по сравнению с контрольной группой без опухоли с имитацией инокуляции) (фиг. 29С).

Эти результаты указывают на то, что раскрытые антитела к GDF15 могут способствовать полной регрессии кахексии, что определяют по потере мышечной массы, потере жировой массы и непреднамеренной потере веса в ксенотрансплантатной модели опухоли HT-1080.

Включение посредством ссылки

Полные раскрытия всех патентных документов и научных статей, на которые ссылаются в данном документе, включены посредством ссылки во всех отношениях.

Эквиваленты

Настоящее изобретение может осуществляться в других конкретных формах без отступления от его сущности или важнейших характеристик. Вышеуказанные варианты осуществления, следовательно, рассматриваются во всех отношениях скорее как иллюстративные, нежели как ограничивающие настоящее изобретение, описанное в данном документе. Объем настоящего изобретения, таким образом, определяется прилагаемой формулой изобретения, а не вышеуказанным описанием, и подразумевается, что все изменения, которые происходят в пределах значения и диапазона эквивалентности формулы изобретения, охватываются ею.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с GDF15 человека, содержащее переменную область тяжелой цепи иммуноглобулина и переменную область легкой цепи иммуноглобулина, выбранные из группы, состоящей из:

(а) (i) переменной области тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащей

CDR_{H1}, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1 (нумерация по Kabat), SEQ ID NO: 234 (нумерация по Chothia), и SEQ ID NO: 235 (нумерация по IMGT),

CDR_{H2}, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 238 (нумерация по Kabat), SEQ ID NO: 241 (нумерация по Chothia) и SEQ ID NO: 243 (нуме-

ция по IMGT),

CDR_{H2}, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 13 (нумерация по Kabat), SEQ ID NO: 143 (нумерация по Chothia) и SEQ ID NO: 148 (нумерация по IMGT), и

CDR_{H3}, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 15 (нумерация по Kabat и Chothia) и SEQ ID NO: 154 (нумерация по IMGT); и

(ii) вариабельной области легкой цепи иммуноглобулина, содержащей

CDR_{L1}, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 21 (нумерация по Kabat и Chothia) и SEQ ID NO: 160 (нумерация по IMGT),

CDR_{L2}, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 26 (нумерация по Kabat и Chothia) и DAK (нумерация по IMGT), и

CDR_{L3}, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32 (нумерация по Kabat, Chothia и IMGT);

2. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п.1, где последовательности CDR расположены между человеческими или гуманизированными каркасными последовательностями.

3. Выделенная нуклеиновая кислота, содержащая нуклеотидную последовательность, кодирующую вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина по п.1.

4. Выделенная нуклеиновая кислота, содержащая нуклеотидную последовательность, кодирующую вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина по п.1.

5. Вектор экспрессии, содержащий нуклеиновую кислоту по п.3.

6. Вектор экспрессии, содержащий нуклеиновую кислоту по п.4.

7. Вектор экспрессии по п.6, дополнительно содержащий нуклеиновую кислоту по п.3.

8. Клетка-хозяин, содержащая вектор экспрессии по п.5.

9. Клетка-хозяин, содержащая вектор экспрессии по п.6.

10. Клетка-хозяин, содержащая вектор экспрессии по п.7.

11. Клетка-хозяин по п.9, дополнительно содержащая вектор экспрессии по п.5.

12. Способ получения полипептида, содержащего вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина или вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, где способ включает:

(а) выращивание клетки-хозяина по п.8 или 9 в таких условиях, при которых клетка-хозяин экспрессирует полипептид, содержащий вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина или вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина; и

(б) очистку полипептида, содержащего вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина или вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина.

13. Способ получения антитела, которое связывается с GDF15 человека, или антигенсвязывающего фрагмента антитела, при этом способ включает:

(а) выращивание клетки-хозяина по п.10 или 11 в таких условиях, при которых клетка-хозяин экспрессирует полипептид или полипептиды, содержащие вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина и/или вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, таким образом получая антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела; и

(б) очистку антитела или антигенсвязывающего фрагмента антитела.

14. Выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с GDF15 человека, содержащее вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина и вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, выбранные из группы, состоящей из:

(а) вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 250, и вариабельной области легкой цепи иммуноглобулина, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 92;

(б) вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 248, и вариабельной области легкой цепи иммуноглобулина, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 254;

(с) вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40, и вариабельной области легкой цепи иммуноглобулина, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 76;

(д) вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 54, и вариабельной области легкой цепи иммуноглобулина, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 90;

(е) вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 56, и вариабельной области легкой цепи иммуноглобулина, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 90;

(ф) вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 58, и вариабельной области легкой цепи иммуноглобулина, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 90;

(г) вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащей аминокислотную последо-

- [illegible]

и легкой цепи иммуноглобулина, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 208;

(v) тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 186, и легкой цепи иммуноглобулина, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 208; и

(w) тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 190, и легкой цепи иммуноглобулина, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 208.

28. Выделенная нуклеиновая кислота, содержащая нуклеотидную последовательность, кодирующую тяжелую цепь иммуноглобулина по п.27.

29. Выделенная нуклеиновая кислота, содержащая нуклеотидную последовательность, кодирующую легкую цепь иммуноглобулина по п.27.

30. Вектор экспрессии, содержащий нуклеиновую кислоту по п.28.

31. Вектор экспрессии, содержащий нуклеиновую кислоту по п.29.

32. Вектор экспрессии по п.31, дополнительно содержащий нуклеиновую кислоту по п.28.

33. Клетка-хозяин, содержащая вектор экспрессии по п.30.

34. Клетка-хозяин, содержащая вектор экспрессии по п.31.

35. Клетка-хозяин, содержащая вектор экспрессии по п.32.

36. Клетка-хозяин по п.34, дополнительно содержащая вектор экспрессии по п.30.

37. Способ получения полипептида, содержащего тяжелую цепь иммуноглобулина или легкую цепь иммуноглобулина, где способ включает:

(a) выращивание клетки-хозяина по п.33 или 34 в таких условиях, при которых клетка-хозяин экспрессирует полипептид, содержащий тяжелую цепь иммуноглобулина или легкую цепь иммуноглобулина; и

(b) очистку полипептида, содержащего тяжелую цепь иммуноглобулина или легкую цепь иммуноглобулина.

38. Способ получения антитела, которое связывается с GDF15 человека, или антигенсвязывающего фрагмента антитела, при этом способ включает:

(a) выращивание клетки-хозяина по п.35 или 36 в таких условиях, при которых клетка-хозяин экспрессирует полипептид или полипептиды, содержащие тяжелую цепь иммуноглобулина и/или легкую цепь иммуноглобулина, таким образом получая антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела; и

(b) очистку антитела или антигенсвязывающего фрагмента антитела.

39. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп.1, 2, 14, 15 или 27, где антитело представляет собой одно или более из:

(a) моноклональное антитело;

(b) химерное антитело, гуманизированное антитело или антитело человека;

(c) антитело человека изотипа IgG1, IgG2 или IgG4 или

(d) Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, одноцепочечное антитело, мини-тело или диатело.

40. Антитело по любому из пп.1, 2, 14, 15, 27 или 39, где антитело имеет KD 300 пМ или ниже, что измеряют с помощью поверхностного плазмонного резонанса или биослойной интерферометрии.

41. Антитело по любому из пп.1, 2, 14, 15, 27 или 39, где антитело имеет KD 150 пМ или ниже, что измеряют с помощью поверхностного плазмонного резонанса или биослойной интерферометрии.

42. Антитело по любому из пп.1, 2, 14, 15, 27 или 39, где антитело имеет KD 100 пМ или ниже, что измеряют с помощью поверхностного плазмонного резонанса или биослойной интерферометрии.

43. Способ лечения кахексии у млекопитающего, включающий введение эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп.1, 2, 14, 15, 27, 39, 40, 41 или 42 млекопитающему.

44. Способ ингибирования потери мышечной массы, связанной с основным заболеванием, включающий введение эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп.1, 2, 14, 15, 27, 39, 40, 41 или 42 для предотвращения или снижения потери мышечной массы.

45. Способ по п.44, отличающийся тем, что основное заболевание выбрано из группы, состоящей из рака, хронической сердечной недостаточности, хронического заболевания почек, COPD, AIDS, рассеянного склероза, ревматоидного артрита, сепсиса и туберкулеза.

46. Способ по п.44, отличающийся тем, что потеря мышечной массы сопровождается потерей массы жировой ткани.

47. Способ ингибирования или снижения непреднамеренной потери веса у млекопитающего, включающий введение эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп.1, 2, 14, 15, 27, 39, 40, 41 или 42 млекопитающему.

48. Способ ингибирования потери массы почек, печени, сердца или селезенки, связанной с основным заболеванием, включающий введение эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп.1, 2, 14, 15, 27, 39, 40, 41 или 42 для предотвращения или снижения потери массы органа.

49. Способ по п.48, отличающийся тем, что основное заболевание выбрано из группы, состоящей из

рака, хронической сердечной недостаточности, хронического заболевания почек, COPD, AIDS, рассеянного склероза, ревматоидного артрита, сепсиса и туберкулеза.

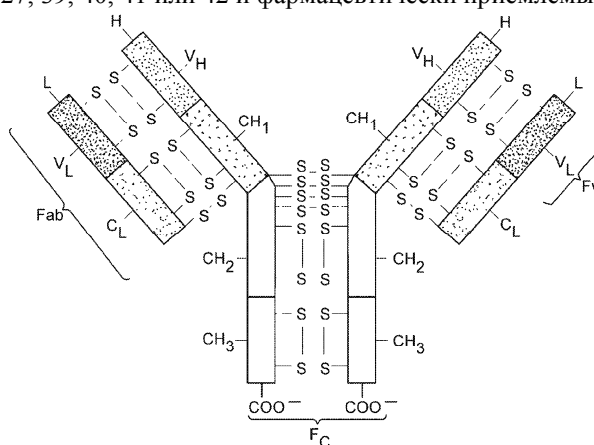
50. Способ по п.48, отличающийся тем, что потеря массы органа сопровождается потерей мышечной массы, потерей массы жировой ткани или непреднамеренной потерей веса.

51. Способ по п.43, дополнительно включающий введение второго средства млекопитающему, отличающийся тем, что второе средство выбрано из группы, состоящей из ингибитора активина А, ингибитора ActRIIB, ингибитора IL-6, ингибитора IL-6R, ингибитора пептида меланокортина, ингибитора меланокортинового рецептора, грелина, миметика грелина, агониста GHS-R1a, SARM, ингибитора TNF α , ингибитора IL-1 α , ингибитора миостатина, бета-блокатора и противоопухолевого средства.

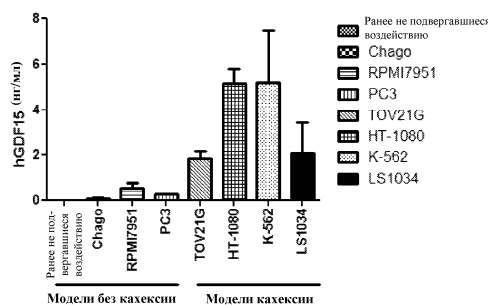
52. Способ лечения саркопении у млекопитающего, включающий введение эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп.1, 2, 14, 15, 27, 39, 40, 41 или 42 млекопитающему.

53. Способ повышения максимальной переносимой дозы противоопухолевого средства, которая приводит к кахексии у млекопитающего, где способ включает введение эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп.1, 2, 14, 15, 27, 39, 40, 41 или 42 в комбинации с противоопухолевым средством млекопитающему.

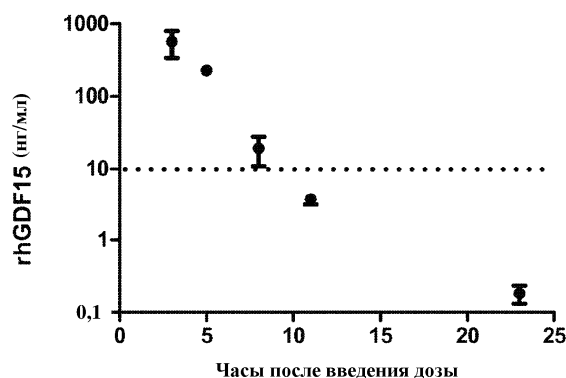
54. Фармацевтическая композиция, содержащая антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп.1, 2, 14, 15, 27, 39, 40, 41 или 42 и фармацевтически приемлемый носитель.



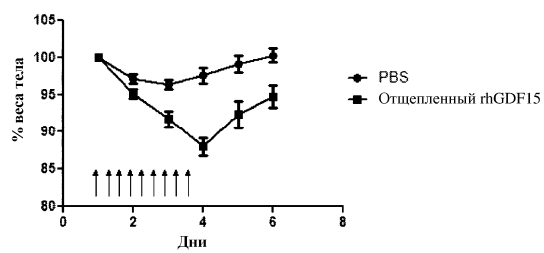
Фиг. 1



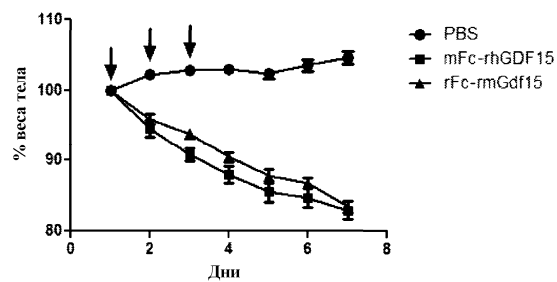
Фиг. 2



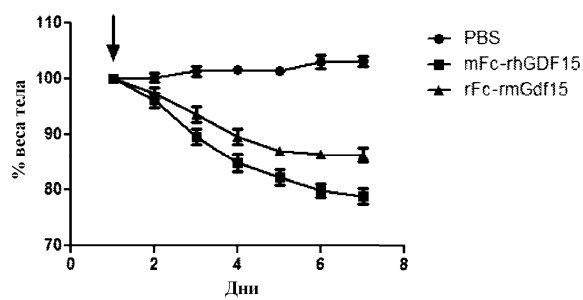
Фиг. 3



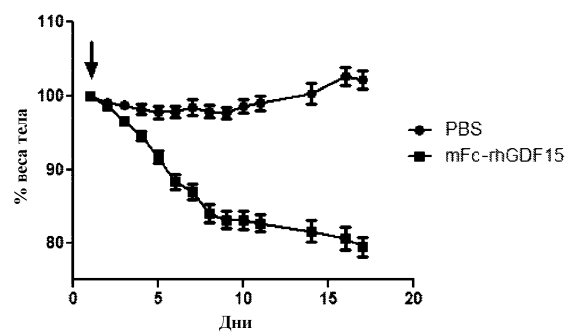
Фиг. 4



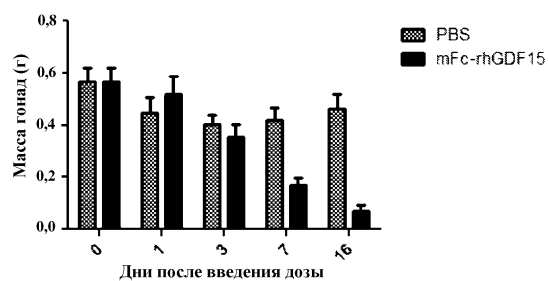
Фиг. 5A



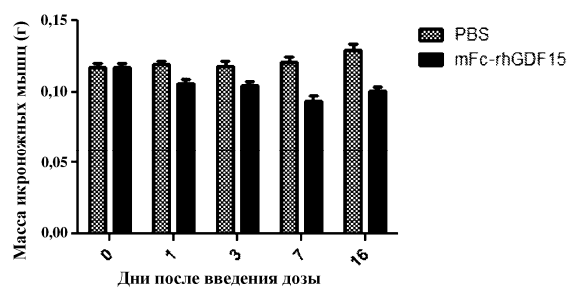
Фиг. 5B



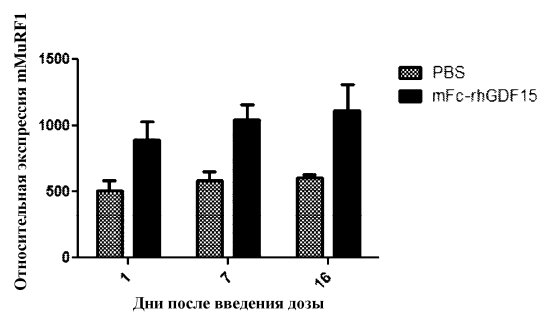
Фиг. 6A



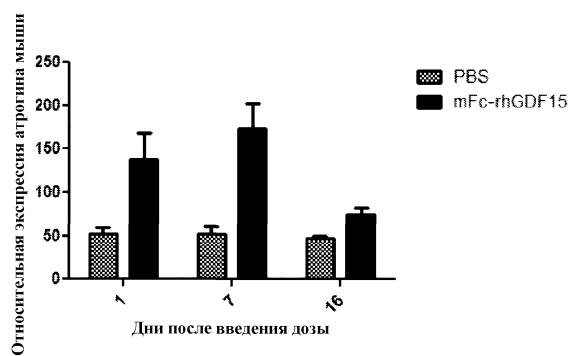
Фиг. 6B



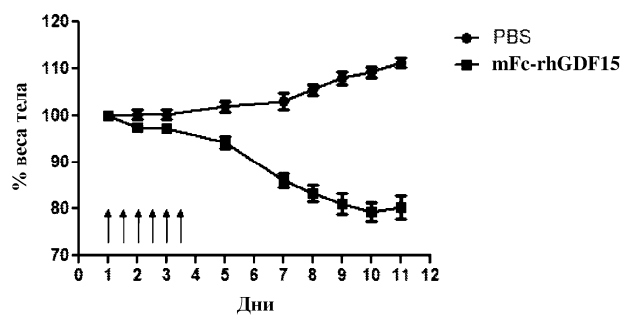
Фиг. 6С



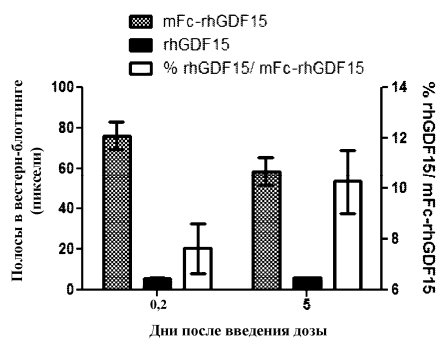
Фиг. 6D



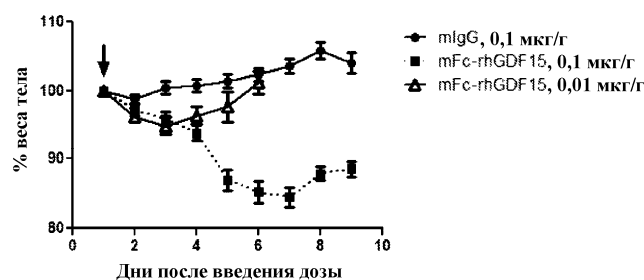
Фиг. 6E



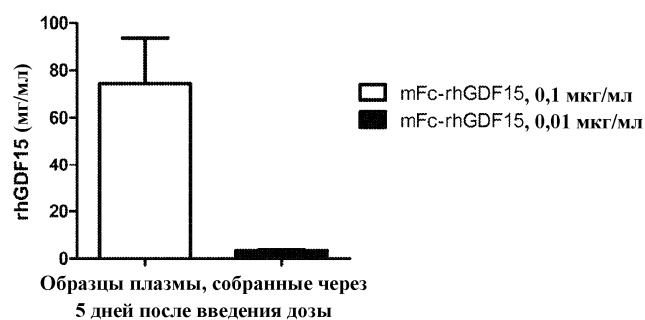
Фиг. 7



Фиг. 8



ФИГ. 9А



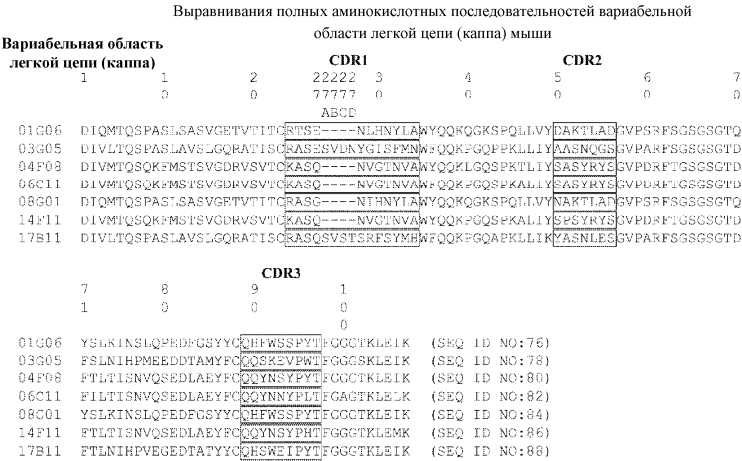
ФИГ. 9В

Выравнивания полных аминокислотных последовательностей вариационной											
Вариационная область			области тяжелой цепи мыши								
тяжелой цепи			CDR1			CDR2					
1	1	2	3	333	4	5	55	6	7		
	0	0	0	555	0	0	22	0	3		
				AB			A				
01G06	EVLLQSGSPGLVKPGASVKIPCKASGYTPT	DYNDM--	WVKSGHSGKSL	EWIG	QINPNNGGTF	FNQKFKG	KATLT				
03G05	QVQLQSPGAEIVKPGASVKSLCSKASGYTPT	SYWTH--	WVNRPQGGLEWIG		DINPNSGRSKRYNEKFPNKA	KATLT					
04F08	QVTLKESGPGILQPSQTLSLTCSFSGFSLT	SYGGMVSW	IRQPSGKGLEWLA		HIY-WDDDKRYNPSLKSR	LRTIS					
06C11	QVTLKESGPGILQPSQTLSLTCSFSGFSLT	SYGGMVSW	IRQPSGKGLEWLA		HIY-WDDDKRYNPSLKSR	LRTIS					
08G01	EVLLQSGSPGVKPKASVKIPCKASGYTPT	DYNDM--	WVKSGHSGKSL	EWIG	QINPNNGGTF	FNQKFKG	KATLT				
14F11	QVTLKESGPGILQPSQTLSLTCSFSGFSLT	SYGGMVSW	IRQPSGKGLEWLA		HIY-WDDDKRYNPSLKSR	LRTIS					
17B11	QVTLKESGPGILQPSQTLSLTCSFSGFSLT	SYGGMVSW	IRQPSGKGLEWLA		HIY-WDDDKRYNPSLKSR	LRTIS					
CDR3											
7	8	889	9	1111	1						
1	0	222	0	0000	1						
	ABC			0000	0						
				ABC							
01G06	VDKSSNTAFMEVRSLSGEDTAVYYCAE	EAITITVGAMDY	WGQGTSTVTVSS		(SEQ ID NO:42)						
03G05	ADKSSNTAFMQLSSLTSGEDSAVYYCAE	VIDLGM--	DYNGGGTSTVTVSS		(SEQ ID NO:42)						
04F08	KDTSNNQVFLKITSVDTADTATYYCAQT	GYSNLP--	AYWGQGTSTVTVSA		(SEQ ID NO:44)						
06C11	KDASNNRVFLKITSVDTADTATYYCAQ	GYVDLP--	CYNGQGTSTVTVSA		(SEQ ID NO:46)						
08G01	VDKSSNTAFMELRSLSGEDTAVYYCAE	EAITITVGAMDY	WGQGTSTVTVSS		(SEQ ID NO:48)						
14F11	KDTSNNEVFLKITSVDTADTATYYCAR	GHYSAM--	DYNGGGTSTVTVSS		(SEQ ID NO:50)						
17B11	KDTSNNQVFLKITSVDTADTATYYCAR	RGYGGLEG	GYGQGTSTVTVSS		(SEQ ID NO:52)						

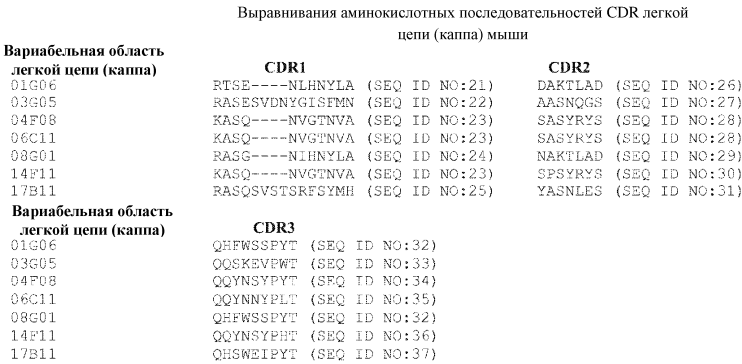
ФИГ. 10

Выравнивания аминокислотных последовательностей CDR тяжелой цепи мыши			
Варибельная область тяжелой цепи			
	CDR1		CDR2
01G06	DYNMD-- (SEQ ID NO:1)		QINPNNGGIFFNQKFKG (SEQ ID NO:7)
03G05	SYWIH-- (SEQ ID NO:2)		DINFSNGRSKYNEKFKN (SEQ ID NO:8)
04F08	TYGMGVT (SEQ ID NO:3)		HIY-WDDDKRYNPSLKS (SEQ ID NO:9)
06C11	TYGMGVS (SEQ ID NO:4)		HIY-WDDDKRYNPSLKS (SEQ ID NO:9)
08G01	DYNMD-- (SEQ ID NO:1)		EINPNNGGTFYNNQKFKG (SEQ ID NO:10)
14F11	TYGMGVG (SEQ ID NO:5)		DIW-WDDDKRYNPSLKS (SEQ ID NO:11)
17B11	TSGMGVS (SEQ ID NO:6)		HND-WDDDKRYKSSLKS (SEQ ID NO:12)
Варибельная область тяжелой цепи			
	CDR3		
01G06	EAITTVGAMDY (SEQ ID NO:15)		
03G05	EVLDBG--DY (SEQ ID NO:16)		
04F08	TGYSNLF--AY (SEQ ID NO:17)		
06C11	RGYDDYW--GY (SEQ ID NO:18)		
08G01	EAITTVGAMDY (SEQ ID NO:15)		
14F11	RGHYSAM--DY (SEQ ID NO:19)		
17B11	RVGGLEGYFDY (SEQ ID NO:20)		

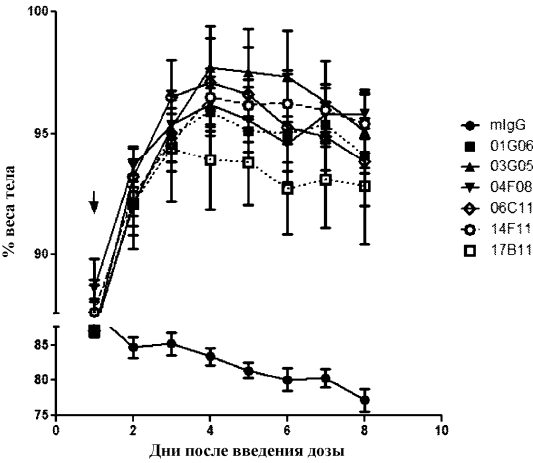
ФИГ. 11



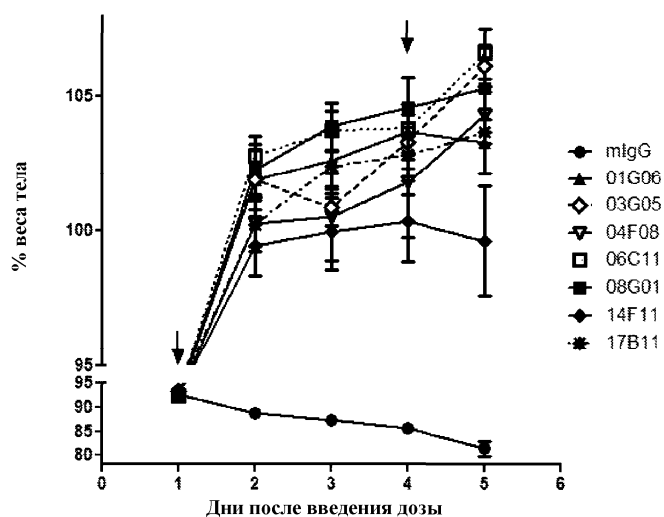
Фиг. 12



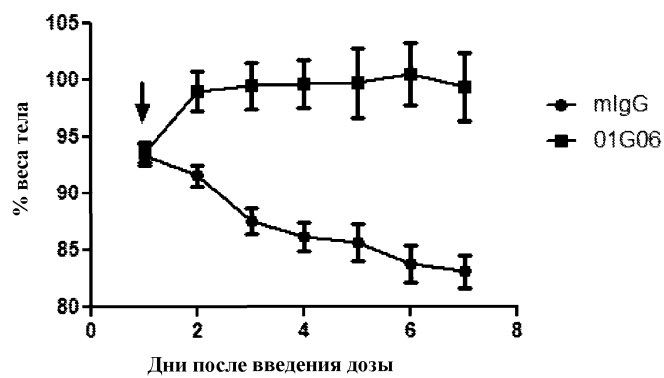
Фиг. 13



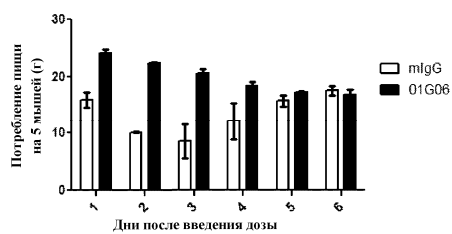
Фиг. 14



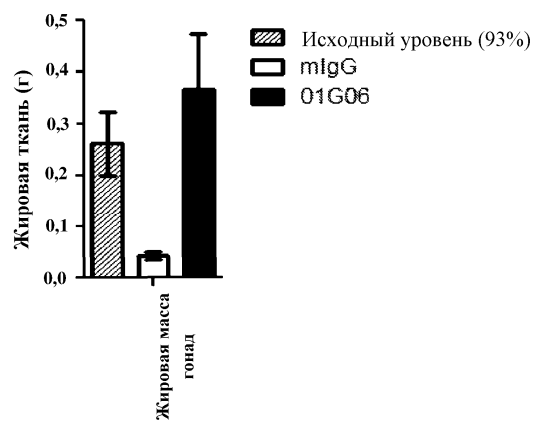
Фиг. 15



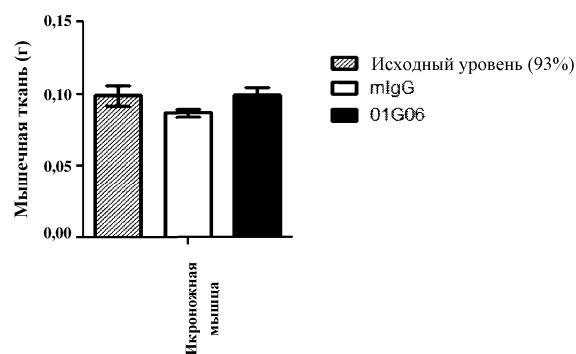
Фиг. 16А



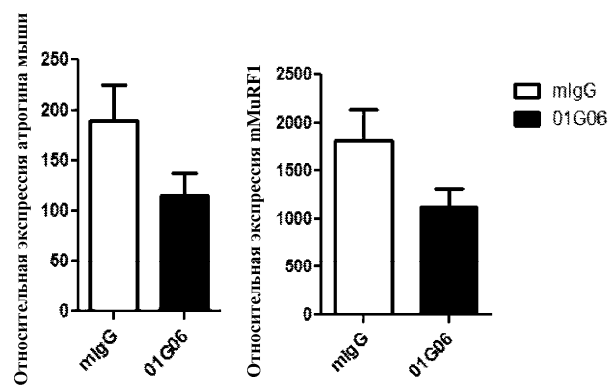
Фиг. 16В



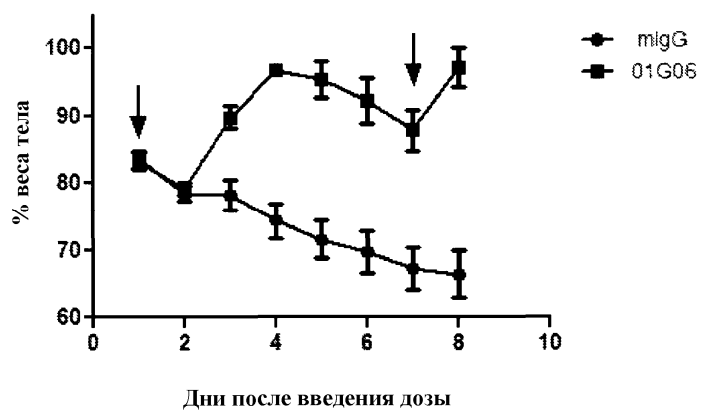
Фиг. 16С



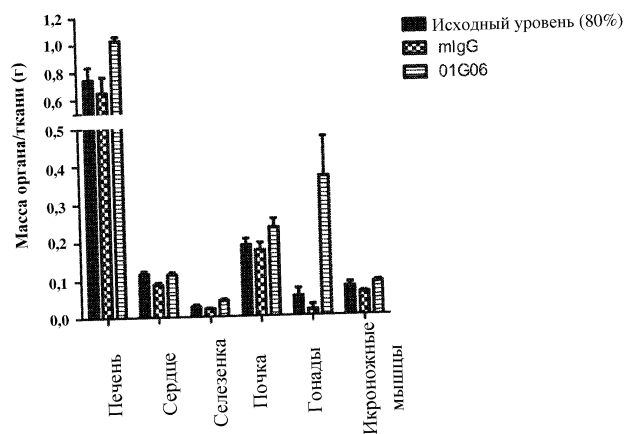
Фиг. 16D



Фиг. 16E

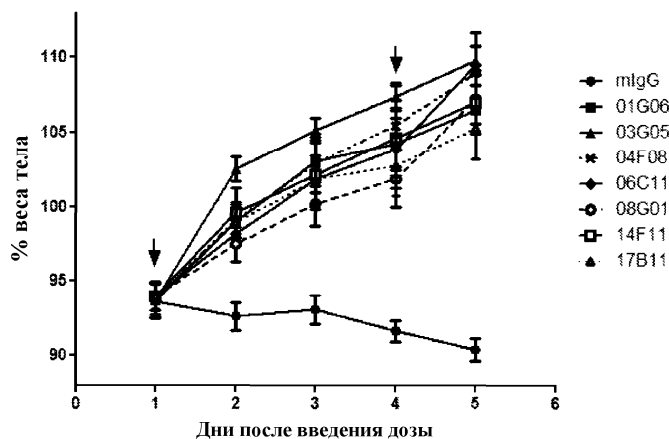


Фиг. 17A



Фиг. 17B

038645



Фиг. 18

Выравнивания полных аминокислотных последовательностей вариабельной области гуманизированной тяжелой цепи

Вариабельная область тяжелой цепи	CDR1										CDR2									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Ch01G06, химерное	EVLLGQSGPELVKPGACVVKPCVAGSYTET	DYMD	WVQAPGKISLEWIG	INP	NGG	ITFF	QKFG	Q	KAT	IT										
Hu01G06 IGHV1-18	QVQLVQSGAEVVKPGASVVKVSCVAGSYTET	DYMD	WVQAPGKISLEWIG	INP	NGG	ITFF	QKFG	Q	KAT	IT										
Hu01G06 IGHV1-69	QVQLVQSGAEVVKPGASVVKVSCVAGSYTET	DYMD	WVQAPGKISLEWIG	INP	NGG	ITFF	QKFG	Q	KAT	IT										
Sh01G06 IGHV1-18 M69L	QVQLVQSGAEVVKPGASVVKVSCVAGSYTET	DYMD	WVQAPGQGLEWIG	INP	NGG	ITFF	QKFG	Q	KAT	IT										
Sh01G06 IGHV1-18 M69L K64Q G44S	QVQLVQSGAEVVKPGASVVKVSCVAGSYTET	DYMD	WVQAPGQGLEWIG	INP	NGG	ITFF	QKFG	Q	KAT	IT										
Sh01G06 IGHV1-18 M69L K64Q	QVQLVQSGAEVVKPGASVVKVSCVAGSYTET	DYMD	WVQAPGQGLEWIG	INP	NGG	ITFF	QKFG	Q	KAT	IT										
Sh01G06 IGHV1-69 T30S T69L	QVQLVQSGAEVVKPCSSVVKVSCVAGSYTET	DYMD	WVQAPGQGLEWIG	INP	NGG	ITFF	QKFG	Q	KAT	IT										
Sh01G06 IGHV1-69 T30S K64Q T64L	QVQLVQSGAEVVKPGASVVKVSCVAGSYTET	DYMD	WVQAPGQGLEWIG	INP	NGG	ITFF	QKFG	Q	KAT	IT										
Hu01G06 IGHV1-18 F1	QVQLVQSGAEVVKPGASVVKVSCVAGSYTET	DYMD	WVQAPGQGLEWIG	INP	NGG	ITFF	QKFG	Q	KAT	IT										
Hu01G06 IGHV1-18 F2	QVQLVQSGAEVVKPGASVVKVSCVAGSYTET	DYMD	WVQAPGQGLEWIG	INP	NGG	ITFF	QKFG	Q	KAT	IT										
Hu01G06 IGHV1-69 F1	QVQLVQSGAEVVKPGASVVKVSCVAGSYTET	DYMD	WVQAPGQGLEWIG	INP	NGG	ITFF	QKFG	Q	KAT	IT										
Hu01G06 IGHV1-69 F2	QVQLVQSGAEVVKPCSSVVKVSCVAGSYTET	DYMD	WVQAPGQGLEWIG	INP	NGG	ITFF	QKFG	Q	KAT	IT										
Ch06C11, химерное	QVTLKESGPGILQPSQTLTLCITFSGFSLS	TYGASV	WVQAPGKISLEWIG	INP	NGG	ITFF	QKFG	Q	KAT	IT										
HE LM 06C11 IGHV2-70	QVTLKESGPGILQPSQTLTLCITFSGFSLS	TYGASV	WVQAPGKISLEWIG	INP	NGG	ITFF	QKFG	Q	KAT	IT										
Hu06C11 IGHV2-7	QVTLKESGPGILQPSQTLTLCITFSGFSLS	TYGASV	WVQAPGKISLEWIG	INP	NGG	ITFF	QKFG	Q	KAT	IT										
Ch14F11, химерное	QVTLKESGPGILQPSQTLTLCITFSGFSLS	TYGASV	WVQAPGKISLEWIG	INP	NGG	ITFF	QKFG	Q	KAT	IT										
Sh14F11 IGHV2-5	QVTLKESGPGILQPSQTLTLCITFSGFSLS	TYGASV	WVQAPGKISLEWIG	INP	NGG	ITFF	QKFG	Q	KAT	IT										
Sh14F11 IGHV2-70	QVTLKESGPGILQPSQTLTLCITFSGFSLS	TYGASV	WVQAPGKISLEWIG	INP	NGG	ITFF	QKFG	Q	KAT	IT										

Выравнивания полных аминокислотных последовательностей вариабельной области гуманизированной тяжелой цепи

Вариабельная область тяжелой цепи	CDR3									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Ch01G06, химерное	VQKSS	STAFMEVRS	LTEDTAVVYCAR	EA	ITTVGAM	TYWGQGT	SVTVSS	(SEQ ID NO: 40)		
Hu01G06 IGHV1-18	VQKSS	STAFMEVRS	LTEDTAVVYCAR	EA	ITTVGAM	TYWGQGT	SVTVSS	(SEQ ID NO: 54)		
Hu01G06 IGHV1-69	VQKSS	STAFMEVRS	LTEDTAVVYCAR	EA	ITTVGAM	TYWGQGT	SVTVSS	(SEQ ID NO: 56)		
Sh01G06 IGHV1-18 M69L	TDSTST	STAFMEVRS	LTEDTAVVYCAR	EA	ITTVGAM	TYWGQGT	SVTVSS	(SEQ ID NO: 58)		
Sh01G06 IGHV1-18 M69L K64Q G44S	TDSTST	STAFMEVRS	LTEDTAVVYCAR	EA	ITTVGAM	TYWGQGT	SVTVSS	(SEQ ID NO: 60)		
Sh01G06 IGHV1-18 M69L K64Q	TDSTST	STAFMEVRS	LTEDTAVVYCAR	EA	ITTVGAM	TYWGQGT	SVTVSS	(SEQ ID NO: 62)		
Sh01G06 IGHV1-69 T30S T69L	ADKSTST	STAFMEVRS	LTEDTAVVYCAR	EA	ITTVGAM	TYWGQGT	SVTVSS	(SEQ ID NO: 64)		
Sh01G06 IGHV1-69 T30S K64Q T69L	ADKSTST	STAFMEVRS	LTEDTAVVYCAR	EA	ITTVGAM	TYWGQGT	SVTVSS	(SEQ ID NO: 66)		
Hu01G06 IGHV1-18 F1	TDSTST	STAFMEVRS	LTEDTAVVYCAR	EA	ITTVGAM	TYWGQGT	SVTVSS	(SEQ ID NO: 68)		
Hu01G06 IGHV1-18 F2	TDSTST	STAFMEVRS	LTEDTAVVYCAR	EA	ITTVGAM	TYWGQGT	SVTVSS	(SEQ ID NO: 70)		
Hu01G06 IGHV1-69 F1	ADKSTST	STAFMEVRS	LTEDTAVVYCAR	EA	ITTVGAM	TYWGQGT	SVTVSS	(SEQ ID NO: 72)		
Hu01G06 IGHV1-69 F2	ADKSTST	STAFMEVRS	LTEDTAVVYCAR	EA	ITTVGAM	TYWGQGT	SVTVSS	(SEQ ID NO: 74)		
Ch06C11, химерное	KDASHNPVFLKI	TSVDTADI	ATVYCAR	RGYDDY	W--GY	WGQGT	SVTVSS	(SEQ ID NO: 46)		
HE LM 06C11 IGHV2-70	KDASHNPVFLKI	TSVDTADI	ATVYCAR	RGYDDY	W--GY	WGQGT	SVTVSS	(SEQ ID NO: 68)		
Hu06C11 IGHV2-5	KDASHNPVFLKI	TSVDTADI	ATVYCAR	RGYDDY	W--GY	WGQGT	SVTVSS	(SEQ ID NO: 70)		
Ch14F11, химерное	KDASHNPVFLKI	TSVDTADI	ATVYCAR	RGYDDY	W--GY	WGQGT	SVTVSS	(SEQ ID NO: 50)		
Sh14F11 IGHV2-5	KDASHNPVFLKI	TSVDTADI	ATVYCAR	RGYDDY	W--GY	WGQGT	SVTVSS	(SEQ ID NO: 72)		
Sh14F11 IGHV2-70	KDASHNPVFLKI	TSVDTADI	ATVYCAR	RGYDDY	W--GY	WGQGT	SVTVSS	(SEQ ID NO: 74)		

Фиг. 19

Выравнивания аминокислотных последовательностей

Вариабельная область тяжелой цепи	CDR гуманизированной тяжелой цепи	
	CDR1	CDR2
Ch01G06, химерное	DYNMD-- (SEQ ID NO:1)	QINPNNGGIFFNQKFFG (SEQ ID NO:7)
Hu01G06 IGKV1-18	DYNMD-- (SEQ ID NO:1)	QINPNNGGIFFNQKFFG (SEQ ID NO:7)
Hu01G06 IGKV1-63	DYNMD-- (SEQ ID NO:1)	QINPNNGGIFFNQKFFG (SEQ ID NO:7)
Sh01G06 IGKV1-18 M69L	DYNMD-- (SEQ ID NO:1)	QINPNNGGIFFNQKFFG (SEQ ID NO:7)
Sh01G06 IGKV1-18 M69L K64Q G44S	DYNMD-- (SEQ ID NO:1)	QINPNNGGIFFNQKFFG (SEQ ID NO:13)
Sh01G06 IGKV1-18 M69L K64Q	DYNMD-- (SEQ ID NO:1)	QINPNNGGIFFNQKFFG (SEQ ID NO:13)
Sh01G06 IGKV1-69 T30S I69L	DYNMD-- (SEQ ID NO:1)	QINPNNGGIFFNQKFFG (SEQ ID NO:7)
Sh01G06 IGKV1-69 T30S K64Q I69L	DYNMD-- (SEQ ID NO:1)	QINPNNGGIFFNQKFFG (SEQ ID NO:13)
Hu01G06 IGKV1-18 F1	DYNMD-- (SEQ ID NO:1)	QINPNNGGIFFNQKFFG (SEQ ID NO:236)
Hu01G06 IGKV1-18 F2	DYNMD-- (SEQ ID NO:1)	QINPNNGGIFFNQKFFG (SEQ ID NO:237)
Hu01G06 IGKV1-69 F1	DYNMD-- (SEQ ID NO:1)	QINPNNGGIFFNQKFFG (SEQ ID NO:238)
Hu01G06 IGKV1-69 F2	DYNMD-- (SEQ ID NO:1)	QINPNNGGIFFNQKFFG (SEQ ID NO:239)
Ch06C11, химерное	TYGKGVG (SEQ ID NO:4)	HIY-WDDDERKYNPSLKS (SEQ ID NO:3)
HE LM 06C11 IGKV2-70	TYGKGVG (SEQ ID NO:4)	HIY-WDDDERKYNPSLKS (SEQ ID NO:14)
Hu06C11 IGKV2-5	TYGKGVG (SEQ ID NO:4)	HIY-WDDDERKYNPSLKS (SEQ ID NO:9)
Ch14F11, химерное	TYGKGVG (SEQ ID NO:5)	DIW-WDDDKYNNPSLKS (SEQ ID NO:11)
Sh14F11 IGKV2-5	TYGKGVG (SEQ ID NO:5)	DIW-WDDDKYNNPSLKS (SEQ ID NO:11)
Sh14F11 IGKV2-70	TYGKGVG (SEQ ID NO:5)	DIW-WDDDKYNNPSLKS (SEQ ID NO:11)

Выравнивания аминокислотных последовательностей CDR гуманизированной тяжелой цепи

Вариабельная область тяжелой цепи	CDR3
Ch01G06, химерное	EAIITTVGAMDY (SEQ ID NO:15)
Hu01G06 IGKV1-18	EAIITTVGAMDY (SEQ ID NO:15)
Hu01G06 IGKV1-69	EAIITTVGAMDY (SEQ ID NO:15)
Sh01G06 IGKV1-18 M69L	EAIITTVGAMDY (SEQ ID NO:15)
Sh01G06 IGKV1-18 M69L K64Q G44S	EAIITTVGAMDY (SEQ ID NO:15)
Sh01G06 IGKV1-18 M69L K64Q	EAIITTVGAMDY (SEQ ID NO:15)
Sh01G06 IGKV1-69 T30S I69L	EAIITTVGAMDY (SEQ ID NO:15)
Sh01G06 IGKV1-69 T30S K64Q I69L	EAIITTVGAMDY (SEQ ID NO:15)
Hu01G06 IGKV1-18 F1	EAIITTVGAMDY (SEQ ID NO:15)
Hu01G06 IGKV1-18 F2	EAIITTVGAMDY (SEQ ID NO:15)
Hu01G06 IGKV1-69 F1	EAIITTVGAMDY (SEQ ID NO:15)
Hu01G06 IGKV1-69 F2	EAIITTVGAMDY (SEQ ID NO:15)
Ch06C11, химерное	RGYDDYW--GY (SEQ ID NO:16)
HE LM 06C11 IGKV2-70	RGYDDYW--GY (SEQ ID NO:16)
Hu06C11 IGKV2-5	RGYDDYW--GY (SEQ ID NO:16)
Ch14F11, химерное	RGHYSAM--DY (SEQ ID NO:19)
Sh14F11 IGKV2-5	RGHYSAM--DY (SEQ ID NO:19)
Sh14F11 IGKV2-70	RGHYSAM--DY (SEQ ID NO:19)

Фиг. 20

Выравнивания полных аминокислотных последовательностей вариабельной

Вариабельная область легкой цепи (каппа)	CDR1		CDR2	
	1	2	3	4
Ch01G06, химерное	1	2	3	4
Hu01G06 IGKV1-39	0	0	0	0
Hu01G06 IGKV1-39 S43A V48I	0	0	0	0
Hu01G06 IGKV1-39 V48I	0	0	0	0
Hu01G06 IGKV1-39 F1	0	0	0	0
Hu01G06 IGKV1-39 F2	0	0	0	0
Ch06C11, химерное	1	2	3	4
Sh06C11 IGKV1-16	0	0	0	0
Ch14F11, химерное	1	2	3	4
Hu14F11 IGKV1-16	0	0	0	0

Вариабельная область легкой цепи (каппа)	CDR3	
	7	8
Ch01G06, химерное	7	8
Hu01G06 IGKV1-39	0	0
Hu01G06 IGKV1-39 S43A V48I	0	0
Hu01G06 IGKV1-39 V48I	0	0
Hu01G06 IGKV1-39 F1	0	0
Hu01G06 IGKV1-39 F2	0	0
Ch06C11, химерное	7	8
Sh06C11 IGKV1-16	0	0
Ch14F11, химерное	7	8
Hu14F11 IGKV1-16	0	0

Фиг. 21

Выравнивания аминокислотных последовательностей
CDR гуманизированной легкой цепи (каппа)

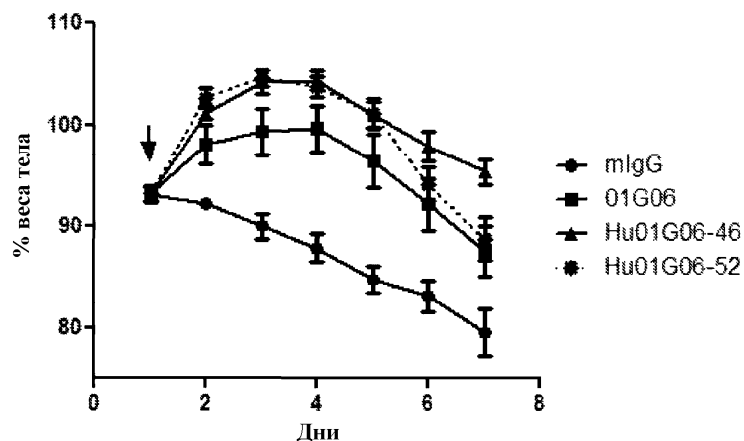
**Варибельная область
легкой цепи (каппа)**

	CDR1	CDR2
Ch01G06, химерное	RTSENLEHNYLA (SEQ ID NO:21)	DAKTLAD (SEQ ID NO:26)
Hu01C06 IGKV1-39	RTSENLEHNYLA (SEQ ID NO:21)	DAKTLAD (SEQ ID NO:26)
Hu01G06 IGKV1-39 S43A V48I	RTSENLEHNYLA (SEQ ID NO:21)	DAKTLAD (SEQ ID NO:26)
Hu01C06 IGKV1-39 V48I	RTSENLEHNYLA (SEQ ID NO:21)	DAKTLAD (SEQ ID NO:26)
Hu01G06 IGKV1-39 F1	RTSENLEHNYLA (SEQ ID NO:21)	DAKTLAD (SEQ ID NO:26)
Hu01C06 IGKV1-39 F2	RTSENLEHNYLA (SEQ ID NO:21)	DAKTLAD (SEQ ID NO:26)
Ch06C11, химерное	KASQNVGTNVA (SEQ ID NO:23)	SASYRYS (SEQ ID NO:28)
Hu06C11 IGKV1-16	KASQNVGTNVA (SEQ ID NO:23)	SASYRYS (SEQ ID NO:28)
Ch14F11, химерное	KASQNVGTNVA (SEQ ID NO:23)	SISYRYS (SEQ ID NO:30)
Hu14F11 IGKV1-16	KASQNVGTNVA (SEQ ID NO:23)	SPSYRYS (SEQ ID NO:30)

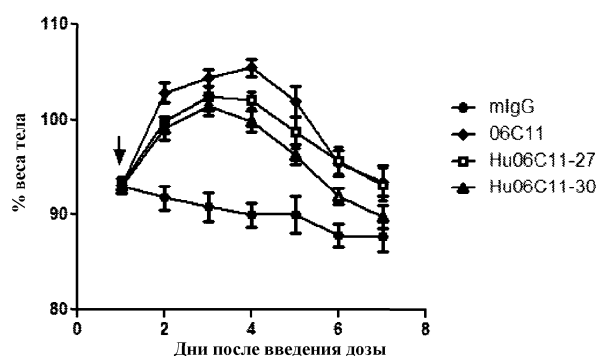
**Варибельная область
легкой цепи (каппа)**

	CDR3
Ch01G06, химерное	QHFWSSPYT (SEQ ID NO:32)
Hu01C06 IGKV1-39	QHFWSSPYT (SEQ ID NO:32)
Hu01C06 IGKV1-39 S43A V48I	QHFWSSPYT (SEQ ID NO:32)
Hu01G06 IGKV1-39 V48I	QHFWSSPYT (SEQ ID NO:32)
Hu01C06 IGKV1-39 F1	QHFWSSPYT (SEQ ID NO:32)
Hu01G06 IGKV1-39 F2	QHFWSDPYT (SEQ ID NO:244)
Ch06C11, химерное	QQYNNYPLT (SEQ ID NO:35)
Hu06C11 IGKV1-16	QQYNNYPLT (SEQ ID NO:35)
Ch14F11, химерное	QQYNSYPHT (SEQ ID NO:36)
Hu14F11 IGKV1-16	QQYNSYPHT (SEQ ID NO:36)

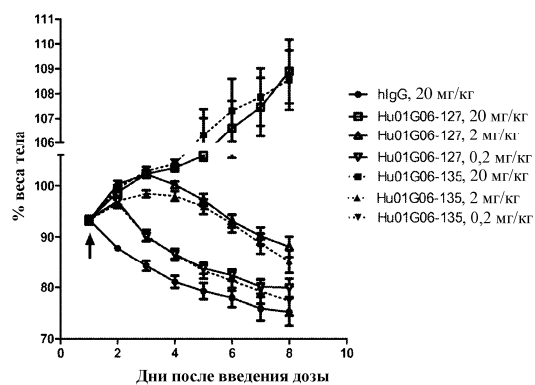
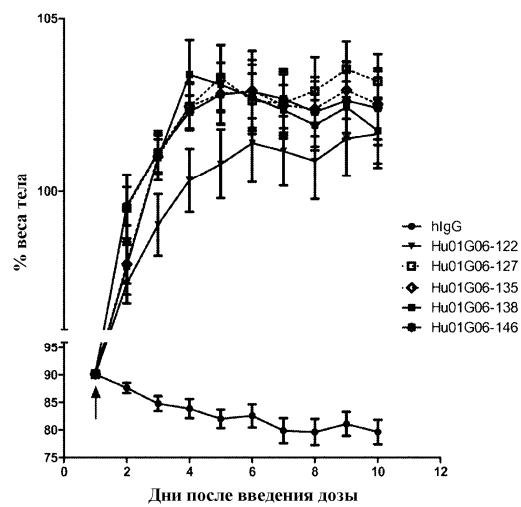
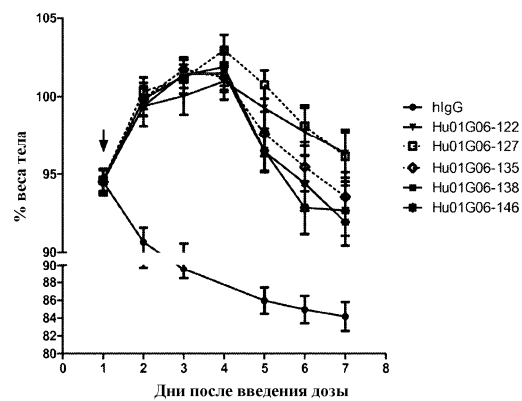
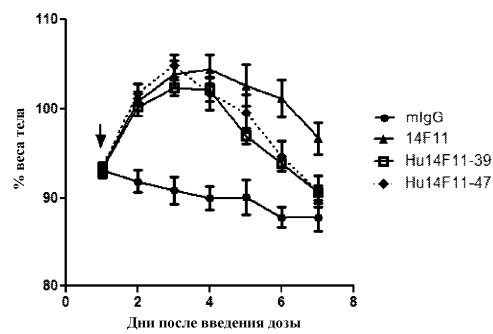
Фиг. 22

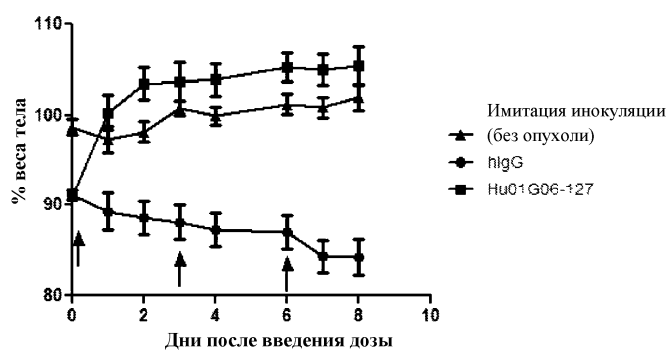


Фиг. 23

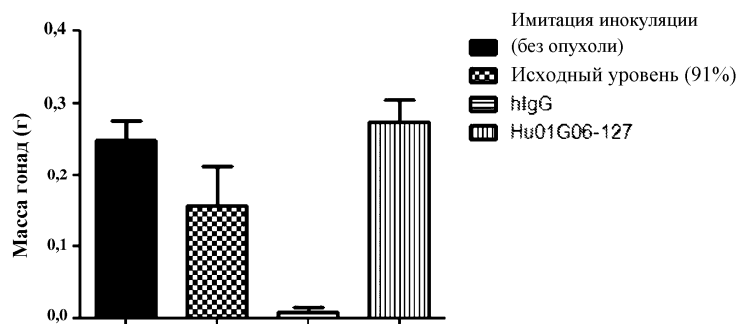


Фиг. 24

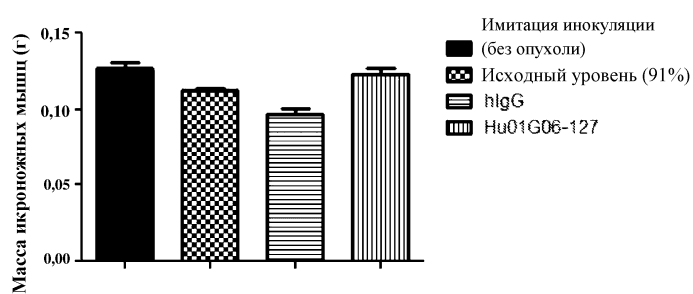




Фиг. 29А



Фиг. 29В



Фиг. 29С



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

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