(19) Евразийское патентное ведомство

(21) 202092208 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2021.02.25

(22) Дата подачи заявки
2019.03.19

(51) Int. Cl. ***C07K 16/28*** (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)

(54) АНТИТЕЛА, СВЯЗЫВАЮЩИЕСЯ С VISTA ПРИ КИСЛОТНОМ pH

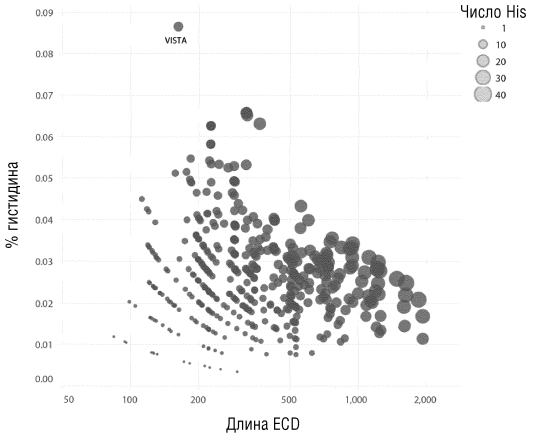
(31) **62/646,344; 62/696,597; 62/733,462**
(32) **2018.03.21; 2018.07.11; 2018.09.19**
(33) **US**
(86) **PCT/US2019/022895**
(87) **WO 2019/183040 2019.09.26**

(71) Заявитель:
ФАЙВ ПРАЙМ ТЕРАПЬЮТИКС, ИНК.; БРИСТОЛЬ-МЕЙЕРЗ СКВИББ КОМПАНИ (US)

(72) Изобретатель:
Джонстон Роберт Дж., Раджпал Арвинд, Шеппард Пол О., Борхес Луис, Рэнкин Эндрю, Бахджат Кейт Садун, Корман Алан Дж., Дэн Сяоди, Су Линь Хой, Рэйкстро Джинджер, Пинкни Джейсон Р., Криттон Дэвид А., Чэнь Годун, Хуан Ричард И., Деянова Екатерина Г. (US)

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

(57) Настоящая заявка относится к антителам, специфично связывающимся с содержащим V-домен иммуноглобулина супрессором активации Т-клеток (VISTA) при кислотном pH, и их применению при лечении рака. В некоторых вариантах осуществления антитела специфично связываются с VISTA человека при кислотном pH, но не связываются в значительной степени с VISTA человека при нейтральном или физиологическом pH.



202092208 A1

202092208 A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-564582EA/011

АНТИТЕЛА, СВЯЗЫВАЮЩИЕСЯ С VISTA ПРИ КИСЛОТНОМ pH

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

Настоящая заявка относится к антителам, специфично связывающимся с содержащим V-домен иммуноглобулина супрессором активации Т-клеток (VISTA) при кислотном pH, и их применению для лечения злокачественных опухолей.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ И СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Содержащий V-домен Ig супрессор активации Т-клеток или VISTA является коингибирующим представителем семейства B7 иммунорецепторов, экспрессируемых миеломоноцитарными клетками и другими лейкоцитами. Однако механизм, с помощью которого VISTA подавляет иммунные ответы, плохо изучен.

Авторы изобретения обнаружили, что в отличие от других известных иммунорецепторов, VISTA связывает свои контррецепторы и действует селективно при кислотном pH, с низкой активностью при физиологическом pH (например, 7,3-7,4). Таким образом, VISTA может подавлять иммунные ответы в кислотном микроокружении, таком как ложе опухоли или участки воспаления, не затрагивая клетки, циркулирующие в крови или присутствующие в невоспаленных, некислотных тканях. Кроме того, авторы изобретения обнаружили, что можно сконструировать антитела против VISTA для селективного связывания с VISTA при кислотном pH, с минимальным связыванием при физиологическом pH, отражая собственную селективность VISTA в отношении кислотного pH. Такие селективные в отношении кислотного pH антитела могут обеспечить требуемые свойства для лечения таких заболеваний, как рак, по сравнению с антителами, которые связывают VISTA при физиологическом pH.

Настоящее изобретение относится к антителам, которые специфично связываются с внеклеточным доменом (ECD) VISTA, такого как VISTA человека ("hVISTA" или "huVISTA"), при кислотном pH (например, в кислотных условиях). Настоящее изобретение также относится к антителам, которые специфично связываются с внеклеточным доменом (ECD) VISTA, такого как hVISTA, при кислотном pH, со слабым связыванием или отсутствием связывания при нейтральном или физиологическом pH. Авторы изобретения в настоящем документе отметили, что аминокислотная последовательность hVISTA-ECD включает ряд как консервативных, так и неконсервативных остатков гистидина, и что частота остатков гистидина в ECD VISTA исключительно высокая по сравнению с другими представителями семейства B7 и другими представителями суперсемейства иммуноглобулинов (см. Фиг. 1A и 1B.). В растворе аминокислота гистидин имеет pK_a приблизительно 6,5, что означает, что при pH 6,5 или более низком pH остатки гистидина в белках часто протонированы и, таким образом, положительно заряжены, тогда как при pH выше pH 6,5 они становятся все менее протонированными и нейтральными по заряду. Микроокружение опухоли и воспаленные ткани часто имеют кислотную среду, и, таким образом, белки VISTA, обнаруженные в этих микроокружениях, могут быть, по меньшей

мере, частично протонированными по своим остаткам гистидина. Авторы изобретения, как обсуждается в настоящем документе, предположили, что протонирование гистидина может влиять на конформацию, поверхностную структуру и/или плотность заряда VISTA, что, в свою очередь, может создавать pH-специфические или pH-селективные эпитопы для взаимодействия(й) рецептора-лиганда и связывания антител. Направленное воздействие на VISTA с помощью антител, которые связываются при кислотном pH, но не связываются при нейтральном или физиологическом pH, может предотвратить мишень-опосредованное распределение лекарственного средства посредством циркулирующих и резидентных в лимфоидных органах миеломоноцитарных клеток, улучшая ФК антител, занятость рецепторов и активность в микроокружении опухоли. Селективные в отношении кислотного pH антитела также могут улучшать специфичность антител к VISTA для внутриопухолевых, а не циркулирующих клеток-мишеней в случаях терапевтических методов, таких как антителозависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность (ADCC), антителозависимый клеточный фагоцитоз (ADCP), комплементзависимая цитотоксичность (CDC) и доставка полезной нагрузки (конъюгатов антител-лекарственных средств).

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ФИГУР

Приоритетные предварительные заявки на патент США, по которым настоящая заявка испрашивает приоритет, содержат по меньшей мере один цветной чертеж. Если предварительные заявки позже будут опубликованы в открытом доступе, копии цветных чертежей должны быть предоставлены в Ведомство по патентам и товарным знакам США по запросу и после уплаты необходимой пошлины.

На **Фиг. 1A-C** показано, что внеклеточный домен VISTA содержит исключительно высокую частоту остатков гистидина, что многие из этих остатков гистидина являются консервативными, и что, по меньшей мере, некоторые из этих остатков гистидина могут участвовать в связывании рецептора-лиганда. На **Фиг. 1A** показана диаграмма белков, содержащих иммуноглобулиновый домен, при этом число аминокислотных остатков внеклеточного домена для каждого белка отложено по оси x, а частота остатков гистидина во внеклеточном домене каждого белка отложена по оси y. Размер каждой точки данных соответствует общему количеству остатков гистидина во внеклеточном домене каждого белка. На **Фиг. 1B** показаны выровненные аминокислотные последовательности внеклеточных доменов VISTA человека, яванского макака и мыши. Отмечены положения последовательностей сигнального пептида (Sig) и трансмембранного домена (TMD). Остатки гистидина, консервативные у всех трех видов, выделены жирным шрифтом и подчеркнуты; остатки гистидина, консервативные у человека и яванского макака, выделены только жирным шрифтом. На **Фиг. 1C** показана модель трехмерной структуры иммуноглобулинового домена VISTA человека. Остатки гистидина изображены в виде шаростержневых контуров.

На **Фиг. 2A-B** показана модель, в которой остатки гистидина во внеклеточном домене VISTA придают контррецепторную селективность в отношении кислотного pH, а не физиологического pH. На **Фиг. 2A** показано равновесие между отсутствием и

присутствием протонирования пирроламмонийной группы (NH) в остатке гистидина. Значение pKa гистидина в растворе составляет 6,5, что указывает на то, что остатки гистидина с более высокой вероятностью протонируются при pH 6,5 и ниже и, таким образом, будут положительно заряженными, чем при более высоком pH. На **Фиг. 2B** показана модель, в которой VISTA связывается с гликопротеиновым лигандом P-селектина 1 (PSGL-1) или другими контррецепторами и лигандами ("VISTA-R") при кислотном pH. Таким образом, связывание антитела с внеклеточным доменом VISTA при кислотном pH, а не при физиологическом pH, может быть решающим для ингибирования или модуляции активности VISTA.

На **Фиг. 3** показан уровень поверхностной экспрессии VISTA (средняя интенсивность флуоресценции (MFI) при окрашивании антителами против VISTA) на инфильтрирующих опухоль макрофагах, дендритных клетках, нейтрофилах, CD4+ эффекторных Т-клетках, CD4+ регуляторных Т-клетках, CD8+ Т-клетках, естественных киллерных клетках (NK) и В-клетках. VISTA экспрессируется на многих инфильтрирующих опухоль лейкоцитах, в частности миелоидных клетках. Микроокружение опухоли часто имеет кислотную среду, позволяя VISTA связывать контррецепторы и лиганды.

На **Фиг. 4A-G** показано, что VISTA селективно связывается с лейкоцитами и с PSGL-1 при кислотном pH с минимальным связыванием при нейтральном pH, и что такое связывание может блокироваться антителом против VISTA. Слева на **Фиг. 4A** показаны репрезентативные гистограммы связывания флуоресцентно конъюгированного рекомбинантного мультимера VISTA с активированными CD4+ Т-клетками человека. Закрашенные гистограммы, от темно-серого до более светлого, показывают связывание при pH 7,0, 6,5, 6,4, 6,3, 6,1 и 6,0. На некоторых гистограммах отмечены соответствующие значения pH. Связывание не содержащих VISTA контрольных мультимеров при pH 6,0 показано в виде незакрашенной гистограммы. Справа показано среднее значение MFI связывания VISTA (круги) и контрольного (треугольники) мультимера с активированными CD4+ Т-клетками человека от двух доноров при разном pH. На **Фиг. 4B** показаны типичные гистограммы связывания рекомбинантного мультимера VISTA с мононуклеарными клетками периферической крови (МКПК) при pH 6,0 и pH 7,4. Закрашенные гистограммы, от темно-серого до более светлого, показывают связывание при pH 6,0 с CD19+ В-клетками, CD4+ Т-клетками, CD8+ Т-клетками, CD56+ NK-клетками и CD14+ моноцитами. Гистограммы с незакрашенными, сплошными и пунктирными границами показывают связывание при pH 7,4 с суммарными МКПК лимфоцитами и моноцитами соответственно. На **Фиг. 4C** показано типичное связывание рекомбинантного мультимера VISTA с активированными CD4+ Т-клетками человека в присутствии блокирующего антитела против VISTA (квадраты) или контрольного, неспецифичного к VISTA, совпадающего по изотипу антитела (круги). Концентрации антител отложены по логарифмической шкале. Также показаны нелинейные регрессии. Треугольник обозначает фоновый сигнал от активированных человеческих CD4+ Т-клеток, которые не были окрашены

рекомбинантными мультимерами VISTA. На **Фиг. 4D** показаны репрезентативные двумерные диаграммы проточной цитометрии связывания рекомбинантного мультимера VISTA при pH 6,0 с гепарансульфат-дефицитными клетками яичников китайского хомячка (CHO) (линия pGSD-677, Американская коллекция типовых культур), которые были трансфицированы для экспрессии человеческого PSGL- 1. Связывание мультимеров проводили в присутствии и в отсутствие блокирующего антитела против VISTA, показанного на Фиг. 4C. Клетки, оставленные неокрашенными рекомбинантными мультимерами VISTA, показаны в качестве контроля. Окрашивание антителом к PSGL-1 отложено по оси ординат, а окрашивание мультимером VISTA отложено по оси абсцисс. На **Фиг. 4E** показаны репрезентативные гистограммы связывания рекомбинантного слитого мышиного VISTA-Fc белка со спленоцитами мыши при pH 6,0 и pH 7,4. Закрашенные гистограммы, от темно-серого до более светлого, показывают связывание при pH 6,0 с CD8+ Т-клетками, CD11b+ миелоидными клетками и CD4+ Т-клетками. Незакрашенная гистограмма показывает связывание при pH 7,4 с суммарными спленоцитами. На **Фиг. 4F** и **G** показано, что мультимер VISTA связывается с моноцитами и нейтрофилами, соответственно, причем связывание при pH 6,0 сильнее, чем при pH 7,4.

На **Фиг. 5A-D** показано, что VISTA опосредует супрессию Т-клеток и межклеточную адгезию избирательно при кислотном pH, и что оба эффекта могут быть устранены блокирующим антителом против VISTA. На **Фиг. 5A** показано образование репрезентативного конъюгата клетка:клетка при pH 6,0 и 7,0 между клетками 293T, экспрессирующими hVISTA или контрольный вектор (отложенный по осям Y), и клетками CHO, эндогенно экспрессирующими на клеточной поверхности гепарансульфат, по осям X. **Фиг. 5B** является графиком частоты конъюгатов клеток, образованных при pH 6,0 между теми же клетками в присутствии блокирующего антитела против VISTA, неблокирующего антитела против VISTA или совпадающих по изотипу неспецифичных к VISTA контрольных антител. На **Фиг. 5C** показаны репрезентативные диаграммы люциферазной активности, генерируемой клетками Jurkat (линия человеческих Т-клеток), экспрессирующими NFkB с репортером люциферазой после совместного культивирования при различном pH с клетками 293T, экспрессирующими h VISTA и одноцепочечный вариабельный фрагмент агонистического антитела против человеческого Т-клеточного рецептора OKT3 ("искусственные антигенпрезентирующие клетки"). Блокирующее антитело против VISTA (квадраты) или совпадающее по изотипу неспецифичное к VISTA контрольное антитело (круги) добавляли к совместно культивируемым клеткам. На **Фиг. 5D** данные, показанные на Фиг. 5A, отложены на диаграмме как кратное увеличение сигнала люциферазы при обработке антителами против VISTA в сравнении с контролем ("величина эффекта").

На **Фиг. 6A-G** показано, что VISTA может быть обнаружен во внутриклеточных эндосомах, особенно в Rab11+ рециркулирующих эндосомах, и может возвращаться на поверхность и с поверхности клеток посредством эндосомного транспорта. На **Фиг. 6A** показана колокализация VISTA, Rab5 (маркера ранних эндосом), Rab7 (маркера поздних

эндосом) и Rab11 (маркера рециркулирующих эндосом) в клетках 293T, экспрессирующих VISTA человека. На **Фиг. 6B** показана колокализация VISTA и Rab11 в моноцитах человека. Внутриклеточный VISTA колокализован с Rab11+ рециркулирующими эндосомами. Контрольное антитело, не связывающееся с VISTA, такого же изотипа, что и антитело к VISTA ("cAb"), не связывается с моноцитами. На **Фиг. 6C** показано связывание трех антител против VISTA с рекомбинантным VISTA при pH 7,4 (черный), 6,7 (темно-серый) и 6. (светло-серый). На **Фиг. 6D** показана чувствительность линии клеток острого миелоидного лейкоза (ОМЛ), экспрессирующих VISTA, к киллингу под действием тех же антител против VISTA 1 (перевернутые треугольники), 2 (круги), 3 (квадраты) или неспецифичных к VISTA контрольных антител (треугольники), несущих катепсин B-чувствительные линкеры и цитотоксические полезные нагрузки. Жизнеспособность клеток (CellTiter-Glo LU) отложена по оси Y, а концентрации антител отложены по оси X. На **Фиг. 6E** сравнивается связывание hVISTA антитела 3 против VISTA со сконструированным вариантом ("VISTA mAb 3c"), которое не демонстрирует нарушения связывания при кислотном pH. На **Фиг. 6F** показан анализ конъюгата антитело-лекарственное средство, в котором сравнивается эффективность антитела против VISTA 3 (квадраты) и 3c (ромбы). На **Фиг. 6G** показана схема эндосомного транспорта с рециркуляцией VISTA на поверхность и с поверхности клетки посредством ранних эндосом и рециркулирующих эндосом.

На **Фиг. 7A-F** показано, как библиотеки вариантов антител против VISTA были сконструированы и подвергнуты скринингу для получения антител, селективных по кислотному pH. На **Фиг. 7A** показаны аминокислотные замены, которые были сделаны в CDR 3 VH клона P1-061029 антитела против человеческого VISTA (сокращенно '029) для создания библиотеки '029 для скрининга. Чтобы потенциально улучшить связывание с богатой гистидином областью VISTA при кислотном pH, библиотеки допускали замену отрицательно заряженных аминокислот аспартата и глутамата, а также pH-чувствительного гистидина. X=H, D или E. Последовательности в квадратных скобках были исключены из синтеза, чтобы предотвратить введение склонностей. Всего было синтезировано 647 уникальных последовательностей P1-061029 HCDR3 с 1-2 мутациями. На **Фиг. 7B** показана процедура, с помощью которой библиотеку '029 многократно подвергали скринингу и отбору вариантов антител, селективных по кислотному pH. R обозначает раунд отбора. На **Фиг. 7C** показаны репрезентативные данные двумерных графиков проточной цитометрии, показывающие пул вариантов после 9 раундов отбора. Связывание VISTA отложено по оси y, а экспрессия вариантного антитела отложена по оси x. Показаны данные связывания при различных концентрациях антител и pH. На **Фиг. 7D** показана диаграмма связывания P1-061029 и его дочерних клонов с VISTA человека при pH 6,0 и 7,4. На **Фиг. 7E** показана диаграмма скорости диссоциации P1-061029 и его дочерних клонов с VISTA человека при pH 6,0. На **Фиг. 7F** показаны данные ППР по связыванию антител P1-068761, P1-068767 и P1-061029 с VISTA человека при pH 6,0 и pH 7,4.

На **Фиг. 8A-F** показана селективная по кислотному pH активность связывания

клеток, блокирующая и эффекторная активность антител к VISTA, P1-068761 и P1-068767. На **Фиг. 8A** и **Фиг. 8B** показана средняя интенсивность флуоресценции селективных по кислотному pH антител P1-068761 (**Фиг. 8A**) и P1-068767 (**Фиг. 8B**), связывающихся с клетками Raji, эктопически экспрессирующими VISTA человека. Клетки окрашивали приблизительно при pH 6,0 (круги; верхняя кривая на фиг. 8A), 6,1 (квадраты; третья кривая сверху), 6,2 (треугольники; вторая кривая сверху), 6,4 (перевернутые треугольники; четвертая кривая сверху, близкая к кривой при pH 6,1), 6,6 (ромбы; четвертая кривая снизу), 7,0 (круги; третья кривая снизу), 7,2 (квадраты; вторая кривая снизу) и 8,1 (незаштрихованные треугольники; нижняя кривая на Фиг. 8A). Связывание детектировали с помощью конъюгированного с флуоресцентной меткой вторичного антитела против IgG человека. На **Фиг. 8C** показано связывание P1-068767 (круги) и совпадающего по изотипу неспецифичного контрольного антитела (треугольники) с клетками Raji, эктопически экспрессирующими VISTA человека, при 3125 нг/мл и разном pH. "pH_{50}", значение pH, при котором теряется 50% связывания P1-068767, составляет приблизительно 6,6. На **Фиг. 8D** показаны средние интенсивности флуоресценции (MFI) совпадающего по изотипу неспецифичного контрольного антитела (закрашенные и незакрашенные круги при pH 7,0 и 6,0 соответственно), мАт 2 против VISTA ("контроль", см. Фиг. 6C, закрашенные и незакрашенные квадраты при pH 7,0 и 6,0 соответственно), P1-068761 (закрашенные и незакрашенные треугольники при pH 7,0 и 6,0 соответственно) и P1-068767 (закрашенные и незакрашенные перевернутые треугольники при pH 7,0 и 6,0 соответственно), связывающиеся с моноцитами человека. Связывание детектировали при использовании конъюгированных с флуоресцентной меткой вторичных антител против IgG человека. На **Фиг. 8E** показано сопоставимое блокирование связывания рекомбинантного мультимера VISTA с активированными CD4+ Т-клетками человека при pH 6,0 под действием P1-061029 (квадраты), P1-068761 (треугольники) и P1-068767 (перевернутые треугольники), тогда как неспецифичное к VISTA контрольное антитело (круги) не блокировало связывание VISTA. На **Фиг. 8F** показана сниженная активность P1-068761 (треугольники) и P1-068767 (перевернутые треугольники) при опосредовании антителозависимой клеточной цитотоксичности (ADCC) при физиологическом pH. Также показаны P1-061029 (квадраты), неспецифичное к VISTA антитело положительного контроля (круги) и неспецифичное к VISTA антитело отрицательного контроля (ромбы). Специфический NK-клеточный лизис клеток-мишеней в процентах от общего количества клеток-мишеней отложен по оси y, и концентрации антител отложены по оси x. Также показаны нелинейные регрессии.

На **Фиг. 9** показана улучшенная фармакокинетика (ФК) селективных по кислотному pH антител против VISTA у яванских макаков. На фигуре показана динамика концентраций антитела в сыворотке у яванских макаков, получавших антитело к VISTA 2 ("контроль", круги, см. Фиг. 6C), антитело к VISTA 3 ("чувствительное к кислотному pH", квадраты, см. Фиг. 6C) или P1-068767 (треугольники).

На **Фиг. 10A и 10B** показано влияние мутаций на связывание селективных по кислотному pH антител против VISTA '761 и '767. На **Фиг. 10A** показаны данные кинетики

связывания реверсивных мутантов P1-068761 при pH 7,4, pH 6,7 и pH 6,0 и положение их реверсивных мутаций относительно P1-068761. На **Фиг. 10B** показаны данные кинетики связывания реверсивных мутантов P1-068767 при pH 7,4, pH 6,7 и pH 6,0 и положение их реверсивных мутаций относительно P1-068767.

На **Фиг. 11A-C** показан биннинг и картирование эпитопов различных антител против VISTA. На **Фиг. 11A** показана конкуренция P1-068761 и P1-068767 за связывание с эпитопом VISTA в сравнении с P1-061029 и контрольными антителами к VISTA. На **Фиг. 11B** и **Фиг. 11C** показаны графические представления эпитопов всех остатков для блокирующего hVISTA антитела (Фиг. 11B), как перечислено в Таблице 14, по сравнению с не блокирующим hVISTA антителом (мАт 1; Фиг. 11C). Аминокислотные остатки 66(H) и 162(A) указаны для обозначения ориентации молекулы. Остатки гистидина выделены серым цветом, а остатки эпитопа выделены черным цветом.

На **Фиг. 12A-C** показано данные визуализируемого капиллярного изоэлектрического фокусрования (icIEF) для следующего: **Фиг. 12A**: P1-061029, **Фиг. 12B**: P1-068761 и **Фиг. 12C**: P1-068767. Указана изоэлектрическая точка основных пиков (основная pI), а также маркеры pI.

На **Фиг. 13A и B** показано выравнивание вариабельных областей для дочерних клонов '029 и '015. На **Фиг. 13A** показано выравнивание аминокислотных последовательностей вариабельных областей '029 и его дочерних клонов. На **Фиг. 13B** показано выравнивание аминокислотных последовательностей вариабельных областей '015 и его дочерних клонов.

На **Фиг. 14** показано выравнивание VH-последовательностей P1-068761, с и без замен K16R и T84A. Подчеркнутые двойной линией остатки указывают положения 16 и 84 каркасных областей, и заштрихованные участки указывают CDR-области.

Фиг. 15A-O: Мышам C57BL6 дикого типа имплантировали опухоли MC38 и вводили несвязывающие, совпадающие по изотипу контрольные антитела (черные квадраты), блокирующее мышиный VISTA антитело VISTA.10 (треугольники вершиной вверх), блокирующее мышиный PD-1 антителом (квадраты) или комбинацию блокирующих антител к VISTA и PD-1 (треугольники вершиной вниз). Все антитела имели изотип IgG1-D265A мыши (Fc-инертный) (см. Фиг. 15A-D). Эти данные представляют три независимых эксперимента. На **Фиг. 15A-D** показаны объемы опухоли в динамике (n=10 в группе). "TF" обозначает мышей, у которых опухоли не прижились. На **Фиг. 15E и F** показана частота внутриопухолевых CD8+ T-клеток и CD4+ T-клеток через 7 дней после начала лечения (n=5 в группе). Однофакторный дисперсионный анализ с множественными сравнениями Даннета, P=0,0001. На **Фиг. 15G и H** показаны результаты для отдельных мышей, показанных на **Фиг. 15A-D**. **Фиг. 15I**: Мышам с нокаутом VISTA (KO) и однопометным животным дикого типа (WT) имплантировали опухоли MC38 и вводили несвязывающие контрольные антитела, совпадающие по изотипу (две верхние кривые (0/7 TF и 0/5 TF, отмечены кругами и треугольниками вершиной вниз), или антитело, блокирующее мышиный PD-1 (две нижние кривые 0/5 TF и 5/8 TF, отмечены квадратами и

треугольниками вершиной вниз). Медиана роста опухоли и количество мышей, которые не имели опухоли (TF) в конце исследования, в сравнении с общим количеством мышей показаны рядом с каждой кривой (например, 0/7 TF). Эти данные представляют два независимых эксперимента. Планки погрешностей отображают межквартильный размах. На **Фиг. 15J-M** показаны объемы опухолей у мышей с нокином человеческого VISTA (KI), которым имплантировали опухоли MC38 и вводили несвязывающие, совпадающими по изотипу контрольные антитела (**Фиг. 15J**), блокирующее мышиный PD-1 антитело (**Фиг. 15K**), комбинацию мышиного блокирующего PD-1 антитела и неселективного по pH, блокирующего VISTA человека антитела P1-061029 (**Фиг. 15L**) или комбинацию блокирующего мышиного PD-1 и селективного по кислотному pH человеческого антитела, блокирующее VISTA, P1-068767 (**Фиг. 15M**). Все антитела имели изотип IgG1-D265A мыши. Показаны объемы опухоли в динамике (n=5-8 в группе). Эти данные представляют один независимый эксперимент. На **Фиг. 15N** показаны концентрации антител у мышей с KI VISTA человека и однопометных мышей дикого типа (WT) в сыворотке крови после внутривенной инъекции 5 мг/кг P1-061029 (WT, треугольники вершиной вниз; KI, квадраты) или P1-068767 (WT, треугольники вершиной вверх; KI, ромбы). Вычисленное среднее время удерживания в сыворотке (MRT) для P1-061029 и P1-068767 у мышей KI составляло 4,1 и 71 час соответственно. n=4 мыши KI и 1-2 мыши WT на одно антитело. Эти данные представляют один эксперимент. На **Фиг. 15O** показаны концентрации антител в сыворотке яванских макаков после внутривенной инъекции 5 мг/кг VISTA.4 (круги) или P1-068767 (квадраты). Вычисленное среднее время удерживания в сыворотке (MRT) для VISTA.4 и P1-061029 составляло 7,6 часа и 717 часов соответственно (n=1 макак на антитело). Эти данные представляют один эксперимент. Планки погрешностей отображают стандартную ошибку среднего, если не указано иное.

На **Фиг. 16A-C** показаны репрезентативные гистограммы экспрессии PD-1 внутриопухолевыми CD8+ Т-клетками (Фиг. 16A), LAG-3 (Фиг. 16B) и TIM-3 (Фиг. 16C) через 7 дней после начала лечения. Планки погрешностей отображают стандартную ошибку среднего.

На **Фиг. 17A-C** показано, что VISTA связывается с PSGL-1 при кислотном pH, и что это взаимодействие блокируют антитела к VISTA P1-061029, P1-068761, P1-068767 и VISTA.4. На **Фиг. 17A** показаны сенсограммы связывания BLI для связывания P-Selectin-Fc и VISTA-Fc с иммобилизованным PSGL1 при pH 6,0 и pH 7,4. **Фиг. 17B** является гистограммой, на которой показано, что антитела P1-061029, P1-068761, P1-068767 и VISTA.4 ингибируют связывание PSGL-1 с hVISTA. На **Фиг. 17C** показано блокирование связывания VISTA-Fc с клетками CHO-PSGL-1 антителом VISTA.4 (треугольники вершиной вверх) и антителом против PSGL-1, KPL-1 (круги). Эти данные представляют два независимых эксперимента. Планки погрешностей отображают стандартную ошибку среднего.

На **Фиг. 18A-E** показаны изображения структуры сокристалла Fab P1-068767 и hVISTA или (на Фиг. 18E) неблокирующего антитела VISTA.5 и hVISTA. Домен IgV VISTA

имеет необычное, богатое гистидином удлинение центрального β-слоя. Домен IgV VISTA кристаллизовали с антигенсвязывающим фрагментом P1-068767 (Fab). Кристаллическая структура комплекса VISTA+P1-068767 была определена с разрешением 1,6 Å. На Фигуре 18A показана структура сокристалла домена IgV VISTA:P1-068767 Fab. На Фигуре 18A показана общая структура домена IgV VISTA в комплексе с Fab P1-068767 (тяжелая цепь, темно-серый; легкая цепь, светло-серый). На Фигуре 18B показано наложение IgV доменов VISTA и PD-L1. Остатки гистидина VISTA показаны в виде стержней. На Фигуре 18B показано, что домен IgV VISTA обладает необычным удлинением β-слоя, богатым гистидином. На Фигуре 18C показана молекулярная поверхность эпитопа P1-068767 (светло-серая электростатическая поверхность), представленная кристаллической структурой VISTA+P1-068767. На Фигуре 18C показано, что блокирующие антитела связываются с богатым гистидином удлинением β-слоя VISTA. На Фигуре 18D показано увеличенное изображение области контакта между VISTA (серое ленточное изображение, остатки эпитопа H121, H122 и H123 показаны в виде стержневой модели) и P1-068767 (изображенного в виде электростатической поверхности с остатками E100 и D102 в виде стержневой модели). На Фигуре 18D показано, что селективное по кислотному pH P1-068767 связывает гистидины VISTA кислотными остатками. На Фигуре 18E показано, что неблокирующее антитело VISTA.5 связывается в другом участке hVISTA, отличающемся от P1-068767.

На **Фиг. 19** показан эпитоп VISTA.4, определенный с помощью MS-HDX (MC кривая).

На **Фиг. 20** показано положение эпитопа VISTA.4 в аминокислотной последовательности hVISTA на основе данных на Фиг. 19. Остатки 57-68, 86-97 и 148-165, также выделенные на Фиг. 19, показаны более светлым серым текстом и подчеркиванием на Фиг. 20.

На **Фиг. 21A и 21B** показано связывание мультимера VISTA с активированными человеческими CD4+ Т-клетками при pH 6,0 в присутствии антител VISTA.4 (треугольники), VISTA.5 (квадраты) и не связывающего VISTA антитела (контроль, круги). На Фигуре 21B показана эффективность блокирования каждого антитела в отношении неблокированных Т-клеток. Однофакторный дисперсионный анализ с множественными сравнениями Даннетта, ***, $P<0,001$. Эти данные представляют больше четырех независимых экспериментов. Планки погрешностей отображают стандартную ошибку среднего.

На **Фиг. 22** показано, что антитела, блокирующие связывание VISTA при кислотном pH, являются функциональными. Влияние блокирующего антитела VISTA.4 (квадраты), неблокирующего антитела VISTA.5 (треугольники) и не связывающего VISTA (контроль, круги) антитела на пролиферацию (Фигура 22A) и продукцию интерферона (Фигура 22B) человеческих CD4+ Т-клеток, совместно культивируемых с клетками 293T, модифицированными для экспрессии VISTA и агониста TCR (293T-OKT3-VISTA). Однофакторный дисперсионный анализ с множественными сравнениями Даннетта, *,

P<0,05. Эти данные представляют больше четырех независимых экспериментов.

На **Фиг. 23** показано влияние вызванного VISTA.4 блокирования на активацию Т-клеток Jurkat (путем измерения ингибирования NF-kB) после совместного культивирования с клетками 293T-OKT3-VISTA при разном pH. Эти данные представляют совокупность трех независимых экспериментов.

На **Фиг. 24** показано влияние pH на вызванную VISTA супрессию CD4+ Т-клеток человека. Клетки стимулировали при указанном pH с использованием планшета, покрытого OKT3 и VISTA-Fc, в присутствии VISTA.4 (треугольники вершиной вверх), VISTA.5 (треугольники вершиной вниз) или антитела, не связывающегося с VISTA (контрольное антитело, квадраты). Также показаны клетки, стимулированные OKT3 на планшете и контрольным IgG (контроль VISTA, черные круги) или без OKT3 (без OKT3, серый ромб). Эти данные представляют один независимый эксперимент.

На **Фиг. 25 A-E** показано, что специфичность связывания VISTA:PSGL-1 определяют остатки гистидина и сульфотирозина. Как показано на **Фиг. 25A**, рекомбинантные белки человеческого PSGL-1 19-mer-Fc были продуцированы в клетках с или без сиалил-Льюис X модификации (SLX+ и SLX-соответственно). Величина связывания BLI при pH 6,0 (белый) и 7,4 (черный) показана для VISTA-Fc и P-селектина-Fc, как указано. Данные представляют один независимый эксперимент. Как показано на **Фиг. 25B**, гликопептиды человеческого PSGL-1 19-mer-Fc, полученные с сиалил-Льюис X модификацией, были разделены на фракции с более чем 90% сульфатированием тирозина (sY-богатые) и менее чем 1% сульфатированием тирозина (sY-бедные). Величина связывания BLI при pH 6,0 (белый) и 7,4 (черный) показана для VISTA-Fc и P-селектина-Fc, как указано. Эти данные представляют один независимый эксперимент. Как показано на **Фиг. 25C-25D**, рекомбинантные белки VISTA-Fc человека были продуцированы с остатками гистидина в положениях 153-155, которые оставляли интактными (WT VISTA) или заменяли аланином (мутант H2A), аспарагиновой кислотой (мутант H2D) или аргинином (мутант H2R). На **Фиг. 25C** показана величина связывания BLI для белков дикого типа и мутантных белков VISTA-Fc, связывающихся с захваченным PSGL-1 при pH 6,0 и 7,4. Эти данные представляют один эксперимент. На **Фиг. 25D** показано связывание VISTA-Fc с клетками CHO-PSGL-1 при pH 6,0 для VISTA WT (кружки), мутанта H2A (квадраты), мутанта H2D (треугольники вершиной вниз) и мутанта H2R (серые треугольники вершиной вверх), а также контроля (ромбы). Эти данные представляют два независимых эксперимента. На **Фиг. 25E** показана компьютерная модель 19-мерного гликопептида PSGL-1 (вверху) в комплексе с богатым гистидином интерфейсом лиганда VISTA (серые ленты, внизу). Отмечены остатки VISTA H98, H100, H153 и H154. Также отмечены остатки PSGL-1 Y46, Y48, E56, T57 и Y58.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

Определения

В настоящей заявке использование "или" означает "и/или", если не указано иное. В контексте множественного зависимого пункта формулы использование "или" относится

более чем к одному предшествующему независимому или зависимому пункту формулы только в альтернативе. Термины "содержащий", "включающий" и "имеющий" могут использоваться в настоящем документе попеременно. Согласно настоящему изобретению "выделенная" молекула является молекулой, которая была удалена из ее естественного окружения. Таким образом, термин "выделенный" не отражает обязательно степень, до которой молекула была очищена.

Термин "полипептид" относится к полимеру из аминокислотных остатков и не ограничен минимальной длиной. "Белок" может включать один или более полипептидов. Такие полимеры из аминокислотных остатков могут содержать природные или неприродные аминокислотные остатки и включают, без ограничения перечисленным, пептиды, олигопептиды, димеры, тримеры и мультимеры аминокислотных остатков. Это определение охватывает как полноразмерные белки, так и их фрагменты. Термины также включают постэкспрессионные модификации полипептида, например гликозилирование, сиалирование, ацетилирование, фосфорилирование и т.п. Кроме того, в рамках настоящего изобретения "полипептид" или "белок" относится к полипептиду или белку, соответственно, который включает модификации, такие как делеции, добавления и замены (обычно консервативные по своей природе), в нативной последовательности, при условии сохранения белком нужной активности. Эти модификации могут быть преднамеренными, например, посредством сайт-направленного мутагенеза, или могут быть случайными, например, посредством мутаций хозяев, продуцирующих белки, или ошибок из-за ПЦР-амплификации. Белок может содержать два или более полипептидов.

"VISTA" - сокращение от англ. V-domain immunoglobulin-containing suppressor of T-cell activation protein, содержащий V-домен иммуноглобулина белок-супрессор активации Т-клеток, который является членом семейства B7 регуляторов иммунных контрольных точек. VISTA также известен как гомолог PD-1 (PD1H), B7-H5, C10orf54, дифференцировка ESC-1 (Dies-1), предшественник рецептора тромбоцитов Gi24 и домен смерти 1α (DD1α). Термин "hVISTA" или "huVISTA" в настоящем документе относится к белку VISTA человека. Аминокислотная последовательность hVISTA, включающая его сигнальный пептид, представлена в SEQ ID NO: 1, тогда как последовательность без сигнального пептида представлена в SEQ ID NO: 2 (см. Таблицу последовательностей ниже). Внеклеточный домен или "ECD" VISTA или "VISTA-ECD" относится к части белка VISTA, которая расположена во внеклеточном пространстве, которая, в случае hVISTA, включает аминокислоты 1-162 SEQ ID NO: 2 (см. также Фиг. 1B.) Часть hVISTA, "IgV домен", включает остатки 5-135 SEQ ID NO: 2.

Термин "лидерный пептид" или "лидерная последовательность" относится к последовательности аминокислотных остатков, расположенной на N-конце полипептида и облегчающей секрецию полипептида из клетки млекопитающего. Лидерная последовательность может отщепляться после экспорта полипептида из клетки млекопитающего с образованием зрелого белка. Лидерные последовательности могут быть природными или синтетическими, а также они могут быть гетерологичными или

гомологичными по отношению к белку, к которому они присоединены.

Термин "антитело" или "Ат" используется в настоящем документе в самом широком смысле и охватывает различные структуры антител, включающие, без ограничения перечисленными, моноклональные антитела, поликлональные антитела, мультиспецифичные антитела (например, биспецифичные антитела) и фрагменты антител, если они демонстрируют требуемую антигенсвязывающую активность. При использовании в настоящем документе термин относится к молекуле, включающей, по меньшей мере, определяющую комплементарность область (CDR) 1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи и, по меньшей мере, CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, где молекула способна к связыванию с антигеном. Термин антитело включает, без ограничения перечисленным, фрагменты, которые способны связывать антиген, такие как Fv, одноцепочечный Fv (scFv), Fab, Fab'и $(Fab')_2$. Термин антитело также включает, без ограничения перечисленными, химерные антитела, гуманизированные антитела, человеческие антитела и антитела различных биологических видов, таких как мышь, яванский макак и т.д.

Термин "тяжелая цепь" или "HC" относится к полипептиду, включающему, по меньшей мере, вариабельную область тяжелой цепи, с лидерной последовательностью или без нее. В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь включает, по меньшей мере, часть константной области тяжелой цепи. Термин "полноразмерная тяжелая цепь" относится к полипептиду, включающему вариабельную область тяжелой цепи и константную область тяжелой цепи, с лидерной последовательностью или без нее, и с или без С-концевого лизина (K).

Термин "вариабельная область тяжелой цепи" или "VH" относится к области, включающей определяющую комплементарность область (CDR) тяжелой цепи 1, каркасную область (FR) 2, CDR2, FR3 и CDR3 тяжелой цепи. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область тяжелой цепи также включает, по меньшей мере, часть FR1 и/или, по меньшей мере, часть FR4. Как определено ниже, в некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь CDR1 включает остатки 26-35 из VH SEQ ID NO в настоящем документе; тяжелая цепь CDR2 включает остатки 50-66 из VH SEQ ID NO в настоящем документе и тяжелая цепь CDR3 включает остатки 99-110 из VH SEQ ID NO в настоящем документе. В других вариантах осуществления, если определено, тяжелая цепь CDR1 соответствует остаткам 31-35 Кэбата; тяжелая цепь CDR2 соответствует остаткам 50-65 Кэбата; и тяжелая цепь CDR3 соответствует остаткам 95-102 Кэбата. См., например, Kabat Sequences of Proteins of Immunological Interest (1987 и 1991, NIH, Bethesda, Md.). В некоторых вариантах осуществления CDR-области тяжелой цепи являются такими, как определено в настоящем документе, например, в приведенной ниже таблице последовательностей или в Таблице 2.

Термин "легкая цепь" или "LC" относится к полипептиду, включающему, по меньшей мере, вариабельную область легкой цепи, с лидерной последовательностью или без нее. В некоторых вариантах осуществления легкая цепь включает, по меньшей мере, часть константной области легкой цепи. Термин "полноразмерная легкая цепь" относится к

полипептиду, включающему вариабельную область легкой цепи и константную область легкой цепи, с лидерной последовательностью или без нее.

Термин "вариабельная область легкой цепи" или "VL" относится к области, включающей легкую цепь CDR1, FR2, HVR2, FR3 и HVR3. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область легкой цепи также включает FR1 и/или FR4. Как определено ниже, в некоторых вариантах осуществления легкая цепь CDR1 включает остатки 24-35 из VL SEQ ID NO в настоящем документе; легкая цепь CDR2 включает остатки 51-57 из VL SEQ ID NO в настоящем документе и легкая цепь CDR3 включает остатки 90-98 из VL SEQ ID NO в настоящем документе. В других вариантах осуществления, если определено, легкая цепь CDR1 соответствует остаткам 24-34 Кэбата; легкая цепь CDR2 соответствует остаткам 50-56 Кэбата; и легкая цепь CDR3 соответствует остаткам 89-97 Кэбата. См., например, Kabat Sequences of Proteins of Immunological Interest (1987 и 1991, NIH, Bethesda, Md.). В некоторых вариантах осуществления CDR-области легкой цепи являются такими, как определено в настоящем документе, например, в таблице последовательностей.

"Химерное антитело" относится к антителу, в котором часть тяжелой и/или легкой цепи получена из конкретного источника или биологического вида, а остальная часть тяжелой и/или легкой цепи получена из другого источника или биологического вида. В некоторых вариантах осуществления химерное антитело относится к антителу, включающему по меньшей мере одну вариабельную область из первого биологического вида (например, мыши, крысы, яванского макака и т.д.) и по меньшей мере одну константную область из второго биологического вида (такого как человек, яванский макак и т.д.). В некоторых вариантах осуществления химерное антитело включает по меньшей мере одну вариабельную область мыши и по меньшей мере одну константную область человека. В некоторых вариантах осуществления химерное антитело включает по меньшей мере одну вариабельную область яванского макака и по меньшей мере одну константную область человека. В некоторых вариантах осуществления все вариабельные области химерного антитела происходят из первого биологического вида, а все константные области химерного антитела происходят из второго биологического вида.

"Гуманизированное антитело" относится к антителу, в котором по меньшей мере одна аминокислота в каркасной области нечеловеческой вариабельной области была заменена соответствующей аминокислотой из человеческой вариабельной области. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело включает по меньшей мере одну человеческую константную область или ее фрагмент. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело предтавляет собой Fab, scFv, $(Fab')_2$ и т.д.

"Человеческое антитело" при использовании в настоящем документе относится к антителам, продуцируемым у людей, антителам, продуцируемым у не относящихся к человеку животных, включающих человеческие гены иммуноглобулинов, таких как XenoMouse®, а также антитела, отобранные с применением методов *in vitro*, таких как фаговый дисплей, в которых репертуар антител основан на человеческих

последовательностях иммуноглобулинов.

"Антитело к VISTA" или "антитело против VISTA" при использовании в настоящем документе относится к антителу, которое специфично связывается с VISTA, по меньшей мере, при некоторых условиях, таких как кислотный pH. В некоторых вариантах осуществления антитело может быть "антитело к huVISTA" или "антителом против huVISTA", что указывает на то, что оно специфично связывается с человеческим белком VISTA, по меньшей мере, при некоторых условиях, например, при кислотном pH. Антитело к VISTA, которое специфично связывается с внеклеточным доменом (ECD) VISTA, например, может называться "антителом к VISTA-ECD".

В некоторых вариантах осуществления антитело в настоящем документе может содержать одну или более "консервативных замен" по сравнению с конкретной, определенной последовательностью. "Консервативные аминокислотные замены" в настоящем документе относятся к заменам аминокислотного остатка аминокислотным остатком, имеющим сходную боковую цепь. Семейства аминокислотных остатков, имеющих сходные боковые цепи, включают аминокислоты с основными боковыми цепями (например, лизин, аргинин, гистидин), кислотными боковыми цепями (например, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту), незаряженными полярными боковыми цепями (например, глицин, аспарагин, глутамин, серин, треонин, тирозин, цистеин, триптофан), неполярными боковыми цепями (например, аланин, валин, лейцин, изолейцин, пролин, фенилаланин, метионин), бета-разветвленными боковыми цепями (например, треонин, валин, изолейцин) и ароматическими боковыми цепями (например, тирозин, фенилаланин, триптофан, гистидин). В некоторых вариантах осуществления предсказанный несущественный аминокислотный остаток в антителе в настоящем документе заменяют другим аминокислотным остатком из того же семейства боковых цепей (например, основным, кислотным, бета-разветвленным, ароматическим, незаряженным полярным). Способы определения нуклеотидных и аминокислотных консервативных замен, которые не приводят к нарушению связывания антигена, были описаны, например, в публикациях Brummell et al., Biochem. 32:1180-1187 (1993); Kobayashi et al.Protein Eng. 12(10):879-884 (1999); и Burks et al.Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94:412-417 (1997)).

В некоторых вариантах осуществления антитело может связываться с VISTA с более высокой аффинностью при кислотном pH, чем при нейтральном и/или физиологическом pH. В некоторых вариантах осуществления антитело может связываться с VISTA с более высокой аффинностью при кислотном pH и может лишь незначительно или неспецифично связываться при нейтральном и/или физиологическом pH.

"K_D" или "константа диссоциации" для связывания антитела с белком, например, белком VISTA-ECD является показателем аффинности или специфичного связывания антитела с белком, например, белком VISTA-ECD. Более низкая K_D указывает на улучшенное связывание или аффинность по сравнению с более высокой K_D. K_D состоит из отношения "скорости диссоциации" или k_{off} или k_d и "скорости ассоциации" или k_{on} или k_a

для антитела и полипептида. Скорость диссоциации и скорость ассоциации представляют собой скорости, с которыми два партнера по связыванию ассоциируют и диссоциируют в системе. Таким образом, более низкая скорость диссоциации, где скорость ассоциации остается примерно постоянной, приводит к более высокой общей аффинности и, таким образом, более низкой K_D. При использовании в настоящем документе, k_{off} конкретного значения "или меньше" указывает, что k_{off} или "скорость диссоциации" является такой, как указано, или ниже, чем указанная скорость.

Термины "специфичное связывание" или "специфично связывает" или подобные термины означают, что K_D для связывания двух полипептидов, таких как антитело и его полипептид-мишень, меньше, чем в случае между двумя случайными полипептидами, существующими в одинаковых условиях. Другими словами, K_D меньше, чем значение K_D в случае неспецифической агрегации полипептидов в системе.

В некоторых вариантах осуществления антитела специфично связываются с белком VISTA-ECD при конкретном pH или диапазоне pH. "Кислотный" pH в настоящем документе обычно относится к pH меньше 7,0, "основный" pH обычно относится к pH выше 7,0, и "нейтральный" pH обычно относится к pH приблизительно 7,0. "Физиологический pH" в настоящем документе относится к pH в нормальных (т.е. незлокачественных) физиологических условиях, например, от 7,35 до 7,45, или от 7,3 до 7,4, таких как приблизительно 7,4. Фразы, такие как "связывающийся в кислотных условиях" или "связывающийся в физиологических условиях" и т.п., используемые в настоящем документе в отношении связывания двух молекул, таких как VISTA и партнер VISTA по связыванию, или VISTA и Т-клетка, относятся к связыванию при кислотном pH и к связыванию при физиологическом pH, соответственно.

При указании антитела, которое "блокирует связывание" или "ингибирует связывание" лиганда (или рецептора) или конкурирующего антитела с рецептором (или лигандом), отдельно или на клетке, связывание блокируется, если наблюдается общее снижение, которое является статистически значимым в сравнении с контролем, например, общее снижение на 50% или больше, например общее снижение на 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или больше. "Блокирующее антитело против VISTA", например, является антителом, которое может блокировать связывание VISTA с PSGL-1 или другим лигандом VISTA, или рецептором, или гепарансульфат протеогликанами, по меньшей мере, в некоторых условиях, таких как кислотный pH.

"Модель опухоли" при использовании в настоящем документе относится к доклиническому исследованию *in vivo*, которое может использоваться для изучения биологической активности антитела к VISTA-ECD, и включает системы анализа на основе ксенотрансплантатных или нативных мышиных опухолей. В некоторых случаях модель опухоли может позволять отслеживать размер или рост опухоли после лечения антителом и/или отслеживать присутствие иммунных клеток в опухоли, таких как определенные типы Т-клеток или NK-клеток, для определения, вызывает ли антитело иммунный ответ или усиливает его.

Термин "иммуностимулирующее средство" при использовании в настоящем документе относится к молекуле, которая стимулирует иммунную систему, либо действуя в качестве агониста иммуностимулирующей молекулы, включая костимулирующую молекулу, либо действуя в качестве антагониста иммуноингибирующей молекулы, включая коингибирующую молекулу. Иммуностимулирующая молекула или иммуноингибирующая молекула может быть регулятором иммунной контрольной точки, таким как VISTA или другой представитель семейства B7, или другой молекулой, как описано ниже. Иммуностимулирующее средство может быть биологическим веществом, таким как антитело или фрагмент антитела, другим белком или вакциной, или может быть низкомолекулярным лекарственным средством. "Иммуностимулирующая молекула" включает рецептор или лиганд, который действует, вызывая усиление, стимуляцию, индукцию или иное "включение" иммунного ответа. Иммуностимулирующие молекулы, как определено в настоящем документе, включают костимулирующие молекулы. "Иммуноингибирующая молекула" включает рецептор или лиганд, который действует, вызывая уменьшение, ингибирование, супрессию или иное "выключение" иммунного ответа. Иммуноингибирующие молекулы, как определено в настоящем документе, включают коингибирующие молекулы. Такие иммуностимулирующие и иммуноингибирующие молекулы могут быть, например, рецепторами или лигандами, присутствующими на иммунных клетках, таких как Т-клетки, или присутствующими на клетках, участвующих во врожденном иммунитете, таких как NK-клетки.

"Процент (%) идентичность аминокислотных последовательностей" и "гомология" в отношении последовательности пептида, полипептида или антитела определяют как процент аминокислотных остатков в кандидатной последовательности, которая идентична по аминокислотным остаткам в определенной последовательности пептида или полипептида, после выравнивания последовательностей и введения пропусков, при необходимости, для получения максимального процента идентичности последовательностей, без учета каких-либо консервативных замен в качестве части идентичности последовательности. Выравнивание с целью определения процента идентичности аминокислотных последовательностей может быть выполнено различными способами, которые известны из уровня техники, например, с помощью общедоступной программы, такой как BLAST, BLAST-2, ALIGN или MEGALIGNTM (DNASTAR). Специалисты в данной области могут определить подходящие параметры для измерения выравнивания, включая любые алгоритмы, требуемые для получения максимального выравнивания на всем протяжении сравниваемых последовательностей.

Термины "вызывает" или "усиливает" относятся к инициированию или усилению любого события (такого как связывание белкового лиганда) или к инициированию или усилению любой биологической активности (такой как иммунный ответ) или фенотипической характеристики, или к инициированию или усилению частоты, степени или вероятности такой активности или характеристики. "Вызывать" или "усиливать" означает начинать или повышать активность, функцию и/или количество по сравнению с

референсным показателем. Не требуется, чтобы инициирование или усиление обязательно были полными. Например, в некоторых вариантах осуществления под "усилением" подразумевается способность вызывать общее увеличение на 20% или больше. В другом варианте осуществления под "усилением" подразумевается способность вызывать общее увеличение на 50% или больше. В еще одном варианте осуществления под "усилением" подразумевается способность вызывать общее увеличение на 75%, 85%, 90%, 95% или больше.

Термины "ингибирование" или "ингибирует" в более широком смысле относятся к уменьшению или прекращению любого события (такого как связывание белкового лиганда) или к уменьшению или прекращению любой фенотипической характеристики, или к уменьшению или прекращению частоты, степени или вероятности такой характеристики. "Уменьшать" или "ингибировать" означает снижать, уменьшать или устранять активность, функцию и/или количество по сравнению с референсным показателем. Не требуется, чтобы ингибирование или уменьшение обязательно были полными. Например, в некоторых вариантах осуществления под "уменьшением" или "ингибированием" подразумевается способность вызывать общее уменьшение на 20% или больше. В другом варианте осуществления под "уменьшением" или "ингибированием" подразумевается способность вызывать общее уменьшение на 50% или больше. В еще одном варианте осуществления под "уменьшением" или "ингибированием" подразумевается способность вызывать общее уменьшение на 75%, 85%, 90%, 95% или больше.

"Лечение" при использовании в настоящем документе охватывает любое введение или применение терапевтического средства при заболевании у человека и включает ингибирование заболевания или прогрессирования заболевания или одного или более симптомов заболевания, ингибирование или замедление заболевания или его прогрессирования, или одного или более симптомов заболевания, прекращение его развития, частичное или полное устранение заболевания или одного или более его симптомов, или предотвращение рецидива одного или более симптомов заболевания.

Термины "субъект" и "пациент" используются в настоящем документе попеременно в отношении человека.

Термин "эффективное количество" или "терапевтически эффективное количество" относится к количеству лекарственного средства, эффективному для лечения заболевания или нарушения у субъекта, например, для частичного или полного облегчения одного или более симптомов. В некоторых вариантах осуществления эффективное количество относится к количеству, эффективному в дозах и в течение периодов времени, необходимых для достижения требуемого терапевтического или профилактического результата.

Термин "злокачественные опухоли" используется в настоящем документе для обозначения группы клеток, которые демонстрируют аномально высокие уровни пролиферации и роста. Опухоль может быть доброкачественной (также называемая доброкачественная опухоль), предраковой или злокачественной. Злокачественные клетки

могут быть солидными раковыми клетками или лейкозными раковыми клетками. Термин "рост опухоли" используется в настоящем документе для обозначения пролиферации или роста клетки или клеток, которые включают рак, что приводит к соответствующему увеличению размера или степени рака.

Примеры форм рака, применимых к способам лечения, описанным в настоящем документе, включают, без ограничения перечисленными, карциному, лимфому, бластому, саркому и лейкоз. Более конкретные неограничивающие примеры таких форм злокачественных опухолей включают плоскоклеточный рак, мелкоклеточный рак легкого, рак гипофиза, рак пищевода, астроцитому, саркому мягких тканей, немелкоклеточный рак легкого (включая плоскоклеточный немелкоклеточный рак легкого), аденокарциному легкого, плоскоклеточную карциному легкого, рак брюшины, гепатоцеллюлярный рак, рак желудочно-кишечного тракта, рак поджелудочной железы, глиобластому, рак шейки матки, рак яичника, рак печени, рак мочевого пузыря, гепатому, рак молочной железы, рак толстой кишки, рак толстой и прямой кишки, карциному эндометрия или матки, карциному слюнной железы, рак почки, почечно-клеточную карциному, рак печени, рак предстательной железы, рак вульвы, рак щитовидной железы, карциному печени, рак головного мозга, рак эндометрия, рак яичка, холангиокарциному, карциному желчного пузыря, рак желудка, меланому и другие типы рака головы и шеи (включая плоскоклеточную карциному головы и шеи).

Введение "в комбинации с" одним или несколькими другими терапевтическими средствами включает одновременное (параллельное) и поочередное (последовательное) введение в любом порядке.

"Фармацевтически приемлемый носитель" относится к нетоксичному твердому, полутвердому или жидкому наполнителю, разбавителю, инкапсулирующему материалу, вспомогательной добавке или носителю, обычно применяемому в уровне техники с терапевтическим средством, которые вместе входят в состав "фармацевтической композиции" для введения субъекту. Фармацевтически приемлемый носитель нетоксичен для реципиентов в применяемых дозах и концентрациях и совместим с другими компонентами состава. Фармацевтически приемлемый носитель является подходящим для применяемого состава. Например, если терапевтическое средство требуется вводить перорально, носитель может быть желатиновой капсулой. Если терапевтическое средство требуется вводить подкожно, носитель в идеальном варианте не раздражает кожу и не вызывает реакцию на участке инъекции.

"Химиотерапевтическое средство" является химическим соединением, применяемым при лечении злокачественной опухоли. Примеры химиотерапевтических средств, которые могут применяться в способах в настоящем документе, включают, без ограничения, алкилирующие средства, такие как тиотепа и Цитоксан® циклосфосфамид; алкилсульфонаты, такие как бусульфан, импросульфан и пипосульфан; азиридины, такие как бензодопа, карбоквон, метуредопа и уредопа; этиленимины и метилмеламины, включая алтретамин, триэтиленмеламин, триэтиленфосфорамид, триэтилентиофосфорамид и

триметилмеламин; ацетогенины (в особенности, буллатацин и буллатацинон); камптотецин (включая синтетический аналог топотекан); бриостатин; каллистатин; CC-1065 (включая его синтетические аналоги адозелезин, карзелезин и бизелезин); криптофицины (в частности, криптофицин 1 и криптофицин 8); доластатин; дуокармицин (включая синтетические аналоги KW-2189 и CB1-TM1); элеутеробин; панкратистатин;

саркодиктиин; спонгистатин; азотистые иприты, такие как хлорамбуцил, хлорнафазин, холофосфамид, эстрамустин, ифосфамид, мехлоретамин, мехлорэтамина оксида гидрохлорид, мелфалан, новэмбихин, фенестерин, преднимустин, трофосфамид, урамустин; нитрозомочевины, такие как кармустин, хлорозотоцин, фотемустин, ломустин, нимустин и ранимустин; антибиотики, такие как ендииновые антибиотики (например, калихеамицин, в особенности калихеамицин гамма1I и калихеамицин омегаI1, см., например, Agnew, Chem. Intl. Ed. Engl., 33:183-186 (1994)); динемицин, включая динемицин A; бисфосфонаты, такие как клодронат; эсперамицин; а также хромофор неокарциностатина и родственные хромофоры хромопротеин ендииновых антибиотиков), аклациномицины, актиномицин, аутрамицин, азасерин, блеомицины, кактиномицин, карабицин, карминомицин, карцинофилин, хромомицины, дактиномицин, даунорубицин, деторубицин, 6-диазо-5-оксо-L-норлейцин, Адриамицин® доксорубицин (включая морфолино-доксорубицин, цианоморфолино-доксорубицин, 2-пирролино-доксорубицин и дезоксидоксорубицин), эпирубицин, эзорубицин, идарубицин, марцелломицин, митомицины, такие как митомицин C, микофеноловую кислоту, ногаламицин, оливомицины, пепломицин, порфиромицин, пуромицин, келамицин, родорубицин, стрептонигрин, стрептозоцин, туберцидин, убенимекс, циностатин, зорубицин; антиметаболиты, такие как метотрексат и 5-фторурацил (5-ФУ); аналоги фолиевой кислоты, такие как деноптерин, метотрексат, птероптерин, триметрексат; аналоги пуринов, такие как флударабин, 6-меркаптопурин, тиамиприн, тиогуанин; аналоги пиримидинов, такие как анцитабин, азацитидин, 6-азауридин, кармофур, цитарабин, дидезоксиуридин, доксифлуридин, эноцитабин, флоксуридин; андрогены, такие как калустерон, дромостанолона пропионат, эпитиостанол, мепитиостан, тестолактон; средства, угнетающие функцию коры надпочечников, такие как аминоглутетимид, митотан, трилостан; средства, восполняющие дефицит фолиевой кислоты, такие как фолиновая кислота; ацеглатон; альдофосфамид гликозид; аминолевулиновую кислоту; энилурацил; амсакрин; бестрабуцил; бисантрен; эдатраксат; дефосфамин; демеколцин; диазиквон; элфорнитин; эллиптиния ацетат; эпотилон; этоглюцид; галлия нитрат; гидроксимочевину; лентинан; лонидамин; майтанзиноиды, такие как майтанзин и ансамитоцины; митогуазон; митоксантрон; мопидамол; нитракрин; пентостатин; фенамет; пирарубицин; лозоксантрон; подофиллиновую кислоту; 2-этилгидразид; прокарбазин; полисахаридный комплекс PSK® (JHS Natural Products, Eugene, OR); разоксан; ризоксин; сизофиран; спирогерманий; тенуазоновую кислоту; триазиквон; 2,2',2"-трихлортриэтиламин; трихотецены (в особенности T-2 токсин, верракурин A, риридин A и ангидин); уретан; виндезин; дакарбазин; манномустин; митобронитол; митолактол; пипоброман; гацитозин; арабинозид

("Ara-C"); циклофосфамид; тиотепа; таксоиды, например, Таксол® паклитаксел (Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.), Абраксан®, не содержащий кремофор, стабилизированный альбумином нанодисперсный состав паклитаксела (American Pharmaceutical Partners, Schaumberg, Illinois) и Таксотер® доксетаксел (Rhône-Poulenc Rorer, Antony, France); хлорамбуцил; Гемзар® гемцитабин; 6-тиогуанин; меркаптопурин; метотрексат; аналоги платины, такие как цисплатин, оксалиплатин и карбоплатин; винбластин; платины; этопозид (VP-16); ифосфамид; митоксантрон; винкристин; Навельбин® винорелбин; новантрон; тенипозид; эдатрексат; дауномицин; аминоптерин; Кселоду; ибандронат; иринотекан (Камптозар, CPT-11) (включая схему лечения иринотеканом с 5-ФУ и лейковорином); ингибитор топоизомеразы RFS 2000; дифторметилорнитин (ДФМО); ретиноиды, такие как ретиноевую кислоту; капецитабин; комбрестатин; лейковорин (LV); оксалиплатин, включая схему лечения оксалиплатином (FOLFOX); ингибиторы PKC-альфа, Raf, H-Ras, EGFR (например, эрлотиниб (Тарцева®)) и VEGF-A, которые уменьшают пролиферацию клеток, а также фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любого из указанных выше.

Другие неограничивающие примеры химиотерапевтических средств, которые могут применяться в способах в настоящем документе, включают антигормональные средства, которые регулируют или ингибируют действие гормонов на опухоли, такие как антиэстрогены и селективные модуляторы эстрогеновых рецепторов (SERM), включающие, например, тамоксифен (включая Нолвадекс® тамоксифен), ралоксифен, дролоксифен, 4-гидрокситамоксифен, триоксифен, кеоксифен, LY117018, онапристон и Фарестон® торемифен; ингибиторы ароматазы, которые ингибируют фермент ароматазу, регулирующую синтез эстрогенов в надпочечниках, такие как, например, 4(5)-имидазолы, аминоглутетимид, Мегазу® мегестрола ацетат, Аромазин® эксеместан, форместан, фадрозол, Ривизор® ворозол, Фемара® летрозол и Аримидекс® анастрозол; и антиандрогены, такие как флутамид, нилутамид, бикалутамид, лейпролид и гозерелин; а также троксацитабин (1,3-диоксолановый аналог нуклеозида цитозина); антисмысловые олигонуклеотиды, в частности такие, которые ингибируют экспрессию генов в сигнальных путях, участвующих в пролиферации аномальных клеток, такие как, например, PKC-альфа, Ralf и H-Ras; рибозимы, такие как ингибитор экспрессии VEGF (например, рибозим Ангиозим®) и ингибитор экспрессии HER2; вакцины, такие как генотерапевтические вакцины, например, вакцина Алловектин®, вакцина Лейвектин® и вакцина Ваксид®; Пролейкин® rIL-2; ингибитор топоизомеразы-1 Луртотекан®; Абареликс® rmRH; а также фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любого из указанных выше.

"Антиангиогенное средство" или "ингибитор ангиогенеза" относится к низкомолекулярному веществу, полинуклеотиду (включая, например, ингибирующую РНК (РНКи или миРНК)), полипептиду, выделенному белку, рекомбинантному белку, антителу или конъюгатам, или слитым белкам на их основе, которые ингибируют ангиогенез, васкулогенез или нежелательную проницаемость сосудов, напрямую или косвенно. Следует понимать, что антиангиогенное средство включает такие средства, которые

связывают и блокируют ангиогенную активность ангиогенного фактора или его рецептора. Например, антиангиогенное средство, которое могут вводить в способах в настоящем документе, может включать антитело или другой антагонист ангиогенного средства, например, антитела к VEGF-A (например, бевацизумаб (Авастин®)) или к рецептору VEGF-A (например, рецептору KDR или рецептору Flt-1), ингибиторы против PDGFR, такие как Гливек® (иматиниба мезилат), малые молекулы, которые блокируют сигнализацию рецептора VEGF (например, PTK787/ZK2284, SU6668, Сутент®/SU11248 (сунитиниба малат), AMG706, или соединения, описанные, например, в международной заявке на патент WO 2004/113304). Антиангиогенные средства также включают нативные ингибиторы ангиогенеза, например, ангиостатин, эндостатин и т.д. См., например, Klagsbrun and D'Amore (1991) Annu. Rev. Physiol. 53:217-39; Streit and Detmar (2003) Oncogene 22:3172-3179 (например, Таблицу 3, в которой перечислена антиангиогенная терапия при злокачественной меланоме); Ferrara & Alitalo (1999) Nature Medicine 5(12):1359-1364; Tonini et al. (2003) Oncogene 22:6549-6556 (например, Таблицу 2, в которой перечислены известные антиангиогенные факторы); и Sato (2003) Int. J. Clin. Oncol. 8:200-206 (например, Таблицу 1, в которой перечислены антиангиогенные средства, используемые в клинических исследованиях).

"Ингибирующее рост средство" при использовании в настоящем документе относится к соединению или композиции, которая ингибирует рост клетки (такой как клетка, экспрессирующая VEGF), *in vitro* или *in vivo*. Таким образом, ингибирующее рост средство, которое можно вводить в способах в настоящем документе, может быть средством, которое значимо снижает процент клеток (таких как клетки, экспрессирующие VEGF) в S-фазе. Примеры ингибирующих рост средств включают, без ограничения, средства, которые блокируют ход клеточного цикла (в периоде, отличном от S-фазы), такие как средства, которые вызывают остановку G1 и остановку M-фазы. Классические блокаторы M-фазы включают препараты барвинка (винкристин и винбластин), таксаны и ингибиторы топоизомеразы II, такие как доксорубицин, эпирубицин, даунорубицин, этопозид и блеомицин. Средства, которые вызывают остановку G1, также переходят в S-фазу, например, средства, алкилирующие ДНК, такие как тамоксифен, преднизон, дакарбазин, мехлорэтамин, цисплатин, метотрексат, 5-фторурацил и ara-C. Дополнительную информацию можно найти в публикации Mendelsohn and Israel, eds., The Molecular Basis of Cancer, Глава 1, под заголовком "Cell cycle regulation, oncogenes, and antineoplastic drugs", Murakami et al. (W.B. Saunders, Philadelphia, 1995), например, стр. 13. Таксаны (паклитаксел и доцетаксел) являются противоопухолевыми средствами, полученными из тиса. Доцетаксел (Таксотер®, Rhone-Poulenc Rorer), полученный из тиса европейского, является полусинтетическим аналогом паклитаксела (Таксол®, Bristol-Myers Squibb). Паклитаксел и доцетаксел способствуют сборке микротрубочек из димеров тубулина и стабилизируют микротрубочки, предотвращая деполимеризацию, что приводит к ингибированию митоза в клетках.

Термин "противоопухолевая композиция" относится к композиции, применяемой

для лечения злокачественной опухоли, содержащей по меньшей мере одно активное терапевтическое средство. Примеры терапевтических средств включают, без ограничений перечисленными, например, химиотерапевтические средства, ингибирующие рост средства, цитотоксические средства, средства, применяемые в лучевой терапии, антиангиогенные средства, противоопухолевые иммунотерапевтические средства, апоптотические средства, антитубулиновые средства и другие средства для лечения злокачестевенной опухоли, такие как антитела против HER-2, антитела против CD20, антагонист рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) (например, ингибитор тирозинкиназы), ингибитор HER1/EGFR (например, эрлотиниб (Тарцева®), ингибиторы фактора роста тромбоцитов (например, Гливек® (иматиниба мезилат)), ингибитор ЦОГ-2 (например, целекоксиб), интерфероны, ингибиторы CTLA4 (например, антитело против CTLA ипилимумаб (Ервой®)), ингибиторы PD-1 или PD-L1 (например, Опдиво®, Китруда®, Тецентрик®, Бавенсио®, Имфинзи®), ингибиторы TIM3 (например, антитела против TIM3), цитокины, антагонисты (например, нейтрализующие антитела), которые связываются с одним или несколькими следующие мишенями: ErbB2, ErbB3, ErbB4, PDGFR-beta, BlyS, APRIL, BCMA, CTLA4, TIM3 или рецептор(ы) VEGF, TRAIL/Apo2 и другие биоактивные и органические химические средства и т.д. Их комбинации также включены в настоящее описание.

Антитела, специфично связывающиеся с VISTA-ECD при кислотном pH

Поскольку VISTA содержит большое количество остатков гистидина во внеклеточном домене (ECD), его укладка и общая структура, а также поверхность, доступная для связывания лигандов, таких как антитела, могут отличаться при кислотном pH в сравнении с нейтральным pH, в частности, около pH 6,5, что соответствует pK_a для гистидина. Поскольку микроокружение опухолей, как правило, кислотное, для связывания с VISTA в таком микроокружении может требоваться специфичное связывание антитела с VISTA при кислотном pH, когда, по меньшей мере, некоторые из поверхностных остатков гистидина с большей вероятностью будут протонированы.

В приведенной ниже Таблице последовательностей приведена аминокислотная последовательность VISTA человека (hVISTA) с сигнальным пептидом или без него (SEQ ID NO: 1 и SEQ ID NO: 2 (зрелый hVISTA)), соответственно. Сигнальный пептид составляет аминокислотные остатки 1-32 SEQ ID NO:1. Внеклеточный домен (ECD) состоит из аминокислотных остатков 1-162 SEQ ID NO: 2. Домен IgV составляет аминокислотные остатки 37-167 SEQ ID NO: 1 и аминокислотные остатки 5-135 SEQ ID NO: 2. Область стебля включает аминокислотные остатки 172-194 SEQ ID NO: 1 и аминокислотные остатки 136-162 SEQ ID NO: 2; трансмембранный домен включает аминокислотные остатки 195-216 SEQ ID NO: 1 и аминокислотные остатки 163-184 SEQ ID NO: 2. Аминокислотный остаток 187 SEQ ID NO: 1 и 155 SEQ ID NO: 2 (выделен жирным шрифтом и подчеркнут) может быть D или E, что отражает полиморфизм в hVISTA. Этот остаток выделен жирным шрифтом, подчеркиванием. Таким образом, SEQ ID NO:1 и SEQ ID NO:2 охватывают оба полиморфизма по этому остатку у человека. Остатки гистидина в ECD VISTA серым

заштрихованы.

Антитела (Ат) против VISTA могут специфично связываться с VISTA-ECD или его фрагментами, например, включающими IgV домен VISTA или область hVISTA, включающую, например, аминокислоты 20-95, 20-70 35-70, 35-95, 35-127 или 37-125 SEQ ID NO:2, при кислотном pH. В некоторых вариантах осуществления Ат специфично связывается с белком VISTA-ECD при pH меньше pH 7,0. В некоторых вариантах осуществления Ат специфично связывается с белком VISTA-ECD при pH меньше pH 6,8. В некоторых вариантах осуществления Ат специфично связывается с белком VISTA-ECD при pH меньше pH 6,5. В некоторых вариантах осуществления Ат специфично связывается с белком VISTA-ECD при pH меньше pH 6,3. В некоторых вариантах осуществления Ат специфично связывается с белком VISTA-ECD при pH меньше pH 6,0. В некоторых вариантах осуществления Ат специфично связывается с белком VISTA-ECD при pH меньше pH 5,8. В некоторых вариантах осуществления Ат специфично связывается с белком VISTA-ECD при pH меньше pH 5,5. В некоторых вариантах осуществления Ат специфично связывается с белком VISTA-ECD при pH меньше pH 5,3. В некоторых вариантах осуществления Ат специфично связывается с белком VISTA-ECD при pH меньше pH 5,0.

Некоторые Ат специфично связываются с белком VISTA-ECD при pH в диапазоне pH 5,0-pH 7,0. Некоторые Ат специфично связываются с белком VISTA-ECD при pH в диапазоне pH 5,0-pH 6,5. Некоторые Ат специфично связываются с белком VISTA-ECD при pH в диапазоне pH 5,0-pH 6,0. Некоторые Ат специфично связываются с белком VISTA-ECD при pH в диапазоне pH 5,5-pH 7,0. Некоторые Ат специфично связываются с белком VISTA-ECD при pH в диапазоне pH 5,5-pH 6,5. Некоторые Ат специфично связываются с белком VISTA-ECD при pH в диапазоне pH 6,0-6,5.

В настоящем документе также предложены Ат, которые связываются с белком VISTA-ECD, таким как hVISTA-ECD или его фрагменты, включающие IgV домен VISTA или область hVISTA, включающая, например, аминокислоты 20-95, 20-70 35-70, 35-95, 35-127 или 37-125 SEQ ID NO:2 при pH 6,5 или меньше, с K_D 10^{-6} M или меньше. В некоторых вариантах осуществления Ат связываются с K_D 10^{-7} M или меньше. В некоторых вариантах осуществления Ат связываются с K_D 10^{-8} M или меньше. В некоторых вариантах осуществления Ат связываются с K_D 10^{-9} M. В некоторых вариантах осуществления Ат связываются с K_D 10^{-10} M или меньше. Например, Ат может связываться с белком VISTA-ECD при pH 6,5 или меньше с K_D 10^{-8} M или меньше.

В настоящем документе также предложены Ат, которые связываются с белком VISTA-ECD в диапазоне pH 6,0-6,5 с K_D 10^{-6} M или меньше. В некоторых вариантах осуществления Ат связываются с K_D 10^{-7} M или меньше. В некоторых вариантах осуществления Ат связываются с K_D 10^{-8} M или меньше. В некоторых вариантах осуществления Ат связываются с K_D 10^{-9} M. В некоторых вариантах осуществления Ат связываются с K_D 10^{-10} M или меньше. Например, Ат может связываться с белком VISTA-ECD при pH 6,5 или меньше, например, в диапазоне pH 6,0-6,5, с K_D 10^{-7} M или меньше.

Кроме того, Ат может связываться с белком VISTA-ECD при pH 6,5 или меньше, например, в диапазоне pH 6,0-6,5, с K_D 10^{-8} М или меньше. Ат может связываться с hVISTA-ECD при pH 6,5 или меньше, например, в диапазоне pH 6,0-6,5, с K_D 10^{-9} М или меньше.

В настоящем документе также предложены Ат, специфично связывающиеся с белком VISTA-ECD, таким как hVISTA-ECD или его фрагменты, включающие IgV домен VISTA или область hVISTA, включающую, например, аминокислоты 20-95, 20-70 35-70, 35-95, 35-127 или 37-125 SEQ ID NO:2, например, при pH 6,5 или меньше, с k_{off} 10^{-5} c^{-1} или меньше, при 25°C или при 37°C. В некоторых вариантах осуществления Ат имеют k_{off} 10^{-4} c^{-1} или меньше, при 25°C или при 37°C. В некоторых вариантах осуществления Ат имеют k_{off} 2 10^{-4} c^{-1} или меньше, при 25°C или при 37°C. В некоторых вариантах осуществления Ат имеют k_{off} 5 10^{-4} c^{-1} или меньше, при 25°C или при 37°C. В некоторых вариантах осуществления Ат имеют k_{off} 7 10^{-4} c^{-1} или меньше, при 25°C или при 37°C. В некоторых вариантах осуществления Ат имеют k_{off} 10^{-3} c^{-1} или меньше, при 25°C или при 37°C. В некоторых вариантах осуществления Ат имеют k_{off} 2 10^{-3} c^{-1} или меньше, при 25°C или при 37°C. В некоторых вариантах осуществления Ат имеют k_{off} 5 10^{-3} c^{-1} или меньше, при 25°C или при 37°C. В некоторых вариантах осуществления Ат имеют k_{off} 7 10^{-3} c^{-1} или меньше, при 25°C или при 37°C. В некоторых вариантах осуществления Ат имеют k_{off} 10^{-2} c^{-1}, при 25°C или при 37°C. В некоторых вариантах осуществления Ат имеют k_{off} 10^{-1} c^{-1}, при 25°C или при 37°C. Например, Ат может специфично связываться с белком VISTA-ECD при pH 6,5 или меньше с k_{off} 10^{-3} c^{-1} или меньше, при 25°C или при 37°C. Ат может специфично связываться с hVISTA-ECD при pH 6,5 или меньше с k_{off} 10^{-3} c^{-1} или меньше, при 25°C или при 37°C. Кроме того, Ат может специфично связываться с белком VISTA-ECD при pH 6,5 или меньше с k_{off} 10^{-2} c^{-1} или меньше, при 25°C или при 37°C.

В настоящем документе предложены Ат, которые связываются с белком VISTA-ECD, таким как hVISTA-ECD или его фрагментами, включающими IgV домен VISTA или область из hVISTA, включающими, например, аминокислоты 20-95, 20-70, 35-70 или 35-95, 35-95, 35-127 или 37-125 SEQ ID NO:2, например, при pH 6,5 или меньше, с: (i) K_D 10^{-6} М или меньше, 10^{-7} М или меньше, 10^{-8} М или меньше, 10^{-9} М или меньше или 10^{-10} М или меньше и (ii) k_{off} 10^{-5} c^{-1} или меньше, 10^{-4} (или 2, 5 или 7 10^{-4}) c^{-1} или меньше, 10^{-3} (или 2, 5 или 7 10^{-4}) c^{-1} или меньше, 10^{-2} c^{-1} или меньше или 10^{-1} c^{-1} или меньше, при измерено, например, при 25°C или при 37°C. Например, Ат может связываться с белком VISTA-ECD при pH 6,5 или меньше с K_D 10^{-7} М или меньше и k_{off} 10^{-3} c^{-1} или меньше, при измерении, например, при 25°C или при 37°C. Ат может связываться с белком VISTA-ECD при pH 6,5 или меньше с K_D 10^{-8} М или меньше и k_{off} 10^{-3} c^{-1} или меньше, при измерении, например, при 25°C или при 37°C. Ат может связываться с белком VISTA-ECD при pH 6,5 или меньше с K_D 10^{-8} М или меньше и k_{off} 10^{-2} c^{-1} или меньше, при измерении, например, при 25°C или при 37°C. Например, Ат может связываться с hVISTA-ECD при pH 6,5 или меньше с K_D 10^{-7} М или меньше и k_{off} 10^{-3} c^{-1} или меньше, при измерении, например, при 25°C или при 37°C. Ат может связываться с hVISTA-ECD при pH 6,5 или меньше с K_D 10^{-9} М или меньше и k_{off} 10^{-3} c^{-1} или меньше, при измерении, например, при 25°C или при 37°C. Ат может

связываться с hVISTA-ECD при pH 6,5 или меньше с K_D 10^{-9} M или меньше и k_{off} 10^{-2} c^{-1} или меньше, при измерении, например, при 25°C или при 37°C. Ат может связываться с hVISTA-ECD при pH 6,5 или меньше с K_D 10^{-8} M или меньше и k_{off} 10^{-4} (или 2, 5 или 7 10^{-4}) c^{-1} или меньше, при измерении, например, при 25°C или при 37°C. Ат может связываться с hVISTA-ECD при pH 6,5 или меньше с K_D 10^{-8} M или меньше и k_{off} 10^{-5} (или 2, 5 или 7 10^{-5}) c^{-1} или меньше, при измерении, например, при 25°C или при 37°C.An, Ат может связываться с hVISTA-ECD при pH 6,5 или меньше с K_D 10^{-9} M или меньше и k_{off} 10^{-4} (или 2, 5 или 7 10^{-4}) c^{-1} или меньше, при измерении, например, при 25°C или при 37°C. Ат может связываться с hVISTA-ECD при pH 6,5 или меньше с K_D 10^{-9} M или меньше и k_{off} 10^{-5} (или 2, 5 или 7 10^{-5}) c^{-1} или меньше, при измерении, например, при 25°C или при 37°C.

В настоящем документе предложены Ат, специфично связывающиеся с белком VISTA-ECD, например, при pH 6,5 или меньше, с k_{on} 10^4 M^{-1} c^{-1} или выше при 25°C или при 37°C. В некоторых таких вариантах осуществления Ат могут связываться с k_{on} 10^5 M^{-1} c^{-1} или выше. В некоторых таких вариантах осуществления Ат могут связываться с k_{on} 10^6 M^{-1} c^{-1} или выше. В некоторых таких вариантах осуществления Ат могут связываться с k_{on} 10^7 M^{-1} c^{-1} или выше. Например, Ат может связываться с белком VISTA-ECD при pH 6,5 или меньше с k_{on} 10^6 M^{-1} c^{-1} или выше, при измерении, например, при 25°C или при 37°C. Например, Ат может связываться с ECD hVISTA при pH 6,5 или меньше с k_{on} 10^6 M^{-1} c^{-1} или выше, при измерении, например, при 25°C или при 37°C.

В настоящем документе предложены Ат, которые связываются с белком VISTA-ECD, например, при pH 6,5 или меньше, с: (i) K_D 10^{-6} M или меньше, 10^{-7} M или меньше, 10^{-8} M или меньше, 10^{-9} M или меньше или 10^{-10} M или меньше и (ii) k_{on} 10^4 M^{-1} c^{-1} или выше, 10^5 M^{-1} c^{-1} или выше, 10^6 M^{-1} c^{-1} или выше, 10^7 M^{-1} c^{-1} или выше, при измерении, например, при 25°C или при 37°C. Например, Ат может связываться с белком VISTA-ECD при pH 6,5 или меньше с K_D 10^{-7} M или меньше и k_{on} 10^6 M^{-1} c^{-1} или выше, при измерении, например, при 25°C или при 37°C. Например, Ат может связываться с белком VISTA-ECD при pH 6,5 или меньше с K_D 10^{-8} M или меньше и k_{on} 10^6 M^{-1} c^{-1} или выше, при измерении, например, при 25°C или при 37°C. Например, Ат может связываться с hVISTA-ECD при pH 6,5 или меньше с K_D 10^{-7} M или меньше и k_{on} 10^6 M^{-1} c^{-1} или выше, при измерении, например, при 25°C или при 37°C. Например, Ат может связываться с hVISTA-ECD при pH 6,5 или меньше с K_D 10^{-8} M или меньше и k_{on} 10^6 M^{-1} c^{-1} или выше, при измерении, например, при 25°C или при 37°C.

В некоторых вариантах осуществления Ат может связываться с белком VISTA-ECD при pH 6,5 или меньше с K_D 10^{-7} M или меньше, а также с k_{off} 10^{-5} c^{-1} или меньше, 2 10^{-5} c^{-1} или меньше, 5 10^{-5} c^{-1} или меньше, 7 10^{-5} c^{-1} или меньше, 10^{-4} c^{-1} или меньше, 2 10^{-4} c^{-1} или меньше, 5 10^{-4} c^{-1} или меньше, 7 10^{-4} c^{-1} или меньше, 10^{-3} c^{-1} или меньше, 2 10^{-3} c^{-1} или меньше, 5 10^{-3} c^{-1} или меньше, 7 10^{-3} c^{-1} или меньше, 10^{-2} c^{-1} или меньше или 10^{-1} c^{-1} или меньше, при измерении, например, при 25°C или при 37°C. В некоторых вариантах осуществления Ат может связываться с белком VISTA-ECD при pH 6,5 или меньше с K_D 10^{-9} M или меньше, а также с k_{off} 10^{-5} c^{-1} или меньше, 10^{-4} c^{-1} или меньше, 10^{-3} c^{-1} или меньше,

10^{-2} c^{-1} или меньше или 10^{-1} c^{-1} или меньше, при измерении, например, при 25°C или при 37°C. В некоторых таких вариантах осуществления Ат может связываться с белком VISTA-ECD при pH 6,5 или меньше с K_D 10^{-10} М или меньше, а также с k_{off} 10^{-5} c^{-1} или меньше, 10^{-4} c^{-1} или меньше, 10^{-3} c^{-1} или меньше, 10^{-2} c^{-1} или меньше или 10^{-1} c^{-1} или меньше, при измерении, например, при 25°C или при 37°C.

В некоторых вариантах осуществления Ат может связываться с белком VISTA-ECD при pH 6,5 или меньше с K_D 10^{-7} М или меньше, а также с k_{on} 10^4 M^{-1} c^{-1} или выше, 10^5 M^{-1} c^{-1} или выше, 10^6 M^{-1} c^{-1} или выше, 10^7 M^{-1} c^{-1} или выше, при измерении, например, при 25°C или при 37°C. В некоторых вариантах осуществления Ат может связываться с белком VISTA-ECD при pH 6,5 или меньше с K_D 10^{-8} М или меньше, а также с k_{on} 10^4 M^{-1} c^{-1} или выше, 10^5 M^{-1} c^{-1} или выше, 10^6 M^{-1} c^{-1} или выше, 10^7 M^{-1} c^{-1} или выше, при измерении, например, при 25°C или при 37°C. В некоторых вариантах осуществления Ат может связываться с белком VISTA-ECD при pH 6,5 или меньше с K_D 10^{-9} М или меньше, а также с k_{on} 10^4 M^{-1} c^{-1} или выше, 10^5 M^{-1} c^{-1} или выше, 10^6 M^{-1} c^{-1} или выше, 10^7 M^{-1} c^{-1} или выше, при измерении, например, при 25°C или при 37°C. В некоторых таких вариантах осуществления Ат может связываться с белком VISTA-ECD при pH 6,5 или меньше с K_D 10^{-10} М или меньше, а также с k_{on} 10^4 M^{-1} c^{-1} или выше, 10^5 M^{-1} c^{-1} или выше, 10^6 M^{-1} c^{-1} или выше, 10^7 M^{-1} c^{-1} или выше, при измерении, например, при 25°C или при 37°C.

В некоторых вариантах осуществления Ат может связываться с белком VISTA-ECD при pH 6,5 или меньше с K_D 10^{-7} М или меньше, а также с k_{off} 10^{-5} c^{-1} или меньше, 10^{-4} c^{-1} или меньше, 10^{-3} c^{-1} или меньше, 10^{-2} c^{-1} или меньше или 10^{-1} c^{-1} или меньше, при измерении, например, при 25°C или при 37°C, и k_{on} 10^4 M^{-1} c^{-1} или выше, 10^5 M^{-1} c^{-1} или выше, 10^6 M^{-1} c^{-1} или выше, 10^7 M^{-1} c^{-1} или выше, при измерении, например, при 25°C или при 37°C. В некоторых вариантах осуществления Ат может связываться с белком VISTA-ECD при pH 6,5 или меньше с K_D 10^{-8} М или меньше, а также с k_{off} 10^{-5} c^{-1} или меньше, 10^{-4} c^{-1} или меньше, 10^{-3} c^{-1} или меньше, 10^{-2} c^{-1} или меньше или 10^{-1} c^{-1} или меньше, при измерении, например, при 25°C или при 37°C, и k_{on} 10^4 M^{-1} c^{-1} или выше, 10^5 M^{-1} c^{-1} или выше, 10^6 M^{-1} c^{-1} или выше, 10^7 M^{-1} c^{-1} или выше, при измерении, например, при 25°C или при 37°C. В некоторых вариантах осуществления Ат может связываться с белком VISTA-ECD при pH 6,5 или меньше с K_D 10^{-9} М или меньше, а также с k_{off} 10^{-5} c^{-1} или меньше, 10^{-4} c^{-1} или меньше, 10^{-3} c^{-1} или меньше, 10^{-2} c^{-1} или меньше или 10^{-1} c^{-1} или меньше, при измерении, например, при 25°C или при 37°C, и k_{on} 10^4 M^{-1} c^{-1} или выше, 10^5 M^{-1} c^{-1} или выше, 10^6 M^{-1} c^{-1} или выше, 10^7 M^{-1} c^{-1} или выше, при измерении, например, при 25°C или при 37°C. В некоторых таких вариантах осуществления Ат может связываться с белком VISTA-ECD при pH 6,5 или меньше с K_D 10^{-10} М или меньше, а также с k_{off} 10^{-5} c^{-1} или меньше, 10^{-4} c^{-1} или меньше, 10^{-3} c^{-1} или меньше, 10^{-2} c^{-1} или меньше или 10^{-1} c^{-1} или меньше, при измерении, например, при 25°C или при 37°C, и k_{on} 10^4 M^{-1} c^{-1} или выше, 10^5 M^{-1} c^{-1} или выше, 10^6 M^{-1} c^{-1} или выше, 10^7 M^{-1} c^{-1} или выше, при измерении, например, при 25°C или при 37°C.

Как также отмечено выше, в некоторых вышеуказанных вариантах осуществления, белок VISTA-ECD представляет собой hVISTA-ECD или является частью hVISTA-ECD,

такой как, например, домен IgV. В некоторых вышеуказанных вариантах осуществления Ат может специфично связываться с эпитопом, включающим аминокислоты 20-95 SEQ ID NO:2. В некоторых вышеуказанных вариантах осуществления Ат может специфично связываться с эпитопом, включающим аминокислоты 20-70 SEQ ID NO:2. В некоторых вышеуказанных вариантах осуществления Ат может специфично связываться с эпитопом, включающим аминокислоты 35-95 SEQ ID NO:2. В некоторых вышеуказанных вариантах осуществления Ат может специфично связываться с эпитопом, включающим аминокислоты 35-70 SEQ ID NO:2. В некоторых вариантах осуществления выше, эпитоп является трехмерным эпитопом, включающим не только одну из вышеуказанных частей SEQ ID NO:2 из остатков 20-95, 20-70, 35-95 или 35-70, но также и другую часть SEQ ID NO:2, такую как остатки 95-105 SEQ ID NO:2. В некоторых вариантах осуществления Ат связывается с эпитопом hVISTA, с которым связывается Ат, описанное в WO2015/097536. Например, Ат может конкурировать или перекрестно конкурировать за связывание hVISTA с Ат, раскрытым в WO2015/097536. В некоторых вариантах осуществления Ат связывается с конформационным эпитопом VISTA человека. В некоторых вариантах осуществления Ат связывается с конформационным эпитопом, который включает или присутствует в остатках 103-111 SEQ ID NO: 2 и 136-146 SEQ ID NO:2 VISTA человека. В некоторых вариантах осуществления Ат связывается с конформационным эпитопом, включающим или присутствующим в остатках 24-36, 54-65 и 100-102 SEQ ID NO:2 VISTA человека. В некоторых вариантах осуществления Ат связывается с конформационным эпитопом, включающим аминокислотные остатки в петле FG VISTA человека. В некоторых вариантах осуществления Ат связывается с полипептидом, включающим аминокислотные остатки 35-127 и/или 37-125 SEQ ID NO:2. В некоторых вариантах осуществления Ат связывается с полипептидом VISTA ECD или его частью, включающей аминокислотные остатки 350-127 SEQ ID NO: 2, но при этом антитело не связывается или связывается с пониженной аффинностью с полипептидом VISTA ECD или его частью, включающей аминокислотную замену, где замена: (1) является заменой одного из следующих аминокислотных остатков: T35, Y37, K38, T39, Y41, R54, T61, F62, Q63, L65, H66, L67, H68, H69, F97, L115, V117, I119, H121, H122, S124, E125, R127 и SEQ ID NO: 2 или (2) заменой одного из следующих аминокислотных остатков: Y37, T39, R54, F62, Q63, H66, L115, V117, I119, S124 или E125. В некоторых вариантах осуществления антитело против VISTA обладает такими же характеристиками связывания (или по существу такими же характеристиками связывания), как антитело, описанное в настоящем документе, например, как указано в Примерах и/или в формуле изобретения.

Некоторые вышеуказанные антитела могут демонстрировать различную аффинность связывания с белками VISTA-ECD в зависимости от pH. Некоторые Ат, специфично связывающиеся с белком VISTA-ECD в кислотных условиях, например, при pH 6,5 или меньше, также специфично связывают белок VISTA-ECD при нейтральном и/или щелочном pH с подобной аффинностью (т.е. они являются "универсальными связывающими средствами"). Например, некоторые такие Ат могут связываться с белком

VISTA-ECD с K_D 10^{-7} М или меньше при pH 6,5 и при pH 7,0 (при постоянной температуре, например, при 25°C или при 37°C), при этом K_D при pH 6,5 в 1,5 раза больше K_D при pH 7,0. Некоторые такие Ат могут связываться с белком VISTA-ECD с K_D 10^{-8} М или меньше при pH 6,5 и при pH 7,0 (при постоянной температуре, например, при 25°C или при 37°C), при этом K_D при pH 6,5 в 1,5 раза больше K_D при pH 7,0. Некоторые такие Ат могут связываться с hVISTA-ECD с K_D 10^{-8} М или меньше при pH 6,5 и при pH 7,0 (при постоянной температуре, например, при 25°C или при 37°C), при этом K_D при pH 6,5 в 1,5 раза больше K_D при pH 7,0.

Некоторые Ат, специфично связывающиеся с белком VISTA-ECD в кислотных условиях, например, при pH 6,5 или меньше, могут связывать белок VISTA-ECD в нейтральных, физиологических и/или щелочных условиях с более низкой аффинностью ("pH-чувствительные связывающие средства" или "pH-чувствительные Ат"). Некоторые Ат, специфично связывающиеся с белком VISTA-ECD в кислотных условиях, например, при pH 6,5 или меньше, могут демонстрировать незначительное, например почти необнаруживаемое, связывание с белком VISTA-ECD в нейтральных, физиологических и/или щелочных условиях. Например, в некоторых вариантах осуществления Ат может связываться с белком VISTA-ECD с K_D 10^{-8} М или меньше при pH 6,5 и с K_D больше 10^{-8} М при pH 7,0 и/или pH 7,4. В некоторых таких вариантах осуществления Ат может связываться с белком VISTA-ECD с K_D 10^{-8} М или меньше при pH 6,5 и с K_D при pH 7,0 и/или pH 7,4, которая больше чем в 1,5 раза выше, чем при pH 6,5. В некоторых вариантах осуществления предложено pH-чувствительное Ат, которое специфично связывается с белком VISTA-ECD с K_D, которая по меньшей мере в 1,5 раза, 2 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 50 раз, 100 раз, 300 раз, 500 раз, 1000 раз или 5000 раз ниже при pH 6,5, чем при pH 7,0 (при постоянной температуре, например, при 25°C или при 37°C). Например, в некоторых случаях Ат связывается с белком VISTA-ECD с K_D, которая по меньшей мере в 1,5 раза, 2 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 50 раз, 100 раз, 300 раз, 500 раз, 1000 раз или 5000 раз меньше при pH 6,0 по сравнению с pH 7,0 и/или pH 7,4 или выше (при постоянной температуре, например, при 25°C или при 37°C).

В некоторых вариантах осуществления Ат специфично связывается с белком VISTA-ECD с k_{off}, которая ниже в кислотных условиях по сравнению с k_{off} в нейтральных, физиологических или щелочных условиях. В некоторых вариантах осуществления предложено Ат, которое связывается с белком VISTA-ECD в кислотных условиях с k_{off}, которая по меньшей мере в 1,5 раза, 2 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 50 раз, 100 раз или 1000 ниже при pH 6,5, чем k_{off} при pH 7,0 и/или pH 7,4, при измерении, например, при 25°C или при 37°C. Другими словами, скорость диссоциации при кислотном pH ниже, чем при нейтральном pH. Например, в некоторых вариантах осуществления Ат специфично связывается с белком VISTA-ECD с k_{off}, которая по меньшей мере в 1,5 раза, 2 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 50 раз, 100 раз или 1000 раз ниже при pH 6,0 по сравнению с pH 7,0 и/или pH 7,4, при измерении, например, при 25°C или при 37°C. В некоторых вариантах осуществления Предложено Ат, которое связывается с белком VISTA-ECD с k_{off}, которая

по меньшей мере в 1,5 раза, 2 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 50 раз, 100 раз или 1000 раз ниже при pH 6,5, чем k_{off} при pH 7,4, при измерении, например, при 25°C или при 37°C. В некоторых вариантах осуществления Ат специфично связывается с белком VISTA-ECD с k_{off}, которая по меньшей мере в 1,5 раза, 2 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 50 раз, 100 раз или 1000 раз ниже при pH 6,0 по сравнению с pH 7,4, при измерении, например, при 25°C или при 37°C. В некоторых вариантах осуществления предложено Ат, которое связывается с белком VISTA-ECD с k_{off}, которая по меньшей мере в 1,5 раза, 2 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 50 раз, 100 раз или 1000 раз ниже при pH 6,0-6,5, чем k_{off} при pH 7,0-7,4, при измерении, например, при 25°C или при 37°C.

В некоторых вариантах осуществления Ат, которое специфично связывается с белком VISTA-ECD с k_{on}, которая выше в кислотных условиях по сравнению с нейтральными физиологическими или щелочными условиями. В некоторых вариантах осуществления предложено Ат, которое связывается с белком VISTA-ECD в кислотных условиях с k_{on}, которая по меньшей мере в 2 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 50 раз, 100 раз или 1000 раз выше при pH 6,5, чем k_{on} при pH 7,0 и/или pH 7,4, при измерении, например, при 25°C или при 37°C. Например, в некоторых вариантах осуществления Ат специфично связывается с белком VISTA-ECD с k_{on}, которая по меньшей мере в 2 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 50 раз, 100 раз или 1000 раз выше при pH 6,0, чем при pH 7,0 и/или pH 7,4, при измерении, например, при 25°C или при 37°C.

В некоторых вариантах осуществления Ат специфично связывается с белком VISTA-ECD при pH, при котором по меньшей мере один остаток гистидина, например, His 98 в SEQ ID NO: 1, протонирован. В некоторых вариантах осуществления Ат специфично связывается с белком VISTA-ECD при pH, при котором большая часть остатков гистидина в ECD протонированы, и который, как ожидают, будет pH 6,5 или меньше, например, между pH 6,0 и pH 6,5.

Также в настоящем документе охвачены Ат, которые специфично связываются с белком VISTA-ECD с аффинностью, которая выше при нейтральном, физиологическом или щелочном pH по сравнению с кислотным pH, при условии, что аффинность связывания при кислотном pH остается высокой. Например, Ат могут связываться с белком VISTA-ECD с K_D 10^{-8} M или меньше и при pH 6,5 и при pH 7,0, даже в том случае, если Ат связываются с K_D, которая по меньшей мере в 1,5 раза, 2 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 50 раз, 100 раз, 300 раз, 500 раз, 1000 раз ниже при pH 7,0, чем при pH 6,5.

Также в настоящем документе охвачены Ат, обладающие одним или более общими свойствами, указанными выше в этом разделе. Вышеуказанные свойства, такие как конкретные K_D, k_{off}, k_{on}, специфические эпитопы не должны рассматриваться отдельно. Таким образом, Ат может связываться с эпитопом, включающим одну из областей SEQ ID NO:2, описанных выше, а также может обладать универсальными или pH-чувствительными или pH-селективными связывающими свойствами, как описано выше, что отражается в изменении одного или более его K_D, k_{off} или k_{on} при различном pH.

В любом из вышеуказанных вариантов осуществления Ат может быть, например,

полноразмерным антителом (т.е. включающим полноразмерную тяжелую цепь (с или без С-концевого лизина) и полноразмерную легкую цепь), или антигенсвязывающим фрагментом, таким как Fab-фрагмент, Fab'-фрагмент, $(Fab')_2$-фрагмент, scFv-фрагмент, Fv-фрагмент, или Ат может быть химерным, гуманизированным или человеческим антителом, или Ат может быть биспецифичным или мультиспецифичным антителом.

Определение того, насколько хорошо Ат связывается с белком VISTA-ECD при данном pH, может быть выполнено с помощью нескольких различных методов. Например, с помощью поверхностного плазмонного резонанса (ППР), такого как анализ BIACORE®. Примерный анализ ППР включает захват одного или более антител на чипе сенсора CM4 с использованием иммобилизированного захватывающего реагента (например, с помощью набора для захвата против Fc человека Biacore®, номер по каталогу GE Healthcare #BR-1008-39 или набора для захвата против мыши Biacore®, номер по каталогу GE Healthcare #BR-1008-39), и пропускание антигена VISTA в качестве аналита в серии концентраций, чтобы определить кинетику связывания и аффинности в пропускаемом буфере с требуемым pH. В одном варианте осуществления VISTA вводят в двух - пяти концентрациях в диапазоне от 0,1 нМ до 500 нМ (например, 0,1 нМ, 1 нМ, 10 нМ, 100 нМ, 500 нМ) со скоростью потока 30 мкл/мин, временем ассоциации до четырех минут и временем диссоциации до десяти минут. Между циклами связывания захватывающую поверхность восстанавливают согласно инструкциям производителя в соответствующем наборе для захвата. Все данные подвергают двойному контролю с использованием референсной проточной ячейки и холостой пробы. Данные с простой кинетикой 1:1 аппроксимируют к модели связывания Ленгмюра с массообменом при использовании программы для анализа данных Biacore® T200. Также могут использоваться методы ППР, описанные в Примерах.

Аффинность Ат к полипептиду VISTA ECD может быть определена с использованием клеток, экспрессирующих полипептид VISTA ECD, PSGL-1 или гепарансульфат на своей поверхности, где способ включает проточную цитометрию, и где связывание Ат со связанным на клетке VISTA-ECD определяют при данном pH, например, pH 6,5 или меньше. Примерный проточный цитометрический анализ включает следующее: клетки 293T или другие клетки, эктопически экспрессирующие hVISTA ECD, ресуспендируют в буфере, состоящем из HBSS+1% BSA, доведенном до необходимого pH, например, до pH 6,0 с использованием MES или до pH 7,4 с использованием HEPES. Ат (например, человеческий IgG) против hVISTA серийно разводят от приблизительно 20 мкг/мл и инкубируют с ресуспендированными клетками в течение 30 минут при 4°C. Затем клетки два раза промывают теми же буферами, поддерживая нужный pH, например, pH в 6,0 или 7,4, и инкубируют с вторичным антителом, конъюгированным с флуорофором, которое распознает первичное антитело (например, человеческий IgG) и является стабильным при пониженном pH. Затем клетки промывают, как раньше, и сразу регистрируют, без фиксации, на BD Fortessa или другом проточном цитометре. Аффинность Ат к полипептиду VISTA ECD может быть определена, как описано в Примерах.

В некоторых вариантах осуществления Ат, которые связываются с hVISTA, блокируют связывание hVISTA ECD с его партнером по связыванию (например, рецептором VISTA), например, на клетках. Ингибирование или блокирование может составлять 100% или по меньшей мере 99%, 95%, 90%, 85%, 80%, 75% или 50%. В некоторых вариантах осуществления Ат связывается с белком VISTA-ECD при кислотном pH, например, pH 6,5 или меньше, и ингибирует связывание VISTA с его партнером по связыванию по меньшей мере на 50%, например, по меньшей мере на 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100%. В некоторых вариантах осуществления Ат специфично связывается с белком VISTA-ECD и ингибирует связывание VISTA с его партнером по связыванию по меньшей мере на 50% при pH меньше pH 7,0. В некоторых вариантах осуществления Ат специфично связывается с белком VISTA-ECD и ингибирует связывание VISTA с его партнером по связыванию по меньшей мере на 50% при pH меньше pH 6,8. В некоторых вариантах осуществления Ат специфично связывается с белком VISTA-ECD и ингибирует связывание VISTA с его партнером по связыванию по меньшей мере на 50% при pH меньше pH 6,5. В некоторых вариантах осуществления Ат специфично связывается с белком VISTA-ECD и ингибирует связывание VISTA с его партнером по связыванию по меньшей мере на 50% при pH меньше pH 6,3. В некоторых вариантах осуществления Ат специфично связывается с белком VISTA-ECD и ингибирует связывание VISTA с его партнером по связыванию по меньшей мере на 50% при pH меньше pH 6,0. В некоторых вариантах осуществления Ат специфично связывается с белком VISTA-ECD и ингибирует связывание VISTA с его партнером по связыванию по меньшей мере на 50% при pH меньше pH 5,8. В некоторых вариантах осуществления Ат специфично связывается с белком VISTA-ECD и ингибирует связывание VISTA с его партнером по связыванию по меньшей мере на 50% при pH меньше pH 5,5. В некоторых вариантах осуществления Ат специфично связывается с белком VISTA-ECD и ингибирует связывание VISTA с его партнером по связыванию по меньшей мере на 50% при pH меньше pH 5,3. В некоторых вариантах осуществления Ат специфично связывается с белком VISTA-ECD и ингибирует связывание VISTA с его партнером по связыванию по меньшей мере на 50% при pH меньше pH 5,0.

Некоторые Ат специфично связываются с белком VISTA-ECD и ингибируют связывание VISTA с его партнером по связыванию по меньшей мере на 50% при pH в диапазоне pH 5,0-pH 7,0. Некоторые Ат специфично связываются с белком VISTA-ECD и ингибируют связывание VISTA с его партнером по связыванию по меньшей мере на 50% при pH в диапазоне pH 5,0-pH 6,5. Некоторые Ат специфично связываются с белком VISTA-ECD и ингибируют связывание VISTA с его партнером по связыванию по меньшей мере на 50% при pH в диапазоне pH 5,0-pH 6,0. Некоторые Ат специфично связываются с белком VISTA-ECD и ингибируют связывание VISTA с его партнером по связыванию по меньшей мере на 50% при pH в диапазоне pH 5,5-pH 7,0. Некоторые Ат специфично связываются с белком VISTA-ECD и ингибируют связывание VISTA с его партнером по связыванию по меньшей мере на 50% при pH в диапазоне pH 5,5-pH 6,5. Некоторые Ат специфично связываются с белком VISTA-ECD и ингибируют связывание VISTA с его партнером по

связыванию по меньшей мере на 50% при pH в диапазоне pH 6,0-6,5. Ингибирование связывания может быть определено, как описано в Примерах.

Партнером VISTA по связыванию может быть PSGL-1, такой как PSGL-1 человека. Последовательности изоформ PSGL-1 человека представлены в SEQ ID NO: 3-10 в настоящем документе. VISTA связывается с PSGL-1 с или без сиалил-Льюис X. партнером по связыванию также может быть гепарансульфат протеогликаны, например, присутствующие на некоторых клетках.

Ингибирование связывания с партнером по связыванию VISTA может быть определен путем измерения ингибирования связывания VISTA (или VISTA ECD или IgV домена VISTA или VISTA-положительных клеток) с клетками, с которыми связывается VISTA, например, Т-клетками (например, CD4+Т-клетками, CD8+ Т-клетками, активированными или нет), NK-клетками или другими клетками, с которыми связывается VISTA в присутствии и отсутствии антитела. Примерным экспериментом, который может использоваться для определения того, ингибирует ли антитело связывание VISTA с его партнером по связыванию или Т-клетками, экспрессирующими партнер по связыванию, является анализ методом проточной цитометрии, например, анализ, который включает следующее: человеческие мононуклеарные клетки периферической крови из донорской крови, лейкотромбоцитарного слоя или leukopak ресуспендируют в буфере, состоящем из HBSS+1% BSA, доведенного до нужного pH, например, pH 6,0 с использованием MES или pH 7,4 с использованием HEPES. Затем клетки инкубируют в течение 30 минут при 4°C с 20 мкг/мл рекомбинантного химерного белка, состоящего из hVISTA ECD, слитого с человеческим Fc IgG1 (VISTA-Fc), и с различными концентрациями кандидатных антител, блокирующих VISTA, или контрольных антител. Затем клетки два раза промывают в тех же буферах, поддерживая требуемый pH, например, pH 6,0 или 7,4, и инкубируют еще 30 минут при 4°C с вторичным антителом, конъюгированным с флуорофором, которое распознает VISTA-Fc, но не распознает кандидатные блокирующие антитела или контрольные антитела, и является стабильным при пониженном pH. Затем клетки промывают, как раньше, и сразу же регистрируют, без фиксации, на BD Fortessa или другом проточном цитометре. Ингибирование связывания может быть определено, например, как описано в Примерах.

В определенных вариантах осуществления Ат, описанные в настоящем документе, могут вызывать или усиливать иммунный ответ, такой как антигенспецифичный иммунный ответ. В некоторых вариантах осуществления Ат стимулируют активность Т-клеток, особенно при кислотном pH, какой присутствует в микроокружении опухолей. Стимуляция Т-клеточной активности может быть измерена, например, в реакции смешанной культуры лимфоцитов (MLR) или в тесте *in vitro* с антигенпрезентирующей клеткой (природной или искусственной) и Т-клетками. Стимуляция Т-клеточной активности также быть может измерена с помощью, например, анализа Jurkat, описанного в Примерах. Стимуляция Т-клеточной активности может быть также измерена путем определения секреции IFN-γ из Т-клеток, где повышенная секреция IFN-γ указывает на стимуляцию Т-клеток. Секреция

других цитокинов из активированных Т-клеток также может быть измерена. В некоторых вариантах осуществления измеряют сигнальную трансдукцию активированных Т-клеток, например, уровни NF-kB. В определенных вариантах осуществления Ат, описанные в настоящем документе, ингибируют клеточную адгезию, которая может быть измерена, как описано в Примерах.

Активность антител против VISTA также может быть показана в анализах с моноцитами, анализах ADCC и анализах ADCP, особенно при кислотном pH, какой присутствует в микроокружении опухолей.

В некоторых вариантах осуществления антитела против VISTA ингибируют рост опухоли в модели опухоли, например, в модели опухоли с нокином VISTA человека.

Как показано в Примерах в настоящем документе, рециркуляция Ат против VISTA в эндосоме, например, для улучшения фармакокинетических свойств (ФК), т.е. полупериода существования, антитела, требует, чтобы антитело против VISTA связывалось с VISTA в кислотных условиях. Таким образом, антитела против VISTA, которые связываются при низком pH с VISTA, например, pH 6,5 или ниже, как дополнительно описано в настоящем документе, как ожидают, также будут иметь более длительный приемлемый полупериод существования по сравнению с антителом VISTA, которое не связывается с VISTA при кислотном pH.

Примерные Ат, связывающие hVISTA-ECD

В настоящем документе предложены Ат, избирательно связывающиеся с hVISTA (ECD) при кислотном pH (например, в кислотных условиях) относительно физиологического pH или нейтрального pH.

В некоторых вариантах осуществления Ат против hVISTA включает вариабельную область тяжелой цепи ("VH"), включающую CDR1, CDR2 и/или CDR3 VH любого из Ат против hVISTA, предложенных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления Ат против hVISTA включает VH, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VH любого из Ат против hVISTA, предложенных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления Ат против hVISTA включает VH, включающую CDR1, CDR2 и/или CDR3 VH P1-061029 или P1-061015 или их дочерних клонов, таких как P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-

068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E или P1-061029_Y32E_F100fE. CDR1, CDR2 и CDR3 VH каждого из этих антител включают положения аминокислот 26-35 (CDR1 VH), 50-66 (CDR2 VH) и 99-110 (CDR3 VH) последовательностей VH каждого из вышеуказанных типов антител, представленных в таблице последовательностей ниже. CDR-области также подчеркнуты и выделены жирным шрифтом на каждой из последовательностей VH вышеуказанных типов антител, представленных в Таблице последовательностей ниже.

В некоторых вариантах осуществления Ат против hVISTA включает VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL любого из Ат против hVISTA, предложенных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления Ат против hVISTA включает VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL одного из P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E или P1-061029_Y32E_F100fE. CDR1, CDR2 и CDR3 VL каждого из этих антител включают положения аминокислот 24-35 (VL CDR1), 51-57 (VL CDR2) и 90-98 (VL CDR3) последовательностей VL каждого из вышеуказанных типов антител, представленных в Таблице последовательностей ниже. CDR-области также подчеркнуты и выделены жирным шрифтом на каждой из этих последовательностей.

В некоторых вариантах осуществления Ат против hVISTA включает VH, включающую CDR1, CDR2 и/или CDR3 VH любого из Ат против hVISTA, предложенных в настоящем документе, и VL, включающую CDR1, CDR2 и/или CDR3 любого из Ат против hVISTA, предложенных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления Ат против hVISTA включает VH, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VH любого из Ат против hVISTA, предложенных в настоящем документе, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 любого из Ат против hVISTA, предложенных в настоящем документе. В некоторых

вариантах осуществления Ат против hVISTA включает VH, включающую CDR1, CDR2 и/или CDR3 VH P1-061029 orP1-061015 или их дочерних клонов, таких как P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E или P1-061029_Y32E_F100fE, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-061029 или P1-061015 или их дочерних клонов, таких как P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E или P1-061029_Y32E_F100fE.

В некоторых вариантах осуществления Ат против hVISTA может включать:

(a) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-061029, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-061029;

(b) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-061015, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-061015;

(c) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3

VH P1-068757, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-068757;

(d) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068759, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-068759;

(e) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068761, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-068761;

(f) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068763, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-068763;

(g) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068765, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-068765;

(h) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068767, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-068767;

(i) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068769, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-068769;

(j) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068771, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-068771;

(k) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068773, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-068773;

(l) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068775, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-068775;

(m) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-069059, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-069059;

(n) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-069061, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-069061;

(o) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-069063, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-069063;

(p) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-069065, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-069065;

(q) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-069067, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-069067;

(r) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-069069, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-069069;

(s) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-069071, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-069071;

(t) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-069073, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-069073;

(u) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-069075, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-069075;

(v) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-069077, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-069077;

(w) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3

VH P1-068736, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-068736;

(x) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068738, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-068738;

(y) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068740, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-068740;

(z) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068742, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-068742;

(aa) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068744, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-068744;

(bb) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068746, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-068746;

(cc) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068748, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-068748;

(dd) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068750, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-068750;

(ee) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068752, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-068752;

(ff) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068754, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-068754;

(gg) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068761_E55A, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL ofP1-068761_E55A;

(hh) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068761_H100G, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL ofP1-068761_H100G;

(ii) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068761_E56N, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL ofP1-068761_E56N;

(jj) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068761_E55A_E56N, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL ofP1-068761_E55A_E56N;

(kk) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068761_E30D, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-068761_E30D;

(ll) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068761_E30D_E55A, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL ofP1-068761_E30D_E55A;

(mm) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068761_E56N_H100G, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-068761_E56N_H100G;

(nn) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068761_E30D_H100G, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-068761_E30D_H100G;

(oo) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3

VH P1-068761_E30D_E56N, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL ofP1-068761_E30D_E56N;

(pp) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068761_E100fF, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-068761_E100fF;

(qq) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068761_E55A_E100fF, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-068761_E55A_E100fF;

(rr) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068761_H100G_E100fF, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-068761_H100G_E100fF;

(ss) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068761_E30D_E100fF, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-068761_E30D_E100fF;

(tt) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068761_E56N_E100fF, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-068761_E56N_E100fF;

(uu) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068761_E32Y, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-068761_E32Y;

(vv) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068761_E32Y_E55A, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-068761_E32Y_E55A;

(ww) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068761_E32Y_E56N, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL ofP1-068761_E32Y_E56N;

(xx) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068761_E30D_E32Y, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL ofP1-068761_E30D_E32Y;

(yy) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068761_E32Y_H100G, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-068761_E32Y_H100G;

(zz) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068761_E32Y_E100fF, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-068761_E32Y_E100fF;

(aaa) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068767_D52N_D102V, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-068767_D52N_D102V;

(bbb) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068767_D52N, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-068767_D52N;

(ccc) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068767_D52N_E55A, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-

068767_D52N_E55A;

(ddd) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068767_E55A_D102V, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL ofP1-068767_E55A_D102V;

(eee) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068767_D102V, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-068767_D102V;

(fff) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068767_E55A, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL ofP1-068767_E55A;

(ggg) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068767_E30D_D52N, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL ofP1-068767_E30D_D52N;

(hhh) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068767_E30D_D102V, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-068767_E30D_D102V;

(iii) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068767_E30D, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-068767_E30D;

(jjj) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068767_E30D_E55A, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-068767_E30D_E55A;

(kkk) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068767_E100fF_D102V, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL ofP1-068767_E100fF_D102V;

(lll) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068767_E55A_E100fF, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL ofP1-068767_E55A_E100fF;

(mmm) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068767_D52N_E100fF, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-068767_D52N_E100fF;

(nnn) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068767_E100fF, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-068767_E100fF;

(ooo) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-068767_E30D_E100fF, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL ofP1-068767_E30D_E100fF;

(ppp) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-061029_F100fE_V102D, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-061029_F100fE_V102D;

(qqq) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-061029_F100fE, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-061029_F100fE;

(rrr) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-061029_ V102D, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-061029_V102D;

(sss) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-061029_Y32E, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-061029_Y32E; или

(ttt) VH, включающую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-061029_Y32E_F100fE, и VL, включающую CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-061029_Y32E_F100fE.

Опять же, в Таблице последовательностей ниже представлены последовательности вариабельной области тяжелой и легкой цепи и полноразмерные последовательности тяжелой и легкой цепи антител, указанных выше, с константной областью тяжелой цепи IgG1.3 (при условии, что в таблице не отмечена другая константная область HC), и отмечены положения их CDR1, CDR2, и CDR3 VH и CDR1, CDR2 и CDR3 VL по аминокислотному остатку, и с выделением жирным шрифтом и подчеркиванием CDR-областей в каждой VH и VL последовательности. Таким образом, например, CDR1 VH P1-061029 включает аминокислоты 26-35 SEQ ID NO: 67, тогда как CDR2 VH включает аминокислоты 50-66 SEQ ID NO: 67, и CDR3 VH включает аминокислоты 99-110 SEQ ID NO: 67, и т.д., отмеченные выделенными жирным шрифтом и подчеркнутыми аминокислотами в SEQ ID NO: 67, показанной в Таблице последовательностей.

В некоторых вариантах осуществления Ат против hVISTA включает VH, включающую аминокислотную последовательность VH любого из Ат против hVISTA, предложенных в настоящем документе. Отдельные VH последовательности для конкретных типов антител, предложенных в настоящем документе, перечислены в Таблице последовательностей. В некоторых вариантах осуществления Ат против hVISTA включает VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-061029 или P1-061015 или их дочерних клонов, таких как P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E или P1-061029_Y32E_F100fE.

В некоторых вариантах осуществления Ат против hVISTA включает VH любого из антител P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-

068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E или P1-061029_Y32E_F100fE, но с 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотными заменами в каркасных областях VH последовательности, например, 1, 2, 3, 4 или 5 консервативных замен. В некоторых вариантах осуществления Ат против hVISTA включает VH любого из антител P1-061029 или его дочерних клонов, таких как P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-068766, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E или P1-061029_Y32E_F100fE, но с одной или более реверсивными заменами зародышевой линии, например, одной или обеими из замены K16R и/или T84A, в каркасных областях VH последовательностей, показанных в Таблице последовательностей. Примерные VH последовательности с такими аминокислотными заменами представлены в Таблице последовательностей, где остатки 16 и 84 выделены жирным шрифтом и подчеркнуты. Следует обратить внимание на то, что P1-061015 содержит R в положении 16 и A в положении 84 его каркасных областей VH.

В некоторых вариантах осуществления Ат против hVISTA включает CDR1, CDR2 и CDR3 VH, включающие аминокислотные последовательности CDR-областей VH любого

из Ат против hVISTA, предложенных в настоящем документе, и включает VH, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична VH любого из Ат против hVISTA, предложенных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления Ат против hVISTA включает VH, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична аминокислотной последовательности VH P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E или P1-061029_Y32E_F100fE. В некоторых вариантах осуществления VH антитела отличается от последовательностей VH, показанных в Таблице последовательностей, присутствием 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных замен в каркасных областях последовательности VH, например, 1, 2, 3, 4 или 5 консервативных замен или, например, одной или обеих из замен K16R и/или T84A в P1-061029 или его дочерних клонах.

В некоторых вариантах осуществления Ат против hVISTA включает VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH любого из Ат против hVISTA, предложенных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления Ат против hVISTA включает VH, которая состоит из аминокислотной последовательности VH P1-061029 или P1-061015 или их дочерних клонов, таких как P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-

068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E или P1-061029_Y32E_F100fE, необязательно с одной или обеими из замен K16R и/или T84A.

В некоторых вариантах осуществления Ат против hVISTA включает VL, включающую аминокислотную последовательность VL любого из Ат против hVISTA, предложенных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления Ат против hVISTA включает VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-061029 или P1-061015 или их дочерних клонов, таких как P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E или P1-061029_Y32E_F100fE. В некоторых вариантах осуществления Ат против hVISTA включает CDR1, CDR2 и CDR3 VL, включающие аминокислотные последовательности CDR-областей VL любого из Ат против hVISTA, предложенных в настоящем документе, и включает VL, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична VL любого из Ат против hVISTA, предложенных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления Ат против hVISTA включает VL, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей

мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична аминокислотной последовательности VL P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E или P1-061029_Y32E_F100fE. В некоторых вариантах осуществления VL антитела отличается от последовательностей VL, показанных в Таблице последовательностей, присутствием 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных замен в каркасных областях VL последовательности, например, 1, 2, 3, 4 или 5 консервативных замен.

В некоторых вариантах осуществления Ат против hVISTA включает VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL любого из Ат против hVISTA, предложенных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления Ат против hVISTA включает VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL P1-061029 или P1-061015 или их дочерних клонов, таких как P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE,

P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E или P1-061029_Y32E_F100fE.

В некоторых вариантах осуществления Ат против hVISTA включает VH, включающую аминокислотную последовательность VH любого из Ат против hVISTA, предложенных в настоящем документе, и включает VL, включающую аминокислотную последовательность VL любого из Ат против hVISTA, предложенных в настоящем документе. В некоторых из этих вариантов осуществления Ат против hVISTA включает VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-061029 или P1-061015 или их дочерних клонов, таких как P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E или P1-061029_Y32E_F100fE; и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-061029 или P1-061015.

В некоторых вариантах осуществления, тем не менее, VH антитела является VH P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E или P1-

061029_Y32E_F100fE, но с 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотными заменами в каркасных областях последовательности VH, такими как 1, 2, 3, 4 или 5 консервативных замен, и VL является VL P1-061029 или P1-061015. В некоторых вариантах осуществления, тем не менее, VH антитела является VH P1-061029 или его дочерних клонов, таких как P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-068766, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E или P1-061029_Y32E_F100fE, но с одной или обеими из замен K16R или T84A, и VL является VL P1-061029 или P1-061015.

В некоторых вариантах осуществления Ат против hVISTA включает VH и VL, включающие аминокислотные последовательности VH и VL P1-061029 или P1-061015 или их дочерних клонов, таких как P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E или P1-061029_Y32E_F100fE, и, необязательно, где VH включает одну или обе из замен K16R и/или T84A.

В некоторых вариантах осуществления Ат против hVISTA включает CDR1, CDR2 и CDR3 VH, включающие аминокислотные последовательности CDR-областей VH любого

из Ат против hVISTA, предложенных в настоящем документе, а также CDR1, CDR2 и CDR3 VL, включающие аминокислотные последовательности CDR-областей VL любого из Ат против hVISTA, предложенных в настоящем документе, и также включает VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны соответствующим VH и VL любого из Ат против hVISTA, предложенных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления VH и VL антитела отличаются от VH и VL последовательностей, показанных в Таблице последовательностей, присутствием 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных замен в каркасных областях последовательностей, таких как 1, 2, 3, 4 или 5 консервативных замен, или таких как одна или обе из замен K16R и/или T84A в последовательности VH.

В некоторых вариантах осуществления Ат против hVISTA включает VH и VL, состоящие из аминокислотной последовательности VH и VL любого из Ат против hVISTA, предложенных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления Ат против hVISTA включает VH и VL, каждая из которых состоит из аминокислотных последовательностей VH и VL P1-061029 или P1-061015 или их дочерних клонов, таких как P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E или P1-061029_Y32E_F100fE, и необязательно, где VH включают одну или обе из замен K16R и/или T84A.

Ат против hVISTA может включать:

(a) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-061029, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-061029;

(b) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-061015, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-061015;

(c) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068757, и VL,

включающую аминокислотную последовательность VL P1-068757;

(d) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068759, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068759;

(e) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068761, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068761;

(f) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068763, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068763;

(g) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068765, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068765;

(h) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068767, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068767;

(i) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068769, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068769;

(j) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068771, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068771;

(k) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068773, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL - 068773;

(l) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068775, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068775;

(m) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-069059, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-069059;

(n) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-069061, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-069061;

(o) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-069063, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-069063;

(p) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-069065, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-069065;

(q) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-069067, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-069067;

(r) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-069069, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-069069;

(s) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-069071, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-069071;

(t) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-069073, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-069073;

(u) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-069075, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-069075;

(v) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-069077, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-069077;

(w) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068736, и VL,

включающую аминокислотную последовательность VL P1-068736;

(x) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068738, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068738;

(y) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068740, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068740;

(z) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068742, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068742;

(aa) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068744, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068744;

(bb) VH, включающую аминокислотную последовательность VH f P1-068746, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068746;

(cc) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068748, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068748;

(dd) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068750, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068750;

(ee) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068752, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068752;

(ff) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068754, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068754;

(gg) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068761_E55A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068761_E55A;

(hh) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068761_H100G, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068761_H100G;

(ii) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068761_E56N, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068761_E56N;

(jj) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068761_E55A_E56N, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068761_E55A_E56N;

(kk) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068761_E30D, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068761_E30D;

(ll) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068761_E30D_E55A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068761_E30D_E55A;

(mm) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068761_E56N_H100G, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068761_E56N_H100G;

(nn) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068761_E30D_H100G, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068761_E30D_H100G;

(oo) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-

068761_E30D_E56N, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068761_E30D_E56N;

(pp) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068761_E100fF, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068761_E100fF;

(qq) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068761_E55A_E100fF, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068761_E55A_E100fF;

(rr) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068761_H100G_E100fF, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068761_H100G_E100fF;

(ss) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068761_E30D_E100fF, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068761_E30D_E100fF;

(tt) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068761_E56N_E100fF, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068761_E56N_E100fF;

(uu) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068761_E32Y, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068761_E32Y;

(vv) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068761_E32Y_E55A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068761_E32Y_E55A;

(ww) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068761_E32Y_E56N, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068761_E32Y_E56N;

(xx) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068761_E30D_E32Y, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068761_E30D_E32Y;

(yy) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068761_E32Y_H100G, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068761_E32Y_H100G;

(zz) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068761_E32Y_E100fF, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068761_E32Y_E100fF;

(aaa) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068767_D52N_D102V, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068767_D52N_D102V;

(bbb) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068767_D52N, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068767_D52N;

(ccc) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068767_D52N_E55A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-

068767_D52N_E55A;

(ddd) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068767_E55A_D102V, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068767_E55A_D102V;

(eee) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068767_D102V, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068767_D102V;

(fff) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068767_E55A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068767_E55A;

(ggg) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068767_E30D_D52N, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068767_E30D_D52N;

(hhh) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068767_E30D_D102V, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068767_E30D_D102V;

(iii) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068767_E30D, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068767_E30D;

(jjj) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068767_E30D_E55A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068767_E30D_E55A;

(kkk) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068767_E100fF_D102V, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068767_E100fF_D102V;

(lll) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068767_E55A_E100fF, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068767_E55A_E100fF;

(mmm) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068767_D52N_E100fF, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068767_D52N_E100fF;

(nnn) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068767_E100fF, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068767_E100fF;

(ooo) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068767_E30D_E100fF, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068767_E30D_E100fF;

(ppp) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-061029_F100fE_V102D, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-061029_F100fE_V102D;

(qqq) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-061029_F100fE, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-

061029_F100fE;

(rrr) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-061029_V102D, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-061029_V102D;

(sss) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-061029_Y32E, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-061029_Y32E; или

(ttt) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-061029_Y32E_F100fE, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-061029_Y32E_F100fE.

Ат против hVISTA может включать:

(a) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-061029, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-061029;

(b) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068757, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068757;

(c) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068759, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068759;

(d) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068761, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068761;

(e) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068763, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068763;

(f) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068765, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068765;

(g) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068767, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068767;

(h) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068769, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068769;

(i) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068771, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068771;

(j) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068773, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL - 068773;

(k) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068775,

модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068775;

(l) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-069059, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-069059;

(m) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-069061, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-069061;

(n) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-069063, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-069063;

(o) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-069065, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-069065;

(p) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-069067, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-069067;

(q) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-069069, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-069069;

(r) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-069071, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-069071;

(s) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-069073, модифицированную заменами K16R и/или T84A, VL включение последовательности аминокислот VL ofP1-069073;

(t) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-069075, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-069075;

(u) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-069077, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-069077;

(v) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068761_E55A, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068761_E55A;

(w) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068761_H100G, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068761_H100G;

(x) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068761_E56N, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную

последовательность VL P1-068761_E56N;

(y) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068761_E55A_E56N, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068761_E55A_E56N;

(z) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068761_E30D, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068761_E30D;

(aa) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068761_E30D_E55A, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068761_E30D_E55A;

(bb) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068761_E56N_H100G, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068761_E56N_H100G;

(cc) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068761_E30D_H100G, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068761_E30D_H100G;

(dd) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068761_E30D_E56N, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068761_E30D_E56N;

(ee) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068761_E100fF, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068761_E100fF;

(ff) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068761_E55A_E100fF, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068761_E55A_E100fF;

(gg) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068761_H100G_E100fF, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068761_H100G_E100fF;

(hh) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068761_E30D_E100fF, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068761_E30D_E100fF;

(ii) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068761_E56N_E100fF, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068761_E56N_E100fF;

(jj) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068761_E32Y, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068761_E32Y;

(kk) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068761_E32Y_E55A, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068761_E32Y_E55A;

(ll) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068761_E32Y_E56N, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068761_E32Y_E56N;

(mm) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068761_E30D_E32Y, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068761_E30D_E32Y;

(nn) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068761_E32Y_H100G, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068761_E32Y_H100G;

(oo) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068761_E32Y_E100fF, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068761_E32Y_E100fF;

(pp) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068767_D52N_D102V, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068767_D52N_D102V;

(qq) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068767_D52N, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068767_D52N;

(rr) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068767_D52N_E55A, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068767_D52N_E55A;

(ss) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068767_E55A_D102V, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068767_E55A_D102V;

(tt) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068767_D102V, модифицированную заменами K16R и/или T84A, VL включение последовательности аминокислот VL ofP1-068767_D102V;

(uu) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068767_E55A, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068767_E55A;

(vv) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068767_E30D_D52N, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068767_E30D_D52N;

(ww) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068767_E30D_D102V, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068767_E30D_D102V;

(xx) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068767_E30D, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068767_E30D;

(yy) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-

068767_E30D_E55A, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068767_E30D_E55A;

(zz) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068767_E100fF_D102V, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068767_E100fF_D102V;

(aaa) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068767_E55A_E100fF, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068767_E55A_E100fF;

(bbb) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068767_D52N_E100fF, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068767_D52N_E100fF;

(ccc) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068767_E100fF, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068767_E100fF;

(ddd) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-068767_E30D_E100fF, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-068767_E30D_E100fF;

(eee) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-061029_F100fE_V102D, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-061029_F100fE_V102D;

(fff) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-061029_F100fE, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-061029_F100fE;

(ggg) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-061029_V102D, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-061029_V102D;

(hhh) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-061029_Y32E, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-061029_Y32E; или

(iii) VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-061029_Y32E_F100fE, модифицированную заменами K16R и/или T84A, и VL, включающую аминокислотную последовательность VL P1-061029_Y32E_F100fE.

Ат против hVISTA может включать:

(a) VH, включающую CDR-области VH P1-061029, и VL, включающую CDR-области VL P1-061029, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-061029;

(b) VH, включающую CDR-области VH P1-061015, и VL, включающую CDR-

области VL P1-061015, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-061015;

(c) VH, включающую CDR-области VH P1-068757, и VL, включающую CDR-области VL P1-068757, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068757;

(d) VH, включающую CDR-области VH P1-068759, и VL, включающую CDR-области VL P1-068759, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068759;

(e) VH, включающую CDR-области VH P1-068761, и VL, включающую CDR-области VL P1-068761, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068761;

(f) VH, включающую CDR-области VH P1-068763, и VL, включающую CDR-области VL P1-068763, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068763;

(g) VH, включающую CDR-области VH P1-068765, и VL, включающую CDR-области VL P1-068765, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068765;

(h) VH, включающую CDR-области VH P1-068767, и VL, включающую CDR-области VL P1-068767, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны

VH и VL P1-068767;

(i) VH, включающую CDR-области VH P1-068769, и VL, включающую CDR-области VL P1-068769, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068769;

(j) VH, включающую CDR-области VH P1-068771, и VL, включающую CDR-области VL P1-068771, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068771;

(k) VH, включающую CDR-области VH P1-068773, и VL, включающую CDR-области VL P1-068773, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068773;

(l) VH, включающую CDR-области VH P1-068775, и VL, включающую CDR-области VL P1-068775, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068775;

(m) VH, включающую CDR-области VH P1-069059, и VL, включающую CDR-области VL P1-069059, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-069059;

(n) VH, включающую CDR-области VH P1-069061, и VL, включающую CDR-области VL P1-069061, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-069061;

(o) VH, включающую CDR-области VH P1-069063, и VL, включающую CDR-области VL P1-069063, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере

на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-069063;

(p) VH, включающую CDR-области VH P1-069065, и VL, включающую CDR-области VL P1-069065, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-069065;

(q) VH, включающую CDR-области VH P1-069067, и VL, включающую CDR-области VL P1-069067, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-069067;

(r) VH, включающую CDR-области VH P1-069069, и VL, включающую CDR-области VL P1-069069, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-069069;

(s) VH, включающую CDR-области VH P1-069071, и VL, включающую CDR-области VL P1-069071, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-069071;

(t) VH, включающую CDR-области VH P1-069073, и VL, включающую CDR-области VL P1-069073, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-069073;

(u) VH, включающую CDR-области VH P1-069075, и VL, включающую CDR-области VL P1-069075, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-069075;

(v) VH, включающую CDR-области VH P1-069077, и VL, включающую CDR-

области VL P1-069077, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-069077;

(w) VH, включающую CDR-области VH P1-068736, и VL, включающую CDR-области VL P1-068736, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068736;

(x) VH, включающую CDR-области VH P1-068738, и VL, включающую CDR-области VL P1-068738, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068738;

(y) VH, включающую CDR-области VH P1-068740, и VL, включающую CDR-области VL P1-068740, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068740;

(z) VH, включающую CDR-области VH P1-068742, и VL, включающую CDR-области VL P1-068742, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068742;

(aa) VH, включающую CDR-области VH P1-068744, и VL, включающую CDR-области VL P1-068744, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068744;

(bb) VH, включающую CDR-области VH P1-068746, и VL, включающую CDR-области VL P1-068746, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны

VH и VL P1-068746;

(cc) VH, включающую CDR-области VH P1-068748, и VL, включающую CDR-области VL P1-068748, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068748;

(dd) VH, включающую CDR-области VH P1-068750, и VL, включающую CDR-области VL P1-068750, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068750;

(ee) VH, включающую CDR-области VH P1-068752, и VL, включающую CDR-области VL P1-068752, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068752;

(ff) VH, включающую CDR-области VH P1-068754, и VL, включающую CDR-области VL P1-068754, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068754;

(gg) VH, включающую CDR-области VH P1-068761_E55A, и VL, включающую CDR-области VL P1-068761_E55A, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068761_E55A;

(hh) VH, включающую CDR-области VH P1-068761_H100G, и VL, включающую CDR-области VL P1-068761_H100G, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068761_H100G;

(ii) VH, включающую CDR-области VH P1-068761_E56N, и VL, включающую CDR-области VL P1-068761_E56N, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере

на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068761_E56N;

(jj) VH, включающую CDR-области VH P1-068761_E55A_E56N, и VL, включающую CDR-области VL P1-068761_E55A_E56N, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068761_E55A_E56N;

(kk) VH, включающую CDR-области VH P1-068761_E30D, и VL, включающую CDR-области VL P1-068761_E30D, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068761_E30D;

(ll) VH, включающую CDR-области VH P1-068761_E30D_E55A, и VL, включающую CDR-области VL P1-068761_E30D_E55A, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068761_E30D_E55A;

(mm) VH, включающую CDR-области VH P1-068761_E56N_H100G, и VL, включающую CDR-области VL P1-068761_E56N_H100G, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068761_E56N_H100G;

(nn) VH, включающую CDR-области VH P1-068761_E30D_H100G, и VL, включающую CDR-области VL P1-068761_E30D_H100G, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068761_E30D_H100G;

(oo) VH, включающую CDR-области VH P1-068761_E30D_E56N, и VL, включающую CDR-области VL P1-068761_E30D_E56N, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068761_E30D_E56N;

(pp) VH, включающую CDR-области VH P1-068761_E100fF, и VL, включающую

CDR-области VL P1-068761_E100fF, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068761_E100fF;

(qq) VH, включающую CDR-области VH P1-068761_E55A_E100fF, и VL, включающую CDR-области VL P1-068761_E55A_E100fF, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068761_E55A_E100fF;

(rr) VH, включающую CDR-области VH P1-068761_H100G_E100fF, и VL, включающую CDR-области VL P1-068761_H100G_E100fF, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068761_H100G_E100fF;

(ss) VH, включающую CDR-области VH P1-068761_E30D_E100fF, и VL, включающую CDR-области VL P1-068761_E30D_E100fF, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068761_E30D_E100fF;

(tt) VH, включающую CDR-области VH P1-068761_E56N_E100fF, и VL, включающую CDR-области VL P1-068761_E56N_E100fF, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068761_E56N_E100fF;

(uu) VH, включающую CDR-области VH P1-068761_E32Y, и VL, включающую CDR-области VL P1-068761_E32Y, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068761_E32Y;

(vv) VH, включающую CDR-области VH P1-068761_E32Y_E55A, и VL, включающую CDR-области VL P1-068761_E32Y_E55A, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%

или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068761_E32Y_E55A;

(ww) VH, включающую CDR-области VH P1-068761_E32Y_E56N, и VL, включающую CDR-области VL P1-068761_E32Y_E56N, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068761_E32Y_E56N;

(xx) VH, включающую CDR-области VH P1-068761_E30D_E32Y, и VL, включающую CDR-области VL P1-068761_E30D_E32Y, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068761_E30D_E32Y;

(yy) VH, включающую CDR-области VH P1-068761_E32Y_H100G, и VL, включающую CDR-области VL P1-068761_E32Y_H100G, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068761_E32Y_H100G;

(zz) VH, включающую CDR-области VH P1-068761_E32Y_E100fF, и VL, включающую CDR-области VL P1-068761_E32Y_E100fF, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068761_E32Y_E100fF;

(aaa) VH, включающую CDR-области VH P1-068767_D52N_D102V, и VL, включающую CDR-области VL P1-068767_D52N_D102V, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068767_D52N_D102V;

(bbb) VH, включающую CDR-области VH P1-068767_D52N, и VL, включающую CDR-области VL P1-068767_D52N, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068767_D52N;

(ccc) VH, включающую CDR-области VH P1-068767_D52N_E55A, и VL, включающую CDR-области VL P1-068767_D52N_E55A, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%,

по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068767_D52N_E55A;

(ddd) VH, включающую CDR-области VH P1-068767_E55A_D102V, и VL, включающую CDR-области VL P1-068767_E55A_D102V, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068767_E55A_D102V;

(eee) VH, включающую CDR-области VH P1-068767_D102V, и VL, включающую CDR-области VL P1-068767_D102V, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068767_D102V;

(fff) VH, включающую CDR-области VH P1-068767_E55A, и VL, включающую CDR-области VL P1-068767_E55A, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068767_E55A;

(ggg) VH, включающую CDR-области VH P1-068767_E30D_D52N, и VL, включающую CDR-области VL P1-068767_E30D_D52N, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068767_E30D_D52N;

(hhh) VH, включающую CDR-области VH P1-068767_E30D_D102V, и VL, включающую CDR-области VL P1-068767_E30D_D102V, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068767_E30D_D102V;

(iii) VH, включающую CDR-области VH P1-068767_E30D, и VL, включающую CDR-области VL P1-068767_E30D, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068767_E30D;

(jjj) VH, включающую CDR-области VH P1-068767_E30D_E55A, и VL,

включающую CDR-области VL P1-068767_E30D_E55A, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068767_E30D_E55A;

(kkk) VH, включающую CDR-области VH P1-068767_E100fF_D102V, и VL, включающую CDR-области VL P1-068767_E100fF_D102V, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068767_E100fF_D102V;

(lll) VH, включающую CDR-области VH P1-068767_E55A_E100fF, и VL, включающую CDR-области VL P1-068767_E55A_E100fF, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068767_E55A_E100fF;

(mmm) VH, включающую CDR-области VH P1-068767_D52N_E100fF, и VL, включающую CDR-области VL P1-068767_D52N_E100fF, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068767_D52N_E100fF;

(nnn) VH, включающую CDR-области VH P1-068767_E100fF, и VL, включающую CDR-области VL P1-068767_E100fF, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068767_E100fF;

(ooo) VH, включающую CDR-области VH P1-068767_E30D_E100fF, и VL, включающую CDR-области VL P1-068767_E30D_E100fF, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-068767_E30D_E100fF;

(ppp) VH, включающую CDR-области VH P1-061029_F100fE_V102D, и VL, включающую CDR-области VL P1-061029_F100fE_V102D, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%

или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-061029_F100fE_V102D;

(qqq) VH, включающую CDR-области VH P1-061029_F100fE, и VL, включающую CDR-области VL P1-061029_F100fE, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-061029_F100fE;

(rrr) VH, включающую CDR-области VH P1-061029_V102D, и VL, включающую CDR-области VL P1-061029_V102D, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-061029_V102D;

(sss) VH, включающую CDR-области VH P1-061029_Y32E, и VL, включающую CDR-области VL P1-061029_Y32E, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-061029_Y32E; или

(ttt) VH, включающую CDR-области VH P1-061029_Y32E_F100fE, и VL, включающую CDR-области VL P1-061029_Y32E_F100fE, и аминокислотные последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны VH и VL P1-061029_Y32E_F100fE;

необязательно, где VH в любом из (a)-(ttt) включает одну или обе из замен K16R и T84A.

В некоторых вышеуказанных вариантах осуществления VH и/или VL могут отличаться от последовательности каждого из типов (a)-(ttt) присутствием 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных замен, таких как 1, 2, 3, 4 или 5 консервативных замен. В некоторых вариантах осуществления VH может включать одну или обе из замен K16R и T84A.

Ат против hVISTA может включать:

(a) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-061029, и VL, состоящую из VL P1-061029;

(b) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-061015, и VL, состоящую из VL P1-061015;

(c) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068757, и VL, состоящую из VL P1-068757;

(d) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068759, и VL, состоящую из VL P1-068759;

(e) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068761, и VL, состоящую из VL P1-068761;

(f) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068763, и VL, состоящую из VL P1-068763;

(g) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068765, и VL, состоящую из VL P1-068765;

(h) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068767, и VL, состоящую из VL P1-068767;

(i) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068769, и VL, состоящую из VL P1-068769;

(j) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068771, и VL, состоящую из VL P1-068771;

(k) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068773, и VL, состоящую из VL P1-068773;

(l) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068775, и VL, состоящую из VL P1-068775;

(m) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-069059, и VL, состоящую из VL P1-069059;

(n) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-069061, и VL, состоящую из VL P1-069061;

(o) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-069063, и VL, состоящую из VL P1-069063;

(p) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-069065, и VL, состоящую из VL P1-069065;

(q) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-069067, и VL, состоящую из VL P1-069067;

(r) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-069069, и VL, состоящую из VL P1-069069;

(s) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-069071, и VL, состоящую из VL P1-069071;

(t) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-069073, и VL, состоящую из VL P1-069073;

(u) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-069075, и VL, состоящую из VL P1-069075;

(v) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-069077, и VL, состоящую из VL P1-069077;

(w) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068736, и VL, состоящую из VL P1-068736;

(x) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068738, и VL, состоящую из VL P1-068738;

(y) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068740, и VL, состоящую из VL P1-068740;

(z) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068742, и VL, состоящую из VL P1-068742;

(aa) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068744, и VL, состоящую из VL P1-068744;

(bb) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH f P1-068746, и VL, состоящую из VL P1-068746;

(cc) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068748, и VL, состоящую из VL P1-068748;

(dd) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068750, и VL, состоящую из VL P1-068750;

(ee) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068752, и VL, состоящую из VL P1-068752;

(ff) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068754, и VL, состоящую из VL P1-068754;

(gg) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068761_E55A, и VL, состоящий из последовательности аминокислот VL ofP1-068761_E55A;

(hh) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068761_H100G, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL P1-068761_H100G;

(ii) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068761_E56N, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL P1-068761_E56N;

(jj) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068761_E55A_E56N, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL P1-068761_E55A_E56N;

(kk) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068761_E30D, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL P1-068761_E30D;

(ll) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068761_E30D_E55A, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL P1-068761_E30D_E55A;

(mm) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068761_E56N_H100G, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL P1-068761_E56N_H100G;

(nn) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068761_E30D_H100G, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL P1-068761_E30D_H100G;

(oo) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068761_E30D_E56N, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL P1-068761_E30D_E56N;

(pp) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068761_E100fF,

и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL P1-068761_E100fF;

(qq) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068761_E55A_E100fF, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL P1-068761_E55A_E100fF;

(RR) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068761_H100G_E100fF, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL P1-068761_H100G_E100fF;

(ss) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068761_E30D_E100fF, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL P1-068761_E30D_E100fF;

(tt) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068761_E56N_E100fF, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL P1-068761_E56N_E100fF;

(uu) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068761_E32Y, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL P1-068761_E32Y;

(vv) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068761_E32Y_E55A, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL P1-068761_E32Y_E55A;

(ww) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068761_E32Y_E56N, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL P1-068761_E32Y_E56N;

(xx) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068761_E30D_E32Y, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL P1-068761_E30D_E32Y;

(yy) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068761_E32Y_H100G, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL P1-068761_E32Y_H100G;

(zz) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068761_E32Y_E100fF, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL P1-068761_E32Y_E100fF;

(aaa) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068767_D52N_D102V, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL P1-068767_D52N_D102V;

(bbb) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068767_D52N, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL P1-068767_D52N;

(ccc) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068767_D52N_E55A, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL P1-068767_D52N_E55A;

(ddd) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068767_E55A_D102V, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL P1-

068767_E55A_D102V;

(eee) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068767_D102V, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL P1-068767_D102V;

(fff) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068767_E55A, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL P1-068767_E55A;

(ggg) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068767_E30D_D52N, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL P1-068767_E30D_D52N;

(hhh) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068767_E30D_D102V, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL P1-068767_E30D_D102V;

(iii) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068767_E30D, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL P1-068767_E30D;

(jjj) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068767_E30D_E55A, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL P1-068767_E30D_E55A;

(kkk) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068767_E100fF_D102V, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL P1-068767_E100fF_D102V;

(lll) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068767_E55A_E100fF, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL P1-068767_E55A_E100fF;

(mmm) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068767_D52N_E100fF, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL P1-068767_D52N_E100fF;

(nnn) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068767_E100fF, и VL, состоящий из последовательности аминокислот VL P1-068767_E100fF;

(ooo) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-068767_E30D_E100fF, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL P1-068767_E30D_E100fF;

(ppp) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-061029_F100fE_V102D, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL P1-061029_F100fE_V102D;

(qqq) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-061029_F100fE, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL P1-061029_F100fE;

(rrr) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-061029_V102D, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL P1-061029_V102D;

(sss) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-061029_Y32E, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL P1-061029_Y32E; или

(ttt) VH, состоящую из аминокислотной последовательности VH P1-061029_Y32E_F100fE, и VL, состоящую из аминокислотной последовательности VL P1-061029_Y32E_F100fE;

необязательно, где VH в любом из (a)-(ttt) включает одну или обе из замен K16R и T84A.

В некоторых вариантах осуществления Ат против VISTA включает любую из вариабельных областей и/или CDR-области 1-3 вариабельных областей антител, описанных выше и в другой части настоящего документа, такие как:

(1) одну или более CDR1, CDR2 и CDR3 VH:

(2) CDR1, CDR2 и CDR3 VH:

(3) VH:

(4) одну или более CDR1, CDR2 и CDR3 VH и одну или более CDR1, CDR2 и CDR3 VL:

(5) CDR1, CDR2 и CDR3 VH и CDR1, CDR2 и CDR3 VL:

(6) VH и VL:

или

(7) VL и VH, за исключением одной или обеих замен K16R и T84A в VH (в случае P1-061029 или его дочерних клонов) из:

P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E или P1-061029_Y32E_F100fE; и Ат против VISTA также является IgG антителом, таким как IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4 антитело или их модифицированная форма, как описано в разделе ниже. В некоторых вариантах осуществления константная область имеет эффекторную функцию, и в некоторых вариантах осуществления константная область не является эффекторной. В некоторых вариантах осуществления константная область является

константной областью IgG1.3.

В некоторых вариантах осуществления Ат против VISTA включает любую из вариабельных областей и/или CDR-области 1-3 вариабельных областей антител, описанных выше и в другой части настоящего документа, такие как:

(1) одну или более CDR1, CDR2 и CDR3 VH:

(2) CDR1, CDR2 и CDR3 VH:

(3) VH:

(4) одну или более CDR1, CDR2 и CDR3 VH и одну или более CDR1, CDR2 и CDR3 VL:

(5) CDR1, CDR2 и CDR3 VH и CDR1, CDR2 и CDR3 VL:

(6) VH и VL:

или

(7) VL и VH, за исключением одной или обеих замен K16R и T84A в VH (в случае P1-061029 и его дочерних клонов) из:

P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E или P1-061029_Y32E_F100fE,

и дополнительно включает одну или более следующих характеристик:

- специфично связывается с hVISTA, например, богатой гистидинами областью ECD, или полипептидом, включающим аминокислотные остатки 35-127 SEQ ID NO: 2, при кислотном pH, например, pH 6,0 или pH 6,5;

- не демонстрирует значимого связывания с hVISTA, например, богатой гистидинами областью ECD, или полипептидом, включающим аминокислотные остатки 35-127 SEQ ID NO: 2, при физиологическом pH или нейтральном pH, например, pH 7,4 или pH 7,0;

- специфично связывается с VISTA циномолгуса, например, богатой гистидинами областью ECD, при кислотном pH, например, pH 6,0 или pH 6,5;

- не демонстрирует значимого связывания с VISTA циномолгуса, например, богатой гистидинами областью ECD, при физиологическом pH или нейтральном pH, например, pH 7,4 или pH 7,0;

- демонстрирует сниженное связывание с hVISTA-ECD, имеющим замену одной или более следующих аминокислот: T35, Y37, K38, T39, Y41, R54, T61, F62, Q63, L65, H66, L67, H68, H69, F97, L115, V117, I119, H121, H122, S124, E125, R127 по сравнению с hVISTA ECD, имеющим SEQ ID NO: 2;

- перекрестно конкурирует за связывание hVISTA с P1-061029, P1-068761, P1-068767 и/или P1-061015;

- ингибирует связывание hVISTA с человеческими Т-клетками, экспрессирующими VISTA (например, наивными или активированными Т-клетками) при кислотном pH, например, pH 6,0 или pH 6,5;

- ингибирует связывание hVISTA с PSGL-1 при кислотном pH, например, pH 6,0 или pH 6,5 (например, ингибирует взаимодействие между H153 и H154 hVISTA, имеющим SEQ ID NO: 1, и тирозинами PSGL-1 Y46 и Y48), где PSGL-1 имеет или не имеет сиалил-Льюис X, и где тирозины предпочтительно являются сульфотирозинами;

- среднее время удерживания (MRT) по меньшей мере 100, 200, 300, 350, 400, 450, 500, 600 или 700 часов (например, по меньшей мере 350 часов) у яванских макаков, измеренное, например, как описано в Примерах;

- стимулирует активацию Т-клеток, например, путем повышения пролиферации Т-клеток; повышения продукции IFN-γ из Т-клеток; и/или стимулирует опосредованную Т-клеточным рецептором сигнализацию NF-kB;

- ингибирует опосредованную VISTA адгезию клетка:клетка;

- специфично связывается с hVISTA в образцах человеческих опухолевых клеток или образцах воспаленной человеческой ткани, которая экспрессирует VISTA;

- контактирует с hVISTA через один или несколько (например, по меньшей мере 1-3, 1-5, 1-10, 5-10, 5-15 или все) энергетически важные контактные остатки Y37, T39, R54, F62, H66, V117, I119 или S124, как определено, например, с помощью поверхностного дрожжевого дисплея и анализа NGS, описанного в Примере 15; и где нумерация соответствует нумерации зрелого hVISTA;

- связывается с Областью 1: $_{57}$LGPVDKGHDVTF$_{68}$ (SEQ ID NO: 566); Областью 2: $_{86}$RRPIRNLTFQDL$_{97}$ (SEQ ID NO: 567); и Областью 3: $_{148}$VVEIRHHHSEHRVHGAME$_{165}$ (SEQ ID NO: 568) hVISTA, имеющего SEQ ID NO: 1, и, необязательно, где связывание является наиболее сильным в Области 2, как определено с помощью MS-HDX, как описано в Примере 21;

- связывается с богатым гистидинами удлинением β-слоя hVISTA, как определено, например, с помощью кристаллографии, описанной, например, в Примерах;

- контактирует с H121, H122 и/или H123 зрелого hVISTA (расстояние 4,0 ангстрема (Å) или меньше), например, через водородные связи, как определено, например, с помощью кристаллографии, описанной, например, в Примерах;

- контактирует с hVISTA по меньшей мере через один или более остатков глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты или гистидина, расположенных в CDR1, CDR2 или CDR3 VH; и

и любую дополнительную характеристку, предствленную в формуле изобретения и/или в Примерах.

В некоторых вариантах осуществления Ат против hVISTA включает тяжелую цепь (HC), включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи любого из Ат против hVISTA, предложенных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления Ат против hVISTA включает тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-061029 или P1-061015 или их дочерних клонов, как показано ниже в Таблице последовательностей, включающих константную область тяжелой цепи IgG1.3, таких как P1-061029.IgG1.3 (SEQ ID NO: 69), P1-068757.IgG1.3, P1-068759.IgG1.3, P1-068761.IgG1.3, P1-068763.IgG1.3, P1-068765.IgG1.3, P1-068767.IgG1.3, P1-068769.IgG1.3, P1-068771.IgG1.3, P1-068773.IgG1.3, P1-068775.IgG1.3, P1-069059.IgG1.3, P1-069061.IgG1.3, P1-069063.IgG1.3, P1-069065.IgG1.3, P1-069067.IgG1.3, P1-069069.IgG1.3, P1-069071.IgG1.3, P1-069073.IgG1.3, P1-069075.IgG1.3, P1-069077.IgG1.3, P1-061015.IgG1.3, P1-068736.IgG1.3, P1-068738.IgG1.3, P1-068740.IgG1.3, P1-068742.IgG1.3, P1-068744.IgG1.3, P1-068766.IgG1.3, P1-068748.IgG1.3, P1-068750.IgG1.3, P1-068752.IgG1.3, P1-068754.IgG1.3, P1-068761_E55A.IgG1.3, P1-068761_H100G.IgG1.3, P1-068761_E56N.IgG1.3, P1-068761_E55A_E56N.IgG1.3, P1-068761_E30D.IgG1.3, P1-068761_E30D_E55A.IgG1.3, P1-068761_E56N_H100G.IgG1.3, P1-068761_E30D_H100G.IgG1.3, P1-068761_E30D_E56N.IgG1.3, P1-068761_E100fF.IgG1.3, P1-068761_E55A_E100fF.IgG1.3, P1-068761_H100G_E100fF.IgG1.3, P1-068761_E30D_E100fF.IgG1.3, P1-068761_E56N_E100fF.IgG1.3, P1-068761_E32Y.IgG1.3, P1-068761_E32Y_E55A.IgG1.3, P1-068761_E32Y_E56N.IgG1.3, P1-068761_E30D_E32Y.IgG1.3, P1-068761_E32Y_H100G.IgG1.3, P1-068761_E32Y_E100fF.IgG1.3, P1-068767_D52N_D102V.IgG1.3, P1-068767_D52N.IgG1.3, P1-068767_D52N_E55A.IgG1.3, P1-068767_E55A_D102V.IgG1.3, P1-068767_D102V.IgG1.3, P1-068767_E55A.IgG1.3, P1-068767_E30D_D52N.IgG1.3, P1-068767_E30D_D102V.IgG1.3, P1-068767_E30D.IgG1.3, P1-068767_E30D_E55A.IgG1.3, P1-068767_E100fF_D102V.IgG1.3, P1-068767_E55A_E100fF.IgG1.3, P1-068767_D52N_E100fF.IgG1.3, P1-068767_E100fF.IgG1.3, P1-068767_E30D_E100fF.IgG1.3, P1-061029_F100fE_V102D.IgG1.3, P1-061029_F100fE.IgG1.3, P1-061029_V102D.IgG1.3, P1-061029_Y32E.IgG1.3 или P1-061029_Y32E_F100fE.IgG1.3, необязательно, где VH включают одну или обе из замен K16R и T84A.

В некоторых вариантах осуществления Ат против hVISTA включает тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи любого из Ат против hVISTA, предложенных в настоящем документе, которые включают константную область тяжелой цепи IgG1.3, и аминокислотную последовательность легкой цепи любого из Ат против hVISTA, предложенных в настоящем документе. В некоторых вариантах

осуществления Ат против hVISTA включает тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность VH P1-061029 или P1-061015 или их дочерних клонов, включающих константную область IgG1.3 HC, таких как P1-061029.IgG1.3 (SEQ ID NO: 69), P1-068757.IgG1.3, P1-068759.IgG1.3, P1-068761.IgG1.3, P1-068763.IgG1.3, P1-068765.IgG1.3, P1-068767.IgG1.3, P1-068769.IgG1.3, P1-068771.IgG1.3, P1-068773.IgG1.3, P1-068775.IgG1.3, P1-069059.IgG1.3, P1-069061.IgG1.3, P1-069063.IgG1.3, P1-069065.IgG1.3, P1-069067.IgG1.3, P1-069069.IgG1.3, P1-069071.IgG1.3, P1-069073.IgG1.3, P1-069075.IgG1.3, P1-069077.IgG1.3, P1-061015.IgG1.3, P1-068736.IgG1.3, P1-068738.IgG1.3, P1-068740.IgG1.3, P1-068742.IgG1.3, P1-068744.IgG1.3, P1-068766.IgG1.3, P1-068748.IgG1.3, P1-068750.IgG1.3, P1-068752.IgG1.3, P1-068754.IgG1.3, P1-068761_E55A.IgG1.3, P1-068761_H100G.IgG1.3, P1-068761_E56N.IgG1.3, P1-068761_E55A_E56N.IgG1.3, P1-068761_E30D.IgG1.3, P1-068761_E30D_E55A.IgG1.3, P1-068761_E56N_H100G.IgG1.3, P1-068761_E30D_H100G.IgG1.3, P1-068761_E30D_E56N.IgG1.3, P1-068761_E100fF.IgG1.3, P1-068761_E55A_E100fF.IgG1.3, P1-068761_H100G_E100fF.IgG1.3, P1-068761_E30D_E100fF.IgG1.3, P1-068761_E56N_E100fF.IgG1.3, P1-068761_E32Y.IgG1.3, P1-068761_E32Y_E55A.IgG1.3, P1-068761_E32Y_E56N.IgG1.3, P1-068761_E30D_E32Y.IgG1.3, P1-068761_E32Y_H100G.IgG1.3, P1-068761_E32Y_E100fF.IgG1.3, P1-068767_D52N_D102V.IgG1.3, P1-068767_D52N.IgG1.3, P1-068767_D52N_E55A.IgG1.3, P1-068767_E55A_D102V.IgG1.3, P1-068767_D102V.IgG1.3, P1-068767_E55A.IgG1.3, P1-068767_E30D_D52N.IgG1.3, P1-068767_E30D_D102V.IgG1.3, P1-068767_E30D.IgG1.3, P1-068767_E30D_E55A.IgG1.3, P1-068767_E100fF_D102V.IgG1.3, P1-068767_E55A_E100fF.IgG1.3, P1-068767_D52N_E100fF.IgG1.3, P1-068767_E100fF.IgG1.3, P1-068767_E30D_E100fF.IgG1.3, P1-061029_F100fE_V102D.IgG1.3, P1-061029_F100fE.IgG1.3, P1-061029_V102D.IgG1.3, P1-061029_Y32E.IgG1.3 или P1-061029_Y32E_F100fE.IgG1.3, необязательно, где VH включает одну или обе из замен K16R и T84A; и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-061029 или P1-061015.

Ат против hVISTA может включать:

(a) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-061029.IgG1.3 (SEQ ID NO: 69), и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-061029 (SEQ ID NO: 70);

(b) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-061015.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-061015;

(c) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068757.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068757;

(d) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068759.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность

легкой цепи P1-068759;

(e) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068761.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761;

(f) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068763.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068763;

(g) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068765.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068765;

(h) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068767.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767;

(i) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068769.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068769;

(j) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068771.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068771;

(k) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068773.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068773;

(l) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068775.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068775;

(m) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-069059.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-069059;

(n) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-069061.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-069061;

(o) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-069063.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-069063;

(p) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-069065.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-069065;

(q) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-069067.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-069067;

(r) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-069069.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-069069;

(s) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-069071.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-069071;

(t) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-069073.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-069073;

(u) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-069075.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-069075;

(v) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-069077.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-069077;

(w) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068736.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068736;

(x) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068738.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068738;

(y) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068740.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068740;

(z) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068742.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068742;

(aa) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068744.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068744;

(bb) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи f P1-068746.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068746;

(cc) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068748.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068748;

(dd) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068750.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068750;

(ee) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой

цепи P1-068752.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068752;

(ff) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068754.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068754;

(gg) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068761_E55A.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E55A;

(hh) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068761_H100G.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_H100G;

(ii) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068761_E56N.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E56N;

(jj) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068761_E55A_E56N.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E55A_E56N;

(kk) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068761_E30D.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E30D;

(ll) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068761_E30D_E55A.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E30D_E55A;

(mm) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068761_E56N_H100G.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E56N_H100G;

(nn) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068761_E30D_H100G.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E30D_H100G;

(oo) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068761_E30D_E56N.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E30D_E56N;

(pp) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068761_E100fF.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E100fF;

(qq) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068761_E55A_E100fF.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E55A_E100fF;

(rr) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068761_H100G_E100fF.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную

последовательность легкой цепи P1-068761_H100G_E100fF;

(ss) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068761_E30D_E100fF.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E30D_E100fF;

(tt) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068761_E56N_E100fF.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E56N_E100fF;

(uu) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068761_E32Y.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E32Y;

(vv) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068761_E32Y_E55A.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E32Y_E55A;

(ww) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068761_E32Y_E56N.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E32Y_E56N;

(xx) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068761_E30D_E32Y.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E30D_E32Y;

(yy) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068761_E32Y_H100G.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E32Y_H100G;

(zz) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068761_E32Y_E100fF.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E32Y_E100fF;

(aaa) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068767_D52N_D102V.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_D52N_D102V;

(bbb) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068767_D52N.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_D52N;

(ccc) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068767_D52N_E55A.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_D52N_E55A;

(ddd) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068767_E55A_D102V.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E55A_D102V;

(eee) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068767_D102V.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_D102V;

(fff) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068767_E55A.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E55A;

(ggg) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068767_E30D_D52N.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E30D_D52N;

(hhh) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068767_E30D_D102V.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E30D_D102V;

(iii) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068767_E30D.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E30D;

(jjj) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068767_E30D_E55A.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E30D_E55A;

(kkk) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068767_E100fF_D102V.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E100fF_D102V;

(lll) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068767_E55A_E100fF.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E55A_E100fF;

(mmm) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068767_D52N_E100fF.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_D52N_E100fF;

(nnn) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068767_E100fF.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E100fF; или

(ooo) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-068767_E30D_E100fF.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E30D_E100fF.

(ppp) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-061029_F100fE_V102Dand легкая цепь, включающая последовательность аминокислот легкой цепи P1-061029_F100fE_V102D;

(qqq) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-061029_F100fE.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-061029_F100fE;

(rrr) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-061029_V102D.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-061029_V102D;

(sss) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой

цепи P1-061029_Y32E.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-061029_Y32E; или

(ttt) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность тяжелой цепи P1-061029_Y32E_F100fE.IgG1.3, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-061029_Y32E_F100fE;

необязательно, где VH в любом из (a)-(ttt) включает одну или обе из замен K16R и T84A.

Ат против hVISTA может включать:

(a) тяжелую цепь (HC), включающую CDR-области HC P1-061029, и легкую цепь (LC), включающую CDR-области LC P1-061029, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-061029.IgG1.3, соответственно;

(b) HC, включающую CDR-области HC P1-061015, и LC, включающую CDR-области LC P1-061015, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-061015.IgG1.3, соответственно;

(c) HC, включающую CDR-области HC P1-068757, и LC, включающую CDR-области LC P1-068757, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068757.IgG1.3, соответственно;

(d) HC, включающую CDR-области HC P1-068759, и LC, включающую CDR-области LC P1-068759, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068759.IgG1.3, соответственно;

(e) HC, включающую CDR-области HC P1-068761, и LC, включающую CDR-области LC P1-068761, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068761.IgG1.3, соответственно;

(f) HC, включающую CDR-области HC P1-068763, и LC, включающую CDR-области LC P1-068763, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере

на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068763.IgG1.3, соответственно;

(g) HC, включающую CDR-области HC P1-068765, и LC, включающую CDR-области LC P1-068765, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068765.IgG1.3, соответственно;

(h) HC, включающую CDR-области HC P1-068767, и LC, включающую CDR-области LC P1-068767, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068767.IgG1.3, соответственно;

(i) HC, включающую CDR-области HC P1-068769, и LC, включающую CDR-области LC P1-068769, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068769.IgG1.3, соответственно;

(j) HC, включающую CDR-области HC P1-068771, и LC, включающую CDR-области LC P1-068771, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068771.IgG1.3, соответственно;

(k) HC, включающую CDR-области HC P1-068773, и LC, включающую CDR-области LC P1-068773, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068773.IgG1.3, соответственно;

(l) HC, включающую CDR-области HC P1-068775, и LC, включающую CDR-области LC P1-068775, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068775.IgG1.3, соответственно;

(m) HC, включающую CDR-области HC P1-069059, и LC, включающую CDR-области LC P1-069059, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-069059.IgG1.3, соответственно;

(n) HC, включающую CDR-области HC P1-069061, и LC, включающую CDR-области LC P1-069061, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-069061.IgG1.3, соответственно;

(o) HC, включающую CDR-области HC P1-069063, и LC, включающую CDR-области LC P1-069063, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-069063.IgG1.3, соответственно;

(p) HC, включающую CDR-области HC P1-069065, и LC, включающую CDR-области LC P1-069065, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-069065.IgG1.3, соответственно;

(q) HC, включающую CDR-области HC P1-069067, и LC, включающую CDR-области LC P1-069067, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-069067.IgG1.3, соответственно;

(r) HC, включающую CDR-области HC P1-069069, и LC, включающую CDR-области LC P1-069069, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-069069.IgG1.3, соответственно;

(s) HC, включающую CDR-области HC P1-069071, и LC, включающую CDR-области LC P1-069071, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере

на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-069071.IgG1.3, соответственно;

(t) HC, включающую CDR-области HC P1-069073, и LC, включающую CDR-области LC P1-069073, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-069073.IgG1.3, соответственно;

(u) HC, включающую CDR-области HC P1-069075, и LC, включающую CDR-области LC P1-069075, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-069075.IgG1.3, соответственно;

(v) HC, включающую CDR-области HC P1-069077, и LC, включающую CDR-области LC P1-069077, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-069077.IgG1.3, соответственно;

(w) HC, включающую CDR-области HC P1-068736, и LC, включающую CDR-области LC P1-068736, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068736.IgG1.3, соответственно;

(x) HC, включающую CDR-области HC P1-068738, и LC, включающую CDR-области LC P1-068738, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068738.IgG1.3, соответственно;

(y) HC, включающую CDR-области HC P1-068740, и LC, включающую CDR-области LC P1-068740, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068740.IgG1.3, соответственно;

(z) HC, включающую CDR-области HC P1-068742, и LC, включающую CDR-области LC P1-068742, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере

на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068742.IgG1.3, соответственно;

(aa) HC, включающую CDR-области HC P1-068744, и LC, включающую CDR-области LC P1-068744, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068744.IgG1.3, соответственно;

(bb) HC, включающую CDR-области HC P1-068746, и LC, включающую CDR-области LC P1-068746, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068746.IgG1.3, соответственно;

(cc) HC, включающую CDR-области HC P1-068748, и LC, включающую CDR-области LC P1-068748, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068748.IgG1.3, соответственно;

(dd) HC, включающую CDR-области HC P1-068750, и LC, включающую CDR-области LC P1-068750, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068750.IgG1.3, соответственно;

(ee) HC, включающую CDR-области HC P1-068752, и LC, включающую CDR-области LC P1-068752, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068752.IgG1.3, соответственно;

(ff) HC, включающую CDR-области HC P1-068754, и LC, включающую CDR-области LC P1-068754, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068754.IgG1.3, соответственно;

(gg) HC, включающую CDR-области HC P1-068761_E55A.IgG1.3, и LC, включающую CDR-области LC P1-068761_E55A, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068761_E55A.IgG1.3, соответственно;

(hh) HC, включающую CDR-области HC P1-068761_H100G.IgG1.3, и LC, включающую CDR-области LC P1-068761_H100G, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068761_H100G.IgG1.3, соответственно;

(ii) HC, включающую CDR-области HC P1-068761_E56N.IgG1.3, и LC, включающую CDR-области LC P1-068761_E56N, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068761_E56N.IgG1.3, соответственно;

(jj) HC, включающую CDR-области HC P1-068761_E55A_E56N.IgG1.3, и LC, включающую CDR-области LC P1-068761_E55A_E56N, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068761_E55A_E56N.IgG1.3, соответственно;

(kk) HC, включающую CDR-области HC P1-068761_E30D.IgG1.3, и LC, включающую CDR-области LC P1-068761_E30D, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068761_E30D.IgG1.3, соответственно;

(ll) HC, включающую CDR-области HC P1-068761_E30D_E55A.IgG1.3, и LC, включающую CDR-области LC P1-068761_E30D_E55A, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068761_E30D_E55A.IgG1.3, соответственно;

(mm) HC, включающую CDR-области HC P1-068761_E56N_H100G.IgG1.3, и LC, включающую CDR-области LC P1-068761_E56N_H100G, и аминокислотные

последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068761_E56N_H100G.IgG1.3, соответственно;

(nn) HC, включающую CDR-области HC P1-068761_E30D_H100G.IgG1.3, и LC, включающую CDR-области LC P1-068761_E30D_H100G, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068761_E30D_H100G.IgG1.3, соответственно;

(oo) HC, включающую CDR-области HC P1-068761_E30D_E56N.IgG1.3, и LC, включающую CDR-области LC P1-068761_E30D_E56N, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068761_E30D_E56N.IgG1.3, соответственно;

(pp) HC, включающую CDR-области HC P1-068761_E100fF.IgG1.3, и LC, включающую CDR-области LC P1-068761_E100fF, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068761_E100fF.IgG1.3, соответственно;

(qq) HC, включающую CDR-области HC P1-068761_E55A_E100fF.IgG1.3, и LC, включающую CDR-области LC P1-068761_E55A_E100fF, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068761_E55A_E100fF.IgG1.3, соответственно;

(rr) HC, включающую CDR-области HC P1-068761_H100G_E100fF.IgG1.3, и LC, включающую CDR-области LC P1-068761_H100G_E100fF, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068761_H100G_E100fF.IgG1.3, соответственно;

(ss) HC, включающую CDR-области HC P1-068761_E30D_E100fF.IgG1.3, и LC,

включающую CDR-области LC P1-068761_E30D_E100fF, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068761_E30D_E100fF.IgG1.3, соответственно;

(tt) HC, включающую CDR-области HC P1-068761_E56N_E100fF.IgG1.3, и LC, включающую CDR-области LC P1-068761_E56N_E100fF, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068761_E56N_E100fF.IgG1.3, соответственно;

(uu) HC, включающую CDR-области HC P1-068761_E32Y.IgG1.3, и LC, включающую CDR-области LC P1-068761_E32Y, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068761_E32Y.IgG1.3, соответственно;

(vv) HC, включающую CDR-области HC P1-068761_E32Y_E55A.IgG1.3, и LC, включающую CDR-области LC P1-068761_E32Y_E55A, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068761_E32Y_E55A.IgG1.3, соответственно;

(ww) HC, включающую CDR-области HC P1-068761_E32Y_E56N.IgG1.3, и LC, включающую CDR-области LC P1-068761_E32Y_E56N, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068761_E32Y_E56N.IgG1.3, соответственно;

(xx) HC, включающую CDR-области HC P1-068761_E30D_E32Y.IgG1.3, и LC, включающую CDR-области LC P1-068761_E30D_E32Y, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068761_E30D_E32Y.IgG1.3, соответственно;

(yy) HC, включающую CDR-области HC P1-068761_E32Y_H100G.IgG1.3, и LC, включающую CDR-области LC P1-068761_E32Y_H100G, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068761_E32Y_H100G.IgG1.3, соответственно;

(zz) HC, включающую CDR-области HC P1-068761_E32Y_E100fF.IgG1.3, и LC, включающую CDR-области LC P1-068761_E32Y_E100fF, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068761_E32Y_E100fF.IgG1.3, соответственно;

(aaa) HC, включающую CDR-области HC P1-068767_D52N_D102V.IgG1.3, и LC, включающую CDR-области LC P1-068767_D52N_D102V, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068767_D52N_D102V.IgG1.3, соответственно;

(bbb) HC, включающую CDR-области HC P1-068767_D52N.IgG1.3, и LC, включающую CDR-области LC P1-068767_D52N, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068767_D52N.IgG1.3, соответственно;

(ccc) HC, включающую CDR-области HC P1-068767_D52N_E55A.IgG1.3, и LC, включающую CDR-области LC P1-068767_D52N_E55A, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068767_D52N_E55A.IgG1.3, соответственно;

(ddd) HC, включающую CDR-области HC P1-068767_E55A_D102V.IgG1.3, и LC, включающую CDR-области LC P1-068767_E55A_D102V, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068767_E55A_D102V.IgG1.3,

соответственно;

(eee) HC, включающую CDR-области HC P1-068767_D102V.IgG1.3, и LC, включающую CDR-области LC P1-068767_D102V, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068767_D102V.IgG1.3, соответственно;

(fff) HC, включающую CDR-области HC P1-068767_E55A.IgG1.3, и LC, включающую CDR-области LC P1-068767_E55A, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068767_E55A.IgG1.3, соответственно;

(ggg) HC, включающую CDR-области HC P1-068767_E30D_D52N.IgG1.3, и LC, включающую CDR-области LC P1-068767_E30D_D52N, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068767_E30D_D52N.IgG1.3, соответственно;

(hhh) HC, включающую CDR-области HC P1-068767_E30D_D102V.IgG1.3, и LC, включающую CDR-области LC P1-068767_E30D_D102V, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068767_E30D_D102V.IgG1.3, соответственно;

(iii) HC, включающую CDR-области HC P1-068767_E30D.IgG1.3, и LC, включающую CDR-области LC P1-068767_E30D, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068767_E30D.IgG1.3, соответственно;

(jjj) HC, включающую CDR-области HC P1-068767_E30D_E55A.IgG1.3, и LC, включающую CDR-области LC P1-068767_E30D_E55A, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068767_E30D_E55A.IgG1.3, соответственно;

(KKK) HC, включающую CDR-области HC P1-068767_E100fF_D102V.IgG1.3, и LC, включающую CDR-области LC P1-068767_E100fF_D102V, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068767_E100fF_D102V.IgG1.3, соответственно;

(lll) HC, включающую CDR-области HC P1-068767_E55A_E100fF.IgG1.3, и LC, включающую CDR-области LC P1-068767_E55A_E100fF, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068767_E55A_E100fF.IgG1.3, соответственно;

(mmm) HC, включающую CDR-области HC P1-068767_D52N_E100fF.IgG1.3, и LC, включающую CDR-области LC P1-068767_D52N_E100fF, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068767_D52N_E100fF.IgG1.3, соответственно;

(nnn) HC, включающую CDR-области HC P1-068767_E100fF.IgG1.3, и LC, включающую CDR-области LC P1-068767_E100fF, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068767_E100fF.IgG1.3, соответственно;

(ooo) HC, включающую CDR-области HC P1-068767_E30D_E100fF.IgG1.3, и LC, включающую CDR-области LC P1-068767_E30D_E100fF, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-068767_E30D_E100fF.IgG1.3, соответственно;

(ppp) HC, включающую CDR-области HC P1-061029_F100fE_V102D.IgG1.3, и LC, включающую CDR-области LC P1-061029_F100fE_V102D, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-061029_F100fE_V102D.IgG1.3,

соответственно;

(qqq) HC, включающую CDR-области HC P1-061029_F100fE.IgG1.3, и LC, включающую CDR-области LC P1-061029_F100fE, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-061029_F100fE.IgG1.3, соответственно;

(rrr) HC, включающую CDR-области HC P1-061029_V102D.IgG1.3, и LC, включающую CDR-области LC P1-061029_V102D, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-061029_V102D.IgG1.3, соответственно;

(sss) HC, включающую CDR-области HC P1-061029_Y32E.IgG1.3, и LC, включающую CDR-области LC P1-061029_Y32E, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-061029_Y32E.IgG1.3, соответственно; или

(ttt) HC, включающую CDR-области HC P1-061029_Y32E_F100fE.IgG1.3, и LC, включающую CDR-области LC P1-061029_Y32E_F100fE, и аминокислотные последовательности HC и LC, которые по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичны HC и LC P1-061029_Y32E_F100fE.IgG1.3, соответственно.

В некоторых вышеуказанных вариантах осуществления HC и/или LC могут отличаться от последовательности каждого из типов (a)-(ttt) присутствием 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных замен, таких как 1, 2, 3, 4 или 5 консервативных замен. В некоторых вариантах осуществления, например, HC P1-061029 или одного из его дочерних клонов может включать одну или обе из замен K16R и T84A в VH области HC (P1-061015 и его дочерние клоны уже имеют R и A в этих положениях, соответственно).

В некоторых вариантах осуществления Ат против hVISTA может включать:

(a) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-061029.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-061029;

(b) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-061015.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-061015;

(c) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи

P1-068757.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068757;

(d) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068759.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068759;

(e) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068761.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761;

(f) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068763.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068763;

(g) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068765.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068765;

(h) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068767.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767;

(i) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068769.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068769;

(j) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068771.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068771;

(k) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068773.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068773;

(l) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068775.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068775;

(m) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-069059.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-069059;

(n) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-069061.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-069061;

(o) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-069063.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-069063;

(p) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-069065.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности

легкой цепи P1-069065;

(q) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-069067.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-069067;

(r) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-069069.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-069069;

(s) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-069071.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-069071;

(t) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-069073.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-069073;

(u) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-069075.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-069075;

(v) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-069077.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-069077;

(w) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068736, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068736;

(x) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068738.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068738;

(y) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068740.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068740;

(z) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068742.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068742;

(aa) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068744.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068744;

(bb) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи f P1-068746.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068746;

(cc) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068748.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068748;

(dd) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068750.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068750;

(ee) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068752.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068752;

(ff) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068754, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068754;

(gg) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068761_E55A.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E55A;

(hh) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068761_H100G.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_H100G;

(ii) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068761_E56N.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E56N;

(jj) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068761_E55A_E56N.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E55A_E56N;

(kk) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068761_E30D.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E30D;

(ll) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068761_E30D_E55A.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E30D_E55A;

(mm) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068761_E56N_H100G.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E56N_H100G;

(nn) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068761_E30D_H100G.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E30D_H100G;

(oo) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068761_E30D_E56N.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E30D_E56N;

(pp) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068761_E100fF.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E100fF;

(qq) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой

цепи P1-068761_E55A_E100fF.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E55A_E100fF;

(rr) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068761_H100G_E100fF.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_H100G_E100fF;

(ss) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068761_E30D_E100fF.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E30D_E100fF;

(tt) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068761_E56N_E100fF.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E56N_E100fF;

(uu) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068761_E32Y.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E32Y;

(vv) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068761_E32Y_E55A.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E32Y_E55A;

(ww) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068761_E32Y_E56N.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E32Y_E56N;

(xx) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068761_E30D_E32Y.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E30D_E32Y;

(yy) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068761_E32Y_H100G.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E32Y_H100G;

(zz) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068761_E32Y_E100fF.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E32Y_E100fF;

(aaa) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068767_D52N_D102V.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_D52N_D102V;

(bbb) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068767_D52N.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_D52N;

(ccc) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068767_D52N_E55A.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_D52N_E55A;

(ddd) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068767_E55A_D102V.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной

последовательности легкой цепи P1-068767_E55A_D102V;

(eee) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068767_D102V.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_D102V;

(fff) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068767_E55A.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E55A;

(ggg) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068767_E30D_D52N.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E30D_D52N;

(hhh) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068767_E30D_D102V.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E30D_D102V;

(iii) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068767_E30D.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E30D;

(jjj) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068767_E30D_E55A.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E30D_E55A;

(kkk) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068767_E100fF_D102V.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E100fF_D102V;

(lll) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068767_E55A_E100fF.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E55A_E100fF;

(mmm) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068767_D52N_E100fF.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_D52N_E100fF;

(nnn) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068767_E100fF.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E100fF;

(ooo) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-068767_E30D_E100fF.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E30D_E100fF;

(ppp) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-061029_F100fE_V102D.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-061029_F100fE_V102D;

(qqq) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-061029_F100fE.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-061029_F100fE;

(rrr) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-061029_V102D.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-061029_V102D;

(sss) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-061029_Y32E.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-061029_Y32E; или

(ttt) тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности тяжелой цепи P1-061029_Y32E_F100fE.IgG1.3, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-061029_Y32E_F100fE,

где, необязательно, VH в любом из (a)-(ttt) включает одну или обе из замен K16R и T84A.

В некоторых вариантах осуществления изобретения предусмотрены мАт против VISTA, включающие:

тяжелую цепь, состоящую из аминокислотных последовательностей тяжелой цепи (a)-(ttt), указанных выше, после которых следует остаток Lys; и

легкую цепь, состоящую из аминокислотных последовательностей легкой цепи (a)-(ttt), указанных выше;

где аминокислотные последовательности тяжелой цепи и легкой цепи выбраны из тех же типов антител из (a)-(ttt), указанных выше.

В некоторых вариантах осуществления Ат против hVISTA может включать аминокислотную последовательность тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность VH типов антител в настоящем документе, но скорее, чем константную область тяжелой цепи IgG1.3, представленную в последовательностях HC в Таблице последовательностей в настоящем документе (и см. SEQ ID NO: 163), антитело может включать другую последовательность константной области тяжелой цепи, такую как человеческая константная область IgG1 дикого типа, такую как IgG1 человека аллотипа f (IgG1f) (SEQ ID NO: 182), или модифицированную константная область IgG1 человека, такую как IgG1.1f (SEQ ID NO: 183), или модифицированную константная область IgG1 человека, такую как IgG1.P238K (SEQ ID NO: 184). Таким образом, варианты осуществления настоящего изобретения включают Ат против VISTA, включающие:

(a) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-061029 (SEQ ID NO: 67) и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-061029 (SEQ ID NO: 70);

(b) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-061015 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-061015;

(c) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068757 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068757;

(d) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068759 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068759;

(e) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761;

(f) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068763 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068763;

(g) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068765 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068765;

(h) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767;

(i) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068769 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068769;

(j) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068771 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068771;

(k) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068773 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068773;

(l) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068775 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068775;

(m) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-069059 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-069059;

(n) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-069061 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-069061;

(o) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-069063 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-069063;

(p) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-069065 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-069065;

(q) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-

069067 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-069067;

(r) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-069069 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-069069;

(s) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-069071 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-069071;

(t) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-069073 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-069073;

(u) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-069075 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-069075;

(v) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-069077 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-069077;

(w) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068736 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068736;

(x) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068738 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068738;

(y) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068740 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068740;

(z) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068742 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068742;

(aa) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068744 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068744;

(bb) тяжелая цепь, включающая последовательность аминокислот VHof P1-068746 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068746;

(cc) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068748 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068748;

(dd) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068750 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь,

включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068750;

(ee) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068752 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068752;

(ff) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068754 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068754;

(gg) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E55A и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E55A;

(hh) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_H100G и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_H100G;

(ii) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E56N и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E56N;

(jj) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E55A_E56N и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E55A_E56N;

(kk) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E30D и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E30D;

(ll) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E30D_E55A и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E30D_E55A;

(mm) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E56N_H100G и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E56N_H100G;

(nn) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E30D_H100G и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E30D_H100G;

(oo) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E30D_E56N и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E30D_E56N;

(pp) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-

068761_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E100fF;

(qq) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E55A_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E55A_E100fF;

(RR) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_H100G_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_H100G_E100fF;

(ss) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E30D_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E30D_E100fF;

(tt) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E56N_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E56N_E100fF;

(uu) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E32Y и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E32Y;

(vv) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E32Y_E55A и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E32Y_E55A;

(ww) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E32Y_E56N и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E32Y_E56N;

(xx) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E30D_E32Y и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E30D_E32Y;

(yy) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E32Y_H100G и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E32Y_H100G;

(zz) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E32Y_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-

068761_E32Y_E100fF;

(aaa) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_D52N_D102V и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_D52N_D102V;

(bbb) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_D52N и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_D52N;

(ccc) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_D52N_E55A и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_D52N_E55A;

(ddd) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E55A_D102V и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E55A_D102V;

(eee) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_D102V и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_D102V;

(fff) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E55A и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E55A;

(ggg) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E30D_D52N и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E30D_D52N;

(hhh) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E30D_D102V и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E30D_D102V;

(iii) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E30D и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E30D;

(jjj) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E30D_E55A и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E30D_E55A;

(kkk) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E100fF_D102V и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-

068767_E100fF_D102V;

(lll) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E55A_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E55A_E100fF;

(mmm) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_D52N_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_D52N_E100fF;

(nnn) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E100fF;

(ooo) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E30D_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E30D_E100fF;

(ppp) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-061029_F100fE_V102D и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-061029_F100fE_V102D;

(qqq) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-061029_F100fE и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-061029_F100fE;

(rrr) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-061029_V102D и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-061029_V102D;

(sss) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-061029_Y32E и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-061029_Y32E; или

(ttt) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-061029_Y32E_F100fE и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-061029_Y32E_F100fE,

необязательно, где VH в любом из (a)-(ttt) включает одну или обе из замен K16R и T84A.

В некоторых вариантах осуществления LC может быть такой, как определено в (a)-(ttt) выше, а HC может отличаться от последовательности каждого из типов антител (a)-(ttt) присутствием 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных замен, таких как 1, 2, 3, 4 или 5 консервативных замен. В некоторых вариантах осуществления, например, HC P1-061029 или одного из его дочерних клонов может включать одну или обе из замен K16R и T84A в

VH области HC (P1-061015 и его дочерние клоны уже имеют R в положении 16 VH и A в положении 84 VH).

Некоторые варианты осуществления настоящего изобретения включают Ат против VISTA, включающие:

(a) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-061029 (SEQ ID NO: 67) и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-061029 (SEQ ID NO: 70);

(b) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-061015 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-061015;

(c) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068757 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068757;

(d) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068759 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068759;

(e) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761;

(f) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068763 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068763;

(g) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068765 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068765;

(h) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767;

(i) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068769 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068769;

(j) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068771 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068771;

(k) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068773 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068773;

(l) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068775 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь,

состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068775;

(m) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-069059 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-069059;

(n) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-069061 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-069061;

(o) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-069063 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-069063;

(p) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-069065 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-069065;

(q) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-069067 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-069067;

(r) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-069069 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-069069;

(s) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-069071 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-069071;

(t) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-069073 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-069073;

(u) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-069075 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-069075;

(v) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-069077 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-069077;

(w) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068736 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068736;

(x) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068738 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068738;

(y) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068740 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068740;

(z) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068742 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068742;

(aa) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068744 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068744;

(bb) тяжелая цепь, состоящая из аминокислотной последовательности VH P1-068746 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068746;

(cc) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068748 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068748;

(dd) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068750 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068750;

(ee) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068752 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068752;

(ff) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068754 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068754;

(gg) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E55A и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E55A;

(hh) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_H100G и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_H100G;

(ii) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E56N и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E56N;

(jj) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E55A_E56N и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E55A_E56N;

(kk) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E30D и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E30D;

(ll) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E30D_E55A и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-

068761_E30D_E55A;

(mm) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E56N_H100G и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E56N_H100G;

(nn) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E30D_H100G и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E30D_H100G;

(oo) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E30D_E56N и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E30D_E56N;

(pp) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E100fF;

(qq) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E55A_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E55A_E100fF;

(rr) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_H100G_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_H100G_E100fF;

(ss) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E30D_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E30D_E100fF;

(tt) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E56N_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E56N_E100fF;

(uu) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E32Y и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E32Y;

(vv) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E32Y_E55A и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E32Y_E55A;

(ww) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-

068761_E32Y_E56N и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E32Y_E56N;

(xx) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E30D_E32Y и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E30D_E32Y;

(yy) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E32Y_H100G и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E32Y_H100G;

(zz) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E32Y_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E32Y_E100fF;

(aaa) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_D52N_D102V и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_D52N_D102V;

(bbb) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_D52N и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_D52N;

(ccc) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_D52N_E55A и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_D52N_E55A;

(ddd) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E55A_D102V и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E55A_D102V;

(eee) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_D102V и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_D102V;

(fff) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E55A и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E55A;

(ggg) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E30D_D52N и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E30D_D52N;

(hhh) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E30D_D102V и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E30D_D102V;

(iii) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E30D и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E30D;

(jjj) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E30D_E55A и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E30D_E55A;

(KKK) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E100fF_D102V и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E100fF_D102V;

(lll) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E55A_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E55A_E100fF;

(mmm) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_D52N_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_D52N_E100fF;

(nnn) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E100fF;

(ooo) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E30D_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E30D_E100fF;

(ppp) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-061029_F100fE_V102D и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-061029_F100fE_V102D;

(qqq) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-061029_F100fE и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-061029_F100fE;

(rrr) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-061029_V102D и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-061029_V102D;

(sss) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-061029_Y32E и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-061029_Y32E; или

(ttt) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-061029_Y32E_F100fE и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 182, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-061029_Y32E_F100fE.,

где C-концевая аминокислота VH и N-концевая аминокислота SEQ ID NO: 182 образуют пептидную связь; и

необязательно, где VH в любом из (a)-(ttt) включает одну или обе из замен K16R и T84A.

В некоторых вариантах осуществления изобретения предусмотрено мАт против VISTA, включающие:

тяжелую цепь, состоящую из аминокислотных последовательностей: (i) VH (a)-(ttt), указанных выше, (ii) SEQ ID NO: 182, и (iii) остатка Lys, где C-концевая аминокислота VH и N-концевая аминокислота SEQ ID NO: 182 образуют пептидную связь, и где C-концевая аминокислота SEQ ID NO: 182 соединена с N-концевым Lys; и

легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи (a)-(ttt), указанной выше;

где аминокислотные последовательности VH и легкой цепи выбраны из тех же типов антитела из (a)-(ttt), указанных выше.

Некоторые варианты осуществления настоящего изобретения включают Ат против VISTA, включающие:

(a) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-061029 (SEQ ID NO: 67) и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-061029 (SEQ ID NO: 70);

(b) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-061015 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-061015;

(c) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068757 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068757;

(d) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068759 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068759;

(e) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761;

(f) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-

068763 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068763;

(g) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068765 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068765;

(h) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767;

(i) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068769 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068769;

(j) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068771 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068771;

(k) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068773 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068773;

(l) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068775 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068775;

(m) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-069059 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-069059;

(n) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-069061 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-069061;

(o) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-069063 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-069063;

(p) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-069065 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-069065;

(q) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-069067 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-069067;

(r) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-069069 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-069069;

(s) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-069071 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь,

включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-069071;

(t) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-069073 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-069073;

(u) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-069075 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-069075;

(v) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-069077 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-069077;

(w) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068736 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068736;

(x) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068738 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068738;

(y) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068740 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068740;

(z) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068742 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068742;

(aa) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068744 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068744;

(bb) тяжелая цепь, включающая последовательность аминокислот VHof P1-068746 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068746;

(cc) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068748 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068748;

(dd) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068750 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068750;

(ee) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068752 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068752;

(ff) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068754 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068754;

(gg) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E55A и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E55A;

(hh) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_H100G и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_H100G;

(ii) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E56N и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E56N;

(jj) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E55A_E56N и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E55A_E56N;

(kk) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E30D и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E30D;

(ll) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E30D_E55A и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E30D_E55A;

(mm) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E56N_H100G и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E56N_H100G;

(nn) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E30D_H100G и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E30D_H100G;

(oo) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E30D_E56N и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E30D_E56N;

(pp) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E100fF;

(qq) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E55A_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E55A_E100fF;

(rr) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-

068761_H100G_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_H100G_E100fF;

(ss) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E30D_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E30D_E100fF;

(tt) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E56N_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E56N_E100fF;

(uu) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E32Y и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E32Y;

(vv) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E32Y_E55A и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E32Y_E55A;

(ww) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E32Y_E56N и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E32Y_E56N;

(xx) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E30D_E32Y и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E30D_E32Y;

(yy) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E32Y_H100G и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E32Y_H100G;

(zz) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E32Y_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E32Y_E100fF;

(aaa) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_D52N_D102V и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_D52N_D102V;

(bbb) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_D52N и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь,

включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_D52N;

(ccc) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_D52N_E55A и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_D52N_E55A;

(ddd) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E55A_D102V и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E55A_D102V;

(eee) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_D102V и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_D102V;

(fff) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E55A и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E55A;

(ggg) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E30D_D52N и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E30D_D52N;

(hhh) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E30D_D102V и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E30D_D102V;

(iii) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E30D и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E30D;

(jjj) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E30D_E55A и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E30D_E55A;

(kkk) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E100fF_D102V и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E100fF_D102V;

(lll) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E55A_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E55A_E100fF;

(mmm) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_D52N_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и

легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_D52N_E100fF;

(nnn) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E100fF;

(ooo) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E30D_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E30D_E100fF;

(ppp) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-061029_F100fE_V102D и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-061029_F100fE_V102D;

(qqq) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-061029_F100fE и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-061029_F100fE;

(rrr) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-061029_V102D и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-061029_V102D;

(sss) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-061029_Y32E и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-061029_Y32E; или

(ttt) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-061029_Y32E_F100fE и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-061029_Y32E_F100fE;

необязательно, где VH в любом из (a)-(ttt) включает одну или обе из замен K16R и T84A.

Некоторые варианты осуществления настоящего изобретения включают Ат против VISTA, включающие:

(a) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-061029 (SEQ ID NO: 67) и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-061029 (SEQ ID NO: 70);

(b) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-061015 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-061015;

(c) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068757 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068757;

(d) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068759 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068759;

(e) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761;

(f) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068763 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068763;

(g) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068765 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068765;

(h) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767;

(i) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068769 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068769;

(j) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068771 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068771;

(k) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068773 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068773;

(l) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068775 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068775;

(m) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-069059 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-069059;

(n) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-069061 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-069061;

(o) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-069063 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-069063;

(p) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-069065 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-069065;

(q) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-

069067 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-069067;

(r) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-069069 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-069069;

(s) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-069071 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-069071;

(t) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-069073 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-069073;

(u) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-069075 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-069075;

(v) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-069077 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-069077;

(w) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068736 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068736;

(x) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068738 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068738;

(y) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068740 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068740;

(z) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068742 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068742;

(aa) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068744 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068744;

(bb) тяжелая цепь, состоящая из последовательности аминокислот VHof P1-068746 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068746;

(cc) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068748 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068748;

(dd) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068750 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь,

состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068750;

(ee) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068752 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068752;

(ff) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068754 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068754;

(gg) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E55A и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E55A;

(hh) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_H100G и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_H100G;

(ii) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E56N и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E56N;

(jj) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E55A_E56N и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E55A_E56N;

(kk) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E30D и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E30D;

(ll) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E30D_E55A и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E30D_E55A;

(mm) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E56N_H100G и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E56N_H100G;

(nn) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E30D_H100G и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E30D_H100G;

(oo) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E30D_E56N и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E30D_E56N;

(pp) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-

068761_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E100fF;

(qq) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E55A_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E55A_E100fF;

(rr) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_H100G_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_H100G_E100fF;

(ss) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E30D_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E30D_E100fF;

(tt) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E56N_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E56N_E100fF;

(uu) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E32Y и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E32Y;

(vv) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E32Y_E55A и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E32Y_E55A;

(ww) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E32Y_E56N и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E32Y_E56N;

(xx) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E30D_E32Y и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E30D_E32Y;

(yy) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E32Y_H100G и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E32Y_H100G;

(zz) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E32Y_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-

068761_E32Y_E100fF;

(aaa) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_D52N_D102V и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_D52N_D102V;

(bbb) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_D52N и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_D52N;

(ccc) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_D52N_E55A и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_D52N_E55A;

(ddd) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E55A_D102V и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E55A_D102V;

(eee) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_D102V и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_D102V;

(fff) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E55A и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E55A;

(ggg) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E30D_D52N и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E30D_D52N;

(hhh) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E30D_D102V и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E30D_D102V;

(iii) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E30D и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E30D;

(jjj) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E30D_E55A и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E30D_E55A;

(kkk) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E100fF_D102V и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-

068767_E100fF_D102V;

(lll) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E55A_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E55A_E100fF;

(mmm) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_D52N_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_D52N_E100fF;

(nnn) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E100fF;

(ooo) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E30D_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E30D_E100fF;

(ppp) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-061029_F100fE_V102D и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-061029_F100fE_V102D;

(qqq) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-061029_F100fE и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-061029_F100fE;

(rrr) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-061029_V102D и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-061029_V102D;

(sss) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-061029_Y32E и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-061029_Y32E; или

(ttt) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-061029_Y32E_F100fE и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 183, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-061029_Y32E_F100fE.

где C-концевая аминокислота VH и N-концевая аминокислота SEQ ID NO: 183 образуют пептидную связь; и

необязательно, где VH в любом из (a)-(ttt) включает одну или обе из замен K16R и T84A.

В некоторых вариантах осуществления изобретения предусмотрены мАт против VISTA, включающие:

тяжелую цепь, состоящую из аминокислотных последовательностей: (i) VH (a)-(ttt),

перечисленных выше, (ii) SEQ ID NO: 183, и (iii) остатка Lys, где C-концевая аминокислота VH и N-концевая аминокислота SEQ ID NO: 183 образуют пептидную связь, и где C-концевая аминокислота SEQ ID NO: 183 соединена с N-концевым Lys; и

легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи из (a)-(ttt), перечисленных выше;

где аминокислотные последовательности VH и легкой цепи выбраны из тех же типов антител из (a)-(ttt), перечисленных выше.

Другие варианты осуществления настоящего изобретения включают Ат против VISTA, включающие:

(a) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-061029 (SEQ ID NO: 67) и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-061029 (SEQ ID NO: 70);

(b) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-061015 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-061015;

(c) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068757 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068757;

(d) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068759 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068759;

(e) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761;

(f) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068763 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068763;

(g) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068765 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068765;

(h) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767;

(i) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068769 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068769;

(j) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068771 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068771;

(k) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068773 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068773;

(l) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068775 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068775;

(m) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-069059 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-069059;

(n) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-069061 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-069061;

(o) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-069063 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-069063;

(p) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-069065 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-069065;

(q) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-069067 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-069067;

(r) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-069069 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-069069;

(s) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-069071 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-069071;

(t) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-069073 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-069073;

(u) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-069075 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-069075;

(v) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-069077 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-069077;

(w) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068736 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068736;

(x) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-

068738 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068738;

(y) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068740 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068740;

(z) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068742 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068742;

(aa) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068744 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068744;

(bb) тяжелая цепь, включающая последовательность аминокислот VH P1-068746 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068746;

(cc) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068748 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068748;

(dd) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068750 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068750;

(ee) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068752 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068752;

(ff) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068754 и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068754;

(gg) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E55A и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E55A;

(hh) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_H100G и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_H100G;

(ii) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E56N и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E56N;

(jj) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E55A_E56N и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E55A_E56N;

(kk) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-

068761_E30D и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E30D;

(ll) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E30D_E55A и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E30D_E55A;

(mm) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E56N_H100G и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E56N_H100G;

(nn) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E30D_H100G и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E30D_H100G;

(oo) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E30D_E56N и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E30D_E56N;

(pp) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E100fF;

(qq) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E55A_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E55A_E100fF;

(rr) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_H100G_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_H100G_E100fF;

(ss) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E30D_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E30D_E100fF;

(tt) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E56N_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E56N_E100fF;

(uu) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E32Y и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E32Y;

(vv) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E32Y_E55A и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E32Y_E55A;

(ww) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E32Y_E56N и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E32Y_E56N;

(xx) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E30D_E32Y и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E30D_E32Y;

(yy) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E32Y_H100G и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E32Y_H100G;

(zz) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068761_E32Y_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068761_E32Y_E100fF;

(aaa) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_D52N_D102V и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_D52N_D102V;

(bbb) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_D52N и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_D52N;

(ccc) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_D52N_E55A и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_D52N_E55A;

(ddd) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E55A_D102V и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E55A_D102V;

(eee) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_D102V и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_D102V;

(fff) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E55A и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь,

включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E55A;

(ggg) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E30D_D52N и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E30D_D52N;

(hhh) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E30D_D102V и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E30D_D102V;

(iii) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E30D и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E30D;

(jjj) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E30D_E55A и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E30D_E55A;

(kkk) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E100fF_D102V и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E100fF_D102V;

(lll) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E55A_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E55A_E100fF;

(mmm) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_D52N_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_D52N_E100fF;

(nnn) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E100fF;

(ooo) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-068767_E30D_E100fF и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-068767_E30D_E100fF;

(ppp) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-061029_F100fE_V102D и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-061029_F100fE_V102D;

(qqq) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-

061029_F100fE и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-061029_F100fE;

(rrr) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-061029_V102D и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-061029_V102D;

(sss) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-061029_Y32E и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-061029_Y32E; или

(ttt) тяжелую цепь, включающую: (i) аминокислотную последовательность VH P1-061029_Y32E_F100fE и (ii) аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность легкой цепи P1-061029_Y32E_F100fE; и

необязательно, где VH в любом из (a)-(ttt) включает одну или обе из замен K16R и T84A.

Другие варианты осуществления настоящего изобретения включают Ат против VISTA, включающие:

(a) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-061029 (SEQ ID NO: 67) и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-061029 (SEQ ID NO: 70);

(b) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-061015 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-061015;

(c) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068757 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068757;

(d) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068759 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068759;

(e) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761;

(f) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068763 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068763;

(g) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068765 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068765;

(h) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь,

состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767;

(i) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068769 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068769;

(j) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068771 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068771;

(k) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068773 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068773;

(l) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068775 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068775;

(m) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-069059 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-069059;

(n) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-069061 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-069061;

(o) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-069063 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-069063;

(p) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-069065 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-069065;

(q) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-069067 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-069067;

(r) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-069069 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-069069;

(s) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-069071 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-069071;

(t) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-069073 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-069073;

(u) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-069075 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-069075;

(v) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-069077 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-069077;

(w) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068736 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068736;

(x) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068738 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068738;

(y) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068740 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068740;

(z) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068742 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068742;

(aa) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068744 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068744;

(bb) тяжелая цепь, состоящая из последовательности аминокислот VHof P1-068746 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068746;

(cc) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068748 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068748;

(dd) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068750 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068750;

(ee) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068752 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068752;

(ff) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068754 и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068754;

(gg) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E55A и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E55A;

(hh) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_H100G и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_H100G;

(ii) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-

068761_E56N и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E56N;

(jj) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E55A_E56N и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E55A_E56N;

(kk) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E30D и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E30D;

(ll) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E30D_E55A и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E30D_E55A;

(mm) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E56N_H100G и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E56N_H100G;

(nn) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E30D_H100G и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E30D_H100G;

(oo) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E30D_E56N и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E30D_E56N;

(pp) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E100fF;

(qq) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E55A_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E55A_E100fF;

(rr) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_H100G_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_H100G_E100fF;

(ss) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E30D_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E30D_E100fF;

(tt) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E56N_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E56N_E100fF;

(uu) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E32Y и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E32Y;

(vv) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E32Y_E55A и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E32Y_E55A;

(ww) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E32Y_E56N и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E32Y_E56N;

(xx) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E30D_E32Y и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E30D_E32Y;

(yy) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E32Y_H100G и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E32Y_H100G;

(zz) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068761_E32Y_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068761_E32Y_E100fF;

(aaa) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_D52N_D102V и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_D52N_D102V;

(bbb) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_D52N и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_D52N;

(ccc) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_D52N_E55A и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_D52N_E55A;

(ddd) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E55A_D102V и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую

цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E55A_D102V;

(eee) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_D102V и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_D102V;

(fff) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E55A и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E55A;

(ggg) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E30D_D52N и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E30D_D52N;

(hhh) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E30D_D102V и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E30D_D102V;

(iii) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E30D и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E30D;

(jjj) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E30D_E55A и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E30D_E55A;

(kkk) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E100fF_D102V и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E100fF_D102V;

(lll) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E55A_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E55A_E100fF;

(mmm) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_D52N_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_D52N_E100fF;

(nnn) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E100fF;

(ooo) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-068767_E30D_E100fF и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую

цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-068767_E30D_E100fF;

(ppp) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-061029_F100fE_V102D и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-061029_F100fE_V102D;

(qqq) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-061029_F100fE и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-061029_F100fE;

(rrr) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-061029_V102D и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-061029_V102D;

(sss) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-061029_Y32E и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-061029_Y32E; или

(ttt) тяжелую цепь, состоящую из: (i) аминокислотной последовательности VH P1-061029_Y32E_F100fE и (ii) аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 184, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи P1-061029_Y32E_F100fE.

где C-концевая аминокислота VH и N-концевая аминокислота SEQ ID NO: 184 образуют пептидную связь; и

необязательно, где VH в любом из (a)-(ttt) включает одну или обе из замен K16R и T84A.

В некоторых вариантах осуществления изобретения предусмотрены мАт против VISTA, включающие:

тяжелую цепь, состоящую из аминокислотных последовательностей: (i) VH (a)-(ttt), перечисленных выше, (ii) SEQ ID NO: 184, и (iii) остатка Lys, где C-концевая аминокислота VH и N-концевая аминокислота SEQ ID NO: 184 образуют пептидную связь, и где C-концевая аминокислота SEQ ID NO: 184 соединена с N-концевым Lys; и

легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности легкой цепи из (a)-(ttt), перечисленных выше;

где аминокислотные последовательности VH и легкой цепи выбраны из тех же типов антител из (a)-(ttt), перечисленных выше.

В некоторых вариантах осуществления Ат против hVISTA может включать аминокислотную последовательность VH, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична аминокислотной последовательности VH P1-061029, где антитело включает CDR1, CDR2 и/или CDR3 VH P1-061029, в которых по меньшей мере один остаток заменен на D, E или H. В некоторых вариантах

осуществления каждая CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-061029 содержит один, два или три остатка, замененные D, E или H. В некоторых вариантах осуществления Ат против hVISTA может включать аминокислотную последовательность VH, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична аминокислотной последовательности VH P1-061029, где антитело включает CDR1 VH, включающую один или два остатка D или E в аминокислотных положениях 4, 5 или 7 CDR1, и/или включает CDR2 VH с одним, двумя или тремя остатками D, E или H в положениях 3, 5, 6 или 7 CDR2, и/или CDR3 VH с одним, двумя или тремя остатками D, E или H в положениях 6, 12 или 14 CDR 3 (см. Таблицу 5 ниже по поводу примеров антител, включенных в рамки этих вариантов осуществления). В таких случаях вариабельная область легкой цепи может включать CDR1, CDR2 и/или CDR3 P1-061029 или P1-061015 или их дочерних клонов, таких как P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E, или P1-061029_Y32E_F100fE, и/или вариабельная область легкой цепи может быть по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична вариабельной области легкой цепи P1-061029 или P1-061015 или их дочерних клонов, таких как P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-

068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E или P1-061029_Y32E_F100fE.

В некоторых вариантах осуществления Ат против hVISTA может включать аминокислотную последовательность VH, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична аминокислотной последовательности VH P1-061015, где антитело включает CDR1, CDR2 и/или CDR3 VH P1-061015, в которых по меньшей мере один остаток заменен D, E или H. В некоторых вариантах осуществления каждая CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-061015 содержит один, два или три остатка, которые заменены D, E или H. В некоторых вариантах осуществления Ат против hVISTA может включать аминокислотную последовательность VH, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична аминокислотной последовательности VH P1-061015, где антитело включает CDR1 VH, включающую один или два остатка D, E или H в аминокислотных положениях 6, 7, 8 и 9 CDR1, и/или включает CDR2 VH с одним, двумя или тремя остатками D, E или H в положениях 1, 2, 4 или 8-11 CDR2, и/или CDR3 VH с одним, двумя или тремя остатками D, E или H в положениях 2, 3, 6, 7 или 12 CDR 3 (см. Таблицу 6 ниже по поводу примеров антител, включенных в рамки этих вариантов осуществления). В таких случаях вариабельная область легкой цепи может включать CDR1, CDR2 и/или CDR3 P1-061029 или P1-061015 или их дочерних клонов, таких как P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-

068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E, или P1-061029_Y32E_F100fE, и/или вариабельная область легкой цепи может быть по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична вариабельной области легкой цепи P1-061029 или P1-061015 или их дочерних клонов, таких как P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068766, P1-068748, P1-068750, P1-068752 P1-068754, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E или P1-061029_Y32E_F100fE.

В некоторых вариантах осуществления такие модифицированные дочерние клоны P1-061029 или P1-061015 против hVISTA обладают одной или более следующими характеристиками:

- специфично связываются с hVISTA, например, богатой гистидинами областью ECD или полипептидом, включающим аминокислотные остатки 35-127 SEQ ID NO: 2, при кислотном pH, например, pH 6,0 или pH 6,5;

- не демонстрируют значимого связывания с hVISTA, например, богатой гистидинами областью ECD или полипептидом, включающим аминокислотные остатки 35-127 SEQ ID NO: 2, при физиологическом pH или нейтральном pH, например, pH 7,4 или pH 7,0;

- специфично связываются с VISTA циномолгуса, например, богатой гистидинами областью ECD, при кислотном pH, например, pH 6,0 или pH 6,5;

- не демонстрируют значимого связывания с VISTA циномолгуса, например, богатой гистидинами областью ECD, при физиологическом pH или нейтральном pH, например, pH 7,4 или pH 7,0;

- демонстрируют сниженное связывание с hVISTA-ECD, имеющим замену одной или более следующих аминокислот: T35, Y37, K38, T39, Y41, R54, T61, F62, Q63, L65, H66, L67, H68, H69, F97, L115, V117, I119, H121, H122, S124, E125, R127 по сравнению с hVISTA ECD, имеющим SEQ ID NO: 2;

- перекрестно конкурируют за связывание hVISTA с P1-061029, P1-068761, P1-068767 и/или P1-061015;

- ингибируют связывание hVISTA с человеческими Т-клетками, экспрессирующими VISTA (например, наивными или активированными Т-клетками) при кислотном pH, например, pH 6,0 или pH 6,5;

- ингибируют связывание hVISTA с PSGL-1 при кислотном pH, например, pH 6,0 или pH 6,5 (например, ингибируют взаимодействие между H153 и H154 hVISTA, имеющим SEQ ID NO: 1, и тирозинами PSGL-1 Y46 и Y48), где PSGL-1 имеет или не имеет сиалил-Льюис X, и где тирозины предпочтительно являются сульфотирозинами;

- среднее время удерживания (MRT) по меньшей мере 100, 200, 300, 350, 400, 450, 500, 600 или 700 часов (например, по меньшей мере 350 часов) у яванских макаков, измеренное, например, как описано в Примерах;

- стимулируют активацию Т-клеток, например, путем повышения пролиферации Т-клеток; повышения IFN-γ продукции из Т-клеток; и/или стимулируют опосредованную Т-клеточным рецептором сигнализацию NF-kB;

- ингибируют опосредованную VISTA адгезию клетка:клетка;

- специфично связываются с hVISTA в образцах человеческих опухолевых клеток или образцах воспаленной человеческой ткани, которая экспрессирует VISTA;

- контактируют с hVISTA через один или более (например, по меньшей мере 1-3, 1-5, 1-10, 5-10, 5-15 или все) энергетически важные контактные остатки Y37, T39, R54, F62, H66, V117, I119 или S124, как определено, например, с помощью поверхностного дрожжевого дисплея и анализа NGS, описанного в Примере 15; и где нумерация соответствует нумерации зрелого hVISTA;

- связываются с Областью 1: $_{57}$LGPVDKGHDVTF$_{68}$ (SEQ ID NO: 566); Областью 2: $_{86}$RRPIRNLTFQDL$_{97}$ (SEQ ID NO: 567); и Областью 3: $_{148}$VVEIRHHHSEHRVHGAME$_{165}$ (SEQ ID NO: 568) hVISTA, имеющего SEQ ID NO: 1, и, необязательно, где связывание является наиболее сильным в Области 2, как определено с помощью MS-HDX, как описано в Примере 21;

- связываются с богатым гистидинами удлинением β-слоя hVISTA, как определено, например, с помощью кристаллографии, описанной, например, в Примерах;

- контактируют с H121, H122 и/или H123 зрелого hVISTA (расстояние 4,0 ангстрема (Å) или меньше), например, через водородные связи, как определено, например, с помощью кристаллографии, описанной, например, в Примерах;

- контактируют с hVISTA по меньшей мере через один или более остатков глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты или гистидина, расположенных в CDR1, CDR2 или CDR3 VH; и

и любой дополнительной характеристикой, представленной в формуле изобретения и/или в Примерах.

Примерные константные области антител

В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в настоящем документе, включает одну или несколько константных областей человека. В некоторых вариантах осуществления константная область тяжелой цепи человека имеет изотип, выбранный из IgA, IgG и IgD. В некоторых вариантах осуществления константная область легкой цепи человека имеет изотип, выбранный из κ и λ. В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в настоящем документе, включает константную область IgG человека, такую как IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в настоящем документе, включает константную область тяжелой цепи IgG4 человека. В некоторых таких вариантах осуществления антитело, описанное в настоящем документе, включает мутацию S241P в константной области IgG4 человека. В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в настоящем документе, включает константную область IgG4 человека и легкую цепь κ человека.

Выбор константной области тяжелой цепи может определять, будет ли антитело обладать эффекторной функцией *in vivo*. Такая эффекторная функция в некоторых вариантах осуществления включает антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность (ADCC) и/или комплементзависимую цитотоксичность (CDC) и может приводить к уничтожению клетки, с которой связывается антитело. В некоторых способах лечения, включающих способы лечения некоторых форм рака, может быть желательным уничтожение клеток, например, когда антитело связывается с клеткой, которая обеспечивает поддержание или рост опухоли. Примеры клеток, которые могут обеспечивать поддержание или рост опухоли, включают в себя, помимо прочего, сами опухолевые клетки, клетки, которые способствуют привлечению сосудистой сети к опухоли, и клетки, которые предоставляют лиганды, факторы роста или контррецепторы, которые обеспечивают или способствуют росту опухоли или выживанию опухоли. В некоторых вариантах осуществления, когда требуется эффекторная функция, выбирают антитело, содержащее тяжелую цепь IgG1 человека или тяжелую цепь IgG3 человека.

В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в настоящем документе, изменено с целью увеличения или уменьшения степени, в которой антитело гликозилировано. Добавление или удаление сайтов гликозилирования в антителе может быть удобно достигнуто путем изменения аминокислотной последовательности таким образом, чтобы один или более сайтов гликозилирования были созданы или удалены.

Когда антитело включает Fc-область, углевод, присоединяемый к ней, может быть изменен. Нативные антитела, продуцируемые клетками млекопитающих, обычно содержат разветвленный двухантенарный олигосахарид, который обычно присоединен N-связью к Asn297 CH2 домена Fc-области. См., например, Wright et al. TIBTECH 15:26-32 (1997). Олигосахарид может включать различные углеводы, например, маннозу, N-ацетилглюкозамин (GlcNAc), галактозу и сиаловую кислоту, а также фукозу,

присоединенную к GlcNAc в "стебле" двухантенарной структуры олигосахарида. В некоторых вариантах осуществления в антителе согласно изобретению могут быть сделаны модификации олигосахарида с целью создания антител с некоторыми улучшенными свойствами. Например, в некоторых вариантах осуществления антитело может быть афукозилировано, например, путем мутации остатков, таких как Asn297, которые обычно гликозилированы фукозосодержащим гликозилированием, или другими способами. В некоторых вариантах осуществления антитела в настоящем документе могут включать афукозилированную константную область IgG1 человека.

Антитела дополнительно снабжают разделенными пополам олигосахаридами, например, в которых двухантенарный олигосахарид, присоединенный к Fc-области антитела, разделен пополам GlcNAc. Такие антитела могут иметь сниженное фукозилирование и/или улучшенную функцию ADCC. Примеры таких антител описаны, например, в WO 2003/011878 (Jean-Mairet et al.); патенте США 6,602,684 (Umana et al.); и US 2005/0123546 (Umana et al.). Также предусмотрены антитела по меньшей мере с одним остатком галактозы в олигосахариде, присоединенном к Fc-области. Такие антитела могут обладать улучшенной функцией CDC. Такие антитела описаны, например, в WO 1997/30087 (Patel et al.); WO 1998/58964 (Raju, S.); и WO 1999/22764 (Raju, S.).

Антитела также снабжают N-концевыми лидерными удлинениями. Например, один или более аминокислотных остатков N-концевой лидерной последовательности присутствуют на N-конце любой одной или нескольких тяжелых или легких цепей антитела. Примерное лидерное удлинение на N-конце включает или состоит из трех аминокислотных остатков, VHS, присутствующих на одной или обеих легких цепях антитела.

Полупериод существования *in vivo* или в сыворотке полипептидов FcRn человека с высокой аффинностью связывания можно исследовать, например, у трансгенных мышей, человека или не относящихся к человеку приматов, которым вводят полипептиды с вариантной Fc-областью. См. также, например, Petkova et al. International Immunology 18(12):1759-1769 (2006).

В некоторых вариантах осуществления изобретения афукозилированное антитело опосредует ADCC в присутствии человеческих эффекторных клеток более эффективно, чем исходное антитело, которое включает фукозу. Как правило, активность ADCC может быть определена с помощью анализа ADCC *in vitro*, как раскрыто в настоящем документе, однако также предусмотрены другие анализы или способы определения активности ADCC, например в модели на животных и т.д.

В некоторых вариантах осуществления Fc-область изменена путем замены по меньшей мере одного аминокислотного остатка другим аминокислотным остатком с целью изменения эффекторной функции(й) антитела. Например, одна или более аминокислот, выбранных из аминокислотных остатков 234, 235, 236, 237, 297, 318, 320, 322, 330 и/или 331, могут быть заменены другим аминокислотным остатком, в результате чего антитело будет иметь измененную аффинность к эффекторному лиганду, но сохранит

антигенсвязывающую способность исходного антитела. Эффекторный лиганд, сродство к которому изменяется, может быть, например, Fc-рецептором или компонентом C1 комплемента. Этот подход более подробно описан в патентах США 5,624,821 и 5,648,260 (Winter et al.).

В некоторых примерах одна или более аминокислот, выбранных из аминокислотных остатков 329, 331 и 322, могут быть заменены другим аминокислотным остатком, в результате чего антитело будет иметь измененное связывание C1q и/или сниженную или устраненную комплементзависимую цитотоксичность (CDC). Этот подход более подробно описан в патенте США 6,194,551 Idusogie et al.

В некоторых примерах один или более аминокислотных остатков в аминокислотных положениях 231 и 239 изменены с целью изменения, таким образом, способности антитела связывать комплемент. Этот подход также описан в публикации PCT WO 94/29351 Bodmer et al. В некоторых примерах Fc-область может быть изменена с целью снижения антителозависимой клеточной цитотоксичности (ADCC) и/или снижения аффинности к Fcγ-рецептору путем модификации одной или более аминокислот в следующих положениях: 234, 235, 236, 238, 239, 240, 241, 243, 244, 245, 247, 248, 249, 252, 254, 255, 256, 258, 262, 263, 264, 265, 267, 268, 269, 270, 272, 276, 278, 280, 283, 285, 286, 289, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 298, 299, 301, 303, 305, 307, 309, 312, 313, 315, 320, 322, 324, 325, 326, 327, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 337, 338, 340, 360, 373, 376, 378, 382, 388, 389, 398, 414, 416, 419, 430, 433, 434, 435, 436, 437, 438 или 439. Примерные замены включают 236A, 239D, 239E, 268D, 267E, 268E, 268F, 324T, 332D и 332E. Примерные варианты включают 239D/332E, 236A/332E, 236A/239D/332E, 268F/324T, 267E/268F, 267E/324T и 267E/268F7324T. Другие модификации Fc, которые могут быть сделаны в Fc, являются модификациями с целью снижения или устранения связывания с FcγR и/или белками комплемента, со снижением или устранением в результате опосредуемых Fc эффекторных функций, таких как ADCC, ADCP и CDC. Примерные модификации включают, но не ограничиваются заменами, вставками и делециями в положениях 234, 235, 236, 237, 267, 269, 325, 328, 330 и/или 331 (например, 330 и 331), где нумерация соответствует EU-индексу. Примерные замены включают, без ограничения, 234A, 235E, 236R, 237A, 267R, 269R, 325L, 328R, 330S и 331S (например, 330S и 331S), где нумерация соответствует EU-индексу. Вариант Fc может включать 236R/328R. Другие модификации для уменьшения взаимодействий FcγR и комплемента включают замены 297A, 234A, 235A, 237A, 318A, 228P, 236E, 268Q, 309L, 330S, 331S, 220S, 226S, 229S, 238S, 233P и 234V, а также удаление гликозилирования в положении 297 с помощью мутационных или ферментных средств, или при получении в организмах, таких как бактерии, которые не гликозилируют белки. Эти и другие модификации рассмотрены в публикации Strohl, 2009, Current Opinion in Biotechnology 20:685-691. Например, константная область Fc IgG1.3 человека содержит замены L234A, L235E и G237A. IgG1fa.P238K (или IgG1.P238K) содержит замену P238K. IgG1.1f включает замены L234A, L235E, G237A, A330S и P331S.

Также могут использоваться варианты Fc, которые повышают аффинность к

ингибирующему рецептору FcγRIIb. Такие варианты могут давать Fc-слитый белок с иммуномодулирующей активностью, связанной с клетками FcγRIIb, включающими, например, B-клетки и моноциты. В одном варианте осуществления варианты Fc обеспечивают селективно повышенную аффинность к FcγRIIb по сравнению с одним или несколькими активирующими рецепторами. Модификации для изменения связывания с FcγRIIb включают одну или более модификаций в положении, выбранном из группы, состоящей из 234, 235, 236, 237, 239, 266, 267, 268, 325, 326, 327, 328, 330, 331 и 332 согласно EU-индексу. Примеры замен для повышения аффинности FcγRIIb включают, без ограничения, 234A, 234D, 234E, 234F, 234W, 235D, 235E, 235F, 235R, 235Y, 236D, 236N, 237A, 237D, 237N, 239D, 239E7, 266M, 267E, 268D, 268E, 327D, 327E, 328F, 328W, 328Y, 330S, 331S и 332E. Примеры замен включают 235Y, 236D, 239D, 266M, 267E, 268D, 268E, 328F, 328W и 328Y. Другие варианты Fc для усиления связывания с FcγRIIb включают 235Y/267E, 236D/267E, 239D/268D, 239D/267E, 267E/268D, 267E/268E и 267E/328F.

Другие модификации для усиления взаимодействий FcγR и комплемента включают, без ограничения перечисленными, замены 298A, 333A, 334A, 326A, 247I, 339D, 339Q, 280H, 290S, 298D, 298V, 243L, 292P, 300L, 396L, 305I и 396L. Эти и другие модификации рассмотрены в публикации Strohl, 2009, Current Opinion in Biotechnology 20:685-691. Модификации Fc, которые усиливают связывание с Fcγ рецептором, включают аминокислотные модификации в любом одном или более аминокислотных положениях 238, 239, 248, 249, 252, 254, 255, 256, 258, 265, 267, 268, 269, 270, 272, 279, 280, 283, 285, 298, 289, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 298, 301, 303, 305, 307, 312, 315, 324, 327, 329, 330, 335, 337, 338, 340, 360, 373, 376, 379, 382, 388, 389, 398, 414, 416, 419, 430, 434, 435, 437, 438 или 439 Fc-области, где нумерация остатков в Fc-области соответствует EU-индексу, как указано в патентной публикации WO 00/42072.

Необязательно Fc-область может включать остаток неприродной аминокислоты в дополнительных и/или альтернативных положениях, известных специалисту в данной области (см., например, патенты США 5,624,821; 6,277,375; 6,737,056; 6,194,551; 7,317,091; 8,101,720; патентные публикации PCT WO 00/42072; WO 01/58957; WO 02/06919; WO 04/016750; WO 04/029207; WO 04/035752; WO 04/074455; WO 04/099249; WO 04/063351; WO 05/070963; WO 05/040217, WO 05/092925 и WO 06/020114).

Аффинность и связывающие свойства Fc-области с его лигандом могут быть определены различными методами анализа *in vitro* (биохимическими или иммунологическими анализами), известными в данной области, включающими, помимо прочего, равновесные методы (например, иммуноферментный анализ (ИФА) или радиоиммуноанализ (РИА)) или кинетические (например, анализ BIACORE), а также другие методы, такие как анализы непрямого связывания, анализы конкурентного ингибирования, резонансный перенос энергии флуоресценции (FRET), гель-электрофорез и хроматографию (например, гель-фильтрацию). В этих и других методах может использоваться метка на одном или более исследуемых компонентах и/или различные методы обнаружения, включающие, без ограничения перечисленными, хромогенные,

флуоресцентные, люминесцентные или изотопные метки. Подробное описание аффинности и кинетики связывания можно найти в публикации Paul, W. E., ed., Fundamental immunology, 4th Ed., Lippincott-Raven, Philadelphia (1999), в котором основное внимание уделено взаимодействиям антитела-иммуногена.

В некоторых вариантах осуществления антитело модифицировано для увеличения его биологического полупериода существования. Возможны разные подходы. Например, это можно сделать путем повышения аффинности связывания Fc-области с FcRn. Например, один или более следующих остатков могут быть подвергнуты мутации: 252, 254, 256, 433, 435, 436, как описано в пат. США 6,277,375. Конкретные примерные замены включают одну или несколько из следующих: T252L, T254S и/или T256F. В альтернативе для увеличения биологического полупериода существования антитело можно изменить в области CH1 или CL так, чтобы оно содержало эпитоп связывания рецептора спасения, взятый из двух петель CH2 домена Fc-области IgG, как описано в патентах США 5,869,046 и 6,121,022 (Presta et al.). Другие примерные варианты, которые увеличивают связывание с FcRn и/или улучшают фармакокинетические свойства, включают замены в положениях 259, 308, 428 и 434, включающие, например, 259I, 308F, 428L, 428M, 434S, 434I1, 434F, 434Y и 434X1. Другие варианты, которые увеличивают связывание Fc с FcRn, включают: 250E, 250Q, 428L, 428F, 250Q/428L (Hinton et al. 2004, J. Biol. Chem. 279(8):6213-6216, Hinton et al. 2006 Journal of Immunology 176:346-356), 256A, 272A, 286A, 305A, 307A, 307Q, 31 1A, 312A, 376A, 378Q, 380A, 382A, 434A (Shields et al., Journal of Biological Chemistry, 2001, 276(9):6591-6604), 252F, 252T, 252Y, 252W, 254T, 256S, 256R, 256Q, 256E, 256D, 256T, 309P, 311S, 433R, 433S, 4331, 433P, 433Q, 434H, 434F, 434Y, 252Y/254T/256E, 433K/434F/436H, 308T/309P/311S (Dall Acqua et al.Journal of Immunology, 2002, 169:5171-5180, Dall'Acqua et al., 2006, Journal of Biological Chemistry 281:23514-23524). Другие модификации для модулирования связывания FcRn описаны в Yeung et al., 2010, J Immunol, 182: 7663-7671.

В некоторых вариантах осуществления можно использовать гибридные изотипы IgG с конкретными биологическими характеристиками. Например, гибридный вариант IgG1/IgG3 может быть сконструирован путем замены положений IgG1 в области CH2 и/или CH3 аминокислотами из IgG3 в положениях, в которых два изотипа различаются. Таким образом, можно сконструировать гибридный вариант антитела IgG, который включает одну или несколько замен, например, 274Q, 276K, 300F, 339T, 356E, 358M, 384S, 392N, 397M, 4221, 435R и 436F. В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, гибридный вариант IgG1/IgG2 может быть сконструирован путем замены положений IgG2 в области CH2 и/или CH3 аминокислотами из IgG1 в положениях, в которых два изотипа различаются. Таким образом, можно сконструировать гибридный вариант антитела IgG, который включает одну или несколько замен, например, одну или несколько следующих аминокислотных замен: 233E, 234L, 235L, -236G (относится к вставке глицина в положение 236) и 327A.

Более того, на IgG1 человека были картированы сайты связывания для FcγRI, FcγRII,

FcγRIII и FcRn, и были описаны варианты с улучшенным связыванием (см. Shields, RL et al. (2001) J. Biol. Chem. 276:6591-6604) . Было показано, что специфические мутации в положениях 256, 290, 298, 333, 334 и 339 улучшают связывание с FcγRIII. Кроме того, было показано, что следующие комбинированные мутанты улучшают связывание FcγRIII: T256A/S298A, S298A/E333A, S298A/K224A и S298A/E333A/K334A, которые, как было показано, демонстрируют повышенное связывание FcγRIIIa и активность ADCC (Shields et al., 2001). Были идентифицированы другие варианты IgG1 с сильно повышенным связыванием с FcγRIIIa, включая варианты с мутациями S239D/I332E и S239D/I332E/A330L, которые показали наибольшее повышение аффинности к FcγRIIIa, снижение связывания FcγRIIb и сильную цитотоксическую активность у яванских макаков (Lazar et al., 2006). Введение тройных мутаций в такие антитела, как алемтузумаб (CD52-специфичное), трастузумаб (HER2/neu-специфичное), ритуксимаб (CD20-специфичное) и цетуксимаб (EGFR-специфичное), приводило к значительному усилению активности ADCC *in vitro*, при этом вариант S239D/I332E показал повышенную способность элиминировать B-клетки у обезьян (Lazar et al., 2006). Кроме того, были идентифицированы мутанты IgG1, содержащие мутации L235V, F243L, R292P, Y300L и P396L, которые демонстрировали повышенное связывание с FcγRIIIa и сопутствующее усиление активности ADCC у трансгенных мышей, экспрессирующих человеческий FcγRIIIa, в моделях B-клеточных злокачественных опухолей и рака молочной железы (Stavenhagen et al., 2007; Nordstrom et al., 2011). Другие мутанты Fc, которые могут использоваться, включают: S298A/E333A/L334A, S239D/I332E, S239D/I332E/A330L, L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L и M428L/N434S.

В некоторых вариантах осуществления выбран Fc с пониженным связыванием с FcγR. Примерный Fc, например, Fc IgG1, с пониженным связыванием FcγR включает три следующие аминокислотные замены: L234A, L235E и G237A.

В некоторых вариантах осуществления выбран Fc с пониженным связыванием комплемента. Примерный Fc, например, Fc IgG1, с пониженным связыванием комплемента имеет две следующие аминокислотные замены: A330S и P331S.

В некоторых вариантах осуществления выбран Fc, который по существу не обладает эффекторной функцией, т.е. он имеет пониженное связывание с FcγR и пониженное связывание комплемента. Примерный Fc, например, Fc IgG1, который не является эффекторным, включает пять следующих мутаций: L234A, L235E, G237A, A330S и P331S.

При использовании константного домена IgG4 он может включать замену S228P, которая имитирует шарнирную последовательность в IgG1 и, таким образом, стабилизирует молекулы IgG4.

Также могут использоваться модификации Fc, описанные в WO 2017/087678 или WO2016081746,.

В некоторых вариантах осуществления модифицировано гликозилирование антитела. Например, может быть получено агликозилированное антитело (т.е. антитело без гликозилирования). Гликозилирование может быть изменено, например, с целью

повышения аффинности антитела к антигену. Такие углеводные модификации могут быть выполнены, например, путем изменения одного или более сайтов гликозилирования в последовательности антитела. Например, может быть сделана одна или более аминокислотных замен, которая приводит к устранению одного или более сайтов гликозилирования в каркасных участках вариабельной области, с устранением в результате гликозилирования в этом сайте. Такое агликозилирование может повышать аффинность антитела к антигену. Такой подход более подробно описан в патентах США 5,714,350 и 6,350,861 (Co et al.).

Гликозилирование константной области на N297 можно предотвратить путем мутации остатка N297 на другой остаток, например, N297A, и/или путем мутации соседней аминокислоты, например, 298, чтобы уменьшить, таким образом, гликозилирование на N297.

В качестве дополнения или альтернативы может быть получено антитело, которое имеет измененный тип гликозилирования, такое как гипофукозилированное антитело, содержащее уменьшенное количество остатков фукозы, или антитело, содержащее повышенное количество разветвляющих структур GlcNac. Было показано, что такие измененные профили гликозилирования повышают способность антител к ADCC. Такие модификации углеводов можно произвести, например, путем экспрессии антител в клетке-хозяине с измененным аппаратом гликозилирования. Клетки с измененным аппаратом гликозилирования были описаны в уровне техники и могут использоваться в качестве клеток-хозяев, в которых можно экспрессировать рекомбинантные антитела, описанные в настоящем документе, с получением в результате антитела с измененным гликозилированием. Например, в EP 1176195 (Hanai et al.) описана линия клеток с функционально нарушенным геном FUT8, который кодирует фукозилтрансферазу, в результате чего антитела, экспрессируемые в такой линии клеток, демонстрируют гипофукозилирование. В публикации PCT WO 03/035835 (Presta) описан вариант линии клеток CHO, клетки Lec 3, с пониженной способностью к присоединению фукозы к Asn(297)-связанным углеводам, что также приводит к гипофукозилированию антител, экспрессируемых такими клетками-хозяевами (см. также Shields, R.L. et al. (2002) J. Biol. Chem. 277:26733-26740). В публикации PCT WO 99/54342 (Umana et al.) описаны линии клеток, модифицированные для экспрессии модифицирующих гликопротеины гликозилтрансфераз (например, бета(1,4)-N-ацетилглюкозаминилтрансферазы III (GnTIII)), в результате чего антитела, экспрессируемые линиями модифицированных клеток, демонстрируют повышенное количество разветвляющих структур GlcNac, что приводит к повышенной ADCC активности антител (см. также Umana et al. (1999) Nat. Biotech., 17:176-180).

Другим вариантом модификации антител согласно настоящему изобретению является пэгилирование. Антитело может быть пегилировано, например, для увеличения биологического полупериода существования (например, в сыворотке) антитела. Для пегилирования антитела, антитело или его фрагмент обычно подвергают реакции с

полиэтиленгликолем (ПЭГ), таким как реакционноспособное сложноэфирное или альдегидное производное ПЭГ, при условиях, в которых одна или более групп ПЭГ присоединяются к антителу или фрагменту антитела. В некоторых вариантах осуществления пэгилирование производят в реакции ацилирования или реакции алкилирования с реакционноспособной молекулой ПЭГ (или аналогичным реакционноспособным водорастворимым полимером). При использовании в настоящем описании термин "полиэтиленгликоль" охватывает любую форму ПЭГ, которую используют для получения производных других белков, такую как моно(C1-C10)алкокси- или арилокси-полиэтиленгликоль или полиэтиленгликоль-малеимид. В некоторых вариантах осуществления антитело, которое подлежит пэгилированию, является агликозилированным антителом. Методы пэгилирования белков известны в данной области и могут быть применены к антителам, описанным в настоящем документе. См., например, EP 0 154 316 (Nishimura et al.) и EP 0 401 384 (Ishikawa et al.).

В различных вариантах осуществления связывание антитела с VISTA, описанным в настоящем документе, модифицировано для селективного блокирования связывания антигена в тканях и окружении, где связывание антигена может быть нежелательным, но позволяет связывать антиген там, где это может быть полезным ("активируемое антитело"). В одном варианте создается "маска" блокирующего пептида, который специфично связывается с антигенсвязывающей поверхностью антитела и препятствует связыванию антигена, причем эта маска соединена с каждым из связывающих плеч антитела линкером, расщепляемым пептидазой. См., например, патент США 8,518,404 (CytomX). Такие конструкции могут применяться для лечения форм злокачественных опухоле, при которых уровни протеаз в микроокружении опухоли значительно повышены по сравнению с неопухолевыми тканями. Селективное отщепление расщепляемого линкера в микроокружении опухоли вызывает диссоциацию маскирующего/блокирующего пептида, обеспечивая селективное связывание антигена в опухоли, а не в периферических тканях, в которых связывание антигена может вызывать нежелательные побочные эффекты. Примеры блокирующих пептидов, присоединенных к антителам, представлены в WO 2018/08555.

В качестве альтернативы в подобном варианте осуществления разрабатывают бивалентное связывающее соединение ("маскирующий лиганд"), включающее два антигенсвязывающих домена, которое связывается с обеими антигенсвязывающими поверхностями (бивалентного) антитела и препятствует связыванию антигена, в котором два связывающих домена маски соединены друг с другом (но не с антителом) расщепляемым линкером, например, расщепляемым пептидазой. См., например, публ. международной заявки на пат. WO 2010/077643 (Tegopharm Corp.). Маскирующие лиганды могут включать или могут быть получены из антигена, с которым антитело должно связываться, или могут быть созданы независимо. Такие маскирующие лиганды могут применяться для лечения злокачественных опухолей, при котором уровни протеаз значительно повышены в микроокружении опухоли по сравнению с неопухолевыми

тканями. Селективное отщепление расщепляемого линкера в микроокружении опухоли вызывает диссоциацию двух связывающих домен друг с другом, снижая авидность в отношении антигенсвязывающих поверхностей антитела. В результате диссоциация маскирующего лиганда от антитела дает возможность селективно связывать антиген в опухоли, а не в периферических тканях, в которых связывание антигена может вызывать нежелательные побочные эффекты.

Нуклеиновые кислоты и клетки-хозяева

Также предложены нуклеиновые кислоты, кодирующие антитело или его тяжелую или легкую цепь, или его часть. Примерные нуклеиновые кислоты представлены в Таблице последовательностей. Любая нуклеиновая кислота, которая составляет по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98% или 99% нуклеиновой кислоты в Таблице последовательностей, включена в настоящее описание. Композиции, включающие нуклеиновые кислоты, кодирующие антитело, предложенное в настоящем документе, также включены, как и клетки, включающие их, а также способы получения антител, включающие культивирование клетки, трансформированной нуклеиновой кислотой, кодирующей антитело против VISTA, и выделение антитела из среды или клетки.

Способы лечения с применением связывающих VISTA-ECD антител и соответствующих фармацевтических композиций

В некоторых вариантах осуществления антитело против VISTA, которое связывается с VISTA при низком pH и, например, не демонстрирует значимое связывание при нейтральном или физиологическом pH, может быть антагонистическим антителом к VISTA, т.е. антителом, ингибирующим действие VISTA, в результате чего происходит стимуляция иммунного ответа. Такие антитела могут применяться для лечения заболеваний, при которых требуется стимуляция иммунной системы или иммунного ответа, таких как пролиферативные заболевания (доброкачественные или злокачественные), злокачественные опухоли и инфекционные заболевания (например, вирусные инфекции).

В некоторых вариантах осуществления антитело против VISTA, которое связывается с VISTA при низком pH и, например, не демонстрирует значимое связывание при нейтральном или физиологическом pH, может быть агонистическим антителом к VISTA, т.е. антителом, которое усиливает действие VISTA, в результате чего происходит ингибирование иммунного ответа. Такие антитела могут применяться для лечения заболеваний, при которых требуется ингибирование иммунной системы или иммунного ответа, таких как аутоиммунные заболевания и воспалительные заболевания, такие как ревматоидный артрит, системная красная волчанка, целиакия, синдром Шегрена, болезнь Грейвса, воспалительное заболевание кишечника, псориаз, анкилозирующий спондилит, реакция "трансплантат против хозяина", аллергия и астма.

Антитела, описанные в настоящем документе, могут применяться, например, для лечения злокачественных опухолей. В некоторых вариантах осуществления предложены способы лечения злокачественных опухолей, включение введение пациенту эффективного количества антитела, описанного в настоящем документе. В некоторых вариантах

осуществления Ат могут вызывать или усиливать иммунный ответ у пациента, такой как антигенспецифичный иммунный ответ. В некоторых вариантах осуществления Ат могут стимулировать активность Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления Ат могут ингибировать рост по меньшей мере одной опухоли у пациента.

В настоящем документе предложены способы лечения онколгического больного, включающие введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела против VISTA, описанного в настоящем документе, в результате чего осуществляется лечение субъекта. Антитело против VISTA может применяться отдельно. В альтернативе антитело против VISTA может применяться в сочетании с другим средством, как дополнительно описано ниже.

Примеры онкологических заболеваний, которые можно лечить с применением Ат, специфично связывающегося с белком VISTA-ECD в кислотных условиях, как описано в настоящем документе, включают, без ограничения, рак, лимфому, бластому, саркому и лейкоз. Онкологические заболевания, которые можно лечить с применением Ат, описанного в настоящем документе, также включают злокачественные опухоли, которые обычно чувствительны к иммунотерапии, и злокачественные опухоли, которые обычно не чувствительны к иммунотерапии. Онкологические заболевания, которые можно лечить, также включают VISTA-положительные злокачественные опухоли, например, злокачественные опухоли, содержащие VISTA-положительные, инфильтрирующие опухоль клетки, например, лимфоциты, миелоидные или моноцитарные клетки. Онкологические заболевания могут быть злокачественными солидными опухолями или гемобластозами (опухолями жидких тканей).

Неограничивающие примеры онкологических заболеваний для лечения включают плоскоклеточную карциному, мелкоклеточный рак легкого, немелкоклеточный рак легкого, плоскоклеточный немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ), неплоскоклеточный НМРЛ, глиому, рак желудочно-кишечного тракта, рак почки (например, светлоклеточную карциному), рак яичника, рак печени, колоректальный рак, рак эндометрия, рак почки (например, почечно-клеточную карциному (ПКК)), рак предстательной железы (например, гормонорезистентная аденокарцинома предстательной железы), рак щитовидной железы, нейробластому, рак поджелудочной железы, глиобластому (мультиформную глиобластому), рак шейки матки, рак желудка, рак мочевого пузыря, гепатому, рак молочной железы, рак толстой кишки и рак (или карциному) головы и шеи, рак желудка, опухоль из зародышевых клеток, детскую саркому, синоназальную NK-клеточную лимфому, меланому (например, метастатическую злокачественную меланому, такую как кожная или внутриглазная злокачественная меланома), рак кости, рак кожи, рак матки, рак анальной области, рак яичка, карциному маточных труб, карциному эндометрия, карциному шейки матки, карциному влагалища, карциному вульвы, рак пищевода, рак тонкой кишки, рак эндокринной системы, рак паращитовидной железы, рак надпочечников, саркому мягких тканей, рак уретры, рак полового члена, детские солидные опухоли, рак мочеточника, карциному почечной лоханки, неоплазию центральной нервной системы

(ЦНС), первичную лимфому ЦНС, опухолевый ангиогенез, опухоль позвоночника, рак головного мозга, глиому ствола головного мозга, аденому гипофиза, саркому Капоши, эпидермоидный рак, плоскоклеточный рак, Т-клеточную лимфому, онкологические заболевания, вызванные факторами внешней среды, в том числе вызванные асбестом, связанные с вирусами злокачественные опухоли или злокачественные опухоли вирусного происхождения (например, опухоли, связанные с или вызванные вирусом папилломы человека (ВПЧ)), и гемобластные злокачественные опухоли, происходящие из одной из двух основных линий клеток крови, то есть линии миелоидных клеток (из которых образуются гранулоциты, эритроциты, тромбоциты, макрофаги и тучные клетки) или линии лимфоидных клеток (из которых образуются B, T, NK и плазматические клетки), например, все типы лейкозов, лимфом и миелом, например, острые, хронические, лимфоцитарные и/или миелогенные лейкозы, такие как острый лейкоз (ОЛЛ), острый миелогенный лейкоз (ОМЛ), хронический лимфолейкоз (ХЛЛ) и хронический миелогенный лейкоз (ХМЛ), недифференцированный ОМЛ (M0), миелобластный лейкоз (M1), миелобластный лейкоз (M2; с созреванием клеток), промиелоцитарный лейкоз (M3 или вариант M3 [M3V]), миеломоноцитарный лейкоз (M4 или вариант M4 с эозинофилией [M4E]), моноцитарный лейкоз (M5), эритролейкоз (M6), мегакариобластный лейкоз (M7), изолированную гранулоцитарную саркому и хлорому; лимфомы, такие как лимфому Ходжкина (ЛХ), неходжкинскую лимфому (НХЛ), B-клеточные гемобластозы, например, B-клеточные лимфомы, T-клеточные лимфомы, лимфоплазмоцитоидную лимфому, моноцитоидную B-клеточную лимфому, лимфому лимфоидной ткани слизистых оболочек (MALT), анапластическую (например, Ki 1+) крупноклеточную лимфому, T-клеточную лимфому/лейкоз взрослых, лимфому из клеток мантийной зоны, ангио-иммунобластную T-клеточную лимфому, ангиоцентрическую лимфому, кишечную T-клеточную лимфому, первичную медиастинальную B-клеточную лимфому, T-лимфобластную лимфому из клеток-предшественников, T-лимфобластную; и лимфому/лейкоз (T-Lbly/T-ОЛЛ), периферическую T-клеточную лимфому, лимфобластную лимфому, посттрансплантационное лимфопролиферативное нарушение, истинную гистиоцитарную лимфому, первичную лимфому центральной нервной системы, первичную эффузионную лимфому, B-клеточную лимфому, лимфобластную лимфому (ЛБЛ), гемопоэтические опухоли лимфоидной линии, острый лимфобластный лейкоз, диффузную B-крупноклеточную лимфому, лимфому Беркитта, фолликулярную лимфому, диффузную гистиоцитарную лимфому (DHL), иммунобластную крупноклеточную лимфому, B-лимфобластную лимфому из клеток-предшественников, T-клеточную лимфому кожи (CTLC) (также называемую грибовидным микозом или синдромом Сезари) и лимфоплазмацитоидную лимфому (ЛПЛ) с макроглобулинемией Вальденстрема; миеломы, такие как IgG миелому, миелому легких цепей, несекреторную миелому, вялотекущую миелому (также называемую индолентной миеломой), изолированную плазмоцитому и множественные миеломы, хронический лимфолейкоз (ХЛЛ), волосато-клеточную лимфому; гемопоэтические опухоли миелоидного происхождения, опухоли

мезенхимального происхождения, включая фибросаркому и рабдомиоскаркому; семиному, тератокарциному, опухоли центральной и периферической нервной системы, включая астроцитому, шванномы; опухоли мезенхимального происхождения, включая фибросаркому, рабдомиоскарому и остеосаркому; и другие опухоли, в том числе меланому, пигментную ксеродермию, кератоакантому, семиному, фолликулярный рак щитовидной железы и тератокарциному, гемопоэтические опухоли лимфоидной линии, например, Т-клеточные и В-клеточные опухоли, в том числе, помимо прочего, Т-клеточные нарушения, такие как Т-пролимфоцитарный лейкоз (Т-ПЛЛ), в том числе мелкоклеточного и медуллярного типа; лейкоз из больших гранулярных лимфоцитов (LGL) Т-клеточного типа; a/d Т-НХЛ гепатоселезеночную лимфому; периферическую/посттимическая Т-клеточную лимфому (плеоморфных и иммунобластных подтипов); ангиоцентрическую (назальную) Т-клеточную лимфому; рак головы или шеи, рак почки, рак прямой кишки, рак щитовидной железы; острую миелоидную лимфому, а также любые комбинации указанных форм рака. Способы, описанные в настоящей заявке, также могут применяться для лечения метастазирующих злокачественных опухолей, неоперабельных, рефрактерных злокачественных опухолей (например, злокачественных опухолей, резистентных к предыдущей иммунотерапии, например, с применением блокирующего антитела против CTLA-4 или PD-1) и/или рецидивирующих злокачественных опухолей.

В некоторых вариантах осуществления предложены способы лечения рака, где способы включают введение выделенного антитела, которое специфично связывается с huVISTA в кислотных условиях, как описано в настоящем документе, субъекту с раком. В некоторых вариантах осуществления предложено применение антитела, описанного в настоящем документе, для лечения рака.

В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в настоящем документе, вводят пациентам, имеющим рак, который демонстрировал недостаточный ответ или прогрессировал при предыдущем лечении, например, предыдущем лечении иммуноонкологическим или иммунотерапевтическим средством. В некоторых вариантах осуществления рак является рефрактерным или резистентным к предыдущему лечению, либо изначально рефрактерным или резистентным (например, рефрактерным в отношении антагониста пути PD-1), либо резистентное или рефрактерное состояние является приобретенным. Например, антитело, описанное в настоящем документе, могут вводить субъектам, которые не отвечают или отвечают недостаточно на первую терапию, или у которых наблюдается прогрессирование заболевания после лечения, например, лечения антагонистом против пути PD-1, отдельно или в комбинации с другой терапией (например, с терапией антагонистами против пути PD-1). В других вариантах осуществления антитело, описанное в настоящем документе, вводят пациентам, которые ранее не получали (т.е. не получали лечения) иммуноонкологическое средство, например, антагонист пути PD-1.

В некоторых вариантах осуществления способ лечения рака у субъекта включает сначала определение мутационной нагрузки опухоли (TMB) у субъекта и введение антитела против VISTA на основе результатов, например, субъектам, которые, как было

установлено, имеют высокую TMB.

Комбинации с иммуностимулирующими средствами

В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в настоящем документе, например, антагонистическое антитело к VISTA, описанное в настоящем документе, вводят в комбинации по меньшей мере с одним иммуностимулирующим средством. Например, терапевтические средства могут вводить вместе путем инфузии или вводить путем инъекции примерно в одно и то же время. В некоторых вариантах осуществления антитело и по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство вводят последовательно. Например, в некоторых вариантах осуществления антитело вводят последовательно, до или после по меньшей мере одного иммуностимулирующего средства, при этом два терапевтических средства вводят с интевалом 30 минут, 60 минут, 90 минут, 120 минут, 3 часа, 6 часов, 12 часов, 24 часа, 36 часов, 48 часов, 3 дня, 5 дней, 7 дней или две недели.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одну, по меньшей мере две, по меньшей мере три дозы, по меньшей мере пять доз или по меньшей мере десять доз антитела вводят до введения по меньшей мере одного иммуностимулирующего средства. В некоторых вариантах осуществления перед введением антитела вводят по меньшей мере одну, по меньшей мере две, по меньшей мере три дозы, по меньшей мере пять доз или по меньшей мере десять доз по меньшей мере одного иммуностимулирующего средства. В некоторых вариантах осуществления последнюю дозу иммуностимулирующего средства вводят по меньшей мере за один, два, три, пять или десять дней, или одну, две, три, пять, двенадцать или двадцать четыре недели до первой дозы антитела. В некоторых вариантах осуществления последнюю дозу антитела вводят по меньшей мере за один, два, три, пять или десять дней, или за одну, две, три, пять, двенадцать или двадцать четыре недели до первой дозы по меньшей мере одного иммуностимулирующее средства. В некоторых вариантах осуществления субъект получал или получает терапию с применением по меньшей мере одного иммуностимулирующего средства, и к терапевтической схеме добавляют VISTA-ECD-связывающее антитело.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает антагонист ингибитора активации Т-клеток, тогда как в некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает агонист стимулятора активации Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает антагонист CTLA4, LAG-3, PD-1, PD-L1, Галектина 1, Галектина 9, CEACAM-1, BTLA, CD25, CD69, TIGIT, CD113, GPR56, VISTA, B7-H3, B7-H4, 2B4, CD48, GARP, PD1H, LAIR1, TIM1, TIM3, TIM4, ILT4, IL-6, IL-10, TGFβ, VEGF, KIR, LAG-3, рецептора аденозина A2A, PI3Kдельта или IDO. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает агонист B7-1, B7-2, CD28, 4-1BB (CD137), 4-1BBL, ICOS, ICOS-L, OX40, OX40L, GITR, GITRL, CD27, CD40, CD40L, DR3, CD28H, IL-2, IL-7, IL-12, IL-15, IL-21, IFNα, STING или агонист Toll-подобного рецептора, такой как агонист TLR2/4. В некоторых вариантах осуществления по меньшей

мере одно иммуностимулирующее средство включает средство, которое связывается с другим представителем семейства мембраносвязанных белков B7, таким как B7-1, B7-2, B7-H2 (ICOS-L), B7-H3, B7-H4 и B7-H6. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает средство, которое связывается с представителем семейства рецепторов ФНО, или костимулирующей или коингибирующей молекулой, связывающейся с представителем семейства рецепторов ФНО, таким как CD40, CD40L, OX40, OX40L, GITR, GITRL, CD70, CD27L, CD30, CD30L, 4-1BBL, CD137 (4-1BB), TRAIL/Apo2-L, TRAILR1/DR4, TRAILR2/DR5, TRAILR3, TRAILR4, OPG, RANK, RANKL, TWEAKR/Fn14, TWEAK, BAFFR, EDAR, XEDAR, EDA1, EDA2, TACI, APRIL, BCMA, LTβR, LIGHT, DeR3, HVEM, VEGL/TL1A, TRAMP/DR3, TNFR1, TNFβ, TNFR2, TNFα, 1β2, FAS FASL, RELT, DR6, TROY или NGFβ. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает средство, которое антагонистически воздействует на или ингибирует цитокин, который ингибирует активацию Т-клеток, такой как IL-6, IL-10, TGFβ, VEGF. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает агонист цитокина, который стимулирует активацию Т-клеток, такой как IL-2, IL-7, IL-12, IL-15, IL-21 и IFNα. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает антагонист хемокина, такой как CXCR2, CXCR4, CCR2 или CCR4. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство включает антитело. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно иммуностимулирующее средство может включать вакцину, такую как вакцина, направленная на мезотелин, или противораковая вакцина на основе ослабленных листерий, такая как CRS-207.

Например, антитело против VISTA, описанное в настоящем документе, могут вводить с одним или более следующими средствами:

(1) Антагонист (ингибитор или блокирующее средство) белка, ингибирующего активацию Т-клеток (например, ингибиторы иммунных контрольных точек), такого как CTLA-4, PD-1, PD-L1, PD-L2 и LAG-3, Галектин 9, CEACAM-1, BTLA, CD69, Галектин-1, TIGIT, CD113, GPR56, B7-H3, B7-H-4, 2B4, CD48, GARP, PD1H, LAIR1, TIM-1, TIM-3 и TIM-4; и/или (2) Агонист белка, стимулирующего активацию Т-клеток, такого как B7-1, B7-2, CD28, 4-1BB (CD137), 4-1BBL, GITR, ICOS, ICOS-L, OX40, OX40L, CD70, CD27, CD40, DR3 и CD28H.

Примеры средств, которые могут комбинировать с антителами против VISTA, описанными в настоящем документе, для лечения рака, включают: ЕРВОЙ® (ипилимумаб) или Тремелимумаб (к CTLA-4), галиксимаб (к B7.1), BMS-936558 (к PD-1), MK-3475 (к PD-1), атезолизумаб (ТЕЦЕНТРИК®), Авелумаб, Дурвалумаб, PDR001 (Novartis), AMP224 (к B7DC), BMS-936559 (к B7-H1), MPDL3280A (к B7-H1), MEDI-570 (к ICOS), AMG557 (к B7H2), MGA271 (к B7H3), IMP321 (к LAG-3), BMS-663513 (к CD137), PF-05082566 (к CD137), CDX-1127 (к CD27), антитело к OX40 (Providence Health Services), huMAbOX40L (к OX40L), Атацицепт (к TACI), CP-870893 (к CD40), Лукатумумаб (к CD40), Дацетузумаб

(к CD40), Муромонаб-CD3 (к CD3); антитела против GITR MK4166, TRX518, Medi1873, INBRX-110, LK2-145, GWN-323, GITRL-Fc, или их любую комбинацию.

Другие молекулы, которые могут комбинировать с антителами против VISTA для лечения рака, включают антагонисты ингибиторных рецепторов на NK-клетках или агонисты активирующих рецепторов на NK-клетках, например, антагонисты KIR (например, лирилумаб).

Активацию Т-клеток также можно регулировать растворимыми цитокинами. В некоторых вариантах осуществления антитела против VISTA могут вводить в комбинации с антагонистами цитокинов, которые предназначены для ингибирования активации Т-клеток, или агонистами цитокинов, которые стимулируют активацию Т-клеток. Например, антитела против VISTA могут применяться в комбинации с: (i) антагонистами (или ингибиторами или блокирующими средствами) белков семейства IgSF или семейства B7 или семейства ФНО, которые ингибируют активацию Т-клеток, или антагонистами цитокинов, ингибирующих активацию Т-клеток (например, IL-6, IL-10, TGF-β, VEGF; "иммуносупрессорные цитокины") и/или (ii) агонистами стимулирующих рецепторов семейства IgSF, семейства B7 или семейства ФНО, или цитокинов, стимулирующих активацию Т-клеток.

Другие средства для комбинированной терапии включают средства, ингибирующие или элиминирующие макрофаги или моноциты, включающие, без ограничения, антагонисты CSF-1R, такие как антагонистические антитела к CSF-1R, в том числе RG7155 (WO11/70024, WO11/107553, WO11/131407, W013/87699, W013/119716, WO13/132044) или FPA-008 (WO11/140249; W013169264; WO14/036357).

Антитела против VISTA могут также вводить со средствами, которые ингибируют сигнализацию TGF-β.

Дополнительные средства, которые могут комбинировать с антителом против VISTA, включают средства, которые улучшают презентирование опухолевого антигена, например, вакцины на основе дендритных клеток, ГМ-КСФ-секретирующие клеточные вакцины, CpG олигонуклеотиды и имиквимод, или терапевтические средства, которые повышают иммуногенность опухолевых клеток (например, антрациклины).

Другие терапевтические средства, которые могут комбинировать с антителом против VISTA, включают терапевтические средства, которые элиминируют или блокируют Treg клетки, например, средство, которое специфично связывается с CD25.

Другая терапия, которую могут комбинировать с антителом против VISTA, является терапией, которая ингибирует метаболический фермент, такой как индоламиндиоксигеназу (IDO), диоксигеназу, аргиназу или синтетазу оксида азота.

Другой класс средств, которые могут применять с антителом против VISTA, включает средства, которые ингибируют образование аденозина, например, ингибиторы CD73, или ингибируют рецептор аденозина A2A.

Другие терапии, которые могут комбинировать с антителом против VISTA для лечения рака, включают терапии, которые устраняют/предотвращают анергию или

истощение Т-клеток, и терапии, вызывающие активацию врожденного иммунитета и/или воспаление в области локализации опухоли.

Другие терапии, которые могут комбинировать с антителом против VISTA для лечения рака, включают терапии, которые блокируют IL-8, например, с HuMax®-IL8.

Антитело против VISTA могут комбинировать больше чем с одним иммуноонкологическим средством и, например, могут комбинировать с комбинаторным методом, который предназначен для воздействия на множество элементов иммунного пути, таким как одно или более из следующего: терапия, которая усиливает презентирование опухолевого антигена (например, вакцина на основе дендритных клеток, секретирующие ГМ-КСФ клеточные вакцины, CpG олигонуклеотиды, имиквимод); терапия, которая ингибирует негативную иммунную регуляцию, например, путем ингибирования пути CTLA-4 и/или PD1/PD-L1/PD-L2 и/или истощения или блокирования Treg или других иммуносупрессорных клеток; терапия, которая стимулирует позитивную иммунную регуляцию, например, с применением агонистов, которые стимулируют путь CD-137, OX-40 и/или CD40 или GITR и/или стимулируют эффекторную функцию Т-клеток; терапия, которая системно увеличивает частоту противоопухолевых Т-клеток; терапия, которая истощает или ингибирует Treg, такие как Treg в опухоли, например, с применением антагониста CD25 (например, даклизумаба) или путем элиминирования ex vivo гранулами с антителом к CD25; терапия, которая влияет на функцию супрессорных миелоидных клеток в опухоли; терапия, повышающая иммуногенность опухолевых клеток (например, антрациклины); адоптивный перенос Т-клеток или NK-клеток, включая генетически модифицированные клетки, например клетки, модифицированные химерными антигенными рецепторами (CAR-T терапия); терапия, которая ингибирует метаболический фермент, такой как индоламиндиоксигеназу (IDO), диоксигеназу, аргиназу или синтетазу оксида азота; терапия, которая устраняет/предотвращает анергию или истощение Т-клеток; терапия, которая вызывает активацию врожденного иммунитета и/или воспаление в области локализации опухоли; введение иммуностимулирующих цитокинов; или блокирование иммунорепрессорных цитокинов.

Антитела против VISTA, описанные в настоящем документе, могут применяться вместе с одним или более агонистическими средствами, которые лигируют положительные костимулирующие рецепторы, блокирующими средствами, которые ослабляют передачу сигналов через ингибирующие рецепторы, антагонистами и одним или более средствами, которые системно увеличивают частоту противоопухолевых Т-клеток, средствами, которые преодолевают различные иммуносупрессорные пути в микроокружении опухоли (например, блокируют взаимодействие с ингибиторным рецептором (например, взаимодействия PD-L1/PD-1), элиминируют или ингибируют Treg (например, с применением моноклональных антител к CD25 (например, даклизумаба) или путем элиминирования ex vivo гранулами с антителами к CD25), ингибируют метаболические ферменты, такие как IDO, или устраняют/предотвращают анергию или истощение Т-клеток), и средствами, которые вызывают активацию врожденного иммунитета и/или

воспаление в областях локализации опухоли.

В некоторых вариантах осуществления антитело против VISTA вводят субъекту вместе с ингибитором BRAF, если субъект является положительным на мутацию BRAF V600.

Подходящие антагонисты PD-1 для применения в комбинированной терапии, описанной в настоящем документе, включают, без ограничения, лиганды, антитела (например, моноклональные антитела и биспецифичные антитела) и поливалентные средства. В одном варианте осуществления антагонист PD-1 представляет собой слитый белок, например, Fc-слитый белок, такой как AMP-244. В одном варианте осуществления антагонист PD-1 является антителом против PD-1 или против PD-L1.

Примером антитела против PD-1 является ниволумаб (BMS-936558) или антитело, которое содержит CDR или вариабельные области одного из антител 17D8, 2D3, 4H1, 5C4, 7D3, 5F4 и 4A11, описанных в WO 2006/121168. В некоторых вариантах осуществления антителом против PD-1 является MK-3475 (ламбролизумаб), описанный в WO2012/145493; AMP-514, описанный в WO 2012/145493; или PDR001. Другие известные антитела к PD-1 и другие ингибиторы PD-1 включают антитела, описанные в WO 2009/014708, WO 03/099196, WO 2009/114335, WO 2011/066389, WO 2011/161699, WO 2012/145493, патентах США 7,635,757 и 8,217,149 и патентной публикации США 2009/0317368. Также может использоваться любое из антител против PD-1, раскрытых в WO2013/173223. Антитело против PD-1, которое конкурирует за связывание и/или связывается с тем же эпитопом на PD-1, что и одно из этих антител, также может применяться в комбинированном лечении.

В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-L1, применяемое для комбинированной терапии, представляет собой BMS-936559 (указанное как 12A4 в WO 2007/005874 и патенте США 7,943,743) или антитело, которое включает CDR-области или вариабельные области 3G10, 12A4, 10A5, 5F8, 10H10, 1B12, 7H1, 11E6, 12B7 и 13G4, которые описаны в публикации PCT WO 07/005874 и патенте США 7,943,743. В определенном варианте осуществления антитело против PD-L1 представляет собой MEDI4736 (также известное как дурвалумаб и антитело против B7-H1), MPDL3280A (также известное как атезолизумаб и RG7446), MSB0010718C (также известное как авелумаб; WO2013/79174) или rHigM12B7. Также может использоваться любое из антител против PD-L1, раскрытых в WO2013/173223, WO2011/066389, WO2012/145493, патентах США 7,635,757 и 8,217,149 и публикации США 2009/145493. Антитела против PD-L1, которые конкурируют и/или связываются с тем же эпитопом, что и любое из этих антител, также могу применяться в комбинированном лечении.

В некоторых вариантах осуществления антитело против VISTA согласно изобретению может применяться с антагонистом CTLA-4, например, с антителом против CTLA-4. В одном из вариантов осуществления антитело против CTLA-4 является антителом, выбранным из группы, включающей: ЕРВОЙ® (ипилимумаб или антитело 10D1, описанное в публикации PCT WO 01/14424), тремелимумаб (ранее тицилимумаб, CP-675,206), моноклональное антитело или антитело против CTLA-4, описанное в любой из

следующих публикаций: WO 98/42752; WO 00/37504; патент США 6,207,156; Hurwitz et al. (1998) Pro. Natl. Acad. Sci. USA 95(17): 10067-10071; Camacho et al. (2004) J. Clin. Oncology 22(145): Abstract No. 2505 (антитело CP-675206); и Mokyr et al. (1998) Cancer Res. 58:5301-5304. Также может использоваться любое из антител против CTLA-4, раскрытых в WO2013/173223.

В некоторых вариантах осуществления антитело против VISTA согласно изобретению применяется в комбинации с антагонистом LAG3. Примеры антител против LAG3 включают антитела, включающие CDR-области или вариабельные области антител 25F7, 26H10, 25E3, 8B7, 11F2 или 17E5, которые описаны в патентной публикации США US2011/0150892, WO10/19570 и WO2014/008218. В одном варианте осуществления антителом против LAG-3 является BMS-986016. Другие известные антитела против LAG-3, которые могут использоваться, включают IMP731 и IMP 321, описанные в US 2011/007023, WO08/132601 и WO09/44273. Антитела против LAG-3, которые конкурируют и/или связываются с тем же эпитопом, что и любое из этих антител, также могут применяться в комбинированном лечении.

В некоторых вариантах осуществления антитело против VISTA согласно изобретению могут вводить в комбинации с агонистом CD137 (4-1BB), таким как агонистическое антитело к CD137. Подходящие антитела к CD137 включают, например, урелумаб или PF-05082566 (W012/32433).

В некоторых вариантах осуществления антитело против VISTA могут вводить в комбинации с агонистом OX40, таким как агонистическое антитело к OX40. Подходящие антитела к OX40 включают, например, MEDI-6383, MEDI-6469 или MOXR0916 (RG7888; WO06/029879).

В одном варианте осуществления антитело против VISTA вводят в комбинации с агонистом CD40, таким как агонистическое антитело к CD40. В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологическое средство является антагонистом CD40, таким как антагонистическое антитело к CD40. Подходящие антитела к CD40 включают, например, лукатумумаб (HCD122), дацетузумаб (SGN-40), CP-870,893 или Chi Lob 7/4.

В одном варианте осуществления антитело против VISTA вводят в комбинации с агонистом CD27, таким как агонистическое антитело к CD27. Подходящие антитела к CD27 включают, например, варлилумаб (CDX-1127).

В некоторых вариантах осуществления антитело против VISTA вводят вместе с антителом против GITR, например, антителом, имеющим CDR-последовательности 6C8, например, гуманизированным антителом, имеющим CDR-области 6C8, как описано, например, в WO2006/105021; антителом, включающим CDR-области антитела против GITR, описанного в WO2011/028683; антителом, включающим CDR-области антитела против GITR, описанного в JP2008278814, антителом, включающим CDR-области антитела против GITR, описанного в WO2015/031667, WO2015/187835, WO2015/184099, WO2016/054638, WO2016/057841 или WO2016/057846, или другим антителом против GITR, описанным или указанным в настоящем документе.

В некоторых вариантах осуществления антитело против VISTA вводят в комбинации с MGA271 (к B7H3) (WO11/109400).

В некоторых вариантах осуществления антитело против VISTA вводят в комбинации с антагонистом KIR, таким как лирилумаб.

В некоторых вариантах осуществления антитело против VISTA вводят в комбинации с антагонистом IDO. Подходящие антагонисты IDO включают, например, INCB 024360 (WO2006/122150, WO07/75598, WO08/36653, WO08/36642), индоксимод, NLG-919 (WO09/73620, WO09/1156652, WO11/56652, WO12/142237) или F001287.

В некоторых вариантах осуществления антитело против VISTA вводят в комбинации с агонистом Toll-подобных рецепторов, например, агонистом TLR2/4 (например, бациллой Кальмета-Герена); агонистом TLR7 (например, Хилтонол или Имиквимод); агонист TLR7/8 (например, Резиквимод); или агонист TLR9 (например, CpG7909).

В одном варианте осуществления антитело против VISTA вводят в комбинации с ингибитором TGF-β, например, GC1008, LY2157299, TEW7197 или IMC-TR1.

В некоторых вариантах осуществления средство против VISTA, например антитело, вводят с антителом против PSGL-1.

Дополнительная комбинированная терапия

Ат в настоящем документе также могут быть представлены до, по существу одновременно или после других методов лечения, например, хирургии, химиотерапии, лучевой терапии или введения биопрепарата, такого как другое терапевтическое антитело. В некоторых вариантах осуществления рак рецидивировал или прогрессировал после терапии, выбранной из хирургии, химиотерапии и лучевой терапии или их комбинации. Например, антитело против VISTA, как описано в настоящем документе, могут вводить в качестве вспомогательной терапии, если существует риск того, что могут присутствовать микрометастазы, и/или чтобы снизить риск рецидива.

Для лечения рака комбинации могут вводить в сочетании с одним или несколькими дополнительными противоопухолевыми средствами, такими как химиотерапевтическое средство, средство, ингибирующее рост, противораковая вакцина, такая как генотерапевтическая вакцина, антиангиогенное средство и/или противоопухолевая композиция. Неограничивающие примеры химиотерапевтического средства, средства, ингибирующего рост, противораковой вакцины, антиангиогенного средства и противоопухолевой композиции, которые могут использоваться в комбинации с антителами согласно настоящему изобретению, представлены в настоящем документе в разделе "Определения".

В некоторых вариантах осуществления с комбинацией могут вводить противовоспалительное средство, такое как стероидное или нестероидное противовоспалительное средство (НПВС). В случаях, когда аберрантно пролиферирующие клетки требуется перевести в состояние покоя в сочетании с лечением или до лечения антителами против VISTA, описанными в настоящем документе, пациенту также могут

вводить гормоны и стероиды (включая синтетические аналоги), такие как 17а-этинилэстрадиол, диэтилстильбестрол, тестостерон, преднизон, флуоксиместерон, дромостанолона пропионат, тестолактон, мегестеролацетат, метилпреднизолон, метилтестостерон, преднизолон, триамцинолон, хлортрианизен, гидроксипрогестерон, аминоглутетимид, эстрамустин, медроксипрогестеронацетат, лейпролид, флутамид, торемифен, ЗОЛАДЕКС®. В случае применения способов или композиций, описанных в настоящем документе, при необходимости также могут вводить другие средства, используемые для модуляции роста или метастазирования опухолей в клинических условиях, такие как антимиметики.

Антитела, описанные в настоящем документе, также могут комбинировать с иммуногенным средством, таким как раковые клетки, очищенные опухолевые антигены (включая рекомбинантные белки, пептиды и молекулы углеводов), клетки и клетки, трансфицированные геном, кодирующим иммуностимулирующие цитокины (He et al.,(2004) J. Immunol. 173:4919-28). Неограничивающие примеры противоопухолевых вакцин, которые могут использоваться, включают пептиды антигенов меланомы, такие как пептиды gp100, антигены MAGE, Trp-2, MART1 и/или тирозиназы, или опухолевые клетки, трансфицированные для экспрессии цитокина ГМ-КСФ (дополнительно обсуждается ниже).

У человека некоторые опухоли, как было показано, являются иммуногенными, например, меланомы. При снижении порога активации Т-клеток путем ингибирования VISTA противоопухолевые ответы у реципиента могут быть активированы, обеспечивая возможность лечения неиммуногенных опухолей или опухолей с ограниченной иммуногенностью.

Антитело против VISTA, описанное в настоящем документе, также могут комбинировать с протоколом вакцинации. Было разработано множество экспериментальных стратегий вакцинации против опухолей (см. Rosenberg, S., 2000, Development of Cancer Vaccines, ASCO Educational Book Spring: 60-62; Logothetis, C, 2000, ASCO Educational Book Spring: 300-302; Khayat, D. 2000, ASCO Educational Book Spring: 414-428; Foon, K. 2000, ASCO Educational Book Spring: 730-738; см. также Restifo, N. and Sznol, M., Cancer Vaccines, Ch. 61, pp. 3023-3043, в публикации DeVita et al. (eds.), 1997, Cancer: Principles and Practice of Oncology, Fifth Edition). В одной из этих стратегий вакцину получают при использовании аутологичных или аллогенных опухолевых клеток. Такие клеточные вакцины, как было показано, были наиболее эффективными, когда опухолевые клетки трансформировали для экспрессии ГМ-КСФ. Было показано, что ГМ-КСФ является мощным активатором презентации антигена для противоопухолевой вакцинации (Dranoff et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci U.S.A. 90: 3539-43).

Исследование экспрессии генов и масштабных профилей экспрессии генов в различных опухолях привело к определению так называемых опухолеспецифических антигенов (Rosenberg, S. A. (1999) Immunity 10:281-7). Во многих случаях эти опухолеспецифические антигены представляют собой антигены дифференцировки,

экспрессируемые в опухолях и в клетке, из которой развилась опухоль, например, меланоцитарные антигены gp100, антигены MAGE и Trp-2. Еще более важно то, что можно показать, что многие из этих антигенов являются мишенями для опухолеспецифических Т-клеток, присутствующих в организме хозяина. Ингибирование VISTA можно применять в сочетании с коллекцией рекомбинантных белков и/или пептидов, экспрессируемых в опухоли, для генерации иммунного ответа на эти белки. Эти белки обычно рассматриваются иммунной системой как свои антигены, и поэтому она к ним толерантна. Опухолевый антиген может включать белок теломеразу, которая требуется для синтеза теломер хромосом и которая экспрессируется более чем в 85% случаев рака у человека и только в ограниченном количестве соматических тканей (Kim et al. (1994) Science 266:2011-2013). Опухолевый антиген также может быть "неоантигеном", экспрессируемым в раковых клетках в результате соматических мутаций, которые изменяют последовательность белка или создают слитые белки между двумя неродственными последовательностями (т.е. bcr-abl в филадельфийской хромосоме), или идиотипом из В-клеточных опухолей.

Другие противоопухолевые вакцины могут включать белки вирусов, участвующих в патогенезе онкологических заболеваний у человека, таких как вирусы папилломы человека (ВПЧ), вирусы гепатита (ВГВ и ВГС) и герпесвирус саркомы Капоши (KHSV). Другой формой опухолеспецифического антигена, который может применяться в сочетании с ингибированием VISTA, являются очищенные белки теплового шока (HSP), выделенные непосредственно из опухолевой ткани. Такие белки теплового шока содержат фрагменты белков из опухолевых клеток, при этом такие HSP высокоэффективны при доставке к антигенпрезентирующим клеткам для индукции противоопухолевого иммунитета (Suot & Srivastava (1995) Science 269: 1585-1588; Tamura et al. (1997) Science 278: 117-120).

Онколитические вирусы также могут применяться в комбинации с антителами к VISTA.

Дендритные клетки (ДК) представляют собой мощные антигенпрезентирующие клетки, которые могут использоваться для примирования антигенспецифических ответов. ДК можно получать *ex vivo* и нагружать различными белковыми и пептидными антигенами, а также экстрактами опухолевых клеток (Nestle et al. (1998) Nature Medicine 4: 328-332). ДК также можно трансдуцировать генно-инженерными методами для экспрессии таких опухолевых антигенов. ДК также были непосредственно слиты с опухолевыми клетками в целях иммунизации (Kugler et al. (2000) Nature Medicine 6:332-336). В качестве способа вакцинации иммунизацию ДК можно эффективно комбинировать с ингибированием VISTA для активации более мощных противоопухолевых ответов.

Лечение инфекционных заболеваний

Способы, описанные в настоящем документе, также можно применять для лечения пациентов, которые подверглись воздействию определенных токсинов или патогенов. Таким образом, в настоящем изобретении также предусмотрены способы лечения инфекционного заболевания у субъекта, включающие введение субъекту антитела, как

описано в настоящем документе, например, антагонистического антитела к VISTA, осуществляя, таким образом, лечение субъекта от инфекционного заболевания. Аналогично применению в отношении опухолей, как обсуждалось выше, антителоопосредованное ингибирование VISTA можно применять отдельно или в качестве адъюванта в комбинации с вакцинами для стимуляции иммунного ответа на патогены, токсины и аутоантигены. Примеры патогенов, против которых такой терапевтический метод может быть особенно полезным, включают патогены, против которых в настоящее время не существует эффективной вакцины, или патогены, против которых обычные вакцины не обладают полной эффективностью. Они включают, без ограничения, ВИЧ, гепатит (A, B и C), грипп, герпес, лямблии, малярию, лейшмании, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*. Ингибирование VISTA может применяться против развившихся инфекций, вызываемых такими агентами, как ВИЧ, которые предоставляют измененные антигены в течение инфекций.

Некоторые примеры патогенных вирусов, вызывающих инфекции, которые можно лечить способами, описанными в настоящем документе, включают ВИЧ, гепатит (A, B или C), вирус герпеса (например, VZV, HSV-1, HAV-6, HSV-II и ЦМВ, вирус Эпштейна-Барр), аденовирус, вирус гриппа, флавивирусы, эховирус, риновирус, вирус Коксаки, коронавирус, респираторно-синцитиальный вирус, вирус паротита, ротавирус, вирус кори, вирус краснухи, парвовирус, вирус осповакцины, вирус HTLV, вирус денге, вирус папилломы, вирус контагиозного моллюска, полиовирус, вирус бешенства, вирус JC и вирус арбовирусного энцефалита.

Некоторые примеры патогенных бактерий, вызывающих инфекции, которые можно лечить способами, описанными в настоящем документе, включают хламидии, риккетсиозные бактерии, микобактерии, стафилококки, стрептококки, пневмококки, менингококки и гонококки, клебсиелы, протей, серрации, псевдомонады, легионеллы, дифтерийную палочку, сальмонеллы, бациллы, холерный вибрион, столбнячную палочку, ботулизм, бациллу сибирской язвы, чумную палочку, лептоспироз и бактерии-возбудители болезни Лайма.

Некоторые примеры патогенных грибов, вызывающих инфекции, которые можно лечить способами, описанными в настоящем документе, включают *Candida* (*albicans*, *krusei*, *glabrata*, *tropicalis* и т.д.), *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus* (*fumigatus*, *niger* и т.д.), *Genus Mucorales* (*mucor*, *absidia*, *rhizopus*), *Sporothrix schenkii*, *Blastomyces dermatitidis*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Coccidioides immitis* и *Histoplasma capsulatum*.

Некоторые примеры патогенных паразитов, вызывающих инфекции, которые можно лечить способами, описанными в настоящем документе, включают *Entamoeba histolytica*, *Balantidium coli*, *Naegleriafowleri*, *Acanthamoeba* sp., *Giardia lambia*, *Cryptosporidium* sp., *Pneumocystis carinii*, *Plasmodiumvivax*, *Babesia microti*, *Trypanosoma brucei*, *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania donovani*, *Toxoplasma gondii* и *Nippostrongylus brasiliensis*.

Во всех описанных выше способах ингибирование VISTA можно комбинировать с другими формами иммунотерапии, например, описанными в настоящем документе, такими

как лечение цитокинами (например, интерферонами, ГМ-КСФ, Г-КСФ, IL-2), или терапия биспецифичными антителами, которая может предусматривать улучшенное презентирование опухолевых антигенов (см., например, Holliger (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448; Poljak (1994) Structure 2: 1121-1123).

Пути введения и носители

В различных вариантах осуществления, антитела могут вводить *in vivo* различными путями, включая, без ограничения, пероральный, внутриартериальный, парентеральный, интраназальный, внутримышечный, внутрисердечный, внутрижелудочковый, интратрахеальный, буккальный, ректальный, внутрибрюшинный, внутрикожный, наружный, трансдермальный и интратекальный, или иным образом, путем имплантации или ингаляции. Рассматриваемые композиции могут быть изготовлены в виде препаратов в твердой, полутвердой, жидкой или газообразной формах; включая, без ограничения, таблетки, капсулы, порошки, гранулы, мази, растворы, суппозитории, промывательные растворы, препараты для инъекций, ингаляции и аэрозоли. Молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая антитело, может быть нанесена на микрочастицы золота и доставлена внутрикожно с помощью устройства для бомбардировки частицами или "генной пушки", как описано в литературе (см., например, Tang et al., Nature 356:152-154 (1992)). Подходящий состав и способ введения могут быть выбраны в соответствии с предполагаемым применением.

В различных вариантах осуществления включающие антитела композиции могут быть предоставлены в составах с различными фармацевтически приемлемыми носителями (см., например, Gennaro, Remington: The Science and Practice of Pharmacy with Facts and Comparisons: Drugfacts Plus, 20th ed. (2003); Ansel et al., Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 7th ed., Lippencott Williams and Wilkins (2004); Kibbe et al., Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3rd ed., Pharmaceutical Press (2000)). Доступны различные фармацевтически приемлемые носители, которые включают носители, адъюванты и разбавители. Кроме того, также доступны различные фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества, такие как регуляторы pH и буферные вещества, вещества, регулирующие тоничность, стабилизаторы, смачивающие вещества и т.п. Неограничивающие примеры носителей включают раствор хлорида натрия, забуференный раствор хлорида натрия, декстрозу, воду, глицерин, этанол и их комбинации.

В различных вариантах осуществления включающие антитела композиции могут быть изготовлены для инъекций, включая подкожное введение, путем их растворения, суспендирования или эмульгирования в водном или неводном растворителе, таком как растительные или другие масла, синтетические глицериды алифатических кислот, сложные эфиры высших алифатических кислот или пропиленгликоль; и, при необходимости, со стандартными добавками, такими как солюбилизаторы, изотонические вещества, суспендирующие вещества, эмульгирующие вещества, стабилизаторы и консерванты. В различных вариантах осуществления композиции могут быть изготовлены для ингаляции, например, с применением подходящих пропеллентов под давлением, таких как

дихлордифторметан, пропан, азот и т.п. В различных вариантах осуществления композиции также могут быть изготовлены в виде микрокапсул с замедленным высвобождением, например, с биоразлагаемыми или бионеразлагаемыми полимерами. Неограничивающий пример биоразлагаемого состава включает полимер полимолочной кислоты-гликолевой кислоты. Неограничивающий пример бионеразлагаемого состава включает полимер сложного эфира глицерина и жирной кислоты. Некоторые способы получения таких составов описаны, например, в EP 1 125 584 A1.

Также предложены фармацевтические упаковки и наборы, включающие один или более контейнеров, каждый из которых содержит одну или более доз антитела или комбинации антител. В некоторых вариантах осуществления предоставляют стандартную дозу, при этом стандартная доза содержит установленное количество композиции, содержащей антитело или комбинацию антител, с одним или более дополнительными средствами или без них. В некоторых вариантах осуществления такая стандартная доза поставляется в одноразовом предварительно заполненном шприце для инъекции. В различных вариантах осуществления композиция, содержащаяся в стандартной дозе, может включать раствор хлорида натрия, сахарозу или т.п.; буфер, такой как фосфатный и т.п.; и/или может быть изготовлена в стабильном и эффективном диапазоне pH. В альтернативе, в некоторых вариантах осуществления композиция может быть представлена в виде лиофилизированного порошка, который может быть восстановлен при добавлении соответствующей жидкости, например, стерильной воды. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит одно или более веществ, которые ингибируют агрегацию белков, включающие, без ограничения, сахарозу и аргинин. В некоторых вариантах осуществления композиция согласно изобретению содержит гепарин и/или протеогликан.

Фармацевтические композиции вводят в количестве, эффективном для лечения или профилактики определенного показания. Терапевтически эффективное количество обычно зависит от веса субъекта, подвергаемого лечению, его или ее физического состояния или состояния здоровья, масштаба состояния, подвергаемого лечению, или возраста подвергаемого лечению субъекта. Как правило, антитела могут вводить в количестве в пределах от приблизительно 10 мкг/кг массы тела до приблизительно 100 мг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления антитела могут вводить в количестве в пределах от приблизительно 50 мкг/кг массы тела до приблизительно 5 мг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления антитела могут вводить в количестве в пределах от приблизительно 100 мкг/кг массы тела до приблизительно 10 мг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления антитела могут вводить в количестве в пределах от приблизительно 100 мкг/кг массы тела до приблизительно 20 мг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления антитела могут вводить в количестве в пределах от приблизительно 0,5 мг/кг массы тела до приблизительно 20 мг/кг массы тела на дозу.

Композиции антител могут вводить субъектам в случае необходимости.

Определение частоты введения может быть выполнено специалистами в данной области, такими как лечащий врач, на основе рассмотрения состояния, подвергаемого лечению, возраста субъекта, подвергаемого лечению, тяжести состояния, подвергаемого лечению, общего состояния здоровья субъекта, подвергаемого лечению, и т.п. В некоторых вариантах осуществления эффективную дозу антитела вводят субъекту один или более раз. В различных вариантах осуществления эффективную дозу антитела вводят субъекту один раз в месяц, менее одного раза в месяц, например, раз в два месяца или раз в три месяца. В других вариантах осуществления эффективную дозу антитела вводят более одного раза в месяц, например, раз в три недели, раз в две недели или раз в неделю. В некоторых вариантах осуществления эффективную дозу антитела вводят один раз в 1, 2, 3, 4 или 5 недель. В некоторых вариантах осуществления эффективную дозу антитела вводят два или три раза в неделю. Эффективную дозу антитела вводят субъекту по меньшей мере один раз. В некоторых вариантах осуществления эффективную дозу антитела могут вводить несколько раз, в том числе в течение периодов длительностью по меньшей мере месяц, по меньшей мере шесть месяцев или по меньшей мере год.

В некоторых вариантах осуществления комбинацию антитела против VISTA и второго средства, обсуждаемого в настоящем документе, могут вводить одновременно в виде одной композиции в фармацевтически приемлемом носителе или одновременно, в виде отдельных композиций, с антителом против VISTA и вторым средством в фармацевтически приемлемом носителе. В одном варианте осуществления комбинацию антитела против VISTA и второго средства могут вводить последовательно. Введение двух средств могут начинать в моменты времени, например, с интервалом 30 минут, 60 минут, 90 минут, 120 минут, 3 часа, 6 часов, 12 часов, 24 часа, 36 часов, 48 часов, 3 дня, 5 дней, 7 дней или одну или более недель, или введение второго средства могут начинать, например, через 30 минут, 60 минут, 90 минут, 120 минут, 3 часа, 6 часов, 12 часов, 24 часа, 36 часов, 48 часов, 3 дня, 5 дней, 7 дней или одну или более недель после введения первого средства.

Способы идентификации антител, связывающих hVISTA-ECD при низком pH

Также в настоящем документе предложены способы идентификации антител, которые специфично связываются с белком VISTA-ECD в кислотных условиях (или при низком pH). В некоторых вариантах осуществления способ идентификации Ат, которое специфично связывается с белком VISTA-ECD при pH 6,5 или меньше, включает контакт тестируемого Ат или множества тестируемых Ат с белком VISTA-ECD при pH 6,5 или меньше, и отбор тестируемого Ат, если оно связывается с ECD белка VISTA с K_D 10^{-7} M, 10^{-8} M, 10^{-9} M или меньше. В некоторых вариантах осуществления способ проводят при pH 6,5, тогда как в других случаях его проводят при pH 6,0, или при pH 5,5, или при pH 5,0. В некоторых вариантах осуществления белок VISTA-ECD является белком hVISTA-ECD или включает IgV домен hVISTA, или является полипептидом, включающим аминокислоты 20-95 SEQ ID NO:2 или аминокислоты 20-70, 35-95, или 35-70 SEQ ID NO:2. В некоторых вариантах осуществления полипептид также включает аминокислоты 95-105 SEQ ID NO:2. В некоторых вариантах осуществления полипептид включает аминокислоты 35-127 или 37-

125 SEQ ID NO:2.

В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает тестирование связывания тестируемого Ат или множества тестируемых Ат при нейтральном, физиологическом или щелочном pH, например, при pH 7,0 или pH 7,4. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает отбор антитела, если оно не только связывается с белком VISTA-ECD с K_D 10^{-7} M, 10^{-8} M, 10^{-9} M или меньше при pH 6,5 или ниже, но и также если оно специфично связывается с полипептидом при pH 7,0 или pH 7,4. В некоторых вариантах осуществления тестируемые Ат отбирают, если они специфично связываются с белком VISTA-ECD в кислотных условиях, например, при pH 6,5 или меньше, а также специфично связывают белок VISTA-ECD при нейтральном и/или щелочном pH с подобной аффинностью (т.е. они являются "универсальными связывающими средствами"). Например, некоторые такие Ат могут связываться с белком VISTA-ECD с K_D 10^{-7} M, 10^{-8} M, 10^{-9} M или меньше как при pH 6,5, так и при pH 7,0 или pH 7,4 (при постоянной температуре, например, при 25°C или при 37°C), таким образом, что K_D при pH 6,5 в 1,5 раза больше K_D при pH 7,0.

Некоторые Ат могут быть отобраны, если они специфично связываются с белком VISTA-ECD в кислотных условиях, например, при pH 6,5 или меньше, с более высокой аффинностью, чем при нейтральном или щелочном pH ("pH-чувствительные связывающие средства" или "pH-чувствительные антитела"). Например, в некоторых вариантах осуществления Ат могут связываться с белком VISTA-ECD с K_D 10^{-8} M или меньше при pH 6,5 и с K_D больше 10^{-8} M при pH 7,0 или pH 7,4. В некоторых таких вариантах осуществления Ат могут связываться с белком VISTA-ECD с K_D 10^{-8} M или меньше при pH 6,5 и с K_D при pH 7,0 или pH 7,4, которая больше чем в 1,5 раза выше, чем K_D при pH 6,5. В некоторых вариантах осуществления pH-чувствительное Ат отбирают, если оно специфично связывается с белком VISTA-ECD с K_D, которая по меньшей мере в 1,5 раза, 2 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 50 раз, 100 раз, 300 раз, 500 раз, 1000 раз или 5000 раз ниже при pH 6,5, чем при pH 7,0 или pH 7,4 (при постоянной температуре, например, при 25°C или при 37°C). Например, в некоторых случаях Ат отбирают, если оно связывается с белком VISTA-ECD с K_D, которая по меньшей мере в 1,5 раза, 2 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 50 раз, 100 раз, 300 раз, 500 раз, 1000 раз или 5000 раз меньше при pH 6,0, чем при pH 7,0 или pH 7,4 или выше (при постоянной температуре, например, при 25°C или при 37°C).

В некоторых вариантах осуществления Ат отбирают, если оно специфично связывается с белком VISTA-ECD с k_{off}, которая ниже в кислотных условиях по сравнению с k_{off} в нейтральных, физиологических или щелочных условиях. В некоторых вариантах осуществления Ат отбирают, если оно связывается с белком VISTA-ECD в кислотных условиях с k_{off}, которая по меньшей мере в 1,5 раза, 2 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 50 раз или 100 раз ниже при pH 6,5, чем k_{off} при pH 7,0 или pH 7,4, при измерении, например, при 25°C или при 37°C. Например, в некоторых вариантах осуществления Ат отбирают, если оно связывается с белком VISTA-ECD с k_{off}, которая по меньшей мере в 1,5 раза, 2 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 50 раз или 100 раз ниже при pH 6,0 по сравнению с pH 7,0 или pH 7,4, при

измерении, например, при 25°C или при 37°C.

В некоторых вариантах осуществления Ат отбирают, если оно связывается с белком VISTA-ECD с k_{on}, которая выше в кислотных условиях по сравнению с нейтральными или щелочными условиями. В некоторых вариантах осуществления Ат отбирают, если оно связывается с белком VISTA-ECD в кислотных условиях с k_{on}, которая по меньшей мере в 2 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 50 раз или 100 раз выше при pH 6,5, чем k_{on} при pH 7,0 или pH 7,4, при измерении, например, при 25°C или при 37°C. Например, в некоторых вариантах осуществления Ат отбирают, если оно связывается с белком VISTA-ECD с k_{on}, которая по меньшей мере в 2 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 50 раз или 100 раз выше при pH 6,0, чем при pH 7,0 или pH 7,4, при измерении, например, при 25°C или при 37°C.

Способы изменения pH-чувствительности VISTA-ECD связывающих антител

Ат, которое связывается с белком VISTA-ECD, но не связывается с ним при pH 6,5 или меньше, или не связывается с ним с высокой аффинностью при pH 6,5 или меньше, может быть модифицировано для повышения его аффинности связывания при pH 6,5 или ниже. Например, паратоп антитела может быть подвергнут мутации, например, путем замены одного или более аминокислотных остатков. Например, в некоторых вариантах осуществления 1-8, например, 1-6, 1-4, 1-3, 1-2 или 1 аминокислотный остаток в тяжелой или легкой цепи Ат, которые являются остатками контакта с VISTA-ECD (например, остатками в одной или более CDR-областей), могут быть заменены другим аминокислотным остатком. Затем мутантное Ат могут тестировать на связывание с белком VISTA-ECD при pH 6,5 или меньше, и при этом могут отбирать варианты Ат, связывающиеся с более высокой аффинностью, чем исходное антитело. При необходимости этапы выше могут повторять так, чтобы два или более раундов мутагенеза и отбора были выполнены с антителами, и отобраны антитела, связывающиеся с наиболее высокой аффинностью при кислотном pH. В некоторых вариантах осуществления такие отборы могут повышать противоопухолевую эффективность получаемого в результате антитела по сравнению с исходным антителом.

Вышеуказанный способ отбора может быть также разработан в соответствии с ранее описанным общим отбором антител, специфично связывающих белок VISTA-ECD. А именно, в некоторых вариантах осуществления, улучшенное Ат отбирают, если оно связывается с ECD белка VISTA с K_D 10^{-8} M или меньше при pH 6,5. В некоторых вариантах осуществления отбор производят при pH 6,0, или при pH 5,5, или при pH 5,0 вместо pH 6,5. В некоторых вариантах осуществления белок VISTA-ECD, используемый для процесса отбора, является полным белком hVISTA-ECD или является полипептидом, который включает IgV домен hVISTA, или является полипептидом, включающим аминокислоты 20-95 SEQ ID NO:2 или аминокислоты 20-70, 35-95 или 35-70 SEQ ID NO:2. В некоторых вариантах осуществления полипептид также включает аминокислоты 95-105 SEQ ID NO:2. В некотором варианте осуществления используется полипептид, включающий аминокислотные остатки 35-127 SEQ ID NO: 2.

В некоторых вариантах осуществления способ улучшения связывания антитела к

VISTA с VISTA ECD при кислотном pH включает увеличение количества остатков глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты и/или гистидина в одной или более CDR-областях VH или VL, например, CDR1, CDR2 и CDR3 VH или только CDR1 и CDR3 VH. В некоторых вариантах осуществления способ включает увеличение количества остатков глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты и/или гистидина в областях антитела, которые контактируют с hVISTA, как определено, например, с помощью кристаллографии.

В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает тестирование связывания отобранного Ат при нейтральном, щелочном или физиологическом pH, например, при pH 7,0 или 7,4. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает отбор антитела, если оно не только связывается с белком VISTA-ECD с K_D 10^{-8} М или меньше при pH 6,5 или ниже, но и если также оно специфично связывается с полипептидом при pH 7,0 или 7,4. В некоторых таких вариантах осуществления Ат отбирают, если оно специфично связывается с белком VISTA-ECD в кислотных условиях, например, при pH 6,5 или меньше, а также специфично связывает белок VISTA-ECD при нейтральном и/или щелочном, или физиологическом pH с подобной аффинностью (т.е. они являются "универсальными связывающими средствами"). Например, некоторые такие Ат могут связываться с белком VISTA-ECD с K_D 10^{-8} М или меньше как при pH 6,5, так и при pH 7,0 (при постоянной температуре, например, при 25°C или при 37°C), таким образом, что K_D при pH 6,5 в 1,5 раза больше K_D при pH 7,0 или при pH 7,4.

Некоторые Ат могут быть отобраны, если они специфично связываются с белком VISTA-ECD в кислотных условиях, например, при pH 6,5 или меньше, с более высокой аффинностью, чем при нейтральном, физиологическом или щелочном pH ("pH-чувствительные связывающие средства" или "pH-чувствительные Ат"). Например, в некоторых вариантах осуществления Ат могут связываться с белком VISTA-ECD с K_D 10^{-8} М или меньше при pH 6,5 и с K_D больше 10^{-8} М при pH 7,0. В некоторых таких вариантах осуществления Ат могут связываться с белком VISTA-ECD с K_D 10^{-8} М или меньше при pH 6,5 и с K_D при pH 7,0, которая больше чем в 1,5 раза выше, чем K_D при pH 6,5. В некоторых вариантах осуществления pH-чувствительное Ат отбирают, если оно специфично связывается с белком VISTA-ECD с K_D, которая по меньшей мере в 1,5 раза, 2 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 50 раз, 100 раз, 300 раз, 500 раз, 1000 раз или 5000 раз ниже при pH 6,5, чем при pH 7,0 или pH 7,4 (при постоянной температуре, например, при 25°C или при 37°C). Например, в некоторых случаях Ат отбирают, если оно связывается с белком VISTA-ECD с K_D, которая по меньшей мере в 1,5 раза, 2 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 50 раз, 100 раз, 300 раз, 500 раз, 1000 раз или 5000 раз меньше при pH 6,0 по сравнению с pH 7,0 или pH 7,4 или выше (при постоянной температуре, например, при 25°C или при 37°C).

В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает определение k_{off} при двух значениях pH. В некоторых таких вариантах осуществления Ат отбирают, если оно специфично связывается с белком VISTA-ECD с k_{off}, которая ниже в кислотных условиях по сравнению с k_{off} в нейтральных, физиологических или щелочных

условиях. В некоторых вариантах осуществления Ат отбирают, если оно связывается с белком VISTA-ECD в, кислые условия с k_{off}, которая по меньшей мере 1,5 раза, 2 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 50 раз или 100 раз ниже при pH 6,5, чем k_{off} при pH 7,0 или pH 7,4, при измерении, например, при 25°C или при 37°C. Например, в некоторых вариантах осуществления Ат отбирают, если оно связывается с белком VISTA-ECD с k_{off}, которая по меньшей мере в 1,5 раза, 2 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 50 раз или 100 раз ниже при pH 6,0 по сравнению с pH 7,0, при измерении, например, при 25°C или при 37°C.

В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает определение k_{on} при двух значениях pH. В некоторых таких вариантах осуществления Ат отбирают, если оно связывается с белком VISTA-ECD с k_{on}, которая выше в кислотных условиях по сравнению с нейтральными, физиологическими или щелочными условиями. В некоторых вариантах осуществления Ат отбирают, если оно связывается с белком VISTA-ECD в кислотных условиях с k_{on}, которая по меньшей мере в 2 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 50 раз или 100 раз выше при pH 6,5, чем k_{on} при pH 7,0 или pH 7,4, при измерении, например, при 25°C или при 37°C. Например, в некоторых вариантах осуществления Ат отбирают, если оно связывается с белком VISTA-ECD с k_{on}, которая по меньшей мере в 2 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 50 раз или 100 раз выше при pH 6,0, чем при pH 7,0 или pH 7,4, при измерении, например, при 25°C или при 37°C.

Антитела, которые избирательно связываются с huVISTA при кислотном pH по сравнению с нейтральным или физиологическим pH, могут быть идентифицированы путем положительного скрининга библиотеки антител к VISTA или Fab или scFv фрагментов на связывание при кислотном pH, например pH 6,0 или 6,5, и отрицательного скрининга библиотеки на отсутствие связывания при нейтральном pH, например pH 7,0, или физиологическом pH, например pH 7,4. Библиотека может быть обогащена по остаткам глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты и гистидина, например, для отбора связывающих доменов, которые могут быть заряжены и могут с более высокой вероятностью связываться с VISTA при кислотном pH. Скрининг может включать положительный отбор при кислотном pH и отрицательные отборы при нейтральном или физиологическом pH. Положительные и отрицательные отборы могут чередоваться.

В альтернативе антитело, связывающееся с VISTA при нейтральном и кислотном pH, может быть модифицировано таким образом, чтобы оно не связывалось при нейтральном pH с сохранением или даже усилением связывания при кислотном pH. Например, библиотека может быть создана путем замены аминокислотных остатков VH и, необязательно, VL, например, в одной или нескольких CDR-областях, и скрининга библиотеки путем положительной селекции на антитела, которые связываются с hVISTA при кислотном pH, и отрицательной селекции на антитела, которые не связываются с VISTA при нейтральном (или физиологическом) pH. Аналогичный способ может применяться для создания связывающих антител к VISTA, обладающих требуемым pH-селективным, pH-зависимым или pH-независимым профилем связывания VISTA.

Определенные варианты осуществления

Дополнительные варианты осуществления настоящего изобретения включают следующее:

1. Выделенное антитело (Ат), которое специфично связывается с внеклеточным доменом (ECD) содержащего V-домен иммуноглобулина супрессора активации Т-клеток человека (hVISTA), где Ат:

a. Связывается с hVISTA-ECD при pH 6,5 или меньше с константой аффинности (K_D) 10^{-7} М или меньше;

b. Связывается с hVISTA-ECD при pH 6,5 или меньше с константой скорости диссоциации (k_{off}) 10^{-3} сек$^{-1}$ или меньше; или

c. Связывается с hVISTA-ECD при pH 6,5 или меньше с K_D 10^{-7} М или меньше и k_{off} 10^{-3} сек$^{-1}$ или меньше.

2. Выделенное Ат согласно варианту осуществления 1, где Ат связывается с hVISTA-ECD при pH 6,5 или меньше с K_D 10^{-8} М или меньше.

3. Выделенное Ат согласно варианту осуществления 2, где Ат связывается с hVISTA-ECD при pH 6,5 или меньше с K_D 10^{-9} М или меньше.

4. Выделенное Ат согласно любому из вариантов осуществления 1-3, где Ат связывается с hVISTA-ECD при pH 6,5 или меньше с k_{off} 10^{-4} сек$^{-1}$ или меньше.

5. Выделенное Ат согласно любому из вариантов осуществления 1-4, где Ат связывается с hVISTA-ECD при pH 7,0 или выше с:

a. K_D 10^{-7} М или меньше;

b. k_{off} 10^{-3} сек$^{-1}$ или меньше; или

c. K_D 10^{-7} М или меньше и k_{off} 10^{-3} сек$^{-1}$ или меньше.

6. Выделенное Ат согласно варианту осуществления 5, где Ат связывается с hVISTA-ECD при pH 7,0 или выше с KD 10-8 М или меньше.

7. Выделенное Ат согласно варианту осуществления 6, где Ат связывается с hVISTA-ECD при pH 7,0 или выше с K_D 10^{-9} М или меньше.

8. Выделенное Ат согласно любому из вариантов осуществления 5-7, где Ат связывается с hVISTA-ECD при pH 7,0 или выше с k_{off} 10^{-4} сек$^{-1}$ или меньше.

9. Выделенное Ат согласно любому из вариантов осуществления 5-8, где Ат связывается с hVISTA-ECD при pH 6,5 с аналогичной аффинностью, как при pH 7,0.

10. Выделенное Ат согласно варианту осуществления 9, где Ат связывается с hVISTA-ECD при pH 6,5 с более высокой аффинностью, чем при pH 7,0.

11. Выделенное Ат согласно варианту осуществления 10, где Ат связывается с hVISTA-ECD при pH 6,5 с K_D, которая по меньшей мере в 1,5 раз ниже, чем K_D при pH 7,0.

12. Выделенное Ат согласно варианту осуществления 11, где Ат связывается с hVISTA-ECD при pH 6,5 с K_D, которая по меньшей мере в 2 раза ниже, чем K_D при pH 7,0.

13. Выделенное Ат согласно варианту осуществления 11, где Ат связывается с hVISTA-ECD при pH 6,5 с K_D, которая по меньшей мере в 5 раз ниже, чем K_D при pH 7,0.

14. Выделенное Ат согласно любому из вариантов осуществления 10-13, где Ат связывается с hVISTA-ECD при pH 6,5 с k_{off}, которая ниже, чем k_{off} при pH 7,0.

15. Выделенное Ат согласно варианту осуществления 14, где Ат связывается с hVISTA-ECD при pH 6,5 с k_{off}, которая по меньшей мере в 1,5 раза ниже, чем k_{off} при pH 7,0.

16. Выделенное Ат согласно варианту осуществления 15, где Ат связывается с hVISTA-ECD при pH 6,5 с k_{off}, которая по меньшей мере в 2 раза ниже, чем k_{off} при pH 7,0.

17. Выделенное Ат согласно варианту осуществления 16, где Ат связывается с hVISTA-ECD при pH 6,5 с k_{off}, которая по меньшей мере в 5 раз ниже, чем k_{off} при pH 7,0.

18. Выделенное Ат согласно любому из вариантов осуществления 1-17, где Ат специфично связывается с hVISTA-ECD при условиях, в которых по меньшей мере один остаток гистидина hVISTA-ECD протонирован.

19. Выделенное Ат согласно варианту осуществления 18, где Ат связывается с IgV доменом hVISTA-ECD.

20. Выделенное Ат согласно варианту осуществления 19, где Ат связывается с областью, расположенной между аминокислотами 20 и 95 SEQ ID NO:2.

21. Выделенное Ат согласно варианту осуществления 20, где Ат связывается с областью, расположенной между аминокислотами 20 и 70 SEQ ID NO:2.

22. Выделенное Ат согласно варианту осуществления 21, где Ат связывается с областью, расположенной между аминокислотами 35 и 70 SEQ ID NO:2.

23. Выделенное Ат согласно любому из вариантов осуществления 20-22, где Ат также связывается с другой областью ECD hVISTA.

24. Выделенное Ат согласно варианту осуществления 23, где другая область расположена между аминокислотами 95 и 105 SEQ ID NO:2.

25. Выделенное Ат согласно любому из вариантов осуществления 18-24, где связывание определяют с помощью масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена (HDX-MS).

26. Выделенное Ат согласно любому из вариантов осуществления 1-25, где Ат ингибирует связывание hVISTA с клеткой, с которой hVISTA связывался бы в ином случае.

27. Выделенное Ат согласно любому из вариантов осуществления 1-26, где Ат вызывает или усиливает иммунный ответ в модели опухоли.

28. Выделенное Ат согласно варианту осуществления 27, где Ат вызывает или усиливает Т-клеточную активность в модели опухоли.

29. Выделенное Ат согласно любому из вариантов осуществления 1-28, где Ат ингибирует рост опухоли в модели опухоли.

30. Выделенное Ат согласно любому из вариантов осуществления 1-29, где Ат ингибирует связывание hVISTA с Т-клетками.

31. Ат согласно варианту осуществления 30, где Ат более сильно ингибирует связывание hVISTA с Т-клетками при pH 6,5 или меньше, чем при pH 7,0 или выше, например, где антитело более сильно ингибирует связывание hVISTA с Т-клетками при pH 6,5, чем при pH 7,0.

32. Композиция, включающая выделенное Ат согласно любому из вариантов

осуществления 1-31 и фармацевтически приемлемый носитель.

33. Способ лечения субъекта, имеющего рак, включающий введение субъекту композиции согласно варианту осуществления 32.

34. Способ идентификации Ат, которое связывается с hVISTA-ECD при pH 6,5 или меньше с K_D 10^{-7} M или меньше, включающий контакт тестируемого Ат или множества тестируемых Ат с полипептидом, включающим hVISTA-ECD или его фрагмент, включающий IgV домен hVISTA-ECD или включающий аминокислоты 20-95, 20-70 или 35-70 SEQ ID NO:2, при pH 6,5 или меньше, и отбор тестируемого Ат или Ат, которые связываются с полипептидом с K_D 10^{-7} M или меньше.

35. Способ идентификации Ат, которое связывается с hVISTA-ECD при pH 6,5 или меньше с k_{off} 10^{-3} сек$^{-1}$ или меньше, включающий контакт тестируемого Ат или множества тестируемых Ат с полипептидом, включающим hVISTA-ECD или его фрагмент, включающий IgV домен hVISTA-ECD или включающий аминокислоты 20-95, 20-70 или 35-70 SEQ ID NO:2, при pH 6,5 или меньше, и отбор тестируемого Ат или Ат, которые связываются с полипептидом с k_{off} 10^{-3} сек$^{-1}$ или меньше.

36. Способ идентификации Ат, которое специфично связывается с hVISTA-ECD при pH 6,5 с аналогичной аффинностью при pH 7,0, включающий:

a. контакт тестируемого Ат или множества тестируемых Ат при pH 6,5 с полипептидом, включающим hVISTA-ECD или его фрагмент, включающий IgV домен hVISTA-ECD или включающий аминокислоты 20-95, 20-70 или 35-70 SEQ ID NO:2;

b. контакт тестируемого Ат или множества тестируемых Ат при pH 7,0 с полипептидом (a); и

c. отбор тестируемого Ат, если оно связывается с полипептидом с K_D 10^{-7} M или меньше при pH 6,5 и при pH 7,0.

37. Способ идентификации Ат, которое связывается с более высокой аффинностью с hVISTA-ECD при pH 6,5, чем при pH 7,0, включающий:

a. контакт тестируемого Ат или множества тестируемых Ат при pH 6,5 с полипептидом, включающим hVISTA-ECD или его фрагмент, включающий IgV домен hVISTA-ECD или включающий аминокислоты 20-95, 20-70 или 35-70 SEQ ID NO:2;

b. контакт тестируемого Ат или множества тестируемых Ат при pH 7,0 с полипептидом (a); и

c. отбор тестируемого Ат, если оно связывается с полипептидом с K_D, которая по меньшей мере в 2 раза ниже при pH 6,5, чем при pH 7,0.

38. Способ идентификации Ат, которое специфично связывается с hVISTA-ECD, для применения в лечении рака, включающий:

a. идентификацию Ат, которое специфично связывается с hVISTA-ECD при pH 6,5 или меньше, например, согласно способам вариантов осуществления 32-35; и

b. отбор Ат (a), которые вызывают или усиливают иммунный ответ в модели опухоли или ингибируют рост опухоли при pH 6,5 или меньше.

39. Способ согласно варианту осуществления 38, где этап (b) включает измерение

активности Т-клеток.

40. Способ согласно варианту осуществления 38 или 39, дополнительно включающий измерение противоопухолевого эффекта Ат.

41. Способ повышения противоопухолевой эффективности Ат, которое связывается с hVISTA-ECD, включающий:

a. Получение Ат, которое связывается с hVISTA-ECD при pH 6,5 или меньше с аффинностью, которая меньше, чем требуемое значение, например, с K_D 10^{-7} M или больше, например, 10^{-6} M, 10^{-5} M или больше, и/или k_{off} 10^{-2} $сек^{-1}$ или больше;

b. Замену 1-5 аминокислотных остатков в тяжелой или легкой цепи Ат другим аминокислотным остатком, где 1-5 аминокислотных остатков являются остатками контакта с hVISTA-ECD;

c. Определение, обладает ли Ат, полученное в (b), более высокой аффинностью к hVISTA-ECD при pH 6,5 или меньше по сравнению с Ат из (a); и

d. Повтор этапов (a)-(c) в некотором количестве раундов, достаточном для получения Ат, которое связывается с hVISTA-ECD при pH 6,5 или меньше с K_D 10^{-7} M или меньше.

42. Способ повышения противоопухолевой эффективности Ат, которое связывается с hVISTA-ECD, включающий:

a. Получение Ат, которое связывается с hVISTA-ECD при pH 6,5 или меньше с аффинностью, которая меньше, чем требуемое значение, например, с K_D 10^{-7} M или больше, например, 10^{-6} M, 10^{-5} M или больше и/или k_{off} 10^{-2} $сек^{-1}$ или больше;

b. Получение библиотеки вариантов Ат (a), где каждый вариант включает замену 1-5 аминокислотных остатков в тяжелой или легкой цепи Ат другим аминокислотным остатком, где 1-5 аминокислотных остатков являются остатками контакта с hVISTA-ECD;

c. Отбор антител из библиотеки вариантов (b), которые связываются с hVISTA-ECD при pH 6,5 или меньше с K_D 10^{-7} M или меньше; и необязательно,

d. Тестирование противоопухолевой эффективности антител (c) в модели опухоли.

43. Способ улучшения фармакокинетики антитела, которое связывается с ECD VISTA человека, включающий повышение способности антитела связываться с VISTA человека в кислотных условиях, например, равных или ниже, чем pH 6,5.

44. Способ отбора антитела, которое связывается с VISTA человека и имеет увеличенный полупериода существования (хорошие фармакокинетические свойства), где способ включает отбор антитела, которое связывается с VISTA человека в кислотных условиях, например, равных или ниже, чем pH 6,5.

Другие примерные варианты осуществления представлены в формуле изобретения ниже.

ПРИМЕРЫ

Примеры, обсуждаемые ниже, предназначены исключительно для иллюстрации изобретения и никоим образом не должны рассматриваться как ограничение изобретения. Примеры не предназначены для демонстрации того, что приведенные ниже эксперименты

являются всеми или единственными выполненными экспериментами. Были предприняты усилия для обеспечения точности используемых числовых значений (например, количеств, температур и т.д.), однако следует учитывать некоторые экспериментальные ошибки и отклонения. Если не указано иное, части являются массовыми частями, молекулярная масса является средней молекулярной массой, температура указана в градусах Цельсия, а давление равно или приближено к атмосферному.

Пример 1: Внеклеточный домен VISTA исключительно богат гистидинами

Данный пример показывает, что внеклеточный домен VISTA исключительно богат остатками гистидина, что эти остатки гистидина являются эволюционно консервативными, и что они могут способствовать взаимодействиям рецептора-лиганда при участии VISTA.

Аминокислотные последовательности внеклеточных доменов (ECD) белков, содержащих домен иммуноглобулина, были получены из баз данных uniprot и swiss-prot и проанализированы на содержание гистидина. На Фиг. 1A представлены результаты этого анализа в виде графика. Для каждого белка частота остатков гистидина в процентах от всех аминокислотных остатков внеклеточного домена отложена по оси y, а общее количество аминокислотных остатков внеклеточного домена отложено по оси x. Диаметр каждой точки данных соответствует общему количеству остатков гистидина во внеклеточном домене каждого белка. VISTA (отмечен) содержит исключительно высокую частоту остатков гистидина во внеклеточном домене.

Затем оценивали эволюционную консервативность остатков гистидина в VISTA. На Фиг. 1B показаны референсные аминокислотные последовательности VISTA человека, яванского макака и мыши, которые были выровнены, за исключением сигнальных пептидов ("Sig"), трансмембранных доменов ("TMD") и внутриклеточных доменов. Остатки гистидина, консервативные для всех трех видов, выделены жирным шрифтом и подчеркнуты. Остатки гистидина, консервативные в VISTA человека и циномолгуса, выделены жирным шрифтом без подчеркивания. Многие остатки гистидина во внеклеточном домене VISTA эволюционно консервативны, что предполагает важную биологическую роль высокого содержания гистидина в VISTA.

Трехмерная модель IgV домена hVISTA была создана на основе анализа гомологии последовательностей для доступных установленных структур в базе данных PDB. Модель, показанная на Фиг. 1C, указывает, что многие гистидины в ECD VISTA экспонированы на поверхности молекулы, где они могут играть некоторую роль в связывании лиганда, а также в распознавании антител. Остатки гистидина показаны в виде шаров и стержней.

Пример 2: Протонирование гистидина может регулировать связывание рецептора-лиганда VISTA и иммуносупрессорную активность в опухолях и других кислотных микроокружениях

В этом примере описано протонирование гистидина в ответ на физиологически релевантный кислотный pH, а также модель, в которой гистидины внеклеточного домена VISTA придают контррецепторную или лигандную селективность при кислотном pH, а не физиологическом pH.

На Фиг. 2A показано равновесие между отсутствием и присутствием протонирования пирроламмонийной группы (NH) в остатке гистидина. Значение pKa гистидина в растворе составляет 6,5, что указывает на то, что остатки гистидина будут протонированы при pH 6,5 и ниже и, таким образом, будут положительно заряжены с большей вероятностью, чем при более высоком pH. Увеличение положительного заряда на поверхности VISTA ECD в результате протонирования может повлиять на связывание рецептора или лиганда, а также на структуру и/или функцию VISTA. Таким образом, изменения pH также могут модифицировать эпитопы, с которыми связываются антитела, и/или могут приводить к изменениям аффинности антител.

На Фиг. 2B показана модель, в которой VISTA селективно взаимодействует с PSGL-1 или другими контррецепторами и лигандами ("VISTA-R") при кислотном pH. При физиологическом pH, таком как в крови, ожидается, что остатки гистидина на ECD VISTA не будут протонированы. В результате связывание VISTA с PSGL-1 или другими контррецепторами и лигандами является незначительным при физиологическом pH. Напротив, в областях с кислотным внеклеточным pH, таких как микроокружения опухоли или участки воспаления, кислотный pH может частично или полностью регулировать протонирование гистидина в ECD VISTA и, таким образом, обеспечивать взаимодействие VISTA с PSGL-1 или другими контррецепторами и лигандами. Таким образом, антитела, которые прочно связываются с белками VISTA-ECD в диапазонах кислотного pH, могут более эффективно ингибировать активность VISTA в опухолях.

Пример 3: VISTA экспрессируется миеломоноцитарными клетками в опухолях

В данном Примере показано, что VISTA в опухолях часто экспрессируется миеломоноцитарными клетками, включая макрофаги, дендритные клетки и гранулоциты.

Хирургически удаленную немелкоклеточную карциному легкого, почечную светлоклеточную карциному, меланому, колоректальную карциному и другие образцы опухолей промывали охлажденным льдом PBS, разрезали на фрагменты размером примерно 15 $мм^3$ и суспендировали в охлажденной льдом среде RPMI-1640 (номер по каталогу Fisher Scientific 11875093) с добавкой 2% термоинактивированной FBS и 2 мМ ЭДТА (Fisher Scientific 15575020). Каждый образец переносили в стеклянный гомогенизатор Даунса с большим зазором (Tenbroeck Tissue Grinders) и измельчали, пока фрагменты ткани визуально не отделялись друг от друга. Суспензии фильтровали через нейлоновый фильтр с ячейками 70 мкм и центрифугировали. Супернатанты отбрасывали, а осадки клеток ресуспендировали в PBS при комнатной температуре с добавкой 0,1% бычьего сывороточного альбумина и 250 мг/мл стерилизованной фильтрованием ДНКазы 1 (класса II, из поджелудочной железы крупного рогатого скота, номер по каталогу Roche 10104159001) в течение 3 минут при комнатной температуре. Затем клетки промывали охлажденной льдом RPMI с добавками и ресуспендировали в охлажденном льдом PBS. Добавляли краситель для оценки жизнеспособности клеток и инкубировали клетки на льду в темноте. Через 20 минут неспецифическое окрашивание антител блокировали добавлением 4% нормальной крысиной сыворотки, 4% нормальной мышиной сыворотки,

20% человеческой сыворотки из плазмы AB и разбавленного 1:125 Human TruStain FcX™ (номер по каталогу Biolegend 422302). Клетки окрашивали конъюгированными с флуорофором антителами против HLA-DR (номер по каталогу BD Biosciences 564040), CD8 (номер по каталогу Fisher Scientific 46-0087-42), CD14 (номер по каталогу Biolegend 325620), CD45 (номер по каталогу Biolegend 304017), CD4 (номер по каталогу BD Biosciences 563875), CD11c (номер по каталогу BD Biosciences 744439), CD15 (номер по каталогу BD Biosciences 563142), PD-1 (номер по каталогу BD Biosciences 565299), CD3 (номер по каталогу BD Biosciences 565515), CD56 (номер по каталогу Fisher Scientific 61-0567-42), CD19 (номер по каталогу BD Biosciences 564977) и VISTA (антитело к VISTA 3, конъюгированное с AlexaFluor™ 647, номер по каталогу Fisher Scientific A20186), суспендированные в Brilliant Stain Buffer (номер по каталогу BD Biosciences 562794) в течение 30 минут на льду в темноте. Окрашенные клетки промывали охлажденным льдом PBS, фиксировали (номер по каталогу Fisher Scientific 00-5523-00) и регистрировали на проточном цитометре. Данные анализировали при использовании программы FlowJo™ (BD Biosciences). Как показано на Фиг. 3, экспрессия VISTA на поверхности клеток была наиболее высокой на макрофагах и гранулоцитах, умеренной - на дендритных клетках и низкой - на Т-клетках, NK-клетках и В-клетках.

Пример 4: Связывание VISTA с клетками демонстрирует селективность в отношении кислотного pH

В данном Примере показано, что мультимеризованный ECD VISTA человека более эффективно связывается со стимулированными человеческими CD4+ Т-клетками и человеческими мононуклеарными клетками периферической крови при кислотном pH, чем при нейтральном или физиологическом pH, и что такое связывание может быть заблокировано блокирующим антителом против VISTA человека. Также показано связывание селективного по кислотному pH, димеризованного мышиного ECD VISTA с мышиными спленоцитами.

Человеческие CD4+ Т-клетки обогащали из крови здоровых доноров с использованием RosetteSep™ (номер по каталогу Stemcell 15062) и стимулировали *in vitro* в течение приблизительно четырех дней с использованием Human T-Activator CD3/CD28 Dynabeads™ (номер по каталогу Fisher Scientific 111.32D) и рекомбинантным человеческим IL-2 (номер по каталогу Peprotech 200-02) в RPMI-1640 с добавкой 10% термоинактивированной FBS, Glutamax™ (номер по каталогу Fisher Scientific 35050061), заменимых аминокислот (Fisher Scientific 11140050), пирувата натрия (номер по каталогу Fisher Scientific 11360070) и 2-меркаптоэтанола (Fisher Scientific 21985023). Активированные CD4+ Т-клетки окрашивали монобиотинилированными молекулами hVISTA ECD (Phe 33-Ala 194 (рег. номер AAH20568)-полигистидин; AcroBiosystems, Inc. B75-H82F3), загруженными в молярном отношении 28:1 на фикоэритрин (ФЭ)-конъюгированные декстрамеры стрептавидина (номер по каталогу DX01-PE), разведенные в забуференном солевом растворе Хэнка (HBSS, номер по каталогу Fisher Scientific 14025134), подкисленном до разных значений pH с использованием мМ MES (Sigma, 1317-

100 мл) в течение 30 минут при комнатной температуре. В качестве контроля активированные CD4+ Т-клетки окрашивали декстрамерами стрептавидина, конъюгированными с ФЭ, которые не были загружены hVISTA. Окрашенные клетки промывали HBSS+MES и регистрировали на проточном цитометре. Данные анализировали при использовании программы FlowJo™ (BD Biosciences). Результаты, представленные на Фиг. 4A, показывают, что hVISTA не связывал CD4+ Т-клетки лучше, чем контроль при pH>6,5. Напротив, hVISTA проявлял все более сильное связывание с CD4+ Т-клетками при pH<6,5. Слева, от более темно-серого к более светлому, закрашенные гистограммы показывают связывание при pH 7,0, 6,5, 6,4, 6,3, 6,1 и 6,0. На некоторых гистограммах указаны соответствующие значения pH. Связывание контрольных мультимеров без VISTA при pH 6,0 показано в виде незакрашенной гистограммы. Справа, на графике показаны средние значения интенсивности флуоресценции (MFI) ФЭ CD4+ Т-клеток, окрашенных декстрамерами, нагруженными hVISTA (круги) или ненагруженными декстрамерами (треугольники), при разном pH.

Мононуклеарные клетки периферической крови (PBMC) обогащали из крови здоровых доноров при центрифугировании в градиенте фиколла (Ficoll-Paque Plus, номер по каталогу GE Life Sciences 17144003) и окрашивали нагруженными hVISTA декстрамерами (также называемыми мультимерами) и флуорофор-конъюгированными, разведенными в буферах HBSS+MES, как описано выше. На Фиг. 4B показаны закрашенные гистограммы, которые показывают, от более темно-серого к более светлому, связывание при pH 6,0 с CD19+ B-клетками, CD4+ Т-клетками, CD8+ Т-клетками, CD56+ NK-клетками и CD14+ моноцитами. Незакрашенные гистограммы со сплошными и пунктирными границами показывают связывание при pH 7,4 с суммарными МКПК лимфоцитами и моноцитами соответственно. На Фиг. 4F и 4G показано, что VISTA связывается как с моноцитами, так и с нейтрофилами, причем такое связывание при pH 6,0 более сильное, чем при pH 7,4. Результаты показывают, что hVISTA может связывать многие лейкоциты при кислотном pH, но незначительно при физиологическом pH.

Активированные человеческие CD4+ Т-клетки окрашивали hVISTA мультимерами при pH 6 в присутствии титрованного антитела против VISTA человека или совпадающего при изотипу неспецифичного к VISTA антитела. Результаты, предствленные в виде графика на Фиг. 4C, показывают MFI мультимера VISTA относительно концентрации антитела. Антитело против hVISTA (антитело к VISTA 3; квадраты), но не специфичное к VISTA контрольное антитело (круги), блокировало связывание hVISTA с активированными CD4+ Т-клетками в зависимости от концентрации. Значения ФЭ MFI CD4+ Т-клеток, которые не были окрашены hVISTA-нагруженными мультимерами, включены в качестве контроля (один треугольник).

На Фиг. 4D показаны репрезентативные двухмерные диаграммы проточной цитометрии для окрашивания мультимера VISTA при pH 6,0 с гепарансульфат-мутантными клетками яичников китайского хомячка (CHO) (линия pGSD-677, Американская коллекция типовых культур), которые были трансфицированы для экспрессии полноразмерного

человеческого PSGL-1 (SEQ ID NO: 3; нуклеиновая кислота NM_003006.4). Окрашивание проводили в присутствии или отсутствии титрованного блокирующего антитела против VISTA (мАт 3). Клетки, оставленные неокрашенными мультимерами VISTA, показаны в качестве контроля. Окрашивание антителом к PSGL-1 (номер по каталогу BD Biosciences 562758) отложено по оси Y, и окрашивание мультимера VISTA отложено по оси X.

Спленоциты собирали у мышей C57BL6/J (номер по каталогу Jackson Laboratory 000664) и окрашивали химерными слитыми белками mVISTA ECD/Fc IgG человека (Фрагмент, кристаллизующийся), а затем флуорофор-конъюгированными вторичными антителами против Fc IgG человека (номер по каталогу Jackson Immunoresearch 109-065-098) при pH 6,0 или 7,4. Результаты, представленные в виде гистограммы на Фиг. 4E, показывают, что mVISTA связывает мышиные спленоциты более эффективно при pH 6,0, чем при физиологическом pH (приблизительно pH 7,4). От более темно-серого до более светлого, закрашенные гистограммы показывают связывание при pH 6,0 с CD8+ Т-клетками, CD11b+ миелоидными клетками и CD4+ Т-клетками. На незакрашенной гистограмме показано связывание при pH 7,4 с суммарными спленоцитами.

Пример 5: VISTA опосредует адгезию клетка:клетка и иммунную супрессию селективно при кислотном pH

В данном Примере показано, что VISTA опосредует адгезию клетка:клетка и более активно подавляет активацию Т-клеток при кислотном pH, чем при нейтральном или физиологическом pH.

Был разработан анализ конъюгата клетка/клетки на основе проточной цитометрии, совместимый с кислотным pH. Клетки 293T (иммортализованная линия эмбриональных клеток почки человека, номер по каталогу ATCC CRL-3216), эктопически экспрессирующие полноразмерный VISTA человека или вектор метили CFSE (сукцинимидиловым сложным эфиром карбоксифлуоресцеина; номер по каталогу Fisher Scientific C34554). Клетки CHO метили CellTrace™ Far Red (номер по каталогу Fisher Scientific C34564). Затем содержащие вектор или VISTA клетки 293T смешивали в соотношении 1:1 с клетками CHO в буферах с pH 7,0 или pH 6,0 и инкубировали в течение 1 часа при комнатной температуре. Образование конъюгатов клетка/клетка CHO и 293T оценивали с помощью проточной цитометрии. Результаты, показанные на Фиг. 5A-B, демонстрируют, что экспрессирующие VISTA клетки 293T предпочтительно прикреплялись к клеткам CHO при кислотном pH, и что включение блокирующего антитела против VISTA (VISTA мАт 3; белые столбцы), ингибирует VISTA-опосредованную адгезию клетка/клетка.

Был разработан совместимый с кислотным pH анализ супрессии Т-клеток. Клетки Jurkat (иммортализованная линия Т-клеток человека, номер по каталогу ATCC TIB-152), экспрессирующие репортер люциферазу под контролем промотора NFkB, совместно культивировали в буферах HBSS+MES с разным pH с клетками 293T (иммортализованная линия эмбриональных клеток почки человека, номер по каталогу ATCC CRL-3216), эктопически экспрессирующими полноразмерный VISTA человека и одноцепочечный

вариабельный фрагмент клона агонистического антитела против Т-клеточного рецептора человека OKT3 при соотношении клеток Jurkat:293T 10:1. К сокультурам добавляли блокирующее антитело против VISTA (VISTA мАт 3) или совпадающее по изотипу неспецифичное к VISTA контрольное антитело в концентрации 10 мкг/мл. После инкубирования активацию Т-клеток Jurkat определяли количественно путем измерения люциферазной активности (интервал 1 секунда, номер по каталогу Promega G7940). Результаты показаны на Фиг. 5C-D. На Фиг. 5C показана кривая люциферазных единиц в клетках Jurkat, обработанных антителом к VISTA (квадраты) или контрольным антителом (круги) при разном pH. На Фиг. 5D показана кривая сигнала люциферазы в сокультурах, обработанных антителом против VISTA, деленного на сигнал люциферазы в сокультурах, обработанных контрольным антителом, при каждом протестированном pH. Результаты показывают, что VISTA-опосредованная супрессия Т-клеток наиболее эффективна при кислотном pH.

Пример 6: VISTA мигрирует по внутриклеточным рециркулирующим эндосомам

В данном Примере показано, что VISTA может быть обнаружен во внутриклеточных эндосомах, особенно в Rab11+ рециркулирующих эндосомах, и может рециркулировать на поверхность клетки и с поверхности клетки посредством миграции эндосом. Сила, с которой антитело против VISTA связывает VISTA при кислотном pH, влияет на его способность оставаться связанными с VISTA во время миграции эндосомы.

Моноциты выделяли из МКПК методом активируемой магнитным полем сортировки клеток. Затем моноциты и клетки 293T фиксировали в 4% параформальдегиде и внутриклеточно окрашивали на Rab5, Rab7 или Rab11, а также антителом против VISTA или контрольным антителом. Контрольное антитело ("кАт"), которое не является не связывающим VISTA антителом того же изотипа, что и антитело против VISTA, не демонстрирует обнаружимое связывание моноцитов или клеток 293T, экспрессирующих VISTA человека. Антитела против VISTA и контрольные антитела непосредственно были помечены Alexa488. Rab-антитела детектировали с использованием вторичных Alexa594-конъюгированных антител против Ig кролика. Окрашивание Hoescht 33342 проводили для идентификации ядер клеток. Изображения были получены с помощью конфокального микроскопа с вращающимся диском. На **Фиг. 6A** показана колокализация VISTA, Rab5 (маркер ранних эндосом), Rab7 (маркер поздних эндосом) и Rab11 (маркер рециркулирующих эндосом) в клетках 293T, экспрессирующих VISTA человека. На **Фиг. 6B** показана колокализация VISTA и Rab11 в моноцитах человека. Внутриклеточный VISTA колокализован с Rab11+ рециркулирующими эндосомами.

Для оценки способности VISTA рециркулировать посредством эндосом проводили анализ эндолизосомозависимого киллинга конъюгат антитела-лекарственного средства с тремя антителами против hVISTA (VISTA мАт 1, 2 и 3) с различными свойствами связывания VISTA при физиологическом и кислотном pH. Сначала проводили анализ ППР для сравнения профилей связывания hVISTA всех трех антител к VISTA при pH 7,4, 6,7 и

6,0. Антитела к VISTA связывали на биосенсоре Biacore® T100 (GE Healthcare) CM5, содержащим иммобилизованный белок A, затем 100 нМ hVISTA-ECD (аминокислоты 32-193 SEQ ID NO: 1 с 7×His хвостом, то есть AFKVATPYSL YVCPEGQNVT LTCRLLGPVD KGHDVTFYKT WYRSSRGEVQ TCSERRPIRN LTFQDLHLHH GGHQAANTSH DLAQRHGLES ASDHHGNFSI TMRNLTLLDS GLYCCLVVEI RHHHSEHRVH GAMELQVQTG KDAPSNCVVY PSSSQESENI TAHHHHHHH; SEQ ID NO: 325) пропускали в рабочем буфере PBST при указанном pH, при 37°C. Сенсограммы с вычитанием референсных значений нормализовали по зарегистрированной точке 'связывания' и наносили на график. Антитело к VISTA 3, "мАт 3" (Фиг. 6C, сверху) показало наибольшую степень нарушения связывания VISTA при кислотном pH, затем следовало антитело к VISTA 2, "мАт 2" (Фиг. 6C, в середине), которое лишь умеренно препятствовало связыванию. Антитело к VISTA 1, "мАт 1", сохраняло сильное связывание VISTA в условиях кислотного и физиологического pH (Фиг. 6C, снизу).

Анализ эндолизосомозависимого киллинга конъюгата антитела-лекарственного средства проводили следующим образом. Клетки AML3 (иммортализованная клеточная линия моноцитов человека, ATCC CRL-9589), которые эндогенно экспрессируют VISTA человека, культивировали с титрованными антителами против VISTA или неспецифическими к VISTA контрольными антителами и вторичными антителами против IgG человека, которые были конъюгированы с катепсин B-чувствительным линкером и цитотоксической полезной нагрузкой тубулизином. Поскольку катепсин B преимущественно активен в поздних эндосомах и лизосомах, антитела против VISTA, которые рециркулируют с VISTA посредством ранних эндосом и рециркулирующих эндосом, будут демонстрировать низкие уровни расщепления линкера и, в результате, низкие уровни высвобождения цитотоксической полезной нагрузки и гибели клеток. Антитела против VISTA, которые диссоциируют от VISTA в кислотных эндосомах и сортируются в поздних эндосомах и лизосомах, будут подвергаться более высокому уровню расщепления линкера. Жизнеспособность клеток измеряли с помощью Cell Titer Glo® (номер по каталогу Promega G7573) после пяти дней культивирования. На Фиг. 6D показаны результаты этого анализа: жизнеспособность AML3 (Cell Titer Glo) отложена по оси y, а концентрации первичных антител - по оси x. Вычисленные значения EC50 для первичных антител: антитело к VISTA 1, перевернутые треугольники, 0,485 мкг/мл; антитело к VISTA 2, круги, 0,092 мкг/мл; антитело к VISTA 3, квадраты, 0,006 мкг/мл; Контроль, треугольники, 1,085 мкг/мл. Активность антител была обратно пропорциональна связыванию антител против VISTA при кислотном pH.

Чтобы подтвердить, что связывание при кислотном pH было ответственно за различия в эффективности, антитело к VISTA 3 оптимизировали по аффинности так, чтобы его способность связывать VISTA при кислотном pH была улучшена. На Фиг. 6E показан анализ ППР, сравнивающий профили связывания антител с hVISTA антитела к VISTA 3 с этим вариантом, антителом к VISTA 3c, при использовании условий анализа, описанных для Фиг. 6C. Антитело к VISTA 3 снова продемонстрировало нарушение связывания VISTA

при кислотном pH, тогда как вариант антитела к VISTA 3c демонстрировал сопоставимое связывание VISTA при кислотном и физиологическом pH. На Фиг. 6F показана активность антитела к VISTA 3c (ромбы) в анализе киллинга, описанном для Фиг. 6D. Оптимизированный для кислотного pH вариант антитела к VISTA 3 показал в 31 раз более низкую активность, чем у исходного антитела, что указывает на то, что нарушение связывания антитела против VISTA при кислотном pH приводит к потере связывания антитела в ходе рециркуляции VISTA.

На основе этих результатов предложена модель рециркуляции, в которой VISTA рециркулирует на поверхность и с поверхности клетки посредством ранних эндосом и рециклирующих эндосом. Эта модель показана на Фиг. 6G. Антитела против VISTA могут рециркулировать вместе с VISTA посредством этих эндосом, сохраняя связывание с мишенью. Однако антитела к VISTA с нарушенным связыванием VISTA при кислотном pH, особенно с быстрой диссоциацией при кислотном pH, могут отделяться от VISTA в ходе рециркуляции и захватываться или расщепляться внутри клеток, что приводит к плохому взаимодействию с мишенью и постоянному расходованию циркулирующих антител. Напротив, антитела, которые связываются и остаются связанными с VISTA при кислотном pH, могут поддерживать более высокие уровни взаимодействия с мишенью, особенно в кислотном микроокружении, таком как опухоли, и демонстрировать более длительное среднее время удерживания *in vivo*.

Пример 7: Превосходство антител к VISTA, не связывающихся при физиологическом pH

Авторы изобретения показали, что VISTA является селективным по кислотному pH иммунорецептором, демонстрируя важность и применимость направленного воздействия на VISTA антителами, которые хорошо связываются при кислотном pH. Кроме того, антитела, которые не связываются или незначительно связываются с VISTA при физиологическом pH, обладают преимуществом по нескольким причинам. Во-первых, из-за относительно высокой экспрессии VISTA на циркулирующих миеломоноцитарных клетках, в частности моноцитах и нейтрофилах, антитела, которые связывают VISTA при физиологическом pH, подвержены высоким уровням мишень-опосредованного распределения лекарственных средств (TMDD) в крови. Этот эффект осложняется склонностью VISTA к рециркуляции посредством внутриклеточных эндосом, что приводит к интернализации и деградации антител против VISTA. Этот вторичный эффект представляет особую проблему для антител, которые имеют нарушенное связывание при кислотном pH, что можно наблюдать в случае антител, которые связывают богатую гистидинами область контакта VISTA с лигандом. Оба эффекта приводят к уменьшению количества антитела против VISTA в кровотоке, уменьшая количество антитела, которое сможет достигать опухоли, и, следовательно, предполагаемую биологическую активность антитела. Во-вторых, антитела, которые связываются с VISTA при физиологическом pH и обладают эффекторными функциями, такими как индукция антителозависимой клеточной цитотоксичности (ADCC), антителозависимого клеточного фагоцитоза (ADCP), или служат

для доставки иммуномодулирующей полезной нагрузки, будут подвергать циркулирующие миеломоноцитарные клетки этим эффекторным функциям, потенциально приводя к нежелательным эффектам, таким как истощение или активация циркулирующих нейтрофилов. Таким образом, авторы изобретения обнаружили, что антитела, связывающиеся с huVISTA при кислотном pH, но незначительно связывающиеся при физиологическом pH, обладают двойным преимуществом: (1) лучше воздействуют на релевантных участках, такие как опухоли, и (2) обладают сниженной токсичностью в случае антител с эффекторными функциями, такими как ADCC, ADCP или доставка иммуномодулирующей нагрузки. Кроме того, поскольку VISTA сам по себе является иммунорецептором, селективным по кислотному pH, блокада области контакта лиганда VISTA при физиологическом pH, вероятно, не требуется для модуляции активности рецептора-лиганда VISTA. Таким образом, антитела, которые связываются с huVISTA при кислотном pH, но незначительно связываются при физиологическом pH, были созданы, как описано ниже.

Пример 8: Выделение антител против VISTA, избирательно связывающихся с VISTA человека при кислотном pH по сравнению с физиологическим pH

В данном Примере описано создание антител, которые избирательно связываются с VISTA человека при низком (кислотном) pH по сравнению с нейтральным или физиологическим pH.

Библиотеку антигенсвязывающих фрагментов антител против VISTA конструировали и подвергали скринингу следующим образом. Библиотеки антител были созданы с использованием генетического материала, выделенного у мышей HuMab, иммунизированных полноразмерным VISTA человека (hVISTA). Эти антитела имели формат scFv и были отобраны по связыванию против полноразмерного hVISTA при низком pH (pH 6,0) посредством мРНК дисплея (Xu L et al. (2002) Chemistry & Biology 9: 933; Roberts RW and JW Szostak (1997) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94:12297; Kurz et al. (2000) Nucleic Acids Res. 28(18):E83). Результаты отбора анализировали с помощью секвенирования следующего поколения (NGS) и члены библиотеки, которые демонстрировали обогащение по связыванию с VISTA при низком pH, идентифицировали, переформатировали как IgG 1.3 (неэффекторная константная область IgG1, состоящая из Fc IgG1 с аминокислотными мутациями L234A, L235E и G237A) и подвергали скринингу на связывание с VISTA с помощью ППР.

Анализ методом поверхностного плазмонного резонанса (ППР) проводили для измерения скоростей ассоциации (определенных как ka или k_{on}, единицы 1/Мс), скоростей диссоциации (определенных как kd или k_{off}, единицы c^{-1}) и констант аффинности (определенных как K_D, единицы М) для антител к VISTA при кислотных и физиологических значениях pH при использовании прибора Biacore® T200 (GE Healthcare). Белок А (каталог Fisher Scientific 21181) разбавляли до 20 мкг/мл в 10 мМ ацетата натрия, pH 4,5 и иммобилизировали на проточных ячейках биосенсора CM5 в соответствии с предложенным производителем протоколом связывания аминов (GE Healthcare), направленным на

плотность иммобилизации белка A 6000 RU на проточную ячейку. Эксперименты ППР проводили при 37°C с использованием рабочего буфера PBST (137 мМ хлорида натрия, 2,7 мМ хлорида калия, 10 мМ фосфатный буфер, 0,05% Tween 20) при pH 7,4 и 6,0. Антитела разбавляли до 20 нМ в PBST pH 7,4 и захватывали в активных проточных ячейках биосенсора при скорости 5 мкл/мин в течение 50 секунд. Серию концентраций 50-0,2 нМ моновалентного hVISTA-ECD (SEQ ID NO: 325) подготавливали в рабочих буферах с pH 7,4 и 6,0 и пропускали над связанными антителами со скоростью 40 мкл/мин для измерения ассоциации и диссоциации. Два ввода 10 мМ глицина с pH 1,5 по 15 секунд использовали для регенерации поверхности захвата с белком A между циклами анализа. Константы скорости ka (k_{on}) и kd (k_{off}) получали из референсной проточной ячейки и сенсограмм с вычитанием 0 нМ холостой пробы и аппроксимировали к модели связывания 1:1 в программе Biacore® T200 Evaluation Software v.2.0. Для каждого антитела к VISTA вычисляли отношение k_{off} при pH 6/k_{off} при pH 7,4 для идентификации антител, демонстрирующих низкую скорость диссоциации при кислотном pH и высокую скорость диссоциации при физиологическом pH.

Шесть антител, переформатированных в антитела IgG1.3, продемонстрировали почти эквивалентную аффинность при pH 6 и при pH 7,4. В частности, два антитела имели более низкую скорость диссоциации при pH 6,0, чем при pH 7,4 (т.е. более высокую k_{off} при pH 7,4, чем при pH 6,0). Вариабельные области этих двух huVISTA антител обозначили P1-061015 и P1-061029, и антитела, включающие эти вариабельные области и форматированные в антитела IgG1.3, обозначили P1-061015.IgG1.3 и P1-061029.IgG1.3, соответственно. Значения скорости k_{off} P1-061015.IgG1.3 и P1-061029.IgG1.3 представлены в Таблице 1.

Таблица 1: k_{off} отобранных антител при pH 6,0 и pH 7,0

Название антитела	k_{off} при pH 6 (c^{-1})	k_{off} при pH 7 (c^{-1})	k_{off} pH 6/pH 7
P1-061015.IgG1.3	$1,4\times10^{-3}$	$2,3\times10^{-3}$	0,6
P1-061029.IgG1.3	$4,8\times10^{-3}$	$9,1\times10^{-3}$	0,5

Последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой и легкой цепи P1-061015 и P1-061029 представлены в Таблице 2 ниже, а также показаны в Таблице последовательностей после раздела Примеры настоящего описания.

Таблица 2: Аминокислотные последовательности антител к huVISTA, избирательно связывающихся с huVISTA при pH 6,0, по сравнению с pH 7,4

P1 ID	VH-ген	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3
P1-061015.IgG1.3	3-33	GFTFSSYAMH (SEQ ID NO: 95 остатки 26-35)	IIWYDGSNKYYAD SVKG (SEQ ID NO: 95 остатки 50-66)	DSGFYSSYYFDY (SEQ ID NO: 95 остатки 99-110)
P1-061029.IgG1.3	3-09	GFTLDDYAMH (SEQ ID NO: 67 остатки 26-35)	GINWNSANIGYAD SVKG (SEQ ID NO: 67 остатки 50-66)	VPGYSGGWIDAF DV (SEQ ID NO: 67 остатки 99-112)
	VL-ген	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3

P1-061015.IgG1.3	L6	RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO: 96 остатки 24-35)	DASNRAT (SEQ ID NO: 96 остатки 51-57)	QQYNSYPYT (SEQ ID NO: 96 остатки 90-98)
P1-061029.IgG1.3	A27	RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO: 68 остатки 24-35)	GASSRAT (SEQ ID NO: 68 остатки 51-57)	QQYGSSPFT (SEQ ID NO: 68 остатки 90-98)

Пример 9: Дальнейшее конструирование антител P1-061015 и P1-061029 против VISTA с целью создания антител, селективных по кислотному pH

В данном Примере описано дальнейшее конструирование вариабельных областей P1-061015 и P1-061029, идентифицированных в Примере 2, с целью получения вариабельных областей против huVISTA, которые имеют более высокое отношение k_{off} связывания при pH 6,0 по сравнению с pH 7,4.

Две библиотеки были созданы путем введения специфических мутаций в CDR-области VH P1-061015 и P1-061029 соответственно. Библиотеки допускали только такие аминокислотные замены, которые с наиболее высокой вероятностью улучшали связывание при низком pH, то есть аспартат, глутамат и гистидин. Библиотека также допускала одиночные и двойные аминокислотные замены в каждой CDR и рекомбинации между CDR-областями (максимально 6 аминокислотных замен на цепь). На Фиг. 7A показаны мутации, которые были введены в аминокислотные последовательности CDR3 тяжелой цепи P1-061029 с получением библиотеки P1-061029. На фигуре показано, что определенные последовательности исключали, чтобы избежать введения склонностей (например, DG).

Библиотеки '029 и '015 подвергали скринингу с использованием нескольких раундов связывания с полноразмерным hVISTA при pH 6,0 посредством поверхностного дрожжевого дисплея. Дальнейшие раунды отбора проводили путем переключения между положительным (связывание с huVISTA при pH 6,0) и отрицательным (связывание с huVISTA при pH 7,4) (показано на Фиг. 7B) отбором, когда члены библиотеки, которые не связывались с VISTA при pH 7,4, собирали в раунды отрицательного отбора. Результаты отбора исследовали с помощью NGS. Члены библиотеки '029, которые связывались с huVISTA при pH 6,0 после 9 раунда отбора, исследовали на связывание с VISTA человека при pH 6,0 и pH 7,4 с помощью проточной цитометрии. На Фиг. 7C показаны типичные двумерные графики проточной цитометрии, показывающие пул вариантов после 9 раундов отбора. Связывание VISTA откладывали по оси y, а экспрессию вариантного антитела откладывали по оси x. Показаны данные связывания при различных концентрациях антител и pH. Результаты продемонстрировали очень сильное pH 6-селективное связывание с VISTA человека, особенно при 20 нМ.

Дополнительные дочерние клоны '029 были выделены из библиотеки '029 с помощью другого метода. Некоторые клоны были такими же, как клоны, идентифицированные первым способом, при этом было выделено девять дополнительных клонов.

19 клонов, выделенных из библиотеки '029, отобранные для дальнейшего анализа, были переформатированы как антитела IgG1.3. Различия по аминокислотам в CDR-

областях тяжелой цепи этих клонов в сравнении с CDR-областями VH '029 показано в Таблице 5.

Таблица 5: Аминокислотные последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 VH (разделенные нижним подчеркиванием) антител, полученных из исходного антитела '029

НАЗВАНИЕ	CDR1 (пол 26-35)	CDR2 (пол 50-66)	CDR3 (пол 99-110)	SEQ ID NO
P1-061029	GFT**LD**D**Y**AMH	GI**N**WNS**AN**IGYADSVKG	VPGYS**G**GWIDA**F**DV	67
P1-068757	----E-E---	------EE---------	----------E-D	71
P1-068759	----E-E---	--D---E---------	----------E-D	87
P1-068761	----E-E---	------EE---------	-----H-----E--	51
P1-068763	----E-----	--D---E---------	-----H-----E--	91
P1-068765	---DE-----	------EE---------	----------E-D	63
P1-068767	----E-----	--D---E---------	----------E-D	55
P1-068769	----E-E---	------DH---------	----------E-D	83
P1-068771	----E-E---	------HE---------	----------E-D	75
P1-068773	----E-----	--D---D---------	----------E-D	59
P1-068775	----E-E---	--D---EE---------	-----H-----E-D	79
P1-069059	----E-----	------DH---------	----------E-D	11
P1-069061	----E-----	-------E---------	----------E-D	15
P1-069063	----E-----	-------E---------	----------D-E	19
P1-069065	----E-E---	------DD---------	----------	23
P1-069067	----------	------EE---------	----------D-E	27
P1-069069	----------	------EE---------	----------D--	31
P1-069071	----E-E---	-------D---------	-----E--------	35
P1-069073	----E-----	--D---D---------	----------E-D	39
P1-069075	----E-----	----D--E---------	-----H-----E--	43
P1-069077	----E-E---	------DE---------	----------	47

Связывание нескольких препаратов каждого из дочерних клонов '029 и исходных антител '029, форматированных в антитела IgG1.3, с VISTA человека при pH 6,0 и 7,4 измеряли с помощью поверхностного плазмонного резонанса (ППР). Анализ ППР проводили для измерения аффинности связывания koff и K_D антител к VISTA при кислотном и нейтральном pH при использовании прибора Biacore® T100 (GE Healthcare). Белок A (номер по каталогу ThermoFisher Scientific 21181) разбавляли до 20 мкг/мл в 10 мМ ацетате натрия, pH 4,5 и иммобилизировали на проточных ячейках биосенсора CM5 в соответствии с предложенным производителем протоколом связывания аминов (GE Healthcare), направленным на плотность иммобилизации белка A 2000 RU на проточную ячейку. Эксперименты ППР проводили при 37°C с использованием рабочего буфера PBST (137 мМ хлорида натрия, 2,7 мМ хлорида калия, 10 мМ фосфатный буфер, 0,05% Tween® 20) при pH 7,4 и 6,0. Антитела разбавляли до 25 нМ в PBST pH 7,4 и связывали на активных проточных ячейках биосенсора при 5 мкл/мин в течение 60 секунд. Серию концентраций 50-5 нМ моновалентного hVISTA-ECD (SEQ ID NO: 325) подготавливали в рабочих

буферах с pH 7,4 и 6,0 и пропускали над связанными антителами со скоростью 40 мкл/мин для измерения ассоциации и диссоциации. Два ввода 10 мМ глицина с pH 1,5 по 15 секунд использовали для регенерации поверхности захвата белка A между циклами анализа. Константы скорости ka (k_{on}) и kd (k_{off}) получали из референсной проточной ячейки и сенсограмм с вычитанием 0 нМ холостой пробы и аппроксимировали к модели связывания 1:1 в программе Biacore® T200 Evaluation Software v.2.0. Константу аффинности, K_D, вычисляли как отношение констант скорости k_{off}/k_{on} для каждого антитела к VISTA.

Максимальный (или величину) ответ связывания VISTA человека определяли как ответ в зарегистрированной точке 'связывания' с вычетом референсного значения в конце ввода 50 нМ VISTA для каждого антитела и выражали в единицах ответа (RU). Максимальный ответ связывания VISTA человека (RU) с каждым антителом представлен на Фиг. 7D. Средний ответ связывания (от двух до четырех повторных антител) нанесен на диаграмме, а планки ошибок представляют собой стандартное отклонение. Результаты показывают, что отобранные дочерние клоны '029 связываются с hVISTA при pH 6,0, но не связываются при pH 7,4 (все пустые круги, представляющие связывание при pH 7,4, расположены в нижней части графика, за исключением исходного клона '029).

Скорости k_{off} при pH 6,0 для '029 и его дочерних клонов определяли с помощью ППР при использовании метода, описанного выше, и они представлены на Фиг. 7E. Пунктирная линия на фигуре представляет скорость k_{off} '029, а клоны слева от пунктирной линии имеют более низкую скорость k_{off} при pH 6,0 по сравнению с исходным антителом '029, тогда как клоны справа имеют более высокую скорость k_{off} при pH 6,0 по сравнению с исходным антителом '029.

Репрезентативные сенсограммы ППР связывания hVISTA с антителами '029, '761 и '767 при нейтральном и кислотном pH показаны на Фиг. 7F. Сенсограммы для 50 и 5 нМ huVISTA с вычитанием референсных значений представлены в виде кривых. При нейтральном pH, сигнал связывания VISTA <10 RU наблюдали для '761 и '767, поэтому, чтобы надлежащим образом измерить и сравнить k_{off} и K_D для '761 и '767 с '029, требовалось провести ППР анализ кинетики с использованием мкМ концентраций VISTA при физиологическом pH.

Для этого анализа '029, '761 и '767 переформатировали в изотип hIgG1f и экспрессировали как в стандартном hIgG1f, так и в афукозилированном hIgG1f формате для сравнения с hIgG1.3f Fc. Был проведен ППР анализ кинетики для измерения аффинности связывания koff и K_D для антител к VISTA при кислотном и физиологическом pH при использовании прибора Biacore® T100 (GE Healthcare). Белок A (номер по каталогу ThermoFisher Scientific 21181) разбавляли до 20 мкг/мл в 10 мМ ацетате натрия, pH 4,5 и иммобилизировали на проточных ячейках биосенсора CM5 в соответствии с предложенным производителем протоколом связывания аминов (GE Healthcare), направленным на плотность иммобилизации белка A 2000 RU на проточную ячейку. Эксперименты ППР проводили при 37°C с использованием рабочего буфера PBST (137 мМ хлорида натрия, 2,7 мМ хлорида калия, 10 мМ фосфатный буфер, 0,05% Tween 20) при pH 7,4 и 6,0. Антитела

разбавляли до 25 нМ в PBST pH 7,4 и связывали на активных проточных ячейках биосенсора при 5 мкл/мин в течение 45 секунд. Серии концентраций 1600-0,78 нМ (pH 7,4) и 100-0,78 нМ (pH 6,0) моновалентного hVISTA-ECD (SEQ ID NO: 325) подготавливали в рабочем буфере и пропускали над связанными антителами со скоростью 40 мкл/мин для измерения ассоциации и диссоциации. Два ввода 10 мМ глицина с pH 1,5 по 15 секунд использовали для регенерации поверхности захвата белка A между циклами анализа. Константы скорости ka (k_{on}) и kd (k_{off}) были получены из референсной проточной ячейки и сенсограмм с вычитанием 0 нМ холостой пробы и аппроксимировали к модели связывания 1:1 в программе Biacore® T200 Evaluation Software v.2.0. Константу аффинности, K_D, вычисляли как отношение констант скорости k_{off}/k_{on} для каждого антитела к VISTA. Отношения k_{off} и K_D при pH 7,4/pH 6,0 вычисляли для сравнения скорости диссоциации и улучшения аффинности при кислотном pH по сравнению с физиологическим pH. Хотя константы скорости связывания при нейтральном pH ранее не удавалось определить для '761 и '767 с использованием 50 нМ hVISTA (Фиг. 7D и 7F), увеличение диапазона концентраций VISTA при нейтральном pH до 1,6 мкМ приводило к ответам связывания (>10 RU) для этих клонов, которые соответствуют модели связывания 1:1. Данные кинетики для этих кислотно-селективных антител к VISTA показаны в Таблице 6. Исходное антитело '029 демонстрирует эквивалентную k_{off} при обоих pH, тогда как '761 и '767 демонстрируют более чем 10-кратную селективность при pH 6 по сравнению с pH 7,4 по k_{off} и более чем 2000-кратную селективность при pH 6 по сравнению с pH 7,4 по K_D. Константы скорости связывания VISTA человека сохраняются для вариантов hIgG1.3f, hIgG1f и афукозилированного hIgG1f изотипов.

Таблица 6: Характеристики связывания антител к VISTA, определенные с помощью ППР

Антитело	**Изотип**	**pH 7,4**			**pH 6,0**			**Отношение kd (7,4/6)**	**Отношение KD (7,4/6)**
		ka (1/Mc)	**kd (1/c)**	**KD (M)**	**ka (1/Mc)**	**kd (1/c)**	**KD (M)**		
P1-061029	hIgG1.3f	1,6E+05	6,8E-03	4,2E-08	1,1E+06	7,9E-03	7,2E-09	0,9	5,8
	hIgG1f	1,7E+05	7,4E-03	4,2E-08	1,1E+06	8,0E-03	7,1E-09	0,9	5,9
	hIgG1f афукозилированный	1,7E+05	7,2E-03	4,1E-08	1,1E+06	7,8E-03	6,9E-09	0,9	5,9
P1-068761	hIgG1.3f	3,8E+03	4,2E-02	1,1E-05	3,7E+05	1,6E-03	4,3E-09	26,3	2558,1
	hIgG1f	1,2E+03	4,2E-02	3,5E-05	3,6E+05	1,5E-03	4,2E-09	28,0	8333,3
	hIgG1f афукозилированный	5,1E+03	4,2E-02	8,2E-06	3,7E+05	1,5E-03	4,1E-09	28,0	2000,0
P1-068767	hIgG1.3f	1,9E+03	3,6E-02	1,9E-05	3,3E+05	2,6E-03	7,8E-09	13,8	2435,9
	hIgG1f	1,5E+03	3,2E-02	2,2E-05	3,2E+05	2,6E-03	8,0E-09	12,3	2750,0
	hIgG1f афукозилированный	1,3E+03	3,3E-02	2,4E-05	3,3E+05	2,6E-03	7,9E-09	12,7	3038,0
α-VISTA кислотный pH-чувствительное	hIgG1.3f	2,2E+05	7,8E-04	3,6E-09	2,8E+06	9,0E-02	3,2E-08	0,01	0,1

Кинетику связывания с VISTA человека антител P1-061029 ("'029"), P1-068761 ("'761") и P1-068767 ("'767") (в виде антител IgG1.3) измеряли при значениях pH от 7,4 до pH 6,0, т.е. при pH 6,9 и pH 6,45, при использовании прибора Biacore® T100 (GE Healthcare). Белок A (номер по каталогу ThermoFisher Scientific 21181) разбавляли до 20 мкг/мл в 10 мМ ацетате натрия, pH 4,5 и иммобилизировали на проточных ячейках биосенсора CM5 в соответствии с предложенным производителем протоколом связывания аминов (GE Healthcare), направленным на плотность иммобилизации белка A 2000 RU на проточную ячейку. Анализ проводили при 37°C с использованием рабочего буфера PBST (137 мМ хлорида натрия, 2,7 мМ хлорида калия, 10 мМ фосфатный буфер, 0,05% Tween 20) при pH 7,4, 6,9, 6,45 и 6,0. Антитела разбавляли до 25 нМ в PBST pH 7,4 и связывали на активных проточных ячейках биосенсора при 5 мкл/мин в течение 45 секунд. Подготавливали серию концентраций 100-0,78 нМ моновалентного hVISTA-ECD (SEQ ID NO: 325) при pH 7,4, 6,9, 6,45 и 6,0 в рабочих буферах и пропускали над связанными антителами при 40 мкл/мин для измерения ассоциации и диссоциации. Два ввода 10 мМ глицина с pH 1,5 по 15 секунд использовали для регенерации поверхности захвата белка A между циклами анализа. Константы скорости ka (k_{on}) и kd (k_{off}) получали из референсной проточной ячейки и сенсограмм с вычитанием 0 нМ холостой пробы и аппроксимировали к модели связывания 1:1 в программе Biacore® T200 Evaluation Software v.2.0. Константу аффинности, K_D, вычисляли как отношение констант скорости k_{off}/k_{on} для каждого антитела к VISTA. Соотношения k_{off} и K_D при каждом pH в сравнении с pH 6,0 были вычислены для оценки изменения VISTA k_{off} и K_D при изменении pH буфера до физиологического, и показаны в Таблице 7. Исходное антитело '029 показало постоянную k_{off} при каждом тестируемом pH, тогда как дочерние клоны '761 и '767 продемонстрировали, как минимум, в 10 раз более высокую скорость VISTA k_{off} и в 100 раз более слабую VISTA K_D при pH 6,9 по сравнению с pH 6,0. При изменении pH буфера с кислотного до физиологического, VISTA k_{off} и K_D ослабевали для '761 и '767. Данные при физиологическом pH для сравнения '761 и '767 взяты из Таблицы 7 и отмечены звездочкой (*).

Таблица 7: Кинетические характеристики связывания антител '029, '761 и '767 при разных значениях pH

Антитело	**pH**	**ka (1/Mc)**	**kd (1/c)**	**KD (M)**	**Отношение koff с pH 6,0**	**Отношение KD с pH 6,0**
P1-061029 (исходное)	6,0	2,9E+06	5,7E-03	2,0E-09	1,0	1,0
	6,45	7,4E+05	4,0E-03	5,3E-09	0,7	2,7
	6,9	4,1E+05	5,7E-03	1,4E-08	1,0	7,1
	7,4	2,5E+05	6,4E-03	2,6E-08	1,1	13,2
P1-068761	6,0	6,0E+05	6,6E-04	1,1E-09	1,0	1,0
	6,45	1,1E+05	2,1E-03	2,0E-08	3,2	18,4
	6,9	4,8E+04	8,9E-03	1,9E-07	13,4	170
	7,4*	3,8E+03	4,2E-02	1,1E-05	~63,6	~10000
P1-068768	6,0	5,6E+05	1,9E-03	3,4E-09	1,0	1,0
	6,45	1,3E+05	4,8E-03	3,8E-08	2,5	11,0
	6,9	7,4E+04	2,9E-02	4,0E-07	15,3	115,1

Антитело	pH	ka (1/Mc)	kd (1/c)	KD (M)	Отношение koff с pH 6,0	Отношение KD с pH 6,0
	7,4*	1,9E+03	3,6E-02	1,9E-05	~19,0	~5000

Данные в Таблице 7 указывают на по меньшей мере в 10 раз более низкую аффинность связывания '761 и '767 с hVISTA при pH 6,45 по сравнению с pH 6,0; по меньшей мере в 100 раз более низкую аффинность связывания '761 и '767 с hVISTA при pH 6,9 по сравнению с pH 6,0; и по меньшей мере в 1000 раз более низкую аффинность связывания '761 и '767 с hVISTA при pH 7,4 по сравнению с pH 6,0.

Библиотека '015 также продемонстрировала небольшое предпочтение к pH 6-селективному связыванию с VISTA. Различия в аминокислотной последовательности дочерних клонов относительно CDR-областей VH '015 показаны в Таблице 8. Связывание нескольких препаратов каждого из дочерних клонов '015 и исходного антитела '015 (все в виде IgG1.3 антител) с VISTA человека при pH 6,0 и 7,4 было измеряли с помощью ППР при использовании идентичного метода, описанного для анализа '029 выше, и показано в Таблице 8.

Таблица 8: Аминокислотные последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 VH антител (отделенные нижним подчеркиванием), полученных из исходного антитела '015

НАЗВАНИЕ	CDR1 (pos 26-35)	CDR2 (pos 50-66)	CDR3 (pos 99-110)	SEQ ID NO
P1-061015	GFTFS**S**YA**M**H	IIW**Y**DGS**NKYY**ADSVKG	DSGFY**SS**YYFDY	95
P1-068736	-----E-----	-D-------	D-------	-----D-----D	107
P1-068738	-----E--H-	---D----H--------	-----ED-----	131
P1-068740	-----D----	-------	D-D-------	-----D-----D	115
P1-068742	-----D----	-------	D-D-------	-----ED-----	119
P1-068744	-----E----	H---------	E------	-----E-----E	103
P1-068746	----------	--------	HH-------	-----D------	123
P1-068748	-----HH---	--------	DD-------	-----D------	99
P1-068750	-----D-D--	E--D----------	-EE---------	127
P1-068752	----------	E--------	D-------	-----D-----E	111
P1-068754	-----D-D--	E--D----------	----H-D-----	135

Сводные показатели кинетики связывания '029 и '015 и их дочерних клонов с huVISTA при pH 6,0 и 7,4, определенные с помощью ППР, показаны в Таблицах 9 и 10.

Таблица 9: Сводные показатели кинетики huVISTA и последовательности CDR VH клона '029 и их дочерних клонов

ID	Сред 7,4 ka (1/Мс)	Сред 7,4 kd (1/с)	Сред 7,4 KD (М)	Сред 6,0 ka (1/Мс)	Сред 6,0 kd (1/с)	Сред 6,0 KD (М)	CDR 1 VH (пол 26-35)	CDR 2 VH (пол 50-66)	CDR 3 VH (пол 99-110)	SEQ ID NO
P1-069077	6,0E+04	1,9E-03	3,1E-08	6,3E+05	1,2E-04	1,9E-10	....E.E...	.....DE.....	.....	47
P1-069065	5,9E+04	2,3E-03	3,9E-08	5,7E+05	2,2E-04	3,8E-10	....E.E...	.....DD.....	.....	23
P1-069075	1,3E+05	2,3E-03	1,8E-08	1,3E+06	2,9E-04	2,2E-10	....E.....	....D..E.....	.....H.....E..	43
P1-069071	4,3E+04	4,0E-03	9,3E-08	7,0E+05	5,1E-04	7,3E-10	....E.E...	.....D.....	.....E.....	35
P1-069061	Слабая, быстрая kd			4,3E+05	1,1E-03	2,5E-09	....E.....	.....E.....	.....E.D	15
P1-069069	9,0E+04	7,5E-03	8,4E-08	1,4E+06	1.2E-03	8,6E-10	.....	.....EE.....	.....D..	31
P1-068761	Слабая, быстрая kd			3,8E+05	1,4E-03	3,8E-09	....E.E...	.....EE.....	.....H.....E..	51
P1-069059	Слабая, быстрая kd			3,4E+05	1,6E-03	4,8E-09	....E.....	.....DH.....	.....E.D	11
P1-068767	Слабая, быстрая kd			3,4E+05	2,6E-03	7,6E-09	....E.....	..D...E.....	.....E.D	55
P1-068773	Слабая, быстрая kd			3,0E+05	2,9E-03	9,4E-09	....E.....	..D...D.....	.....E.D	59
P1-069063	1,2E+05	2,7E-02	2,3E-07	1,9E+06	4,4E-03	2,4E-09	....E.....	.....E.....	.....D.E	19
P1-069067	1,0E+05	2,7E-02	2,9E-07	1,7E+06	4,5E-03	2,7E-09	.....	.....EE.....	.....D.E	27
P1-069073	Слабая, быстрая kd			6,1E+05	5,8E-03	9,4E-09	....E.E...	.....E.....	.....E..	39
P1-061029	2,9E+05	5,6E-03	1,9E-08	1,6E+06	5,8E-03	3,6E-09	GFTLDDYAMH	GINWNSANIGYADSVKG	VPGYSGGWIDAFDV	67
P1-068765	Нет связывания			3,7E+05	7,0E-03	1,9E-08	...DE.....	.....EE.....	.....E.D	63
P1-068757	Нет связывания			8,9E+05	1,7E-02	1,9E-08	....E.E...	.....EE.....	.....E.D	71
P1-068771	Нет связывания			7,6E+05	1,8E-02	2,5E-08	....E.E...	.....HE.....	.....E.D	75
P1-068769	Нет связывания			8,1E+05	4,0E-02	5,5E-08	....E.E...	.....DH.....	.....E.D	83
P1-068775	Нет связывания			1,8E+06	4,7E-02	2,3E-08	....E.E...	..D...EE.....	.....H.....E.D	79
P1-068759	Нет связывания			1,3E+06	8,0E-02	6,0E-08	....E.E...	..D...E.....	.....E.D	87

Таблица 10: Сводные показатели кинетики huVISTA и последовательности CDR VH клона '015 и их дочерних клонов

Клон	Сред 7,4 ka (1/Мс)	Сред 7,4 kd (1/с)	Сред 7,4 KD (М)	Сред 6,0 ka (1/Мс)	Сред 6,0 kd (1/с)	Сред 6,0 KD (М)	Последовательность HCDR (пол 26-35) (пол 50-66) (пол 99-110)	SEQ ID NO
P1-061015	2,3E+05	2,0E-03	8,8E-09	1,8E+06	9,5E-04	5,4E-10	GFTFSSYAMH_IIWYDGSNKYYADSVKG_DSGFYSSYYFDY	95
P1-068748	Нет связывания			1,4E+06	1,5E-03	1,0E-09	.....HH..._.....DD....._.....D.....	99
P1-068744				1,3E+06	1,8E-03	1,3E-09	.....E...._H.....E....._.....E.....E	103
P1-068736				8,4E+06	9,5E-03	1,1E-09	.....E...._.D.....D....._.....D.....D	107
P1-068752				6,1E+06	3,4E-02	5,6E-09	....._E.....D....._.....D.....E	111
P1-068740				Слишком быстрая	4,7E-02	ND	.....D...._.....D.D....._.....D.....D	115
P1-068742				Слишком быстрая	>1E-02	ND	.....D...._.....D.D....._.....ED.....	119
P1-068746				Слишком быстрая	>1E-02	ND	....._.....HH....._.....D.....	123
P1-068750				Слабая			.....D.D.._E..D....._.EE.....	127

Таким образом, было идентифицировано несколько дочерних клонов '029, которые либо сохраняли, либо имели улучшенную k_{off} для VISTA-ECD при pH 6,0 по сравнению с исходным '029, а также демонстрировали более слабую k_{off} или потерю связывания с VISTA при физиологическом pH. Дочерние клоны '015 демонстрировали селективное связывание с VISTA-ECD при кислотном pH, при этом связывание с VISTA при нейтральном pH не обнаруживали, но все проанализированные дочерние клоны '015 давали более высокую k_{off} при pH 6,0 по сравнению с исходным '015.

Пример 10: Селективные по кислотному pH дочерние клоны '029 демонстрируют зависимое от кислотного pH связывание клеток и эффекторную функцию с сохранением блокирующей VISTA активности

Измеряли pH-зависимое связывание клонов '761 и '767 с клетками Raji, модифицированными для эктопической экспрессии полноразмерного VISTA человека (SEQ ID NO: 1 с заменой D187E). Для этого эксперимента '761 и '767 форматировали в антитела IgG1.3 и измеряли связывание с использованием вторичного IgG антитела против иммуноглобулинов человека (номер по каталогу Jackson Immunoresearch 109-065-098). Результаты, показанные на Фиг. 8A-8B, указывают, что клоны '761 (Фиг. 8A) и '767 (Фиг. 8B) плохо связываются при pH 7,2 и 8,1, но лучше связываются при кислотном pH, в частности при pH 6,0, 6,1, 6,2 и 6,4. Значения MFI связывания отложены на оси y, а концентрации первичного антитела отложены на оси x в log шкале. Также показаны нелинейные регрессии.

На Фиг. 8C показаны данные из эксперимента, описанного на Фиг. 8A-B, в котором измеряли связывание P1-068767 (круги) и совпадающего по изотипу неспецифичного контрольного антитела (треугольники) с клетками Raji, экспрессирующими VISTA человека в концентрации 3125 нг/мл при разном pH. "PH50", pH, на уровне которого потеряны 50% связывания P1-068767, является приблизительно 6,6. Связывание MFIs подготовлены на оси Y и буферизуют pH, подготовлен на оси X. Нелинейные регрессии также показывают.

На Фиг. 8D показаны MFI совпадающего по изотипу неспецифичного контрольного антитела (закрашенные и незакрашенные круги для pH 7,0 и 6,0 соответственно), мАт против VISTA 2 ("контроль", см. Фиг. 6C, закрашенныеи незакрашенные квадраты при pH 7,0 и 6,0 соответственно), P1-068761 (закрашенные и незакрашенные треугольники для pH 7,0 и 6,0 соответственно) и P1-068767 (закрашенные и незакрашенные перевернутые треугольники для pH 7,0 и 6,0 соответственно) при связывании с человеческими моноцитами. Связывание детектировали, как описано на Фиг. 8A-B. Неселективное по pH контрольное антитело к VISTA (мАт 2) связывало моноциты при обоих pH. Оба сконструированных селективных по кислотному pH антитела связывали моноциты хорошо при pH 6,0, но не связывали лучше, чем неспецифичный совпадающий по изотипу контроль при pH 7,0. Таким образом, клоны '761 и '767 имеют слабое связывание или не связываются с VISTA при нейтральном pH, и вместо этого селективно связывают VISTA на клетках при кислотном pH.

На Фиг. 8E показано сопоставимое блокирование связывания рекомбинантного мультимера VISTA с активированными человеческими CD4+ Т-клетками при pH 6,0 клонами '029 (площади), '761 (треугольники) и '767 (инвертированные треугольники), тогда как неспецифичное к VISTA контрольное антитело (круги) не блокировало связывание VISTA. Этот анализ блокирования проводили, как описано в Примере 4. Эти данные показывают, что сконструированные селективные по кислотному pH антитела к VISTA все еще способны блокировать связывание рецептора-лиганда VISTA при кислотном pH.

Специфический лизис NK-клетками клеток-мишеней (таких же клеток Raji, экспрессирующих VISTA человека, описанных на Фиг. 8A-B), посредством антителозависимой клеточной цитотоксичности (ADCC) при физиологическом pH измеряли для антител P1-061029.IgG1f, P1-068761.IgG1f, P1-068767.IgG1f, неспецифичного к VISTA антитела и неспецифичного к VISTA антитела отрицательного контроля, которые экспрессировались как афукозилированные IgG1 антитела. NK-клетки обогащали из МКПК посредством отрицательного отбора с использованием сфер (номер по каталогу StemCell Technologies 19055) и культивировали в течение ночи в среде Myelocult™ (номер по каталогу StemCell Technologies 05150) с добавкой 1 мкМ гидрокортизона (номер по каталогу StemCell Technologies 07904) и 500 Ед/мл рекомбинантного человеческого IL-2 (номер по каталогу Peprotech 200-02). В день анализа клетки Raji, эктопически экспрессирующие VISTA человека (описанные на Фиг. 8A-B), метили Calcein AM (номер по каталогу Life Technologies C3100MP) и совместно культивировали с культивируемыми NK-клетками при соотношении NK:клеток-мишеней 10:1 и с антителами P1-061029.IgG1f, P1-068761.IgG1f, P1-068767.IgG1f, неспецифичным к VISTA антителом и неспецифичным к VISTA антителом отрицательного контроля в течение 2 часов при физиологическом pH. Специфический лизис интерполировали из флуоресцентного сигнала супернатанта (планшетный спектрофотометр EnVision™). Сигнал спонтанного лизиса, полученный от сокультуры без антител, и максимальный сигнал лизиса определяли при лизисе клеток-мишеней с использованием буфера для лизиса Delfia® (номер по каталогу PerkinElmer 4005-0010). Антителоспецифический лизис вычисляли как процент наблюдаемого лизиса, деленный на (максимальный сигнал лизиса минус сигнал спонтанного лизиса).

Результаты, представленные на Фиг. 8F, показывают сниженную активность P1-068761.IgG1f и P1-068767.IgG1f по сравнению с P1-061029 и положительным контролем при опосредовании антителозависимой клеточной цитотоксичности (ADCC) при физиологическом pH.

Пример 11: ФК антител к VISTA у циномолгуса

Наивным по антителам человека яванским макакам вводили внутривенно в однократной дозе 5 мг/кг антитела к VISTA, которое сравнимо связывалось при кислотном и нейтральном pH ("контроль"; мАт2), антитела к VISTA со сниженным связыванием при кислотном pH ("чувствительное к кислотному pH", мАт3) или селективного по кислотному pH антитела '767 для определения ФК этих антител у циномолгуса.

Кинетика связывания ППР антител, использованных в этом Примере, представлена

в Таблице 11 и определялась следующим образом. Перекрестную реактивность VISTA циномолгуса для селективных по кислотному pH и контрольных антител против VISTA оценивали при кислотном и нейтральном pH. Измерения аффинности связывания для Ат к VISTA производили с использованием прибора Biacore® T100 (GE Healthcare). Белок A (номер по каталогу ThermoFisher Scientific 21181) разбавляли до 20 мкг/мл в 10 мМ ацетата натрия, pH 4,5 и иммобилизировали на проточных ячейках биосенсора CM5 в соответствии с предложенным производителем протоколом связывания аминов (GE Healthcare), направленным на плотность иммобилизации белка 2000 RU на каждую проточную ячейку. Анализ проводили при 37°C с использованием рабочего буфера PBST (137 мМ хлорида натрия, 2,7 мМ хлорида калия, 10 мМ фосфатный буфер, 0,05% Tween 20) при pH 7,4 и 6,0. Антитела (форматированные как IgG1.3 антитела) разбавляли до 25 нМ в PBST pH 7,4 и связывали на активных проточных ячейках биосенсора при 5 мкл/мин в течение 45 секунд. Серии концентраций 1600-0,78 нМ (pH 7,4) и 100-0,78 нМ (pH 6,0) одновалентного hVISTA-ECD (SEQ ID NO: 325) и VISTA-ECD циномолгуса (AFKVATLYSL YVCPEGQNVT LTCRVFGPVD KGHDVTFYKT WYRSSRGEVQ TCSERRPIRN LTFQDLHLHH GGHQAANTSH DLAQRHGLES ASDHHGNFSI TMRNLTLLDS GLYCCLVVEIRHHHSEHRVH GAMELQVQTG KDAPSSCVAY PSSSQESENI TAHHHHHHH; (SEQ ID NO: 326) подготавливали в рабочем буфере и пропускали над связанными антителами со скоростью 40 мкл/мин для измерения ассоциации и диссоциации. Два ввода 10 мМ глицина с pH 1,5 по 15 секунд использовали для регенерации поверхность захвата с белком A между циклами анализа. Константы скорости ka (k_{on}) и kd (k_{off}) получали из референсной проточной ячейки и сенсограмм с вычитанием 0 нМ холостой пробы и аппроксимировали к модели связывания 1:1 в программе Biacore® T200 Evaluation Software v.2.0 Константу аффинности, K_D, вычисляли как отношение констант скорости k_{off}/k_{on} для каждого антитела VISTA. Соотношения k_{off} и K_D при pH 7,4/pH 6,0 были вычислены для сравнения различий скорости диссоциации и аффинности при кислотном pH в сравнении с нейтральным pH и показаны в Таблице 11. Все протестированные антитела против VISTA показали сравнимые (в пределах 2-кратного различия) параметры кинетики связывания с VISTA человека и VISTA циномолгуса при обоих pH, что подтверждает перекрестную реактивность с VISTA циномолгуса. Оба контрольных антитела против VISTA показали улучшенные kd и более сильные K_D при физиологическом pH по сравнению с кислотным pH, а чувствительный к кислотному pH контроль продемонстрировал более быструю VISTA kd при кислотном pH по сравнению с контрольным антителом.

Таблица 11: Кинетика связывания ППР антител к VISTA с VISTA циномолгуса

Антитело	VISTA	pH 7,4			pH 6,0			Отношение kd (7,4/6)	Отношение KD (7,4/6)
		ka (1/Мс)	kd (1/с)	KD (M)	ka (1/Мс)	kd (1/с)	KD (M)		
P1-061029	человек	1,2E+05	7,5E-03	6,2E-08	9,8E+05	6,6E-03	6,8E-09	1,1	9,1
	циномолгус	1,4E+05	6,7E-03	4,7E-08	6,2E+05	6,2E-03	1,0E-08	1,1	4,7
P1-068761	человек	4,3E+03	3,7E-02	8,7E-06	3,5E+05	1,4E-03	4,1E-09	26,4	2122,0
	циномолгус	6,5E+03	3,6E-02	5,5E-06	2,1E+05	1,7E-03	7,9E-09	21,2	696,2
P1-068767	человек	1,6E+03	3,5E-02	2,3E-05	3,2E+05	2,4E-03	7,5E-09	14,6	3066,7
	циномолгус	1,3E+03	3,4E-02	2,6E-05	1,9E+05	2,5E-03	1,3E-08	13,6	2000,0
α-VISTA контроль (мАт 3)	человек	4,4E+05	1,3E-03	3,0E-09	9,6E+05	6,0E-03	6,2E-09	0,2	0,5
	циномолгус	4,9E+05	1,7E-03	3,4E-09	5,5E+05	7,1E-03	1,3E-08	0,2	0,3
α-VISTA кислотный pH-чувствительное (мАт 2)	человек	1,8E+05	7,8E-04	4,3E-09	1,8E+06	5,0E-02	2,8E-08	0,02	0,2
	циномолгус	1,9E+05	6,8E-04	3,5E-09	1,2E+06	5,2E-02	4,4E-08	0,01	0,08

Наивным по антителам человека яванским макакам внутривенно вводили однократную дозу 5 мг/кг VISTA мАт 2 ("контроль"), VISTA мАт 3 ("кислотный pH-чувствительное") или P1-068767.IgG1.3. Концентрация в сыворотке каждого антитела после инъекции показана на Фиг. 9. Среднее время удерживания для P1-068767.IgG1.3 и контрольного антитела против VISTA составляло 717 и 22 часа соответственно, что указывало на то, что селективность по кислотному pH значительно уменьшала мишень-опосредованное распределение лекарственного средства (TMDD) антитела VISTA. Несмотря на то, что контрольное антитело (мАт 2) и кислотный pH-чувствительное антитело (мАт 3) связывает VISTA сравнимо при физиологическом pH, кислотный pH-чувствительное антитело имело более низкое среднее время удерживания 7,6 часов, демонстрируя важность связывания при кислотном pH для рециркуляции антитела к VISTA, как описано в Примерах 6 и 7. Результаты показывают, что селективные по кислотному pH антитела имеют превосходной ФК и, таким образом, более легко связывают мишень в опухолях или других микроокружениях.

Пример 12: pH-селективные дочерние клоны '029 не связывают неспецифично с белками, имеющими высокую pI

Специфичность связывания клонов '029,' 761 и '767 с VISTA и другими белками с высокой pI оценивали методом ППР при нейтральном и кислотном pH при использовании прибора Biacore® T100 (GE Healthcare). Белок A (номер по каталогу ThermoFisher Scientific 21181) разбавляли до 20 мкг/мл в 10 мМ ацетате натрия, pH 4,5 и иммобилизировали на проточных ячейках биосенсора CM3 в соответствии с предложенным производителем протоколом связывания аминов (GE Healthcare), направленным на плотность иммобилизации белка A 800 RU на проточную кювету. Эксперименты ППР проводили при 25°C с использованием рабочего буфера PBST (137 мМ хлорида натрия, 2,7 мМ хлорида калия, 10 мМ фосфатный буфер, 0,05% Tween 20) при pH 7,4 и 6,0. Антитела (форматированные как IgG1.3 антитела) разбавляли до 50 нМ в PBST pH 7,4 и связывали на активных проточных ячейках биосенсора при 5 мкл/мин в течение 60 секунд. Серию концентраций 100-10 нМ моновалентного hVISTA-ECD (SEQ ID NO: 325), авидина (номер по каталогу ThermoFisher Scientific 21128), цитохрома C (номер по каталогу Sigma C2867), BSA (номер по каталогу Calbiochem 126593) и моновалентного контрольного антигена ("Аг") подготавливали в рабочих буферах с pH 7,4 и 6,0 и пропускали над связанными антителами со скоростью 50 мкл/мин для оценки специфичности связывания. Два ввода 10 мМ глицина, pH 1,5 по 15 секунд использовали для регенерации поверхности захвата с белком A между циклами анализа. Референсную проточную ячейку и сенсограммы с вычитанием 0 нМ холостой пробы исследовали с использованием программы Biacore® T200 Evaluation Software v.2.0. Результаты представлены в Таблице 12.

Таблица 12: Связывание клонов VISTA с белками, имеющими высокую pI

Образец	Изоэл. точка (pI)	'029		'761		'767		Анти-Аг		PBS (без Ат)	
		pH 6	pH 7,4	pH 6	pH 7,4	pH 6	pH 7,4	pH 6	pH 7,4	pH 6	pH 7,4

huVISTA-His	6,9										
Авидин	10										
Цитохром С	10,7										
BSA	4,7										
Ag-His	6,5										

В Таблице 12 специфичное связывание, определенное как ответы связывания ППР >10 RU в конце ввода образца, показано закрашенными серыми прямоугольниками. "Анти-Аг" представляет собой контрольное антитело, связыющее VISTA. Клон '029 был специфичен к VISTA при кислотном и нейтральном pH. Дочерние клоны '029 - '761 и '767, были специфичными к VISTA при кислотном pH, тогда как контрольное антитело также сохраняло антигенную специфичность. Неспецифическое связывание ("NSB") pI контрольных белков с референсной поверхностью белка А в этом анализе не наблюдали.

Таким образом, заряженные аминокислоты, введенные в CDR-области VH '761 и '767, не приводят к электростатическому связыванию этих антител с другими белками, имеющими высокую pI, такими как авидин и цитохром С, или белками с низкой pI, такими как BSA.

Пример 13: Ингибирование активации Т-клеток антителами '761 и '767

В данном Примере описан анализ, который можно провести для определения способности антител '761 и '767 блокировать hVISTA ингибирование активации Т-клеток Jurkat.

Использовали такой же анализ, как в Примере 5. Кратко, клетки Jurkat (линия Т-клеток человека), экспрессирующие NFkB репортер люциферазу, совместно культивировали при различных значениях pH с клетками 293T, экспрессирующими VISTA человека, и одноцепочечным вариабельным фрагментом агонистического антитела против Т-клеточного рецептора человека OKT3. Антитела против VISTA '761 и' 767 или совпадающие по изотипу неспецифичные к VISTA контрольные антитела добавляли к совместно культивируемым клеткам. Активация Jurkat показана в виде люциферазных единиц и кратного усиления сигнала люциферазы при обработке антителами к VISTA в сравнении с контролем.

Пример 14: Мутационный анализ идентифицировал ключевые остатки, придающие pH-зависимые свойства связывания антителам к VISTA

Антитела P1-068761.IgG1.3 и P1-068767.IgG1.3 содержат 5-6 мутаций из P1-061029 (Таблица 7). Мутационный анализ проводили с целью идентифицировать ключевые остатки, важные для придания pH-зависимых свойств антителам к VISTA. Таким образом, панель N-1 (реверсия 1 аминокислоты к P1-061029) и N-2 (реверсия 2 аминокислот к P1-061029) вариантов P1-068761 и P1-068767 синтезировали, экспрессировали в формате IgG1.3 и анализировали на их связывание с huVISTA при pH 6, pH 6,7 и pH 7,4.

Кинетику связывания измеряли с помощью прибора Biacore® T100 (GE Healthcare). Белок А (номер по каталогу ThermoFisher Scientific 21181) разбавляли до 20 мкг/мл в 10 мМ

ацетате натрия, pH 4,5 и иммобилизировали на проточных ячейках биосенсора CM5 в соответствии с предложенным производителем протоколом связывания аминов (GE Healthcare), направленным на плотность иммобилизации белка A 2000 RU на проточную ячейку. Анализ проводили при 37°C с использованием рабочего буфера PBST (137 мМ хлорида натрия, 2,7 мМ хлорида калия, 10 мМ фосфатный буфер, 0,05% Tween 20) при pH 7,4, 6,7 и 6,0. Антитела разбавляли до 25 нМ в PBST pH 7,4 и связывали на активных проточных ячейках биосенсора при 5 мкл/мин в течение 40 секунд. Серии концентраций 100-10 нМ моновалентного hVISTA-ECD (SEQ ID NO: 325) подготавливали в рабочих буферах с pH 7,4, 6,7 и 6,0 и пропускали над связанными антителами со скоростью 40 мкл/мин для измерения ассоциации и диссоциации. Два ввода 10 мМ глицина с pH 1,5 по 15 секунд использовали для регенерации поверхности захвата с белком A между циклами анализа. Константы скорости ka (k_{on}) и kd (k_{off}) получали из референсной проточной ячейки и сенсограмм с вычитанием 0 нМ холостой пробы и аппроксимировали к модели связывания 1:1 в программе Biacore® T200 Evaluation Software v.2.0.

Константу аффинности, K_D, вычисляли как отношение констант скорости k_{off}/k_{on} для каждого антитела к VISTA. % Rmax вычисляли для сравнения того, как pH влияет на связывающую способность антитела к VISTA, и представляет собой измеренный максимальный ответ связывания VISTA в сравнении с ожидаемым максимальным ответом связывания VISTA. % Rmax определяют как отношение ответа в зарегистрированной точке 'связывания' с вычитанием референсного значения в конце ввода 100 нМ VISTA для каждого антитела (Rmax) по отношению к ожидаемому ответу связывания VISTA (Rexp). Rexp вычисляют как Rexp=[(молекулярная масса VISTA-ECD/молекулярная масса мАт)×(ответ в зарегистрированной точке 'захвата' мАт (RU)]×2 сайта связывания на мАт.

Результаты ППР, полученные для реверсивных вариантов P1-068761, показаны на Фиг. 10A, которые ранжированы по pH 6,0 k_{off}, от самого медленного к самому быстрому. В этой таблице антитела, которые демонстрировали слабый ответ связывания или отсутствие связывания (<10 RU) с 100 нМ hVISTA, относили к категории несвязывающих (NB). Результаты показывают, что E в положениях 32 (т.е. аминокислотный остаток 7 в CDR1 VH клона '761) и 100f (аминокислотный остаток 12 в CDR3 VH клона '761) необходимы для поддержания селективности по кислотному pH, поскольку эти обратные мутации в исходной последовательности P1-061029 обеспечивали значимое связывание hVISTA при физиологическом pH (% Rmax >10). Последующий анализ показал, что варианты с реверсией E55A (аминокислотный остаток 6 в CDR2 VH клона '761) сохраняли селективность в отношении кислотного pH и демонстрировали сравнимую кинетику связывания в пределах 2-кратного значения P1-068761. В отличие от этого, тогда как варианты с реверсиями H100G, E56N и E30D (аминокислотные остатки 12 в CDR3 VH, 7 в CDR2 VH и 4 в CDR1 VH клона '761 соответственно) сохраняли селективность в отношении кислотного pH, эти мАт также демонстрировали ~3 раза более быструю k_{off} при значениях кислотного pH по сравнению с P1-068761, что приближает скорость диссоциации этих мутантов при кислотных pH к исходному P1-061029. Таким образом, добавление мутаций

G100H, N56E и/или D30E в исходный клон P1-061029 способствовало повышению аффинности к VISTA при кислотном pH, наблюдаемому в клоне P1-068761, селективном по отношению к кислотной среде.

Результаты ППР, полученные для реверсивных вариантов P1-068767, показаны на Фиг. 10B, которые ранжированы по pH 6,0 k_{off}, от самой медленной к самой быстрой. Результаты показывают, что D в положении 102 (аминокислотный остаток 14 в CDR3 VH клона '767) был необходим для поддержания селективности по кислотному pH, а реверсия D102V обратно к исходной последовательности P1-061029 позволила обеспечить значимое связывание hVISTA при нейтральном pH (% Rmax >10). Дальнейший анализ показал, что варианты с реверсиями E30D, D52N и E55A (аминокислотные остатки 4 в CDR1 VH, 3 в CDR2 VH и 6 в CDR3 VH клона '767 соответственно) сохраняли селективность в отношении кислотного pH и демонстрировали сопоставимую с pH 6,0 кинетику связывания в пределах 2-кратных значений P1-068767. Напротив, варианты с реверсией E100fF (аминокислотный остаток 12 в CDR3 VH клона '767) сохраняли селективность в отношении кислотного pH, хотя и с больше чем в 3 раза более быстрой k_{off} при кислотном pH по сравнению с P1-068767. Примечательно, что варианты с реверсией E100fF демонстрировали даже более быструю k_{off} при кислотном pH по сравнению с исходным мАт P1-061029.

Подтверждающие полученные данные кинетики связывания были получены (при использовании методики, описанной в Примере 9) с некоторыми из реверсивных мутантов, данные показаны в Таблицах 22 и 23.

Таким образом, сводные показатели реверсивных мутантов P1-068761 и P1-068767 (селективных в отношении кислотного pH) по сравнению с P1-061029 (pH-толерантному) представлены далее в Таблице 13 (HCDR1, HCDR2 и HCDR3 разделены нижним подчеркиванием).

Таблица 13:

		Seq Id.
P1-061029	GFTLDDYAMH_GINWNSANIGYADSVKG_VPGYSGGWIDAFDV	67
P1-068761	....E.E..._......EE........._.....H.....E..	51
P1-068767	....E....._..D...E........._..........E.D	55
пол. ак	26-35	50-66	99-110	

Представленные выше последовательности CDR VH для P1-061029, P1-068761 и P1-068767 в Таблице 13 указаны по аминокислотам ("пол. ак") 26-35, 50-66 и 99-110 SEQ ID NO: 67, 51, 55, соответственно. Ключевые мутации, требуемые для селективности в отношении кислотного pH, выделены жирным шрифтом, а мутации с более чем 3-кратным влиянием на k_d при pH 6,0 по сравнению с P1-068761 и P1-068767 подчеркнуты.

Затем мутации F100fE, V102D и Y32E вводили в '029 по отдельности или вместе, чтобы определить, достаточны ли эти аминокислотные замены, чтобы сделать '029 pH-селективным. Были созданы следующие антитела: P1-061029_F100fE_V102D (P1-072000); P1-061029_F100fE (P1-072002); P1-061029_V102D (P1-072004); P1-061029_Y32E (P1-072006) и P1-061029_Y32E_F100fE (P1-072008), и их кинетику связывания определяли, как описано в Примере 9. Аминокислотные последовательности их CDR-областей показаны в

Таблице 23. Результаты, которые показаны в Таблице 22, указывают, что V102D является достаточной для обеспечения pH-селективности '029, однако кинетика связывания улучшается, если также присутствует F100fE. Впрочем, сами по себе F100fE или Y32E не делают '029 pH-селективным.

Пример 15: Картирование эпитопов антител к VISTA

Эпитопы hVISTA антител '015, '029, '761 и '767, форматированных как IgG1.3 антитела, определяли 2 различными методами: конкурентной BLI (биослойной интерферометрией) и поверхностным дрожжевым дисплеем.

Анализы биннинга эпитопов методом конкурентной BLI проводили для оценки, сохраняли ли селективные по кислотному pH антитела к VISTA, P1-068761 и P1-068767, подобные или перекрывающиеся эпитопы на VISTA в сравнении с исходным клоном P1-061029, P1-061015 и соответствующими контрольными антителами к VISTA 1, 2 и 3. Анализы биннинга в сэндвич и тандемном формате проводили на приборе OctetRed384 BLI (PALL/ForteBio). Все этапы анализа проводили при 30°C и скорости встряхивания 1000 об/мин, при этом использовали кислый (pH 6,0) или нейтральный (pH 7,4) буфер PBST (137 мМ хлорида натрия, 2,7 мМ хлорида калия, 10 мМ фосфатный буфер, 0,05% Tween 20). Для сэндвич формата на сенсорах против Fc IgG человека (AHC, PALL/ForteBio) сначала захватывали панель антител к VISTA при pH 7,4, затем сенсоры захвата против иммуноглобулина человека блокировали суммарным человеческим IgG (Jackson 009-000-002). Затем VISTA-ECD человека захватывали при pH 6,0, и, наконец, оценивали конкуренцию для всех возможных комбинаций антител при pH 6,0. В анализе тандемного формата на покрытых стрептавидином биосенсорах (SAX, PALL/ForteBio) сначала захватывали биотинилированный hVISTA-ECD при pH 7,4, затем на сенсорах захватывали полную панель антител к VISTA при pH 6,0, обеспечивая полное насыщение связывания каждого антитела на VISTA с последующей оценкой конкуренции со всеми возможными комбинациями антител при pH 6,0.

Результаты конкурентных BLI анализов биннинга эпитопов представлены матрицей конкуренции, Фигура 11A. На этой фигуре первое захваченное антитело указано в строке, а его активность связывания или блокирования со (вторыми) конкурирующими антителами показана в каждом столбце. Матрица конкуренции была идентична для обоих форматов анализа. Для сэндвич-анализа связывание (светло-серый) конкурирующего антитела определяли по сигналу в диапазоне от 0,4 до 1,2 нМ, а блокированные антитела (черный) демонстрировали сигнал отсутствия связывания <0,1 нМ. Для тандемного анализа связывание конкурирующего антитела определяли по сигналу в диапазоне от 0,3 до 0,8 нМ, а блокированные антитела демонстрировали сигнал отсутствия связывания <0,2 нМ. Хотя 'VISTA мАт 3' демонстрирует быструю диссоциацию в кислотной среде от hVISTA-ECD при ППР при 37°C (Фигура 6C), оно не диссоциирует быстро ни в одном из форматов анализа BLI (проводимого при 30°C). Эти конкурентные анализы показали, что P1-061015, P1-061029, селективные по кислотному pH антитела P1-068761 и P1-068767, а также антитела к VISTA 2 и 3 конкурируют друг с другом за аналогичные или перекрывающиеся

эпитопы на VISTA. Однако антитело к VISTA 1 связывается с отдельным и отличным эпитопом. Таким образом, мутации заряженных аминокислот, введенные в CDR-области VH P1-061029 для создания кислотно-селективных клонов P1-068761 и P1-068767, не привели к существенному изменению эпитопа связывания VISTA.

Эпитопы антител '029, '015, '761 и '767 также картировали с помощью дрожжевого поверхностного дисплея и NGS согласно методу Chao et al. (2004) J. Mol. Biol. 342:539-550, Oliphant et al. (2006) J. Virol. 80:12149-12159, и Kowalskyet al. (2015) J. Biol. Chem.290:26457-26470. Кратко, библиотеку насыщающего мутагенеза одноточечных мутантов VISTA ECD получали и экспонировали на поверхности дрожжей. Мутанты VISTA, потерявшие связывание с картируемым антителом, но сохранившие связывание с неблокирующим антителом (мАт1), сортировали и секвенировали. Так как они сохраняли связывание с мАт1, эти мутанты были, вероятно, правильно свернуты, и потеря связывания, наблюдаемого для картируемого антитела, происходила, вероятно, из-за потери энергетически важного контактного остатка. Положения этих мутаций были определены как энергетически важные остатки в эпитопе антитела и показаны в Таблице 14.

Таблица 14: Остатки huVISTA, которые идентифицированы как остатки эпитопа мАт против VISTA

мАт	T 36	Y 37	K 38	T 39	Y 41	R 54	T 61	F 62	Q 63	L 66	H 66	L 67	H 68	H 69	F 97	L 115	V 117	I 119	H 121	H 122	S 124	E 126	R 127
P1-061015		x	x	x		x		x	x	x	x				x	x	x	x			x	x	
P1-061029		x		x	x	x	x	x	x	x	x		x	x		x	x	x			x	x	x
P1-068761	x	x		x		x	x	x	x		x	x	x	x		x	x	x			x	x	x
P1-068767		x		x	x	x	x	x	x	x	x					x	x	x	x	x	x	x	x

Таблица 15 включает подробные данные из Таблицы 14 и перечисляет аминокислотные остатки hVISTA, которые, вероятно, будут снижать связывание каждого перечисленного антитела, на основе частоты остатка, наблюдаемой в методе дрожжевом поверхностном дисплее/NGS

Таблица 15: Аминокислотные замены VISTA, которые, вероятно, будут снижать связывание перечисленных антител

	P1-061015 pH 6	P1-061015 pH 7	P1-061029 pH 6	P1-061029 pH 7	P1-068761 pH 6	P1-068767 pH 6
T35					P, Y, W	
Y37	P, G, A, S, T, K, R, H, N, D, E, Q	P, G, S, N, D, E Q	Y, S, T, V, L, I, M, K, R, N, D, Q	P, G, S, T, V, L, I, M, K, R, N, D, E, Q	P, G, A, S, T, V, L, I, M, K, R, N, D, E, Q	G, T, V, L, I, M, K, R, N, Q
K38	P, G, A, S, V					
T39	G, M, R, H, F, Y, W, N, D, E, Q	M, K, R, H, F, Y, W, D, E, Q	G, A, S, M, Y, W, N, D, E, Q	G, A, S, V, L, M, R, H, F, Y, W, N, D, E, Q	G, Y, D, E	G, A, S, H, Y, W, N, D, E, Q
Y41				A, S, T, I, M		P, I, M, H

	P1-061015 pH 6	P1-061015 pH 7	P1-061029 pH 6	P1-061029 pH 7	P1-068761 pH 6	P1-068767 pH 6
R54	L, M, F, Y, E	M, E	P, A, T, V, I, M, F, Y, N, D, E, Q	P, G, A, S, T, V, L, I, M, H, F, Y, W, N, D, E, Q	A, T, V, L, I, M, K, F, Y, E, Q	P, A, S, T, V, L, I, M, F, Y, W, D, E, Q
T61			G, L, R, H, F, Y, D, E, Q	V, L, K, R, H, F, Y	G, V, H, Y, D	L, R, H, F, Y, D, E
F62	G, A, S, M, K, R, N, D, E, Q	G, K, R, D, E, Q	P, G, A, S, T, V, I, M, H, Y, W, D, E, Q	P, G, A, S, T, V, L, I, M, K, R, H, Y, W, N, D, E, Q	P, G, A, S, T, V, M, H, Y, W, D, E, Q	P, G, A, S, T, V, L, M, H, Y, W, N, D, E, Q
Q63	G, R, W, D, E	W, D, E	G, A, S, T, V, K, R, H, Y, W, N, D, E	P, G, S, T, L, M, K, R, H, F, Y, W, N, D, E	G, S, T, K, H, Y, N, D, E	P, G, A, S, T, V, L, I, M, K, H, F, Y, W, N, D, E
L65	P, G, A, S, T, K, R, H, W, N, D, E, Q	P, G, S, K, W, D, E, Q	G, T, Y, D, E, Q	P, G, A, S, T, H, Y, W, N, D, E, Q,		P, G, S, H, D, E, Q
H66	P, T, V, L, I, M, K, R, F, Y, W	P, T, V, L, I, M, K, R, F, Y, W	T, V, L, I, Y, D, E, Q	G, S, T, V, L, I, M, K, R, W, N, D, E, Q	T, I, K, W, D	T, V, I, K, W, D, E
L67					G, A	
H68			L, I, M, F, E	L, I, E	G, T, V, L, I, Y, W, D, E, Q	
F97	G, D, E					
L115	R, W		A, T, K, N, Q	A, T, K, F, N, Q	A, T, M, K, F, N	A, T, K, F, N, Q
V117	M, K, N, D	M, K, R, W, E	T, M, K, R, W, E	T, L, I, M, K, R, W, E	T, I, M, K, W	T, L, I, M, K, R, W, E
I119	F, P	P, N	P, M, E	P, M, E	M, H	P, M, H, F, N, E
H121						V, E, Q
H122						P, Y, N, D
S124	P, V, L, I, K, F, D, E	L, I, M, H, W, Q	L, I, M, H, W, Q		L, I, M, Q	L, I, M
E125	A, S, T, L, M, K, H, Y, D	A, T, V, I, M, K, H, F, Y, W, N, D	T, V, I, M, H, F, Y, W	G, T, K, H, Y, W, N, D	V, I, H, N	T, V, I, F, Y, W, N
R127			S, V, M, H	P, S, V, M, K, H, N	P, V, M, N	P, S, V, M, H, N

На Фиг. 11B и Фиг. 11C показано представление эпитопа, охватывающего все остатки для блокирующего hVISTA антитела, как перечислено в Таблице 14 (Фиг. 11B), по сравнению с эпитопом неблокирующего hVISTA антитела (мАт1; Фиг. 11C). Аминокислотные остатки 66(H) и 162(A) указаны для обозначения ориентации молекулы. Остатки гистидина показаны серым, а остатки эпитопа показаны черным. В частности, все блокирующие мАт против VISTA занимают ту же область эпитопа, в соответствии с

данными биннинга Octet (показывая, что они конкурировали друг с другом), с небольшими различиями по остаткам среди изучаемых антител. Напротив, неблокирующее hVISTA антитело (мАт1) занимает отличную область эпитопа на молекуле hVISTA, и это также подтверждается данными биннинга Octet, что показывает то, что ни одно из блокирующих мАт не конкурировало с мАт1.

Пример 16: Биофизические свойства '761 и '767

Физические и химические свойства P1-068761 и P1-068767 сравнивали со свойствами исходного P1-061029 (все с константной областью IgG1.3) при помощи следующих аналитических и биофизических методов.

Аналитические данные SEC были получены при использовании прибора Agilent 1260 HPLC с колонкой Shodex™ KW403-4F (вд 4,6 мм × дл 300 мм) в буфере, содержащем 100 мМ фосфата натрия, 150 мМ хлорида натрия, pH 7,3 (отфильтрованном через 0,2 мкм), при скорости потока 0,30 мл/мин. Данные регистрировали с помощью диодно-матричного детектора Agilent 1260 Infinity, установленного на 280 нм, и анализировали с помощью программы Agilent Chemstation (Agilent, Santa Clara, CA).

Данные капиллярного изоэлектрического фокусирования с визуализационным контролем (icIEF) получали с помощью прибора ProteinSimple iCE3 с автосэмплером Alcott 720NV. Образцы антител смешивали с разделительной смесью, получив конечные концентрации антитела 0,2 мг/мл, 0,35% метилцеллюлозы, 2,0 М мочевины, 1% об/об pharmalyte pI 5-8 и 3% об/об pharmalyte pI 8-10,5. Эти образцы анализировали с использованием времени предварительного фокусирования 1 мин при 1500 В и времени фокусирования 10 мин при 3000 В в картридже ProteinSimple cIEF с FC-покрытием (продукт 101701). Данные анализировали с помощью программы iCE CFR Software V4.3.1.5352.

Гидродинамический размер антител определяли с помощью динамического светорассеяния (DLS), а термостабильность исследовали с помощью флуоресцентной спектроскопии и статического светорассеяния (SLS) при использовании прибора для определения молекулярных характеристик UNcle (Unchained Labs). Антитела P1-061029, P1-068761 и P1-068767 подготавливали в концентрации 2 мг/мл в 1× PBS буфере, а затем разбавляли 1:1 либо 40 мМ Трис в 1× PBS, либо 40 мМ цитрата в 1× PBS, при различном pH, с получением конечных образцов 1 мг/мл антитела в 20 мМ Трис/1× PBS или 20 мМ цитрата/1× PBS, при pH 3,0, 4,0, 5,0, 6,0, 7,0, 8,0 или 9,0. Эти образцы загружали в картридж с кюветой UNi и анализировали в течение 1 часа после разбавления в составах с разным pH. Данные DLS собирали при 25°C с использованием 4 регистраций данных по 5 с каждая. Функции автокорреляции интенсивности подбирали с использованием программы для анализа UNcle версии V2.0. Данные термической денатурации получали при сканировании образцов от 25°C до 90°C со скоростью сканирования 0,5°/мин и возбуждением при 266 нм и 473 нм. Данные флуоресценции регистрировали в диапазоне 250-720 нм. Данные флуоресценции и SLS анализировали с использованием программы для анализа UNcle версии V2.0.

Кажущуюся вязкость антител P1-061029, P1-068761 и P1-068767 измеряли на

приборе для определения молекулярных характеристик UNcle (Unchained Labs) при использовании метода DLS на основе сфер, который позволяет измерять скорость диффузии полистирольных сфер в присутствии приготовленных растворов антител, согласно рекомендованному протоколу Unchained Labs. Кратко, 10% раствор полистирольных сфер размером 100 нм (Thermo Scientific, номер по кат. 3100A) приготавливали в буфере для получения состава, содержащего 0,5% Tween 80. По 3 мкл этой смеси полистирольных сфер добавляли к 30 мкл подготовленного раствора антитела (разные концентрации Ат в 20 мМ гистидина, 260 мМ сахарозы, pH 6,0) и наносили полученную смесь белка/сфер на 3 отдельные дорожки картриджа с кюветой UNi (по 9 мкл на каждую дорожку) для анализа в трех повторностях. Данные анализировали с использованием программы для анализа UNcle версии V2.0, используя референсную вязкость 1,3 сП.

Физическую стабильность антител P1-061029, P1-068761 и P1-068767 изучали в условиях ускоренного стресса путем приготовления образцов антител с концентрацией 50 мг/мл в 20 мМ гистидина, 260 мМ сахарозы, pH 6,0 и воздействия термического стресса при 40°C в течение 4 недель. Аликвоты отбирали непосредственно перед инкубирование при 40°C (нулевая точка времени=t0), а также через 1 неделю (1 нед) И 4 недели (4 нед) термического стресса, после чего образцы разбавляли до 2 мг/мл при использовании буфера для состава и исследовали с помощью aSEC. Данные aSEC получали с помощью системы ВЭЖХ Agilent 1260 при использовании колонки Shodex KW403-4F (вд 4,6 мм × 300 мм) в буфере, содержащем 100 мМ фосфата натрия, 150 мМ хлорида натрия, pH 7,3 (фильтрация через 0,2 мкм), при скорости потока 0,30 мл/мин. Данные регистрировали с помощью диодно-матричного детектора Agilent 1260 Infinity, установленного на 280 нм, и анализировали при использовании программы Agilent Chemstation (Agilent, Santa Clara, CA).

Были поучены следующие результаты. Данные аналитической эксклюзионной хроматографии (aSEC) показали, что все три антитела могут быть очищены до высокой чистоты, при этом каждый образец антитела состоял из более чем 99,3% мономера (основной пик), меньше чем 0,7% высокомолекулярных соединений (ВММ) и неопределяемых уровней низкомолекулярных соединений (НММ), Таблица 16.

Таблица 16: Данные аналитической SEC для антител против VISTA, указывающие процент высокомолекулярных соединений (%ВММ), процент мономерных/основных соединений (%Осн) и процент низкомолекулярных соединений (%НММ).

Название образца	**%ВММ**	**%Осн**	**%НММ**
P1-061029	0,4	99,6	0,0
P1-068761	0,6	99,4	0,0
P1-068767	0,5	99,5	0,0

Профиль заряженных вариантов, определенный с помощью капиллярного изоэлектрического фокусирования с визуализационным контролем (icIEF) для антитела P1-061029, показал присутствие основных соединений (69,4%) с изоэлектрической точкой (pI)

8,56 и 30,6% кислотных соединений (Фиг. 12A-C). P1-068761 продемонстрировало основные соединения (66,4%) с pI 6,69 и 33,6% кислотных соединений. P1-068767 продемонстрировало основные соединения (61,4%) с pI 6,63 и 38,6% кислотных соединений. Таким образом, распределение кислотных, щелочных и основных соединений аналогично для трех антител, однако сконструированные антитела P1-068761 и P1-068767 имеют значительно более низкую изоэлектрическую точку, чем исходное антитело P1-061029.

Олигомерное состояние P1-061029, P1-068761 и P1-068767 определяли в диапазоне pH 3-9 при использовании динамического светорассеяния (DLS) в буферах с разным pH. Все значения гидродинамического радиуса (Rh) для каждого антитела находились в пределах 4,8-5,7 нМ, что характерно для образцов мономерных антител, Таблица 17. Это указывает на то, что эти антитела не образуют детектируемых уровней высокомолекулярных агрегированных соединений при концентрации 1 мг/мл в течение первого часа после разведения с получением составов с pH 3-9.

Таблица 17: Гидродинамический радиус, определенный с помощью DLS для образцов 1 мг/мл антител против VISTA в диапазоне pH 3-9.

pH	**Буфер**	**Rh (нм) P1-061029**	**Rh (нм) P1-068761**	**Rh (нм) P1-068767**
9	20 мМ Трис/1×PBS	5,2	4,8	5,2
8	20 мМ Трис/1×PBS	5,2	5,2	5,2
7	20 мМ Трис/1×PBS	4,8	5,2	5,2
7	20 мМ цитрат/1×PBS	4,8	5,2	5,7
6	20 мМ цитрат/1×PBS	5,2	5,2	4,8
5	20 мМ цитрат/1×PBS	5,2	4,8	5,2
4	20 мМ цитрат/1×PBS	4,8	4,8	5,2
3	20 мМ цитрат/1×PBS	5,2	5,2	5,2

Термическую стабильность P1-061029, P1-068761 и P1-068767 измеряли в диапазоне pH 3-9 путем мониторинга флуоресценции и статического светорассеяния в зависимости от температуры в буферах с разным pH. Первый термопереход при денатурации (Tm1), который обычно представляет денатурацию CH2-домена IgG1 антител, был определен по флуоресценции и показан в Таблице 18, а начало агрегации (Tagg), которое обычно представляет денатурацию FAB-домена IgG1 антител, было измерено с помощью статического светорассеяния и показан в Таблице 19. При нейтральном pH (pH 7,0) в составе Tris/PBS, значения Tm1 для трех антител были следующими: P1-061029 (67,4°C), P1-068761 (67,0°C) и P1-068767 (65,3°C), со значениями Tagg P1-061029 (67,8°C), P1-068761 (67,5°C) и P1-068767 (65,8°C). Все значения Tm1 для каждого антитела в составе цитрат/PBS при таком же нейтральном pH 7,0 или немного более кислом pH 6,0 находились в пределах 0,7° от значений pH 7,0 Трис/PBS. Однако значения Tm1 были немного ниже (на 0,3-1,1° ниже) при более щелочном pH 8-9 и значительно ниже при более кислом pH 3-5 для каждого антитела. По сравнению с нейтральным pH, Tagg для P1-061029 находилась в пределах 0,1° от значения pH 7,0 при более щелочном pH 8,0-9,0, была на 1,0° ниже при pH

5,0 и намного ниже (на 6,1°-19,6° ниже) в наиболее кислотных условиях при pH pH 3,0-4,0. Tagg для P1-068761 и P1-068767 были также значительно ниже при pH 3,0-4,0. Однако при pH 5,0 Tagg для P1-068761 была только на 0,2° ниже, чем Tagg при pH 6,0, тогда как Tagg для P1-068767 была на 2,2° ниже при pH 5,0, чем при pH 6,0, демонстрируя некоторые различия в Tagg для каждого антитела, Таблица 19.

Таблица 18: Термическая стабильность (значения Tm1) для P1-061029, P1-068761, P1-068767 в диапазоне pH 3-9, как определено с помощью флуоресцентной спектроскопии

pH	Буфер	Tm1 (°C) P1-061029	Tm1 (°C) P1-068761	Tm1 (°C) P1-068767
9	20 мМ Трис/1×PBS	66,6	65,9	65,0
8	20 мМ Трис/1×PBS	67,0	66,5	64,8
7	20 мМ Трис/1×PBS	67,4	67,0	65,3
7	20 мМ цитрат/1×PBS	67,2	66,9	64,8
6	20 мМ цитрат/1×PBS	67,6	67,5	65,0
5	20 мМ цитрат/1×PBS	64,4	64,7	62,1
4	20 мМ цитрат/1×PBS	51,8	52,0	50,8
3	20 мМ цитрат/1×PBS	30,7	28,1	28,7

Таблица 19: Термическая стабильность (значения Tagg) для P1-061029, P1-068761, P1-068767 в диапазоне pH 3-9, как определено с помощью статического светорассеяния

pH	Буфер	Tagg (°C) P1-061029	Tagg (°C) P1-068761	Tagg (°C) P1-068767
9	20 мМ Трис/1×PBS	67,7	67,1	66,0
8	20 мМ Трис/1×PBS	67,8	67,5	65,8
7	20 мМ Трис/1×PBS	67,8	68,2	65,9
7	20 мМ цитрат/1×PBS	67,8	68,1	65,7
6	20 мМ цитрат/1×PBS	68,1	68,9	65,6
5	20 мМ цитрат/1×PBS	66,8	68,7	63,7
4	20 мМ цитрат/1×PBS	61,7	63,6	56,9
3	20 мМ цитрат/1×PBS	48,2	48,8	41,0

Кажущуюся вязкость P1-061029, P1-068761 и P1-068767 измеряли при использовании метода DLS на основе сфер, который позволяет измерять скорость диффузии полистирольных сфер в присутствии приготовленных растворов антител. Сравнение всех трех антител при 44 мг/мл показывает аналогичную вязкость для обоих сконструированных антител, как и у исходного антитела в этих условиях, Таблица 20. Во втором исследовании дополнительный белковый материал для P1-068761 и P1-068767 концентрировали до более высоких концентраций для анализа вязкости при 136 мг/мл, 100 мг/мл и 50 мг/мл. Эти данные показали повышенную кажущуюся вязкость при более высоких концентрациях антител с максимальной кажущейся вязкостью 5,7±0,7 для P1-068761 и 5,3±0,6 для P1-068767 при 136 мг/мл.

Таблица 20: Кажущаяся вязкость (в сП) для антител в 20 мМ гистидина, 260 мМ сахарозы, pH 6,0, при 25°C, как определено с помощью метода DLS на основе сфер. Значения представляют среднее и стандартное отклонение данных из трех дорожек UNi

Антитело	**Кажущаяся вязкость (сП) при 136 мг/мл**	**Кажущаяся вязкость (сП) при 100 мг/мл**	**Кажущаяся вязкость (сП) при 50 мг/мл**	**Кажущаяся вязкость (сП) при 44 мг/мл**
P1-061029				1,6±0,1
P1-068761	5,7±0,7	3,1±0,0	1,4±0,2	1,5±0,4
P1-068767	5,3±0,6	3,0±0,3	1,7±0,2	1,6±0,2

Физическую стабильность 50 мг/мл образцов P1-061029, P1-068761 и P1-068767 в 20 мМ гистидине, 260 мМ сахарозе, pH 6,0, изучали в условиях ускоренного стресса при 40°C в течение 4 недель. Олигомерное состояние антител контролировали с помощью aSEC для образцов непосредственно перед инкубированием при 40°C (нулевая точка времени=t0), а также через 1 неделю (1 нед.) и 4 недели (4 нед) стресса при 40°C. Эти данные показывают, что все три антитела остаются мономерными более чем на 96% после 4 недель при 40°C, с низкими уровнями соединений ВММ (<1,6% ВММ) и низкими уровнями соединений НММ (<2,0% НММ), Таблица 21.

Таблица 21: Данные aSEC для образцов антител против VISTA в условиях ускоренного старения, показывающие процент высокомолекулярных соединений (%ВММ), процент мономерных/основных соединений (%Осн) и процент низкомолекулярных соединений (%НММ), для образцов t0, 1нед и 4нед

Антитело	**Образец**	**% ВММ**	**% Осн**	**% НММ**
P1-061029	t0	0,4	99,7	0,0
	1нед	0,5	99,4	0,2
	4нед	0,8	97,2	2,0
P1-068761	t0	0,6	99,4	0,0
	1нед	0,9	98,8	0,3
	4нед	1,6	96,4	2,0
P1-068767	t0	0,5	99,5	0,0
	1нед	0,8	98,9	0,3
	4нед	1,6	96,4	2,0

Пример 17: Получение антител против VISTA с заменами зародышевой линии в каркасной области тяжелой цепи

Антитела против VISTA P1-061029 или их дочерние клоны, в частности P1-068761, P1-068767, P1-068761_E55A (P1-070868), P1-068767_D52N (P1-070906), P1-068767_E55A (P1-070908) и P152_DB P1-070916), в которых каркасные области вариабельной области тяжелой цепи были модифицированы одной или обеими заменами K16R и T84A (другими словами, антитело P1-070868 имеет аминокислотные последовательности VH и VL антитела P1-068761E55A, но с заменами K16R и T84A в каркасной области тяжелой цепи.) Эти замены были сделаны таким образом, чтобы антитела больше совпадали с последовательностью каркасной области тяжелой цепи зародышевой линии, которая содержит остатки 16R и 84A. На Фиг. 14 представлено выравнивание, на котором показано расположение каждого из этих аминокислотных остатков относительно VH P1-068761 и его CDR-последовательности. Замены K16R и T84A в VH P1-068761 и других антител показаны в Таблице последовательностей.

Эти замены изменяют аминокислотные остатки в тех двух положениях таким образом, что они содержат такие же аминокислоты, что и в зародышевой линии, из которой была получена тяжелая цепь '029. Остатки 16R и 84A также присутствуют в каркасных областях VH P1-61015 (см. SEQ ID NO: 95).

Связывание с hVISTA этих антител измеряли, как описано в Примере 9. Результаты представлены в Таблице 22, и аминокислотные замены антител показаны в Таблице 23. Результаты указывают, что K16R и T84A не оказывают значительного влияния на кинетику связывания дочерних клонов '029.

Поэтому любое из антител против hVISTA, описанных в настоящем документе, может включать K16R и/или T84A. Антитела P1-061029_F100fE_V102D (P1-072000); P1-061029_F100fE (P1-072002); P1-061029_V102D (P1-072004); P1-061029_Y32E (P1-072006)

и P1-061029_Y32E_F100fE (P1-072008) с K16R и/или T84A будут сконструированы, а их связывание протестировано, как описано в настоящем документе.

Таблица 22: Кинетика связывания отобранных антител к hVISTA

ID	Описание	pH 7,4 ka (1/Mc)	pH 7,4 kd (1/c)	pH 7,4 KD (M)	pH 6,0 ka (1/Mc)	pH 6,0 kd (1/c)	pH 6,0 KD (M)
P1-071757	P1-061029_HC_K16R_T84A (FW ревертант)	1,3E+05	5,9E-03	4,5E-08	8,1E+05	5,9E-03	7,3E-09
P1-071759	P1-061029_HC_K16R (FW ревертант)	1,3E+05	6,0E-03	4,6E-08	8,0E+05	5,9E-03	7,4E-09
P1-071761	P1-061029_HC_T84A (FW ревертант)	1,5E+05	6,0E-03	4,0E-08	8,7E+05	6,0E-03	6,9E-09
P1-071763	P1-068761_HC_K16R_T84A (FW ревертант)	Нет связывания при 100 нМ			2,9E+05	1,4E-03	4,9E-09
P1-071765	P1-068761_HC_K16R (FW ревертант)	Нет связывания при 100 нМ			2,8E+05	1,4E-03	5,0E-09
P1-071767	P1-068761_HC_T84A (FW ревертант)	Нет связывания при 100 нМ			3,1E+05	1,6E-03	5,1E-09
P1-071769	P1-068767_HC_K16R_T84A (FW ревертант)	Нет связывания при 100 нМ			2,4E+05	2,6E-03	1,1E-08
P1-071771	P1-068767_HC_K16R (FW ревертант)	Нет связывания при 100 нМ			2,5E+05	2,6E-03	1,1E-08
P1-071773	P1-068767_HC_T84A (FW ревертант)	Нет связывания при 100 нМ			2,7E+05	2,6E-03	9,8E-09
P1-071775	P1-070868_HC_K16R_T84A (FW ревертант)	Нет связывания при 100 нМ			2,5E+05	1,7E-03	6,9E-09
P1-071777	P1-070868_HC_K16R (FW ревертант)	Нет связывания при 100 нМ			2,7E+05	1,7E-03	6,4E-09
P1-071779	P1-070868_HC_T84A (FW ревертант)	Нет связывания при 100 нМ			2,6E+05	1,8E-03	7,0E-09
P1-071781	P1-070906_HC_K16R_T84A (FW ревертант)	Нет связывания при 100 нМ			2,2E+05	1,7E-03	7,7E-09
P1-071783	P1-070906_HC_K16R (FW ревертант)	Нет связывания при 100 нМ			2,2E+05	1,7E-03	7,6E-09
P1-071785	P1-070906_HC_T84A (FW ревертант)	Нет связывания при 100 нМ			2,5E+05	1,7E-03	6,7E-09

ID	Описание	pH 7,4 ka (1/Mc)	pH 7,4 kd (1/c)	pH 7,4 KD (M)	pH 6,0 ka (1/Mc)	pH 6,0 kd (1/c)	pH 6,0 KD (M)
P1-071787	P1-070908_HC_K16R_T84A (FW ревертант)	Нет связывания при 100 нМ			2,1E+05	2,7E-03	1,3E-08
P1-071789	P1-070908_HC_K16R (FW ревертант)	Нет связывания при 100 нМ			2,1E+05	2,6E-03	1,3E-08
P1-071791	P1-070908_HC_T84A (FW ревертант)	Нет связывания при 100 нМ			2,4E+05	2,7E-03	1,1E-08
P1-071793	P1-070916_HC_K16R_T84A (FW ревертант)	Нет связывания при 100 нМ			2,1E+05	1,7E-03	8,1E-09
P1-071795	P1-070916_HC_K16R (FW ревертант)	Нет связывания при 100 нМ			2,1E+05	1,7E-03	8,1E-09
P1-071797	P1-070916_HC_T84A (FW ревертант)	Нет связывания при 100 нМ			2,2E+05	1,7E-03	7,7E-09
P1-072000	P1-061029_F100fE_V102D	Нет связывания при 100 нМ			2,0E+05	2,3E-03	1,2E-08
P1-072002	P1-061029_F100fE	4,4E+04	8,5E-03	1,9E-07	6,5E+05	1,6E-03	2,5E-09
P1-072004	P1-061029_V102D	Нет связывания при 100 нМ			1,4E+05	2,5E-02	1,8E-07
P1-072006	P1-061029_Y32E	1,2E+04	6,3E-03	5,4E-07	3,4E+05	1,2E-03	3,5E-09
P1-072008	P1-061029_Y32E_F100fE	Нет связывания при 100 нМ			2,7E+05	2,4E-02	8,8E-08
P1-070916	P1-068767_D52N_E55A	Нет связывания при 100 нМ			2,3E+05	1,7E-03	7,4E-09
P1-070908	P1-068767_E55A	Нет связывания при 100 нМ			2,2E+05	2,5E-03	1,1E-08
P1-070906	P1-068767_D52N	Нет связывания при 100 нМ			2,4E+05	1,6E-03	6,7E-09
P1-070868	P1-068761_E55A	Нет связывания при 100 нМ			2,6E+05	1,8E-03	7,0E-09
P1-0687677	кислотный pH-селективный дочерний клон '767	Нет связывания при 100 нМ			2,6E+05	2,6E-03	1,0E-08
P1-0687617	кислотный pH-селективный дочерний клон '761	Нет связывания при 100 нМ			2,8E+05	1,5E-03	5,5E-09
P1-0610296	GI исходный	1,8E+05	6,4E-03	3,6E-08	7,8E+05	5,8E-03	7,4E-09

Таблица 23: Аминокислотные последовательности CDR-областей VH антител из Таблицы 22

ID	Описание	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
P1-071757	P1-061029_HC_K16R_T84A (FW ревертант)	.....	.....	.....	.....	.....	.....
P1-071759	P1-061029_HC_K16R (FW ревертант)	.....	.....	.....	.....	.....	.....
P1-071761	P1-061029_HC_T84A (FW ревертант)	.....	.....	.....	.....	.....	.....
P1-071763	P1-068761_HC_K16R_T84A (FW ревертант)	....E.E...	.....EE.....	.....H.....E..	.....	.....	.....
P1-071765	P1-068761_HC_K16R (FW ревертант)	....E.E...	.....EE.....	.....H.....E..	.....	.....	.....
P1-071767	P1-068761_HC_T84A (FW ревертант)	....E.E...	.....EE.....	.....H.....E..	.....	.....	.....
P1-071769	P1-068767_HC_K16R_T84A (FW ревертант)	....E.....	..D...E.....	.....E.D	.....	.....	.....
P1-071771	P1-068767_HC_K16R (FW ревертант)	....E.....	..D...E.....	.....E.D	.....	.....	.....
P1-071773	P1-068767_HC_T84A (FW ревертант)	....E.....	..D...E.....	.....E.D	.....	.....	.....
P1-071775	P1-070868_HC_K16R_T84A (FW ревертант)	....E.E...	.....E.....	.....H.....E..	.....	.....	.....
P1-071777	P1-070868_HC_K16R (FW ревертант)	....E.E...	.....E.....	.....H.....E..	.....	.....	.....
P1-071779	P1-070868_HC_T84A (FW ревертант)	....E.E...	.....E.....	.....H.....E..	.....	.....	.....
P1-071781	P1-070906_HC_K16R_T84A (FW ревертант)	....E.....	.....E.....	.....E.D	.....	.....	.....
P1-071783	P1-070906_HC_K16R (FW ревертант)	....E.....	.....E.....	.....E.D	.....	.....	.....

ID	Описание	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
P1-071785	P1-070906_HC_T84A (FW ревертант)	....E.....	......E.....	.....E.D	.....	.....	.....
P1-071787	P1-070908_HC_K16R_T84A (FW ревертант)	....E.....	..D.....	.....E.D	.....	.....	.....
P1-071789	P1-070908_HC_K16R (FW ревертант)	....E.....	..D.....	.....E.D	.....	.....	.....
P1-071791	P1-070908_HC_T84A (FW ревертант)	....E.....	..D.....	.....E.D	.....	.....	.....
P1-071793	P1-070916_HC_K16R_T84A (FW ревертант)	....E.....	.....	.....E.D	.....	.....	.....
P1-071795	P1-070916_HC_K16R (FW ревертант)	....E.....	.....	.....E.D	.....	.....	.....
P1-071797	P1-070916_HC_T84A (FW ревертант)	....E.....	.....	.....E.D	.....	.....	.....
P1-072000	P1-061029_F100fE_V102D	.....	.....	.....E.D	.....	.....	.....
P1-072002	P1-061029_F100fE	.....	.....	.....E..	.....	.....	.....
P1-072004	P1-061029_V102D	.....	.....	.....D	.....	.....	.....
P1-072006	P1-061029_Y32E	.....E...	.....	.....	.....	.....	.....
P1-072008	P1-061029_Y32E_F100fE	.....E...	.....	.....E..	.....	.....	.....
P1-070916	P1-068767_D52N_E55A	.....E.....	.....	.....E.D	.....	.....	.....
P1-070908	P1-068767_E55A	.....E.....	..D.....	.....E.D	.....	.....	.....
P1-070906	P1-068767_D52N	.....E.....	......E.....	.....E.D	.....	.....	.....
P1-070868	P1-068761_E55A	.....E.E...	.....E.....	....H.....E..	.....	.....	.....
P1-0687677	кислотный pH-селективный дочерний клон '767	.....E.....	..D...E.....	.....E.D	.....	.....	.....

ID	Описание	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
P1-0687617	кислотный pH-селективный дочерний клон '761	**.....E.E...**	**.....EE.....**	**....H.....E..**	**.....**	**.....**	**.....**
P1-0610296	GI исходный	**GFTLDDYAMH**	**GINWNSANIGYADSVKG**	**VPGYSGGWIDAFDV**	**RASQSVSSSYLA**	**GASSRAT**	**QQYGSSPFT**

Таким образом, в этом Примере идентифицировали антитела против VISTA человека, которые связываются с VISTA человека с аффинностью большей в 200-10000 раз при кислотном pH, чем при физиологическом pH. В анализах связывания клеток эти селективные по кислотному pH антитела к VISTA демонстрировали точку перегиба интенсивности связывания приблизительно при pH 6,5, аналогично тому, что наблюдалось для связывания VISTA с Т-клетками.

Пример 18: Антитело против VISTA и антитело против PD-1 действуют синергически, вызывая отторжение опухоли

Чтобы исследовать эффекты блокирования селективной по кислотному pH области контакта лиганда VISTA в опухоли, было получено суррогатное мышиное антитело, VISTA.10, которое блокирует связывание VISTA мыши с мышиными Т-клетками при кислотном pH (VISTA.10 также связывает mVISTA при физиологическом pH). Чтобы избежать взаимодействия с Fc-рецептором и любых следующих эффекторных функций, VISTA.10 превращали в изотип IgG1 с точечной мутацией, D265A, чтобы избежать взаимодействия с Fc-рецептором и эффекторных функций {Clynes, 2000}. Опухоли MC38 подкожно имплантировали мышам, и когда опухоли достигали примерно 70 мм^2, мышам каждые три дня вводили следующую терапию: Группа 1: 4 дозы антитела против KLH mIgG1-D265A в дозе 30 мг/кг; Группа 2: две дозы антитела против PD-1 mIgG1-D265A в дозе 5 мг/кг; Группа 3: 4 дозы антитела против VISTA mIgG1-D265A в дозе 30 мг/кг; и Группа 4: комбинация антитела против PD-1+антитела против VISTA. Комбинированная терапия VISTA.10 и блокирующим антителом PD-1 вызывала отторжение опухоли у большинства мышей, которым имплантировали опухоли колоректальной аденокарциномы MC38 (Фигура 15A-D), терапия одним антителом против PD-1 и одним VISTA.10 умеренно задерживала, но не предотвращала прогрессирование опухоли (Фигура 15A-D).

В соответствии с этими результатами, анализ *ex vivo* опухолей у обработанных мышей показал 5- и 10-кратное увеличение частоты инфильтрирующих опухоли CD8+ Т-клеток и CD4+ Т-клеток, соответственно, у мышей, получавших VISTA.10 и антитело против PD-1 (Фигура 15E-F). Другие подгруппы лейкоцитов в целом не подвергались изменению. Комбинированная терапия также привела к значительно более низкой экспрессии PD-1, LAG-3 и TIM-3, всех маркеров истощения и нарушения функции Т-клеток, на инфильтрирующих опухоль CD8+ Т-клетках (Фигура 15E). Лечение только антителами к PD-1 или к VISTA оказало лишь умеренное влияние на частоту и фенотип Т-клеток (Фигуры 15E-F). Частоты подгрупп внутриопухолевых миелоидных клеток, включая макрофаги, моноцитарные миелоидные супрессорные клетки (МСК) и гранулоцитарные МСК, почти не были затронуты лечением антителами к VISTA.

Чтобы изучить активность антител к VISTA, мышам с нокаутом VISTA имплантировали опухоли MC38 и вводили блокирующие PD-1 или контрольные антитела. Как показано на Фиг. 15I, в контрольных группах лечения опухоли MC38 росли соизмеримо у мышей с нокаутом VISTA и их однопометников дикого типа. Мыши с нокаутом VISTA проявляли повышенную чувствительность к антителу против PD-1, напоминающую

эффективность VISTA и PD-1 комбинации. Эта чувствительность опять же коррелировала с увеличением внутриопухолевых CD4+ и CD8+ Т-клеток. Эти данные показывают, что антитела, которые блокируют связывание VISTA при кислотном pH, достаточны, чтобы вызвать регрессию VISTA-опосредованной иммуносупрессии.

Поскольку VISTA селективно функционирует при кислотном pH, предположили, что VISTA-опосредованная супрессия противоопухолевых ответов происходит преимущественно в самом ложе опухоли. Протестировали активность селективного по кислотному pH блокирующего антитела против VISTA человека, P1-068767 ('767), и его pH-неселективного исходного антитела, P1-061029 ('029), на трансгенных мышах, экспрессирующих внеклеточный домен VISTA человека вместо эндогенного внеклеточного домена VISTA (мыши с нокином VISTA человека, genOway). В соответствии с комбинациями и экспериментами по нокауту VISTA, описанными выше, P1-061029 и P1-068767 продемонстрировали соизмеримую эффективность в комбинации с блокирующим антителом против PD-1 мыши (Фиг. 15J-M).

Измеряли полупериод существования P1-068767 и P1-061029 у мышей с нокином VISTA человека. Как показано на Фиг. 15N, P1-068767 показало почти в 20 раз более длительное среднее время удерживания (MRT), чем у P1-061029, что указывает на слабое связывание с VISTA при pH 7,4 и, следовательно, сниженное TMDD (71 час и 4,1 часа соответственно).

Чтобы оценить взаимодействие антител с периферическим VISTA в нетрансгенной модели, яванским макакам вводили P1-068767 и избирательное по нейтральному pH антитело, обозначенное VISTA.4 (в отдельном семействе патентных заявок тех же заявителей предоставлено дополнительно описание VISTA.4) следующим образом. VISTA.4 и P1-068767 оценивали после 10-минутных внутривенных инфузий яванским макакам, ранее не получавшим белок, в дозе 5 мг/кг (n=1 на антитело). Серийные образцы крови собирали через 0,17, 0,5, 2, 4, 6, 24, 48, 72, 168, 216, 240, 336 часов после инфузии. Затем получали образцы сыворотки для анализа концентрации антител при использовании анализа связывания лиганда, в котором использовали рекомбинантный VISTA в качестве захватывающего средства и мАт против Fc IgG человека в качестве детектирующего средства. Нижний предел количественного обнаружения для анализа составлял 1 нг/мл. Среднее время удерживания оценивали с помощью бескомпартментного анализа данных концентрации мАт в сыворотке в зависимости от времени с использованием программы Kinetica (версии 5.0, Thermo Fisher Scientific). Результаты показывают, что P1-068767 снова продемонстрировал гораздо более длительное MRT (717 часов и 7,6 часа соответственно, Фиг. 6O). Эти результаты указывают, что блокада VISTA в микроокружении опухоли, а не в крови и некислотных тканях, повышает противоопухолевую эффективность.

Пример 19: VISTA.4 ингибирует связывание VISTA с PSGL-1

Имунорецепторный гликопротеиновый лиганд P-селектина 1 (PSGL-1) ранее идентифицировали как лиганд VISTA (см. WO2018132476). PSGL-1 является рецептором селектинов, в частности P-селектина, и связывание с его основным лигандом, P-

селектином, является хорошо изученным фактором, способствующим адгезионным взаимодействиям между лейкоцитами, тромбоцитами и эндотелиальными клетками (Carlow, D.A., et al., PSGL-1 function in immunity and steady state homeostasis. Immunol Rev, 2009. 230(1): p. 75-96, и Abadier, M. and K. Ley, P-selectin glycoprotein ligand-1 in T cells. Curr Opin Hematol, 2017. 24(3): p. 265-273. 18). PSGL-1 также был идентифицирован как негативный регулятор Т-клеточного ответа в отношении хронической вирусной инфекции, иммунитета против злокачественных опухолей и некоторых аутоиммунных заболеваний (Angiari, S., et al., Regulatory T cells suppress the late phase of the immune response in lymph nodes through P-selectin glycoprotein ligand-1. J Immunol, 2013. 191(11): p. 5489-500; Matsumoto, M., M. Miyasaka, and T. Hirata, P-selectin glycoprotein ligand-1 negatively regulates T-cell immune responses. J Immunol, 2009. 183(11): p. 7204-11; Nunez-Andrade, N., et al., P-selectin glycoprotein ligand-1 modulates immune inflammatory responses in the enteric lamina propria. J Pathol, 2011. 224(2): p. 212-21; Perez-Frias, A., et al., Development of an autoimmune syndrome affecting the skin and internal organs in P-selectin glycoprotein ligand 1 leukocyte receptor-deficient mice. Arthritis Rheumatol, 2014. 66(11): p. 3178-89; Tinoco, R., et al., PSGL-1 Is an Immune Checkpoint Regulator that Promotes T Cell Exhaustion. Immunity, 2016. 44(5): p. 1190-203). Эта иммуносупрессорная функция, по-видимому, не зависит от известных лигандов PSGL-1 (Tinoco, R., et al., PSGL-1: A New Player in the Immune Checkpoint Landscape. Trends Immunol, 2017. 38(5): p. 323-335).

В клеточных анализах было показано, что рекомбинантный PSGL-1 и рекомбинантный P-селектин способны блокировать связывание мультимера VISTA с активированными CD4+ Т-клетками человека. Удаление PSGL-1 от активированных CD4+ Т-клеток с помощью CRISPR также устраняет связывание мультимера VISTA. Кроме того, было показано, что эктопическая экспрессия PSGL-1 достаточна для обеспечения связывания VISTA с клетками CHO при кислотном pH, а также экспрессия VISTA достаточна для связывания PSGL-1 с клетками 293T при кислотном pH.

В данном Примере показано, что PSGL-1 связывал P-селектин соизмеримо при кислотном и физиологическом pH, но связал VISTA только при кислотном pH (Фигура 17A). Эксперимент проводили с помощью анализов на биосенсоре Octet с VISTA, P-селектином и минимальным гликопептидом PSGL-1 (аминокислоты 1-19, с посттрансляционными модификациями сульфотирозина и углеводами сиалил-Льюис X), который, как было показано ранее, сохранял высокоаффинное связывание P-селектина (Sako, D., et al., A sulfated peptide segment at the amino terminus of PSGL-1 is critical for P-selectin binding. Cell, 1995. 83(2): p. 323-319).

Область контакта лиганда PSGL-1 основана на посттрансляционных модификациях отрицательно заряженных сульфотирозинов и сиалил-Льюис-X для связывания P-селектина с высокой аффинностью (Sako et al. 1995 Cell 83(2): p. 323-319), и, следовательно, наивные Т-клетки, которые экспрессируют PSGL-1, не модифицированный сиалил-Льюис-X, неспособны эффективно взаимодействовать с P-селектином. Модифицированный сиалил-Льюис-X PSGL-1 конститутивно экспрессируется на циркулирующих моноцитах и

нейтрофилах и индуцируемо экспрессируется на активированных Т-клетках, что согласуется с сильным связыванием VISTA с этими типами клеток при кислотном pH. Однако было обнаружено, что VISTA связывается как с наивными, так и с активированными Т-клетками, что дает основание предположить, что в отличие от P-селектина, VISTA связывает PSGL-1 независимо от присутствия сиалил-Льюис-X. В дополнительных анализах на биосенсоре Octet было обнаружено, что, хотя VISTA и P-селектин связывались преимущественно с гликопептидами PSGL-1 с сиалил-Льюис-X модификацией, только VISTA связывали гликопептиды PSGL-1 без сиалил-Льюис-X. Кроме того, PSGL-1, продуцируемый в клетках, не экспрессирующих ферменты глюкозаминил (N-ацетил) трансферазу (GCNT1) и альфа(1,3)-фукозилтрансферазу-7 (FUT7), не имеет модификаций сиалил-Льюис-X и плохо связывается с P-селектином (Фиг. 25A). В отличие от этого, VISTA связывает PSGL-1 независимо от сиалил-Льюис-X (Фиг. 25A). Этот результат согласуется с тем, что VISTA, но не P-селектин, связывается с наивными Т-клетками, в которых отсутствует сиалил-Льюис-X.

Также аналогично P-селектину, VISTA умеренно связывается с гепарансульфатом при кислотном pH.

Кроме того, антитела к PSGL-1, блокирующие связывание P-селектина, не блокировали связывание VISTA. Эти данные указывают, что VISTA связывает область контакта PSGL-1, которая подобна, но отличается от области контакта, связываемой P-селектином.

В этом Примере также показано, что антитела P1-061029, P1-068761, P1-068767 и VISTA.4, которые блокируют связывание VISTA с Т-клетками, также блокировали связывание VISTA с гликопептидом PSGL-1.

Проводили конкурентные анализы Octet для оценки, блокируют ли селективные по кислотному pH антитела к α-VISTA, P1-068761 и P1-068767, pH-независимое исходное антитело P1-061029 и чувствительное к кислотному pH VISTA.4 связывание VISTA с PSGL1. Анализы связывания проводили на приборе для биослойной интерферометрии (BLI) OctetRed384 (PALL/ForteBio). Все этапы анализа проводили при 30°C со скоростью встряхивания 1000 об/мин при использовании в качестве буфера PBST, pH 6,0 (137 мМ хлорида натрия, 2,7 мМ хлорида калия, 10 мМ фосфатный буфер, 0,05% Tween 20). Человеческий VISTA-Fc (R&D Systems 7126-B7) разбавляли до 400 нМ в PBST pH 6,0 и предварительно смешивали в течение 30 минут с сериями титрований 0 нМ, 40 нМ и 400 нМ P1-068761, P1-068767, P1-061029 и VISTA.4. Человеческий PSGL1 19-mer-huFc белок, состоящий из 19 N-концевых аминокислот зрелого PSGL1, слитых с Fc человека, связывали на сенсорах с антителами против IgG-Fc человека (AHC, PALL/ForteBio). Затем сенсоры против Fc человека блокировали суммарным человеческим IgG (Jackson 009-000-002). Затем связывание захваченного PSGL1 со смесью антител VISTA-Fc/α-VISTA измеряли для оценки, препятствуют ли антитела к α-VISTA связыванию VISTA с PSGL1. Для каждой серии титрования антител величину связывания VISTA с PSGL1 (сдвиг в нм) нормализовали по 0 нМ незаблокированному ответу VISTA:PSGL1, установленному

равным 100%. Результаты этого анализа представлены на Фигуре 17B. В этом анализе все P1-061029, P1-068761, P1-068767 и VISTA.4 при концентрации 400 нМ продемонстрировали блокирующую активность. Было предотвращено связывание белка VISTA-Fc с захваченным человеческим белком PSGL1-19-mer-huFc, на что указывает наблюдаемое уменьшенное связывание VISTA.

Кроме того, было продемонстрировано, что связывание VISTA с клетками CHO-PSGL-1 блокировалось как VISTA.4, так и P-селектин-блокирующим антителом к PSGL-1, KPL-1 (Фиг. 17C). В анализах блокирования PSGL-1 антителами клетки предварительно инкубировали с указанными антителами KPL-1 (BD Biosciences или Biolegend) или PL2 (MBL) перед мечением с использованием 32 нМ мультимеров VISTA или химерных белков VISTA-Fc. Связывание VISTA-Fc детектировали с использованием антител против IgG (Jackson ImmunoResearch) или против 6×his (Columbia Biosciences). Клетки получали с помощью проточной цитометрии или гомогенной флуоресценции с временным разрешением (HTRF).

Пример 20: Кристаллическая структура P1-068767, связанного с hVISTA

Для исследования структуры VISTA и молекулярных детерминант связывания антител к VISTA, был получен сокристалл IgV домена hVISTA с антигенсвязывающим фрагментом (Fab) P1-068767. Структуру полученного комплекса определяли с разрешением 1,6 Å (Фигура 18). Как правило, IgV-домен VISTA является характерным для этого семейства и обладает некоторым сходством с PD-L1 (Фигура 18B). Однако, в отличие от PD-L1 и большинства других членов семейства B7 или суперсемейства иммуноглобулинов, две C-концевые β-цепи IgV домена VISTA содержат множество дополнительных остатков, что приводит к необычно удлиненному и богатому гистидинами центральному β-слою (Фигура 18B). Блокирующее антитело P1-068767 связывает VISTA в этом удлинении β-слоя (Фигура 18C), тогда как неблокирующее антитело VISTA.5 связывает другую область (Фигура 18E). Удлинение β-слоя VISTA кэпировано тремя остатками гистидина: H121, H122 и H123. Остатки P1-068767, E110 и D112, образуют водородные связи с остатками VISTA H121 и H122 соответственно (Фигура 18D). Эти взаимодействия хорошо согласуются с данными, описанными в предыдущих Примерах, согласно которым остатки P1-068767, E110 и D112, необходимы и достаточны для селективности в отношении кислотного pH. В сокристалле остаток H123 VISTA взаимодействует с молекулой сульфата из осаждающего реагента и образует солевой мостик с остатком E1 в P1-068767; хотя возможно, что H123 VISTA может образовывать прочную водородную связь с P1-068767 в отсутствие сульфата (Фигура 18D). Дополнительные взаимодействия представлены в Таблице 24. Эти данные указывают, что необычное, богатое гистидинами удлинение β-слоя в IgV домене VISTA является ключевым компонентом селективной по отношению к кислотному pH области контакта рецептора-лиганда VISTA.

В Таблице 24 подробно указаны расстояния в ангстремах (Å) между атомами Fab HC '767 в пределах 4 Å от атомов VISTA.

##	'767 Fab HC	Расст.	VISTA
1	H:GLU 1 [OE1]	3,1	V:HIS 123 [NE2]
2	H:VAL 2 [N]	3,2	V:HIS 123 [O]
3	H:GLY 26 [O]	3,1	V:GLU 125 [N]
4	H:GLU 30 [O]	3,3	V:ARG 54 [NH2]
5	H:GLU 30 [OE1]	3,8	V:ARG 127 [NE]
6	H:GLU 30 [OE1]	3,2	V:ARG 127 [NH2]
7	H:GLU 30 [OE2]	3,4	V:ARG 127 [NH1]
8	H:GLU 30 [OE2]	3,5	V:ARG 127 [NH2]
9	H:ASP 31 [OD1]	2,8	V:ARG 54 [NH1]
10	H:ASP 31 [OD1]	2,7	V:ARG 54 [NH2]
11	H:ASP 31 [OD1]	2,8	V:ARG 127 [NH1]
12	H:ASP 31 [OD2]	3,8	V:ARG 127 [NE]
13	H:ASP 31 [OD2]	3,1	V:ARG 127 [NH1]
14	H:TYR 32 [OH]	2,6	V:GLU 125 [OE1]
15	H:GLU 110 [OE2]	2,8	V:HIS 122 [N]
16	H:GLU 110 [OE1]	2,7	V:HIS 121 [ND1]
17	H:GLU 110 [OE2]	3,8	V:HIS 121 [ND1]
18	H:GLU 110 [OE2]	3,5	V:HIS 122 [ND1]
19	H:ASP 111 [OD1]	3,6	V:HIS 122 [NE2]
20	H:ASP 112 [OD1]	3,5	V:HIS 122 [ND1]

Пример 21: Картирование эпитопов VISTA.4

VISTA.4 использовали в конкурентном анализе биннинга эпитопов BLI, описанного ранее в Примере 15. Результаты указывают, что VISTA.4 конкурирует за связывание VISTA человека с антителами, описанными выше, P1-061015, P1-061029, P1-068761 и P1-068767, и, таким образом, относится к той же эпитопной группе, как и эти антитела (Группа A). VISTA.4 не конкурирует за связывание VISTA человека с VISTA мАт 1 (см. Фиг. 11A).

Эпитоп VISTA.4 также картировали с помощью поверхностного дрожжевого дисплея и NGS, как описано в Примере 15 для антител P1-061015, P1-061029, P1-068761 и P1-068767. Мутанты VISTA, потерявшие связывание с картируемым антителом, но сохранившие связывание с неблокирующим антителом (мАт1), сортировали и секвенировали. Так как они сохраняли связывание с мАт1, эти мутанты, по-видимому, были правильно свернуты, и потеря связывания, наблюдаемая для картированного антитела, вероятно, была вызвана потерей энергетически важного контактного остатка. Положения мутаций, которые приводили к потере связывания, и которые были определены как энергетически важные остатки в эпитопе антитела, показаны в Таблице 31, вместе с энергетически важными контактными остатками антител P1-061015, P1-061029, P1-068761 и P1-068767 (которые также показаны в Таблице 14 выше).

Таблица 31: Энергетически важные контактные остатки VISTA.4 антител '029, '015, '761 и '767

мАт	V 34	T 35	Y 37	K 38	T 39	Y 41	S 52	R 54	T 61	F 62	Q 63	L 65	H 66	L 67	H 68	H 69	F 97	L 115	V 117	E 118	I 119	R 120	H 121	H 122	S 124	E 125	R 127
VISTA.4	x	x	x		x	x	x	x		x		x	x		x			x	x		x	x	x	x	x	x	
'015			x	x	x			x		x	x	x	x				x	x	x		x				x	x	
'029			x		x	x		x	x	x	x	x	x		x	x		x	x		x				x	x	x
'761		x	x		x			x	x	x	x		x	x	x	x		x	x		x				x	x	x
'767			x		x	x		x	x	x	x	x	x					x	x		x		x	x	x	x	x

Масс-спектрометрию водород/дейтериевого обмена (HDX-MS) использовали для исследования эпитопов связывания VISTA человека с мАт VISTA.4. HDX-MS исследует белковую структуру и конформационную динамику в растворе путем контроля скорости и степени обмена атомов дейтерия с атомами водорода скелетных амидных групп (Huang and Chen (2014) Analytical and Bioanalytical Chemistry 406, 6541-6558; Wei, et al. Drug Discovery Today (2014) 19, 95-102). Уровень HDX зависит от доступности атомов водорода скелетных амидных групп и водородных связей белка для растворителя. Увеличение массы белка при HDX может быть точно измерено с помощью МС. При объединении этого метода с ферментным расщеплением, можно установить особенности структуры на пептидном уровне, позволяя различать экспонированные на поверхности пептиды от пептидов, свернутых внутрь, или от пептидов, изолированных в области контакта белок:белкового комплекса. Как правило, эксперименты по мечению дейтерием с последующей остановкой реакции проводят с последующим ферментным расщеплением, разделением пептидов и МС-анализом.

Перед экспериментами по картированию эпитопов проводили эксперименты без дейтерирования для получения списка общих пептидов для рекомбинантного человеческого VISTA (15 мкМ) и белковых комплексов VISTA с мАт VISTA.4 (молярное отношение 1:1). В эксперименте HDX-MS по 5 мкл каждого образца (VISTA или VISTA с мАт VISTA.4) разводили в 55 мкл буфера D_2O (10 мМ фосфатный буфер, D_2O, pH 7,0), чтобы инициировать реакции мечения. Реакции проводили в течение разных периодов времени: 1 мин, 10 мин и 240 мин. К концу каждого периода реакции мечения реакцию останавливали путем добавления останавливающего буфера (100 мМ фосфатного буфера с 4 М GdnCl и 0,4 М TCEP, pH 2,5, 1:1, об/об) и 50 мкл образца после остановки реакции вводили в систему Waters HDX-MS для анализа. Уровни захвата дейтерия обычными пептидами контролировали в отсутствие/присутствии VISTA.4. Полученный охват последовательности составил 82%.

Эксперименты HDX-MS обеспечили 85% охват последовательностей VISTA человека. Как показано на Фигуре 19, анализ данных HDX-MS для VISTA.4 в VISTA человека показывает, что эпитоп VISTA.4 состоит из трех областей VISTA человека, причем область 2 является основным эпитопом (номера остатков соответствуют нативной последовательности VISTA человека, Фигура 20):

Область 1: ^{57}LGPVDKGHDVTF^{68} (SEQ ID NO: 566)

Область 2: ^{86}RRPIRNLTFQDL^{97} (SEQ ID NO: 567)

Область 3: ^{148}VVEIRHHHSEHRVHGAME^{165} (SEQ ID NO: 568)

Антитело VISTA.4 одинаково хорошо связывается при кислотном и нейтральном pH. Последующие раунды отбора дали вариант, который связывал VISTA с в 200 раз более высокой аффинностью при pH 6,0, чем при pH 7,4. Аналогичные попытки с блокирующими антителами VISTA привели к созданию вариантов с селективностью до 10000-кратной в отношении pH 6,0 по сравнению с pH 7,4. Эти антитела использовали для картирования области связывания рецептора-лиганда VISTA при кислотном и нейтральном pH. pH-независимые, селективные в отношении нейтрального pH и селективные в отношении кислотного pH блокирующие антитела к VISTA связывали почти идентичные эпитопы, что позволяет предположить, что протонирование гистидина само по себе, без заметных конформационных изменений, регулирует способность VISTA к взаимодействию со своим контррецептором при кислотном pH (VISTA.4 также описано в другом семействе заявок теми же заявителями).

Пример 22: VISTA.4 ингибирует связывание VISTA с Т-клетками при кислотном pH

В данном Примере показано, что VISTA.4 и другие антитела в группе эпитопов A блокировали связывание VISTA с Т-клетками при кислотном pH, тогда как VISTA.5 (мАт1) и другие антитела в группе эпитопов B, не блокировали такое связывание (Фигура 21A и B).

Данный пример проводили по существу так же, как описано в Примере 4.

Пример 23: VISTA.4 повышает пролиферацию Т-клеток и продукцию IFN-γ

В данном Примере показано, что блокирующие VISTA антитела (Группа эпитопов A) повышали пролиферацию Т-клеток и продукцию IFN-γ (Фиг. 22). VISTA.5 (мАт1), которое не является блокирующим антителом, не повышало пролиферацию Т-клеток или продукцию IFN-γ. VISTA.4 не оказывало действия при культивировании Т-клеток совместно с клетками 293T-OKT3, которые не экспрессировали VISTA.

Данный эксперимент проводили путем добавления антител к VISTA к CD4+ Т-клеткам, совместно культивируемым с клетками 293T, модифицированными для экспрессии VISTA человека и одноцепочечного вариабельного фрагмента агонистического антитела к Т-клеточному рецептору OKT3 (293T-OKT3-VISTA).

Пример 24: VISTA подавляет сигнализацию NF-kB, опосредуемую Т-клеточными рецепторами

Этот Пример был проведен для дополнительной оценки влияния pH на функцию VISTA и показал, что VISTA более эффективно подавлял опосредованную Т-клеточными рецепторами сигнализацию NF-kB при кислотном pH, чем при нейтральном pH (Фигура 23A). Максимальная супрессия была достигнута при pH ниже 6,5, аналогично связыванию VISTA:Т-клеток (Фигура 23A и Фигура 4A).

Сигнализацию NF-kB измеряли с использованием NFkB-репортерных Т-клеток Jurkat, по существу, как описано в примерах 5 и 13. Клетки Jurkat были модифицированы для экспрессии люциферазы под контролем промотора, индуцируемого NF-kB. Эти клетки Jurkat с NFkB-люциферазой совместно культивировали с необлученными клетками 293T-

OKT3-VISTA в соотношении 4:1 в HBSS (ThermoFisher), подкисленном до разных значений pH с использованием MES, и человеческими антителами против VISTA человека, в течение 4 часов. Активацию клеток Jurkat измеряли с помощью анализа с субстратом люциферазы (Promega).

VISTA-опосредованная супрессия было наиболее сильной при кислотном pH, хотя умеренный уровень активности сохранялся при pH 7,0 и выше. Аналогичным образом, рекомбинантный VISTA подавлял NFkB фосфорилирование Т-клеток при кислотном pH больше, чем при pH 7,4 (Фиг. 23B). Эти результаты указывают, что VISTA подавляет Т-клетки преимущественно при кислотном pH, и что эта активность устраняется антителами, которые блокируют связывание Т-клеток при кислотном pH.

Таким образом, эти данные указывают, что блокада селективной в отношении кислотного pH области контакта рецептор-лиганд VISTA может снимать иммуносупрессию.

Пример 25: Специфичность связывания VISTA:PSGL-1 определяется остатками гистидина и сульфотирозина

Для анализа специфичности связывания PSGL-1, в дополнение к специфичности, обеспечиваемой сиалил-Льюис X (описанной в Примере 19), исследовали посттрансляционные модификации сульфатирования тирозина, которые способствуют связыванию P-селектина. Чтобы проверить роль сульфатирования тирозина, гликопептиды PSGL-1 фракционировали на богатые сульфотирозином пики (>90%) и бедные сульфотирозином (<1%) пики с помощью анионообменной жидкостной хроматографии. Ни VISTA, ни P-селектин не связывались на обнаружимом уровне с бедным сульфотирозином PSGL-1 (Фиг. 25B). VISTA также не мог связывать гликопептиды PSGL-1, в которых тирозины были заменены аланинами (не показано на фигурах). Эти результаты указывают, что остатки сульфотирозина являются ключевыми медиаторами связывания PSGL-1 с VISTA.

Далее предположили, что специфичность связывания VISTA опосредована теми же остатками гистидина, которые были обнаружены в эпитопе блокирующего VISTA антитела: H153, H154 и H155 (см. Пример 20). Замена этих остатков гистидина незаряженным аланином или отрицательно заряженной аспарагиновой кислотой значительно снижает связывание VISTA с рекомбинантными клетками PSGL-1 и CHO-PSGL-1 (Фиг. 25C-D). Белки VISTA-Fc с мутацией остатков H153, H154 и H155 на аланин, аспарагиновую кислоту или аргинин, получали путем транзиентной трансфекции клеток Expi293. Эти мутанты также не были способны вызывать функциональную супрессию Т-клеток (не показано на фигурах). Напротив, замена положительно заряженными остатками аргинина сохраняла связывание и функцию VISTA (Фиг. 25C-D). Блокирующие антитела VISTA.4 и P1-068767 хорошо связывались с аланиновым и аргининовым мутантом VISTA, но плохо связывались с мутантом VISTA, содержащим замену на аспарагиновую кислоту (не показано). Неблокирующее антитело VISTA.5 соизмеримо связывалось с белками VISTA дикого типа и мутантными белками (не показано).

Затем установленные структуры PSGL-1, связанного с P-селектином, и VISTA, связанного с Fab P1-068767 (Фиг. 18), использовали для разработки компьютерной модели 19-мерного гликопептида PSGL-1, присоединенного к VISTA (Фиг. 25E). В этой модели остатки тирозина PSGL-1, Y46 и Y48, осуществляют ионные взаимодействия с остатками гистидина VISTA, H153 и H154 (расстояния 2,5-3,0 Å). Остаток Y51 PSGL-1 дальше удален от VISTA (~4,5 Å), но может значимо взаимодействовать с VISTA H100. Остаток E56 PSGL-1 также образует ионные взаимодействия с VISTA H98 и H100. Гидроксильная группа T57 PSGL-1, которая может быть модифицирована сиалил-Льюис X, направлена в сторону от VISTA, что согласуется с незначительным влиянием сиалил-Льюис X на связывание VISTA:PSGL-1. В совокупности, эти данные и моделирование позволяют предположить, что связывание VISTA с PSGL-1 при кислотном pH обусловлено, в первую очередь, остатками гистидина VISTA и H153, H154 и H155, а также остатками сульфатированного тирозина Y46 и Y48 PSGL-1.

Таблица последовательностей

Ниже приводена таблица некоторых последовательностей, указанных в настоящей заявке. В SEQ ID NO: 2 аминокислотное положение 187 может содержать либо D, либо E.

В приведенных ниже последовательностях антител последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 VH расположены в аминокислотных положениях, включающих аминокислоты 26-35, 50-66 и 99-110, соответственно, а последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 VL расположены в аминокислотных положениях, включающих аминокислоты 24-35, 51-57 и 90-98, соответственно. Нумерация CDR1 VH соответствует AbM (AA 26-35; Abhinandan and Martin (2008) Mol. Immunol. 45:3832-3839; Swindells et al. (2017) J. Mol. Biol. 429: 356-364), а все остальные CDR (CDR2 VH, CDR3 VH, CDR1-3 VL) имеют нумерацию согласно Кэбату. Последовательности CDR конкретных антител выделены жирным шрифтом и подчеркнуты ниже на их последовательностях VH и VL.

SEQ ID NO	Название	Последовательность
1	hVISTA (с лидерной последовательностью)	MGVPTALEAG SWRWGSLLFA LFLAASLGPV AAFKVATPYS LYVCPEGQNV TLTCRLLGPV DKGHDVTFYK TWYRSSRGEV QTCSERRPIR NLTFQDLHLH HGGHQAANTS HDLAQRHGLE SASDHHGNFS ITMRNLTLLD SGLYCCLVVE IRHHHSEHRV HGAMELQVQT GKDAPSNCVV YPSSSQ**D**SEN ITAAALATGA CIVGILCLPL ILLLVYKQRQ AASNRRAQEL VRMDSNIQGI ENPGFEASPP AQGIPEAKVR HPLSYVAQRQ PSESGRHLLS EPSTPLSPPG PGDVFFPSLD PVPDSPNFEV I
2	hVISTA (без лидерной последовательности)	FKVATPYSLY VCPEGQNVTL TCRLLGPVDK GHDVTFYKTW YRSSRGEVQT CSERRPIRNL TFQDLHLHHG GHQAANTSHD LAQRHGLESA SDHHGNFSIT MRNLTLLDSG LYCCLVVEIR HHHSEHRVHG AMELQVQTGK DAPSNCVVYP SSSQ[**D/E**]SENIT AAALATGACI VGILCLPLIL LLVYKQRQAA SNRRAQELVR

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		MDSNIQGIEN PGFEASPPAQ GIPEAKVRHP LSYVAQRQPS ESGRHLLSEP STPLSPPGPG DVFFPSLDPV PDSPNFEVI
3	Предшественник изоформы 2 PSGL-1 человека, с сигнальным пептидом	MPLQLLLLLI LLGPGNSLQL WDTWADEAEK ALGPLLARDR RQATEYEYLD YDFLPETEPP EMLRNSTDTT PLTGPGTPES TTVEPAARRS TGLDAGGAVT ELTTELANMG NLSTDSAAME IQTTQPAATE AQTTQPVPTE AQTTPLAATE AQTTRLTATE AQTTPLAATE AQTTPPAATE AQTTQPTGLE AQTTAPAAME AQTTAPAAME AQTTPPAAME AQTTQTTAME AQTTAPEATE AQTTQPTATE AQTTPLAAME ALSTEPSATE ALSMEPTTKR GLFIPFSVSS VTHKGIPMAA SNLSVNYPVG APDHISVKQC LLAILILALV ATIFFVCTVV LAVRLSRKGH MYPVRNYSPT EMVCISSLLP DGGEGPSATA NGGLSKAKSP GLTPEPREDR EGDDLTLHSF LP
4	Изоформа 2 PSGL-1 человека, без сигнального пептида	LQL WDTWADEAEK ALGPLLARDR RQATEYEYLD YDFLPETEPP EMLRNSTDTT PLTGPGTPES TTVEPAARRS TGLDAGGAVT ELTTELANMG NLSTDSAAME IQTTQPAATE AQTTQPVPTE AQTTPLAATE AQTTRLTATE AQTTPLAATE AQTTPPAATE AQTTQPTGLE AQTTAPAAME AQTTAPAAME AQTTPPAAME AQTTQTTAME AQTTAPEATE AQTTQPTATE AQTTPLAAME ALSTEPSATE ALSMEPTTKR GLFIPFSVSS VTHKGIPMAA SNLSVNYPVG APDHISVKQC LLAILILALV ATIFFVCTVV LAVRLSRKGH MYPVRNYSPT EMVCISSLLP DGGEGPSATA NGGLSKAKSP GLTPEPREDR EGDDLTLHSF LP
5	ECD изоформы 2 PSGL-1 человека, с сигнальным пептидом	MPLQLLLLLI LLGPGNSLQL WDTWADEAEK ALGPLLARDR RQATEYEYLD YDFLPETEPP EMLRNSTDTT PLTGPGTPES TTVEPAARRS TGLDAGGAVT ELTTELANMG NLSTDSAAME IQTTQPAATE AQTTQPVPTE AQTTPLAATE AQTTRLTATE AQTTPLAATE AQTTPPAATE AQTTQPTGLE AQTTAPAAME AQTTAPAAME AQTTPPAAME AQTTQT
6	ECD изоформы 2 PSGL-1 человека, без сигнального пептида	LQL WDTWADEAEK ALGPLLARDR RQATEYEYLD YDFLPETEPP EMLRNSTDTT PLTGPGTPES TTVEPAARRS TGLDAGGAVT ELTTELANMG NLSTDSAAMEIQTTQPAATE AQTTQPVPTE AQTTPLAATE AQTTRLTATE AQTTPLAATE AQTTPPAATE AQTTQPTGLE AQTTAPAAME AQTTAPAAME AQTTPPAAME AQTTQT
7	ECD PSGL-1 человека (N-концевые положения 42-295 полноразмерного PSGL-1 человека, рег.	QATEYEYLD YDFLPETEPP EMLRNSTDTT PLTGPGTPES TTVEPAARRS TGLDAGGAVT ELTTELANMG NLSTDSAAME IQTTQPAATE AQTTPLAATE AQTTRLTATE AQTTPLAATE

SEQ ID NO	Название	Последовательность
	номер AAC50061)	AQTTPPAATE AQTTQPTGLE AQTTAPAAME AQTTAPAAME AQTTPPAAME AQTTQTTAME AQTTAPEATE AQTTQPTATE AQTTPLAAME ALSTEPSATE ALSMEPTTKR GLFIPFSVSS VTHKGIPMAA SNLSV
8	Предшественник изоформы 1 HumPSGL-1, с сигнальным пептидом NP_001193538	MAVGASGLEG DKMAGAMPLQ LLLLLILLGP GNSLQLWDTW ADEAEKALGP LLARDRRQAT EYEYLDYDFL PETEPPEMLR NSTDTTPLTG PGTPESTTVE PAARRSTGLD AGGAVTELTT ELANMGNLST DSAAMEIQTT QPAATEAQTT QPVPTEAQTT PLAATEAQTT RLTATEAQTT PLAATEAQTT PPAATEAQTT QPTGLEAQTT APAAMEAQTT APAAMEAQTT PPAAMEAQTT QTTAMEAQTT APEATEAQTT QPTATEAQTT PLAAMEALST EPSATEALSM EPTTKRGLFI PFSVSSVTHK GIPMAASNLS VNYPVGAPDH ISVKQCLLAI LILALVATIF FVCTVVLAVR LSRKGHMYPV RNYSPTEMVC ISSLLPDGGE GPSATANGGL SKAKSPGLTP EPREDREGDD LTLHSFLP
9	PSGL-1 человека, без сигнального пептида	LQLWDTW ADEAEKALGP LLARDRRQAT EYEYLDYDFL PETEPPEMLR NSTDTTPLTG PGTPESTTVE PAARRSTGLD AGGAVTELTT ELANMGNLST DSAAMEIQTT QPAATEAQTT QPVPTEAQTT PLAATEAQTT RLTATEAQTT PLAATEAQTT PPAATEAQTT QPTGLEAQTT APAAMEAQTT APAAMEAQTT PPAAMEAQTT QTTAMEAQTT APEATEAQTT QPTATEAQTT PLAAMEALST EPSATEALSM EPTTKRGLFI PFSVSSVTHK GIPMAASNLS VNYPVGAPDH ISVKQCLLAI LILALVATIF FVCTVVLAVR LSRKGHMYPV RNYSPTEMVC ISSLLPDGGE GPSATANGGL SKAKSPGLTP EPREDREGDD LTLHSFLP
10	ECD PSGL-1 человека, с сигнальным пептидом	MAVGASGLEG DKMAGAMPLQ LLLLLILLGP GNSLQLWDTW ADEAEKALGP LLARDRRQAT EYEYLDYDFL PETEPPEMLR NSTDTTPLTG PGTPESTTVE PAARRSTGLD AGGAVTELTT ELANMGNLST DSAAMEIQTT QPAATEAQTT QPVPTEAQTT PLAATEAQTT RLTATEAQTT PLAATEAQTT PPAATEAQTT QPTGLEAQTT APAAMEAQTT APAAMEAQTT PPAAMEAQTT QT
11	P1-069059 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSDHIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGW IDAEDD**WGQGTMVTVSS
12	P1-069059 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
13	P1-069059 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHW

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		VRQAPGKGLEWVSGINWNSDHIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
14	P1-069059 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
15	P1-069061 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSAEIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGW** **IDAEDD**WGQGTMVTVSS
16	P1-069061 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
17	P1-069061 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
18	P1-069061 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
19	P1-069063 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSAEIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGW** **IDADDE**WGQGTMVTVSS
20	P1-069063 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
21	P1-069063 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA DDEWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
22	P1-069063 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
23	P1-069065 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSDDIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGW IDAFDV**WGQGTMVTVSS
24	P1-069065 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
25	P1-069065 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSDDIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA FDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
26	P1-069065 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
27	P1-069067 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLDDYAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSEEIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGW IDADDE**WGQGTMVTVSS

SEQ ID NO	Название	Последовательность
28	P1-069067 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
29	P1-069067 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA DDEWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
30	P1-069067 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
31	P1-069069 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLDDYAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSEEIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGW IDADDV**WGQGTMVTVSS
32	P1-069069 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
33	P1-069069 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA DDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
34	P1-069069 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
35	P1-069071 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSADIGYADSVKG**RFTIS

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSEGW IDAFDV**WGQGTMVTVSS
36	P1-069071 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
37	P1-069071 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSADIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSEGWIDA FDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
38	P1-069071 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
39	P1-069073 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSAEIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGW IDAEDV**WGQGTMVTVSS
40	P1-069073 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
41	P1-069073 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
42	P1-069073 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO	Название	Последовательность
43	P1-069075 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GINWDSAEIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGW IDAEDV**WGQGTMVTVSS
44	P1-069075 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
45	P1-069075 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWDSAEIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDA EDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
46	P1-069075 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
47	P1-069077 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSDEIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGW IDAFDV**WGQGTMVTVSS
48	P1-069077 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
49	P1-069077 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSDEIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA FDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
50	P1-069077 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
51	P1-068761 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSEEIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGW IDAEDV**WGQGTMVTVSS
52	P1-068761 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
53	P1-068761 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDA EDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
54	P1-068761 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
55	P1-068767 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GIDWNSENIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGW IDAEDD**WGQGTMVTVSS
56	P1-068767 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
57	P1-068767 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGIDWNSENIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
58	P1-068767 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
59	P1-068773 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GIDWNSDNIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGW IDAEDD**WGQGTMVTVSS
60	P1-068773 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
61	P1-068773 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGIDWNSDNIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
62	P1-068773 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
63	P1-068765 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTDEDYAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSEEIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGW IDAEDD**WGQGTMVTVSS
64	P1-068765 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
65	P1-068765 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTDEDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG

SEQ ID NO	Название	Последовательность
66	P1-068765 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
67	P1-061029 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLDDYAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSANIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGW** **IDAFDV**WGQGTMVTVSS
68	P1-061029 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
69	P1-061029 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA FDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
70	P1-061029 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
71	P1-068757 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSEEIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGW** **IDAEDD**WGQGTMVTVSS
72	P1-068757 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
73	P1-068757 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
74	P1-068757 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
75	P1-068771 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSHEIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGW IDAEDD**WGQGTMVTVSS
76	P1-068771 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
77	P1-068771 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSHEIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
78	P1-068771 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
79	P1-068775 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GIDWNSEEIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGW IDAEDD**WGQGTMVTVSS
80	P1-068775 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
81	P1-068775 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHW VRQAPGKGLEWVSGIDWNSEEIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDA EDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
82	P1-068775 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
83	P1-068769 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSDHIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGW IDAEDD**WGQGTMVTVSS
84	P1-068769 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
85	P1-068769 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSDHIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
86	P1-068769 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
87	P1-068759 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GIDWNSENIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGW IDAEDD**WGQGTMVTVSS
88	P1-068759 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
89	P1-068759 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHW VRQAPGKGLEWVSGIDWNSENIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
90	P1-068759 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
91	P1-068763 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GIDWNSENIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGW IDAEDV**WGQGTMVTVSS
92	P1-068763 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
93	P1-068763 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGIDWNSENIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDA EDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
94	P1-068763 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
95	P1-061015 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS**GFTFSSYAMH**W VRQAPGKGLEWVA**IIWYDGSNKYYADSVKG**RFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**DSGFYSSYYF DY**WGQGTLVTVSS
96	P1-061015 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**DASNRAT**GIPARFSGSGSGTDFTLTIS SLEPEDFATYYC**QQYNSYPYT**FGQGTKLEIK
97	P1-061015 IgG1.3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHW VRQAPGKGLEWVAIIWYDGSNKYYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSGFYSSYYF DYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVE PKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPG
98	P1-061015 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTIS SLEPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
99	P1-068748 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS**GFTFSHHAMH** WVRQAPGKGLEWVA**IIWYDGSNDDYADSVKG**RFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**DSGFYDSYY FDY**WGQGTLVTVSS
100	P1-068748 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**DASNRAT**GIPARFSGSGSGTDFTLTIS SLEPEDFATYYC**QQYNSYPYT**FGQGTKLEIK
101	P1-068748 IgG1.3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSHHAMHW VRQAPGKGLEWVAIIWYDGSNDDYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSGFYDSYYF DYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVE PKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPG
102	P1-068748 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTIS SLEPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
103	P1-068744 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS**GFTFSEYAMH** WVRQAPGKGLEWVA**HIWYDGSNKYEADSVKG**RFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**DSGFYESY YFDE**WGQGTLVTVSS
104	P1-068744 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**DASNRAT**GIPARFSGSGSGTDFTLTIS SLEPEDFATYYC**QQYNSYPYT**FGQGTKLEIK
105	P1-068744 IgG1.3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSEYAMHW VRQAPGKGLEWVAHIWYDGSNKYEADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSGFYESYYF

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		DEWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVE PKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPG
106	P1-068744 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTIS SLEPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
107	P1-068736 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS**GFTFSEYAMH** WVRQAPGKGLEWVA**IDWYDGSNKDYADSVKG**RFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**DSGFYDSY YFDD**WGQGTLVTVSS
108	P1-068736 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**DASNRAT**GIPARFSGSGSGTDFTLTIS SLEPEDFATYYC**QQYNSYPYT**FGQGTKLEIK
109	P1-068736 IgG1.3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSEYAMHW VRQAPGKGLEWVAIDWYDGSNKDYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSGFYDSYYF DDWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVE PKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPG
110	P1-068736 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTIS SLEPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
111	P1-068752 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS**GFTFSSYAMH**W VRQAPGKGLEWVA**EIWYDGSNKDYADSVKG**RFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**DSGFYDSYY FDE**WGQGTLVTVSS
112	P1-068752 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**DASNRAT**GIPARFSGSGSGTDFTLTIS SLEPEDFATYYC**QQYNSYPYT**FGQGTKLEIK
113	P1-068752 IgG1.3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHW

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		VRQAPGKGLEWVAEIWYDGSNKDYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSGFYDSYYF DEWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVE PKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPG
114	P1-068752 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTIS SLEPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
115	P1-068740 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS**GFTFSDYAMH** WVRQAPGKGLEWVA**IIWYDGSDKDYADSVKG**RFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**DSGFYDSY YFDD**WGQGTLVTVSS
116	P1-068740 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**DASNRAT**GIPARFSGSGSGTDFTLTIS SLEPEDFATYYC**QQYNSYPYT**FGQGTKLEIK
117	P1-068740 IgG1.3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSDYAMHW VRQAPGKGLEWVAIIWYDGSDKDYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSGFYDSYYF DDWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVE PKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPG
118	P1-068740 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTIS SLEPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
119	P1-068742 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS**GFTFSDYAMH** WVRQAPGKGLEWVA**IIWYDGSDKDYADSVKG**RFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**DSGFYEDY YFDY**WGQGTLVTVSS
120	P1-068742 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**DASNRAT**GIPARFSGSGSGTDFTLTIS

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		SLEPEDFATYYC**QQYNSYPYT**FGQGTKLEIK
121	P1-068742 IgG1.3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSDYAMHW VRQAPGKGLEWVAIIWYDGSDKDYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSGFYEDYYF DYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVE PKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPG
122	P1-068742 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTIS SLEPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
123	P1-068746 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS**GFTFSSYAMH**W VRQAPGKGLEWVA**IIWYDGSNHHYADSVKG**RFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**DSGFYDSYYF DY**WGQGTLVTVSS
124	P1-068746 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**DASNRAT**GIPARFSGSGSGTDFTLTIS SLEPEDFATYYC**QQYNSYPYT**FGQGTKLEIK
125	P1-068746 IgG1.3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHW VRQAPGKGLEWVAIIWYDGSNHHYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSGFYDSYYF DYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVE PKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPG
126	P1-068746 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTIS SLEPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
127	P1-068750 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS**GFTFSDYDMH** WVRQAPGKGLEWVA**EIWDDGSNKYYADSVKG**RFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**DEEFYSSY YFDY**WGQGTLVTVSS

SEQ ID NO	Название	Последовательность
128	P1-068750 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**DASNRAT**GIPARFSGSGSGTDFTLTIS SLEPEDFATYYC**QQYNSYPYT**FGQGTKLEIK
129	P1-068750 IgG1.3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSDYDMHW VRQAPGKGLEWVAEIWDDGSNKYYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDEEFYSSYYF DYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVE PKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPG
130	P1-068750 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTIS SLEPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
131	P1-068738 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS**GFTFSEYAHH**W VRQAPGKGLEWVA**IIWDDGSNHYYADSVKG**RFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**DSGFYEDYY FDY**WGQGTLVTVSS
132	P1-068738 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**DASNRAT**GIPARFSGSGSGTDFTLTIS SLEPEDFATYYC**QQYNSYPYT**FGQGTKLEIK
133	P1-068738 IgG1.3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSEYAHHW VRQAPGKGLEWVAIIWDDGSNHYYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSGFYEDYYF DYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVE PKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPG
134	P1-068738 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTIS SLEPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
135	P1-068754 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS**GFTFSDYDMH** WVRQAPGKGLEWVA**EIWDDGSNKYYADSVKG**RFTI

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**DSGFHSDY YFDY**WGQGTLVTVSS
136	P1-068754 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**DASNRAT**GIPARFSGSGSGTDFTLTIS SLEPEDFATYYC**QQYNSYPYT**FGQGTKLEIK
137	P1-068754 IgG1.3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSDYDMHW VRQAPGKGLEWVAEIWDDGSNKYYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSGFHSDYYF DYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVE PKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPG
138	P1-068754 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTIS SLEPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
139	P1-069293 VH (P1-068761.IgG1f)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSEEIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGW IDAEDV**WGQGTMVTVSS
140	P1-069293 VL (P1-068761.IgG1f)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
141	P1-069293 HC (P1-068761.IgG1f)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDA EDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
142	P1-069293 LC (P1-068761.IgG1f)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO	Название	Последовательность
143	P1-069298 VH (P1-068767.IgG1f)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GIDWNSENIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGW IDAEDD**WGQGTMVTVSS
144	P1-069298 VL (P1-068767.IgG1f)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
145	P1-069298 HC (P1-068767.IgG1f)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGIDWNSENIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
146	P1-069298 LC (P1-068767.IgG1f)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
147	P1-069302 VH (P1-061029.IgG1f)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLDDYAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSANIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGW IDAFDV**WGQGTMVTVSS
148	P1-069302 VL (P1-061029.IgG1f)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
149	P1-069302 HC (P1-061029.IgG1f)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA FDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
150	P1-069302 LC (P1-061029.IgG1f)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
151	P1-069312 VH (P1-068761.IgG1f афукозилированное)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSEEIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGW IDAEDV**WGQGTMVTVSS
152	P1-069312 VL (P1-068761.IgG1f афукозилированное)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
153	P1-069312 HC (P1-068761.IgG1f афукозилированное)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDA EDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
154	P1-069312 LC (P1-068761.IgG1f афукозилированное)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
155	P1-069309 VH (P1-068767.IgG1f афукозилированное)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GIDWNSENIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGW IDAEDD**WGQGTMVTVSS
156	P1-069309 VL (P1-068767.IgG1f афукозилированное)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
157	P1-069309 HC (P1-068767.IgG1f афукозилированное)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGIDWNSENIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
158	P1-069309 LC (P1-068767.IgG1f	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS

SEQ ID NO	Название	Последовательность
	афукозилированное)	RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
159	P1-069307VH (P1-061029.IgG1f афукозилированное)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLDDYAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSANIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGW IDAFDV**WGQGTMVTVSS
160	P1-069307VL (P1-061029.IgG1f афукозилированное)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
161	P1-069307HC (P1-061029.IgG1f афукозилированное)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA FDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
162	P1-069307 LC (P1-061029.IgG1f афукозилированное)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
163	IgG1.3 (or IgG1.3f) константная область тяжелой цепи (L234A, L235E, G237A)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP APEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
164	Примерная константная область легкой цепи	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLS KADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
165	VISTA человека NP_071436.1 (Фиг. 1B)	См. Фиг. 1B
166	Cyno VISTA XP_005565644.1 (Фиг. 1B)	См. Фиг. 1B
167	Mouse VISTA NP_083008.1	См. Фиг. 1B

SEQ ID NO	Название	Последовательность
	(Фиг. 1B)	
168	P1-061029 HDR3 чип олиго (Фиг. 7A)	**X**PGYSGGWIDAFDV
169	P1-061029 HDR3 чип олиго (Фиг. 7A)	**XX**GYSGGWIDAFDV
170	P1-061029 HDR3 чип олиго (Фиг. 7A)	**X**P**X**YSGGWIDAFDV
171	P1-061029 HDR3 чип олиго (Фиг. 7A)	**X**PG**X**SGGWIDAFDV
172	P1-061029 HDR3 чип олиго (Фиг. 7A)	**X**PGY**X**GGWIDAFDV
173	P1-061029 HDR3 чип олиго (Фиг. 7A)	**X**PGYS**X**GWIDAFDV
174	P1-061029 HDR3 чип олиго (Фиг. 7A)	**X**PGYSG**X**WIDAFDV
175	P1-061029 HDR3 чип олиго (Фиг. 7A)	**X**PGYSGG**X**IDAFDV
176	P1-061029 HDR3 чип олиго (Фиг. 7A)	**X**PGYSGGW**X**DAFDV
177	P1-061029 HDR3 чип олиго (Фиг. 7A)	**X**PGYSGGWI**X**AFDV
178	P1-061029 HDR3 чип олиго (Фиг. 7A)	**X**PGYSGGWID**X**FDV
179	P1-061029 HDR3 чип олиго (Фиг. 7A)	**X**PGYSGGWIDA**X**DV
180	P1-061029 HDR3 чип олиго (Фиг. 7A)	**X**PGYSGGWIDAF**X**V
181	P1-061029 HDR3 чип олиго (Фиг. 7A)	**X**PGYSGGWIDAFD**X**
182	IgG1f (аллотип f дикого типа человека) константная область тяжелой цепи	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
183	IgG1.1f Константная область тяжелой цепи (L234A, L235E, G237A, A330S, P331S)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP APEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
184	IgG1fa.P238K (или IgG1.P238K) константная область тяжелой цепи	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP APELLGGKSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
185	P1-070864 P1-068761_E30D VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLDDEAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSEEIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGW** **IDAEDV**WGQGTMVTVSS
186	P1-070864 P1-068761_E30D VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
187	P1-070864 P1-068761_E30D IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDEAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDA EDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
188	P1-070864 P1-068761_E30D LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
189	P1-070866 P1-068761_E32Y VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSEEIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGW** **IDAEDV**WGQGTMVTVSS

SEQ ID NO	Название	Последовательность
190	P1-070866 P1-068761_E32Y VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
191	P1-070866 P1-068761_E32Y IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDA EDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
192	P1-070866 P1-068761_E32Y LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
193	P1-070868 P1-068761_E55A VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSAEIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGW IDAEDV**WGQGTMVTVSS
194	P1-070868 P1-068761_E55A VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
195	P1-070868 P1-068761_E55A IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDA EDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
196	P1-070868 P1-068761_E55A LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
197	P1-070870 P1-068761_E56N	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSENIGYADSVKG**RFTIS

SEQ ID NO	Название	Последовательность
	VH	RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGW IDAEDV**WGQGTMVTVSS
198	P1-070870 P1-068761_E56N VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
199	P1-070870 P1-068761_E56N IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSENIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDA EDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
200	P1-070870 P1-068761_E56N LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
201	P1-070872 P1-068761_H100G VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSEEIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGW IDAEDV**WGQGTMVTVSS
202	P1-070872 P1-068761_H100G VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
203	P1-070872 P1-068761_H100G IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
204	P1-070872 P1-068761_H100G LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO	Название	Последовательность
205	P1-070874 P1-068761_E100fF VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSEEIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGW** **IDAFDV**WGQGTMVTVSS
206	P1-070874 P1-068761_E100fF VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
207	P1-070874 P1-068761_E100fF IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDA FDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
208	P1-070874 P1-068761_E100fF LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
209	P1-070876 P1-068761_E30D_E32Y VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLDDYAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSEEIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGW** **IDAEDV**WGQGTMVTVSS
210	P1-070876 P1-068761_E30D_E32Y VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
211	P1-070876 P1-068761_E30D_E32Y IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDA EDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
212	P1-070876 P1-068761_E30D_E32Y LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
213	P1-070878 P1-068761_E55A_E56N VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSANIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGW IDAEDV**WGQGTMVTVSS
214	P1-070878 P1-068761_E55A_E56N VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
215	P1-070878 P1-068761_E55A_E56N IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDA EDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
216	P1-070878 P1-068761_E55A_E56N LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
217	P1-070880 P1-068761_H100G_E100fF VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSEEIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGW IDAFDV**WGQGTMVTVSS
218	P1-070880 P1-068761_H100G_E100fF VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
219	P1-070880 P1-068761_H100G_E100fF IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA FDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
220	P1-070880	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ

SEQ ID NO	Название	Последовательность
	P1-068761_H100G_E100fFLC	QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
221	P1-070882 P1-068761_E32Y_E55AVH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSAEIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGW** **IDAEDV**WGQGTMVTVSS
222	P1-070882 P1-068761_E32Y_E55AVL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
223	P1-070882 P1-068761_E32Y_E55AIgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDA EDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
224	P1-070882 P1-068761_E32Y_E55ALC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
225	P1-070884 P1-068761_E32Y_E56NVH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSENIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGW** **IDAEDV**WGQGTMVTVSS
226	P1-070884 P1-068761_E32Y_E56NVL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
227	P1-070884 P1-068761_E32Y_E56NIgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSENIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDA EDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		YTQKSLSLSPG
228	P1-070884 P1-068761_E32Y_E56N LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
229	P1-070886 P1-068761_E32Y_H100G VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSEEIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGW** **IDAEDV**WGQGTMVTVSS
230	P1-070886 P1-068761_E32Y_H100G VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
231	P1-070886 P1-068761_E32Y_H100G IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
232	P1-070886 P1-068761_E32Y_H100G LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
233	P1-070888 P1-068761_E32Y_E100fF VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSEEIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGW** **IDAFDV**WGQGTMVTVSS
234	P1-070888 P1-068761_E32Y_E100fF VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
235	P1-070888 P1-068761_E32Y_E100fF IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDA FDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
236	P1-070888 P1-068761_E32Y_E100fF LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
237	P1-070890 P1-068761_E30D_E55A VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLDDEAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSAEIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGW IDAEDV**WGQGTMVTVSS
238	P1-070890 P1-068761_E30D_E55A VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
239	P1-070890 P1-068761_E30D_E55A IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDEAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDA EDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
240	P1-070890 P1-068761_E30D_E55A LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
241	P1-070892 P1-068761_E30D_E56N VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLDDEAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSENIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGW IDAEDV**WGQGTMVTVSS
242	P1-070892 P1-068761_E30D_E56N VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
243	P1-070892 P1-068761_E30D_E56N IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDEAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSENIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDA EDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
244	P1-070892 P1-068761_E30D_E56N LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
245	P1-070894 P1-068761_E30D_H100G VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLDDEAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSEEIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGW IDAEDV**WGQGTMVTVSS
246	P1-070894 P1-068761_E30D_H100G VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
247	P1-070894 P1-068761_E30D_H100G IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDEAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
248	P1-070894 P1-068761_E30D_H100G LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
249	P1-070896 P1-068761_E30D_E100fF VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLDDEAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSEEIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGW IDAFDV**WGQGTMVTVSS
250	P1-070896 P1-068761_E30D_E100fF VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
251	P1-070896 P1-068761_E30D_E100fF IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDEAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDA FDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
252	P1-070896 P1-068761_E30D_E100fF LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
253	P1-070898 P1-068761_E55A_E100fF VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSAEIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGW IDAFDV**WGQGTMVTVSS
254	P1-070898 P1-068761_E55A_E100fF VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
255	P1-070898 P1-068761_E55A_E100fF IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDA FDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
256	P1-070898 P1-068761_E55A_E100fF LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
257	P1-070900 P1-068761_E56N_H100G VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSENIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGW IDAEDV**WGQGTMVTVSS
258	P1-070900 P1-068761_E56N_H100G VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
259	P1-070900 P1-068761_E56N_H100G IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSENIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
260	P1-070900 P1-068761_E56N_H100G LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
261	P1-070902 P1-068761_E56N_E100fF VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDEAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSENIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSHGW** **IDAFDV**WGQGTMVTVSS
262	P1-070902 P1-068761_E56N_E100fF VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
263	P1-070902 P1-068761_E56N_E100fF IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSENIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDA FDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
264	P1-070902 P1-068761_E56N_E100fF LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
265	P1-070904 P1-068767_E30D VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLDDYAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GIDWNSENIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGW** **IDAEDD**WGQGTMVTVSS
266	P1-070904 P1-068767_E30D VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
267	P1-070904 P1-068767_E30D	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGIDWNSENIGYADSVKGRFTISRD

SEQ ID NO	Название	Последовательность
	IgG1.3 HC	NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
268	P1-070904 P1-068767_E30D LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
269	P1-070906 P1-068767_D52N VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSENIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGW IDAEDD**WGQGTMVTVSS
270	P1-070906 P1-068767_D52N VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
271	P1-070906 P1-068767_D52N IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSENIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
272	P1-070906 P1-068767_D52N LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
273	P1-070908 P1-068767_E55A VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GIDWNSANIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGW IDAEDD**WGQGTMVTVSS
274	P1-070908 P1-068767_E55A VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK

SEQ ID NO	Название	Последовательность
275	P1-070908 P1-068767_E55A IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGIDWNSANIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
276	P1-070908 P1-068767_E55A LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
277	P1-070910 P1-068767_E100fF VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GIDWNSENIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGW** **IDAFDD**WGQGTMVTVSS
278	P1-070910 P1-068767_E100fF VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
279	P1-070910 P1-068767_E100fF IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGIDWNSENIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA FDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
280	P1-070910 P1-068767_E100fF LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
281	P1-070912 P1-068767_D102V VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GIDWNSENIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGW** **IDAEDV**WGQGTMVTVSS
282	P1-070912	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ

SEQ ID NO	Название	Последовательность
	P1-068767_D102V VL	QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
283	P1-070912 P1-068767_D102V IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGIDWNSENIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
284	P1-070912 P1-068767_D102V LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
285	P1-070914 P1-068767_E30D_D52N VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLDDYAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSENIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGW IDAEDD**WGQGTMVTVSS
286	P1-070914 P1-068767_E30D_D52N VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
287	P1-070914 P1-068767_E30D_D52N IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSENIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
288	P1-070914 P1-068767_E30D_D52N LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
289	P1-070916 P1-068767_D52N_E55A VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSANIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGW**

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		IDAEDDWGQGTMVTVSS
290	P1-070916 P1-068767_D52N_E55A VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
291	P1-070916 P1-068767_D52N_E55A IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
292	P1-070916 P1-068767_D52N_E55A LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
293	P1-070918 P1-068767_E55A_E100fF VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GIDWNSANIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGW** **IDAFDD**WGQGTMVTVSS
294	P1-070918 P1-068767_E55A_E100fF VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
295	P1-070918 P1-068767_E55A_E100fF IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGIDWNSANIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA FDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
296	P1-070918 P1-068767_E55A_E100fF LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
297	P1-070920	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH**

SEQ ID NO	Название	Последовательность
	P1-068767_E100fF_D102V VH	**W**VRQAPGKGLEWVS**GIDWNSENIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGW IDAFDV**WGQGTMVTVSS
298	P1-070920 P1-068767_E100fF_D102V VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
299	P1-070920 P1-068767_E100fF_D102V IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGIDWNSENIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA FDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
300	P1-070920 P1-068767_E100fF_D102V LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
301	P1-070922 P1-068767_E30D_E55A VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLDDYAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GIDWNSANIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGW IDAEDD**WGQGTMVTVSS
302	P1-070922 P1-068767_E30D_E55A VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
303	P1-070922 P1-068767_E30D_E55A IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGIDWNSANIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
304	P1-070922 P1-068767_E30D_E55A LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
305	P1-070924 P1-068767_E30D_E100fF VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLDDYAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GIDWNSENIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGW IDAFDD**WGQGTMVTVSS
306	P1-070924 P1-068767_E30D_E100fF VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYL**AWYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
307	P1-070924 P1-068767_E30D_E100fF IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGIDWNSENIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA FDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
308	P1-070924 P1-068767_E30D_E100fF LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
309	P1-070926 P1-068767_E30D_D102V VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLDDYAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GIDWNSENIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGW IDAEDV**WGQGTMVTVSS
310	P1-070926 P1-068767_E30D_D102V VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
311	P1-070926 P1-068767_E30D_D102V IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGIDWNSENIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
312	P1-070926 P1-068767_E30D_D102V	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS

SEQ ID NO	Название	Последовательность
	LC	RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
313	P1-070928 P1-068767_D52N_E100fF VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSENIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGW IDAFDD**WGQGTMVTVSS
314	P1-070928 P1-068767_D52N_E100fF VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
315	P1-070928 P1-068767_D52N_E100fF IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSENIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA FDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
316	P1-070928 P1-068767_D52N_E100fF LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
317	P1-070930 P1-068767_D52N_D102V VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GINWNSENIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGW IDAED**VWGQGTMVTVSS
318	P1-070930 P1-068767_D52N_D102V VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
319	P1-070930 P1-068767_D52N_D102V IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSENIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		YTQKSLSLSPG
320	P1-070930 P1-068767_D52N_D102V LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
321	P1-070932 P1-068767_E55A_D102V VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS**GFTLEDYAMH** WVRQAPGKGLEWVS**GIDWNSANIGYADSVKG**RFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK**VPGYSGGW** **IDAED**VWGQGTMVTVSS
322	P1-070932 P1-068767_E55A_D102V VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC**RASQSVSSSYLA**WYQ QKPGQAPRLLIY**GASSRAT**GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYC**QQYGSSPFT**FGPGTKVDIK
323	P1-070932 P1-068767_E55A_D102V IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGIDWNSANIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
324	P1-070932 P1-068767_E55A_D102V LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
325	hVISTA-ECD 6-His-метка	AFKVATPYSL YVCPEGQNVT LTCRLLGPVD KGHDVTFYKT WYRSSRGEVQ TCSERRPIRN LTFQDLHLHH GGHQAANTSH DLAQRHGLES ASDHHGNFSI TMRNLTLLDS GLYCCLVVEI RHHHSEHRVH GAMELQVQTG KDAPSNCVVY PSSSQESENI TAHHHHHHH
326	Cyno VISTA-ECD 6-His-метка	AFKVATLYSL YVCPEGQNVT LTCRVFGPVD KGHDVTFYKT WYRSSRGEVQ TCSERRPIRN LTFQDLHLHH GGHQAANTSH DLAQRHGLES ASDHHGNFSI TMRNLTLLDS GLYCCLVVEIRHHHSEHRVH GAMELQVQTG KDAPSSCVAY PSSSQESENI TAHHHHHHH
327	P1-069059 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGAAGATTATGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGACCATATAGGCT

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		ATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATG AACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTA CTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGAT TGACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGG TCACCGTCTCTTCA
328	P1-069059 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
329	P1-069061 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGAAGATTATGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCTGAAATAGGCT ATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATG AACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTA CTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGAT TGACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGG TCACCGTCTCTTCA
330	P1-069061 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
331	P1-069063 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGAAGATTATGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCTGAAATAGGCT ATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATG AACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTA CTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGAT TGACGCTGACGATGAATGGGGCCAAGGGACAATGG TCACCGTCTCTTCA
332	P1-069063 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
333	P1-069065 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGAAGATGAAGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGACGACATAGGCT ATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATG AACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTA CTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGAT TGACGCTTTTGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGT CACCGTCTCTTCA
334	P1-069065 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
335	P1-069067 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAAGAAATAGGC TATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCC AGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAAT GAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATT ACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGG ATTGACGCTGACGATGAATGGGGCCAAGGGACAAT GGTCACCGTCTCTTCA
336	P1-069067 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA

SEQ ID NO	Название	Последовательность
337	P1-069069 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAAGAAATAGGC TATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCC AGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAAT GAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATT ACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGG ATTGACGCTGACGATGTCTGGGGCCAAGGGACAAT GGTCACCGTCTCTTCA
338	P1-069069 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
339	P1-069071 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGAAGATGAAGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCTGACATAGGCT ATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATG AACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTA CTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGAAGGCTGGA TTGACGCTTTTGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGG TCACCGTCTCTTCA
340	P1-069071 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
341	P1-069073 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGAAGATGAAGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCTGAAATAGGCT ATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATG AACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTA

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		CTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGAT TGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGG TCACCGTCTCTTCA
342	P1-069073 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
343	P1-069075 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGAAGATTATGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGGACAGTGCTGAAATAGGCT ATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATG AACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTA CTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCCATGGCTGGAT TGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGG TCACCGTCTCTTCA
344	P1-069075 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
345	P1-069077 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGAAGATGAAGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGACGAAATAGGC TATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCC AGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAAT GAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATT ACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGG ATTGACGCTTTTGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATG GTCACCGTCTCTTCA
346	P1-069077 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
347	P1-068761 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGAGGATGAGGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAAGAGATAGGC TATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCC AGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAAT GAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATT ACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCCATGGCTGG ATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAAT GGTCACCGTCTCTTCA
348	P1-068761 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
349	P1-068767 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTGATTGGAACAGTGAAAACATAGGC TATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCC AGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAAT GAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATT ACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGG ATTGACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAAT GGTCACCGTCTCTTCA
350	P1-068767 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
351	P1-068773 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCATGCACTG

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTGATTGGAACAGTGATAACATAGGCT ATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATG AACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTA CTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGAT TGACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGG TCACCGTCTCTTCA
352	P1-068773 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
353	P1-068765 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCGATGAGGATTATGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAAGAGATAGGC TATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCC AGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAAT GAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATT ACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGG ATTGACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAAT GGTCACCGTCTCTTCA
354	P1-068765 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
355	P1-061029 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCTAACATAGGCT ATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATG AACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTA CTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGAT TGACGCTTTTGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGT CACCGTCTCTTCA

SEQ ID NO	Название	Последовательность
356	P1-061029 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
357	P1-068757 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGAGGATGAGGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAAGAGATAGGC TATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCC AGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAAT GAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATT ACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGG ATTGACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAAT GGTCACCGTCTCTTCA
358	P1-068757 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
359	P1-068771 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGAGGATGAGGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTCATGAGATAGGCT ATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATG AACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTA CTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGAT TGACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGG TCACCGTCTCTTCA
360	P1-068771 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
361	P1-068775 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGAGGATGAGGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTGATTGGAACAGTGAAGAGATAGGC TATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCC AGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAAT GAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATT ACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCCATGGCTGG ATTGACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAAT GGTCACCGTCTCTTCA
362	P1-068775 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
363	P1-068769 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGAGGATGAGGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGATCACATAGGCT ATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATG AACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTA CTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGAT TGACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGG TCACCGTCTCTTCA
364	P1-068769 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
365	P1-068759 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGAGGATGAGGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTGATTGGAACAGTGAAAACATAGGC TATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCC

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		AGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAAT GAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATT ACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGG ATTGACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAAT GGTCACCGTCTCTTCA
366	P1-068759 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
367	P1-068763 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTGATTGGAACAGTGAAAACATAGGC TATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCC AGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAAT GAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATT ACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCCATGGCTGG ATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAAT GGTCACCGTCTCTTCA
368	P1-068763 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
369	P1-061015 VH ДНК	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGT CCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC GTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTATGCCATGCACTG GGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGG TGGCAATTATATGGTATGATGGAAGTAATAAATACT ATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATG AACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTA CTGTGCGAGAGATAGTGGTTTTTACTCCTCGTACTA CTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGT CTCCTCA
370	P1-061015 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		GTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCC CAGCCAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAT TTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATAATAGTTAC CCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGAT CAAA
371	P1-068748 VH ДНК	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGT CCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC GTCTGGATTCACCTTCAGTCACCATGCCATGCACTG GGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGG TGGCAATTATATGGTATGATGGAAGTAATGACGACT ATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATG AACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTA CTGTGCGAGAGATAGTGGTTTTTACGACTCGTACTA CTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGT CTCCTCA
372	P1-068748 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCC CAGCCAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAT TTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATAATAGTTAC CCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGAT CAAA
373	P1-068744 VH ДНК	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGT CCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC GTCTGGATTCACCTTCAGTGAGTATGCCATGCACTG GGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGG TGGCACATATATGGTATGATGGAAGTAATAAATAC GAGGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTC CAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAA TGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTAT TACTGTGCGAGAGATAGTGGTTTTTACGAATCGTAC TACTTTGACGAGTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCAC CGTCTCCTCA
374	P1-068744 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCC CAGCCAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAT TTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATAATAGTTAC CCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGAT CAAA
375	P1-068736 VH ДНК	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGT

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		CCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC GTCTGGATTCACCTTCAGTGAGTATGCCATGCACTG GGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGG TGGCAATTGATTGGTATGATGGAAGTAATAAAGAC TATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCC AGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAAT GAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATT ACTGTGCGAGAGATAGTGGTTTTTACGACTCGTACT ACTTTGACGACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACC GTCTCCTCA
376	P1-068736 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCC CAGCCAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAT TTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATAATAGTTAC CCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGAT CAAA
377	P1-068752 VH ДНК	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGT CCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC GTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTATGCCATGCACTG GGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGG TGGCAGAGATATGGTATGATGGAAGTAATAAAGAC TATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCC AGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAAT GAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATT ACTGTGCGAGAGATAGTGGTTTTTACGACTCGTACT ACTTTGACGAGTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACC GTCTCCTCA
378	P1-068752 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCC CAGCCAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAT TTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATAATAGTTAC CCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGAT CAAA
379	P1-068740 VH ДНК	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGT CCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC GTCTGGATTCACCTTCAGTGACTATGCCATGCACTG GGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGG TGGCAATTATATGGTATGATGGAAGTGATAAAGAC TATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCC AGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAAT GAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATT ACTGTGCGAGAGATAGTGGTTTTTACGACTCGTACT

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		ACTTTGACGACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACC GTCTCCTCA
380	P1-068740 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCC CAGCCAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAT TTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATAATAGTTAC CCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGAT CAAA
381	P1-068742 VH ДНК	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGT CCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC GTCTGGATTCACCTTCAGTGACTATGCCATGCACTG GGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGG TGGCAATTATATGGTATGATGGAAGTGATAAAGAC TATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCC AGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAAT GAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATT ACTGTGCGAGAGATAGTGGTTTTTACGAAGATTACT ACTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACC GTCTCCTCA
382	P1-068742 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCC CAGCCAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAT TTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATAATAGTTAC CCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGAT CAAA
383	P1-068746 VH ДНК	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGT CCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC GTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTATGCCATGCACTG GGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGG TGGCAATTATATGGTATGATGGAAGTAATCACCACT ATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATG AACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTA CTGTGCGAGAGATAGTGGTTTTTACGACTCGTACTA CTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGT CTCCTCA
384	P1-068746 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCC CAGCCAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAT

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		TTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATAATAGTTAC CCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGAT CAAA
385	P1-068750 VH ДНК	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGT CCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC GTCTGGATTCACCTTCAGTGACTATGACATGCACTG GGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGG TGGCAGAGATATGGGATGATGGAAGTAATAAATAC TATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCC AGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAAT GAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATT ACTGTGCGAGAGATGAGGAATTTTACTCCTCGTACT ACTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACC GTCTCCTCA
386	P1-068750 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCC CAGCCAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAT TTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATAATAGTTAC CCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGAT CAAA
387	P1-068738 VH ДНК	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGT CCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC GTCTGGATTCACCTTCAGTGAGTATGCCCATCACTG GGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGG TGGCAATTATATGGGATGATGGAAGTAATCACTACT ATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATG AACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTA CTGTGCGAGAGATAGTGGTTTTTACGAAGATTACTA CTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGT CTCCTCA
388	P1-068738 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCC CAGCCAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAT TTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATAATAGTTAC CCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGAT CAAA
389	P1-068754 VH ДНК	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGT CCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC GTCTGGATTCACCTTCAGTGACTATGACATGCACTG GGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGG

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		TGGCAGAGATATGGGATGATGGAAGTAATAAATAC TATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCC AGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAAT GAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATT ACTGTGCGAGAGATAGTGGTTTTCACTCCGATTACT ACTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACC GTCTCCTCA
390	P1-068754 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCC CAGCCAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAT TTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATAATAGTTAC CCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGAT CAAA
391	P1-070864 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGATGATGAGGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAAGAGATAGGC TATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCC AGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAAT GAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATT ACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCCATGGCTGG ATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAAT GGTCACCGTCTCTTCA
392	P1-070864 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
393	P1-070866 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAAGAGATAGGC TATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCC AGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAAT GAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATT ACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCCATGGCTGG ATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAAT GGTCACCGTCTCTTCA
394	P1-070866 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
395	P1-070868 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGAGGATGAGGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCTGAGATAGGCT ATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATG AACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTA CTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCCATGGCTGGAT TGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGG TCACCGTCTCTTCA
396	P1-070868 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
397	P1-070870 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGAGGATGAGGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAAAACATAGGC TATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCC AGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAAT GAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATT ACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCCATGGCTGG ATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAAT GGTCACCGTCTCTTCA
398	P1-070870 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		AAA
399	P1-070872 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGAGGATGAGGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAAGAGATAGGC TATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCC AGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAAT GAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATT ACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGG ATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAAT GGTCACCGTCTCTTCA
400	P1-070872 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
401	P1-070874 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGAGGATGAGGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAAGAGATAGGC TATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCC AGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAAT GAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATT ACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCCATGGCTGG ATTGACGCTTTTGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATG GTCACCGTCTCTTCA
402	P1-070874 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
403	P1-070876 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAAGAGATAGGC TATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCC AGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAAT

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		GAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATT ACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCCATGGCTGG ATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAAT GGTCACCGTCTCTTCA
404	P1-070876 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
405	P1-070878 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGAGGATGAGGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCTAACATAGGCT ATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATG AACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTA CTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCCATGGCTGGAT TGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGG TCACCGTCTCTTCA
406	P1-070878 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
407	P1-070880 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGAGGATGAGGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAAGAGATAGGC TATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCC AGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAAT GAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATT ACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGG ATTGACGCTTTTGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATG GTCACCGTCTCTTCA
408	P1-070880 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
409	P1-070882 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCTGAGATAGGCT ATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATG AACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTA CTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCCATGGCTGGAT TGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGG TCACCGTCTCTTCA
410	P1-070882 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
411	P1-070884 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAAAACATAGGC TATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCC AGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAAT GAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATT ACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCCATGGCTGG ATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAAT GGTCACCGTCTCTTCA
412	P1-070884 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
413	P1-070886 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		CTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAAGAGATAGGC TATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCC AGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAAT GAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATT ACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGG ATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAAT GGTCACCGTCTCTTCA
414	P1-070886 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
415	P1-070888 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAAGAGATAGGC TATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCC AGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAAT GAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATT ACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCCATGGCTGG ATTGACGCTTTTGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATG GTCACCGTCTCTTCA
416	P1-070888 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
417	P1-070890 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGATGATGAGGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCTGAGATAGGCT ATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATG AACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTA CTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCCATGGCTGGAT TGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGG

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		TCACCGTCTCTTCA
418	P1-070890 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
419	P1-070892 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGATGATGAGGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAAAACATAGGC TATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCC AGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAAT GAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATT ACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCCATGGCTGG ATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAAT GGTCACCGTCTCTTCA
420	P1-070892 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
421	P1-070894 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGATGATGAGGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAAGAGATAGGC TATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCC AGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAAT GAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATT ACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGG ATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAAT GGTCACCGTCTCTTCA
422	P1-070894 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
423	P1-070896 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGATGATGAGGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAAGAGATAGGC TATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCC AGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAAT GAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATT ACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCCATGGCTGG ATTGACGCTTTTGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATG GTCACCGTCTCTTCA
424	P1-070896 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
425	P1-070898 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGAGGATGAGGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCTGAGATAGGCT ATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATG AACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTA CTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCCATGGCTGGAT TGACGCTTTTGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGT CACCGTCTCTTCA
426	P1-070898 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
427	P1-070900 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGAGGATGAGGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAAAACATAGGC

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		TATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCC AGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAAT GAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATT ACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGG ATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAAT GGTCACCGTCTCTTCA
428	P1-070900 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
429	P1-070902 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGAGGATGAGGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAAAACATAGGC TATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCC AGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAAT GAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATT ACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCCATGGCTGG ATTGACGCTTTTGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATG GTCACCGTCTCTTCA
430	P1-070902 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
431	P1-070904 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTGATTGGAACAGTGAAAACATAGGC TATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCC AGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAAT GAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATT ACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGG ATTGACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAAT GGTCACCGTCTCTTCA
432	P1-070904 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
433	P1-070906 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAAAACATAGGC TATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCC AGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAAT GAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATT ACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGG ATTGACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAAT GGTCACCGTCTCTTCA
434	P1-070906 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
435	P1-070908 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTGATTGGAACAGTGCTAACATAGGCT ATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATG AACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTA CTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGAT TGACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGG TCACCGTCTCTTCA
436	P1-070908 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA

SEQ ID NO	Название	Последовательность
437	P1-070910 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTGATTGGAACAGTGAAAACATAGGC TATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCC AGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAAT GAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATT ACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGG ATTGACGCTTTTGATGACTGGGGCCAAGGGACAAT GGTCACCGTCTCTTCA
438	P1-070910 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
439	P1-070912 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTGATTGGAACAGTGAAAACATAGGC TATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCC AGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAAT GAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATT ACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGG ATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAAT GGTCACCGTCTCTTCA
440	P1-070912 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
441	P1-070914 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAAAACATAGGC TATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCC AGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAAT GAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATT

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		ACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGG ATTGACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAAT GGTCACCGTCTCTTCA
442	P1-070914 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
443	P1-070916 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCTAACATAGGCT ATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATG AACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTA CTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGAT TGACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGG TCACCGTCTCTTCA
444	P1-070916 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
445	P1-070918 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTGATTGGAACAGTGCTAACATAGGCT ATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATG AACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTA CTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGAT TGACGCTTTTGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGG TCACCGTCTCTTCA
446	P1-070918 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
447	P1-070920 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTGATTGGAACAGTGAAAACATAGGC TATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCC AGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAAT GAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATT ACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGG ATTGACGCTTTTGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATG GTCACCGTCTCTTCA
448	P1-070920 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
449	P1-070922 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTGATTGGAACAGTGCTAACATAGGCT ATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATG AACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTA CTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGAT TGACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGG TCACCGTCTCTTCA
450	P1-070922 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
451	P1-070924 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCATGCACTG

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTGATTGGAACAGTGAAAACATAGGC TATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCC AGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAAT GAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATT ACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGG ATTGACGCTTTTGATGACTGGGGCCAAGGGACAAT GGTCACCGTCTCTTCA
452	P1-070924 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
453	P1-070926 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTGATTGGAACAGTGAAAACATAGGC TATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCC AGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAAT GAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATT ACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGG ATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAAT GGTCACCGTCTCTTCA
454	P1-070926 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
455	P1-070928 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAAAACATAGGC TATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCC AGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAAT GAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATT ACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGG ATTGACGCTTTTGATGACTGGGGCCAAGGGACAAT GGTCACCGTCTCTTCA

SEQ ID NO	Название	Последовательность
456	P1-070928 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
457	P1-070930 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAAAACATAGGC TATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCC AGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAAT GAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATT ACTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGG ATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAAT GGTCACCGTCTCTTCA
458	P1-070930 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
459	P1-070932 VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTGATTGGAACAGTGCTAACATAGGCT ATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATG AACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTA CTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGAT TGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGG TCACCGTCTCTTCA
460	P1-070932 VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
461	IgG1.3 константная область тяжелой цепи ДНК	GCGTCGACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGC CCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACC GGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCA GCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCT CAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGC CCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCA ACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGAC AAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCA CACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCCGAAG GGGCCCCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCA AGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCA CATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCT GAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGA GGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGC AGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTC ACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGA GTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAG CCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGG CAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCC ATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCC TGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACA TCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAG AACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTC CGACGGCTCCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGT GGCGTCGACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGC ACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGG CCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAAC CGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACC AGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCC TCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTG CCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGC AACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGA CAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTC ACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCCGAA GGGGCCCCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCC AAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTC ACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCC TGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGG AGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAG CAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTC ACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGA GTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAG CCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGG CAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCC ATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCC TGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACA TCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAG

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		AACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTC CGACGGCTCCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCT CATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACT ACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTTGA
462	Примерная константная область легкой цепи ДНК	CGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCG CCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCT GTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAG GCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCA ATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGG ACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACC CTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAA AGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGA GCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAG TGTTAG
463	P1-068761 VH K16R T84A	EVQLVESGGGLVQPG**R**SLRLSCAASGFTLEDEAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLR**A**EDTALYYCAKVPGYSHGWIDA EDVWGQGTMVTVSS
464	P1-068761 VH K16R	EVQLVESGGGLVQPG**R**SLRLSCAASGFTLEDEAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDA EDVWGQGTMVTVSS
465	P1-068761 VH T84A	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLR**A**EDTALYYCAKVPGYSHGWIDA EDVWGQGTMVTVSS
466	P1-068761 K16R T84A ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAgGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGAGGATGAGGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAAGAGATAGGC TATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCC AGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAAT GAACAGTCTGAGAgCTGAGGACACGGCCTTGTATTA CTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCCATGGCTGGAT TGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGG TCACCGTCTCTTCA
467	P1-061029 VH K16R T84A	EVQLVESGGGLVQPG**R**SLRLSCAASGFTLDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLR**A**EDTALYYCAKVPGYSGGWIDA FDVWGQGTMVTVSS
468	P1-061029 VH K16R	EVQLVESGGGLVQPG**R**SLRLSCAASGFTLDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA FDVWGQGTMVTVSS
469	P1-061029 VH T84A	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLR**A**EDTALYYCAKVPGYSGGWIDA FDVWGQGTMVTVSS

SEQ ID NO	Название	Последовательность
470	P1-061029 VH K16R T84A ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAgGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCTAACATAGGCT ATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATG AACAGTCTGAGAgCTGAGGACACGGCCTTGTATTAC TGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATT GACGCTTTTGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGT CACCGTCTCTTCA
471	P1-068767 VH K16R T84A	EVQLVESGGGLVQPG**R**SLRLSCAASGFTLEDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGIDWNSENIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLR**A**EDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDDWGQGTMVTVSS
472	P1-068767 VH K16R	EVQLVESGGGLVQPG**R**SLRLSCAASGFTLEDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGIDWNSENIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDDWGQGTMVTVSS
473	P1-068767 VH T84A	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGIDWNSENIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLR**A**EDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDDWGQGTMVTVSS
474	P1-068767 VH K16R T84A ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAgGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTGATTGGAACAGTGAAAACATAGGC TATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCC AGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAAT GAACAGTCTGAGAgCTGAGGACACGGCCTTGTATTA CTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGAT TGACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGG TCACCGTCTCTTCA
475	P1-070868 (P1-068761_E55A) VH K16R T84A	EVQLVESGGGLVQPG**R**SLRLSCAASGFTLEDEAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLR**A**EDTALYYCAKVPGYSHGWIDA EDVWGQGTMVTVSS
476	P1-070868 VH K16R	EVQLVESGGGLVQPG**R**SLRLSCAASGFTLEDEAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDA EDVWGQGTMVTVSS
477	P1-070868 VH T84A	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLR**A**EDTALYYCAKVPGYSHGWIDA EDVWGQGTMVTVSS
478	P1-070868 VH K16R T84A ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAgGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		TCTCAGGTATTGATTGGAACAGTGAAAACATAGGC TATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCC AGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAAT GAACAGTCTGAGAgCTGAGGACACGGCCTTGTATTA CTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGAT TGACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGG TCACCGTCTCTTCA
479	P1-70906 (P1-068767_D52N) VH K16R T84A	EVQLVESGGGLVQPG**R**SLRLSCAASGFTLEDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSENIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLR**A**EDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDDWGQGTMVTVSS
480	P1-70906 VH K16R	EVQLVESGGGLVQPG**R**SLRLSCAASGFTLEDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSENIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDDWGQGTMVTVSS
481	P1-70906 VH T84A	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSENIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLR**A**EDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDDWGQGTMVTVSS
482	P1-70906 VH K16R T84A ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAgGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAAAACATAGGC TATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCC AGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAAT GAACAGTCTGAGAgCTGAGGACACGGCCTTGTATTA CTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGAT TGACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGG TCACCGTCTCTTCA
483	P1-70908 (P1-068767_E55A) VH K16R T84A	EVQLVESGGGLVQPG**R**SLRLSCAASGFTLEDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGIDWNSANIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLR**A**EDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDDWGQGTMVTVSS
484	P1-70908 VH K16R	EVQLVESGGGLVQPG**R**SLRLSCAASGFTLEDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGIDWNSANIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDDWGQGTMVTVSS
485	P1-70908 VH T84A	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGIDWNSANIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLR**A**EDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDDWGQGTMVTVSS
486	P1-70908 VH K16R T84A ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAgGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTGATTGGAACAGTGCTAACATAGGCT ATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATG AACAGTCTGAGAgCTGAGGACACGGCCTTGTATTAC

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		TGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATT GACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGT CACCGTCTCTTCA
487	P1-70916 (P1-068767_D52N_E55A) VH K16R T84A	EVQLVESGGGLVQPG**R**SLRLSCAASGFTLEDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLR**A**EDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDDWGQGTMVTVSS
488	P1-70916 VH K16R	EVQLVESGGGLVQPG**R**SLRLSCAASGFTLEDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDDWGQGTMVTVSS
489	P1-70916 VH T84A	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLR**A**EDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDDWGQGTMVTVSS
490	P1-70916 VH K16R T84A ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAgGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCTAACATAGGCT ATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATG AACAGTCTGAGAgCTGAGGACACGGCCTTGTATTAC TGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATT GACGCTGAAGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGT CACCGTCTCTTCA
491	P1-72000 (P1-061029_F100fE_V102D) VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDDWGQGTMVTVSS
492	P1-72000 (P1-061029_F100fE_V102D) VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIK
493	P1-72000 (P1-061029_F100fE_V102D) HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
494	P1-72000 (P1-061029_F100fE_V102D) LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
495	P1-72000 (P1-061029_F100fE_V102D) VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCTAACATAGGCT ATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATG AACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTA CTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGAT TGACGCTGAGGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGG TCACCGTCTCTTCA
496	P1-72000 (P1-061029_F100fE_V102D) VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
497	P1-72000 (P1-061029_F100fE_V102D) HC ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCTAACATAGGCT ATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATG AACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTA CTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGAT TGACGCTGAGGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGG TCACCGTCTCTTCAGCGTCGACCAAGGGCCCATCGG TCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTG GGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGAC TACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCA GGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCT GTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGC GTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCA GACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCA ACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCT TGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGC ACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTCAGTCTTCCTCTT CCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCG GACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGA GCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTAC GTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAA GCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTG TGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGC

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		TGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAAC AAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTC CAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGT ACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAG AACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTC TATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAA TGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTC CCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTATA GCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAG GGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCT CTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCT GTCCCCGGGTTGA
498	P1-72000 (P1-061029_F100fE_V102D) LC ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTC CCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCC TCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGA GAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCT CCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGC AGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGC ACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACA CAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCC TGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGA GAGTGTTAG
499	P1-72000 (P1-061029_F100fE_V102D) VH K16R T84A	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTLDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDDWGQGTMVTVSS
500	P1-72000 (P1-061029_F100fE_V102D) VH K16R	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTLDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDDWGQGTMVTVSS
501	P1-72000 (P1-061029_F100fE_V102D) VH T84A	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDDWGQGTMVTVSS
502	P1-72000 (P1-061029_F100fE_V102D) VH K16R T84A ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAgGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCTAACATAGGCT ATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATG

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		AACAGTCTGAGAgCTGAGGACACGGCCTTGTATTAC TGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATT GACGCTGAGGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGT CACCGTCTCTTCA
503	P1-72002 (P1-061029_F100fE) VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDVWGQGTMVTVSS
504	P1-72002 (P1-061029_F100fE) VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIK
505	P1-72002 (P1-061029_F100fE) HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
506	P1-72002 (P1-061029_F100fE) LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
507	P1-72002 (P1-061029_F100fE) VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCTAACATAGGCT ATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATG AACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTA CTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGAT TGACGCTGAGGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGG TCACCGTCTCTTCA
508	P1-72002 (P1-061029_F100fE) VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		AAA
509	P1-72002 (P1-061029_F100fE) HC ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCTAACATAGGCT ATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATG AACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTA CTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGAT TGACGCTGAGGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGG TCACCGTCTCTTCAGCGTCGACCAAGGGCCCATCGG TCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTG GGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGAC TACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCA GGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCT GTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGC GTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCA GACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCA ACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCT TGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGC ACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTCAGTCTTCCTCTT CCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCG GACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGA GCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTAC GTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAA GCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTG TGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGC TGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAAC AAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTC CAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGT ACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAG AACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTC TATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAA TGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTC CCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTATA GCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAG GGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCT CTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCT GTCCCCGGGTTGA
510	P1-72002 (P1-061029_F100fE) LC ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTC

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		CCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCC TCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGA GAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCT CCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGC AGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGC ACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACA CAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCC TGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGA GAGTGTTAG
511	P1-72002 (P1-061029_F100fE) VH K16R T84A	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTLDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDVWGQGTMVTVSS
512	P1-72002 (P1-061029_F100fE) VH K16R	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTLDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDVWGQGTMVTVSS
513	P1-72002 (P1-061029_F100fE) VH T84A	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDDWGQGTMVTVSS
514	P1-72002 (P1-061029_F100fE) VH K16R T84A ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAgGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCTAACATAGGCT ATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATG AACAGTCTGAGAgCTGAGGACACGGCCTTGTATTAC TGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATT GACGCTGAGGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGT CACCGTCTCTTCA
515	P1-72004 (P1-061029_V102D) VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA FDDWGQGTMVTVSS
516	P1-72004 (P1-061029_V102D) VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIK
517	P1-72004 (P1-061029_V102D) HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA FDDWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
518	P1-72004 (P1-061029_ V102D) LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
519	P1-72004 (P1-061029_ V102D) VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCTAACATAGGCT ATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATG AACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTA CTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGAT TGACGCTTTTGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGG TCACCGTCTCTTCA
520	P1-72004 (P1-061029_ V102D) VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
521	P1-72004 (P1-061029_ V102D) HC ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCTAACATAGGCT ATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATG AACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTA CTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGAT TGACGCTTTTGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGG TCACCGTCTCTTCAGCGTCGACCAAGGGCCCATCGG TCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTG GGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGAC TACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCA GGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCT GTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGC GTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCA GACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCA ACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCT TGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGC ACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTCAGTCTTCCTCTT

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		CCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCG GACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGA GCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTAC GTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAA GCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTG TGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGC TGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAAC AAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTC CAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGT ACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAG AACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTC TATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAA TGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTC CCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTATA GCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAG GGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCT CTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCT GTCCCCGGGTTGA
522	P1-72004 (P1-061029_ V102D) LC ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTC CCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCC TCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGA GAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCT CCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGC AGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGC ACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACA CAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCC TGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGA GAGTGTTAG
523	P1-72004 (P1-061029_ V102D) VH K16R T84A	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTLDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA FDDWGQGTMVTVSS
524	P1-72004 (P1-061029_ V102D) VH K16R	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTLDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA FDDWGQGTMVTVSS
525	P1-72004 (P1-061029_ V102D) VH T84A	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA FDDWGQGTMVTVSS
526	P1-72004 (P1-061029_	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT

SEQ ID NO	Название	Последовательность
	V102D) VH K16R T84A ДНК	ACAGCCTGGCAgGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCTAACATAGGCT ATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATG AACAGTCTGAGAgCTGAGGACACGGCCTTGTATTAC TGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATT GACGCTTTTGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGT CACCGTCTCTTCA
527	P1-72006 (P1-061029_Y32E) VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDEAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA FDVWGQGTMVTVSS
528	P1-72006 (P1-061029_ Y32E) VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIK
529	P1-72006 (P1-061029_ Y32E) HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDEAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA FDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
530	P1-72006 (P1-061029_ Y32E) LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
531	P1-72006 (P1-061029_ Y32E) VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGATGATGAGGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCTAACATAGGCT ATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATG AACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTA CTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGAT TGACGCTTTTGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGT CACCGTCTCTTCA
532	P1-72006 (P1-061029_ Y32E) VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
533	P1-72006 (P1-061029_ Y32E) HC ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGATGATGAGGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCTAACATAGGCT ATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATG AACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTA CTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGAT TGACGCTTTTGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGT CACCGTCTCTTCAGCGTCGACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGG GGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACT ACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCA GGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCT GTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGC GTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCA GACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCA ACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCT TGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGC ACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTCAGTCTTCCTCTT CCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCG GACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGA GCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTAC GTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAA GCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTG TGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGC TGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAAC AAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTC CAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGT ACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAG AACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTC TATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAA TGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTC CCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTATA GCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAG GGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCT CTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCT GTCCCCGGGTTGA
534	P1-72006 (P1-061029_ Y32E) LC ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTC CCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCC TCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGA GAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCT CCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGC AGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGC ACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACA CAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCC TGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGA GAGTGTTAG
535	P1-72006 (P1-061029_ Y32E) VH K16R T84A	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTLDDEAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA FDVWGQGTMVTVSS
536	P1-72006 (P1-061029_ Y32E) VH K16R	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTLDDEAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA FDVWGQGTMVTVSS
537	P1-72006 (P1-061029_ Y32E) VH T84A	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDEAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA FDVWGQGTMVTVSS
538	P1-72006 (P1-061029_ Y32E) VH K16R T84A ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAgGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGATGATGAGGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCTAACATAGGCT ATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATG AACAGTCTGAGAgCTGAGGACACGGCCTTGTATTAC TGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATT GACGCTTTTGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGT CACCGTCTCTTCA
539	P1-72008 (P1-061029_Y32E_F100fE) VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDEAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDVWGQGTMVTVSS
540	P1-72008 (P1-061029_ Y32E_F100fE) VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIK
541	P1-72008 (P1-061029_ Y32E_F100fE) HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDEAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
542	P1-72008 (P1-061029_ Y32E_F100fE) LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
543	P1-72008 (P1-061029_ Y32E_F100fE) VH ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGATGATGAGGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCTAACATAGGCT ATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATG AACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTA CTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGAT TGACGCTGAGGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGG TCACCGTCTCTTCA
544	P1-72008 (P1-061029_ Y32E_F100fE) VL ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAA
545	P1-72008 (P1-061029_ Y32E_F100fE) HC ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGATGATGAGGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCTAACATAGGCT ATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATG AACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTA CTGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGAT TGACGCTGAGGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGG TCACCGTCTCTTCAGCGTCGACCAAGGGCCCATCGG TCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTG GGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGAC TACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCA GGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCT

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		GTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGC GTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCA GACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCA ACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCT TGTGACAAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGC ACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTCAGTCTTCCTCTT CCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCG GACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGA GCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTAC GTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAA GCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTG TGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGC TGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAAC AAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTC CAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGT ACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAG AACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTC TATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAA TGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTC CCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTATA GCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAG GGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCT CTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCT GTCCCCGGGTTGA
546	P1-72008 (P1-061029_ Y32E_F100fE) LC ДНК	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCT TTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTG GTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCC CAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC TTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGAT TTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCA CCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTC CCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCC TCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGA GAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCT CCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGC AGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGC ACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACA CAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCC TGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGA GAGTGTTAG
547	P1-72008 (P1-061029_ Y32E_F100fE) VH K16R T84A	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTLDDEAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDVWGQGTMVTVSS
548	P1-72008 (P1-061029_ Y32E_F100fE) VH K16R	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTLDDEAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA

SEQ ID NO	Название	Последовательность
		EDVWGQGTMVTVSS
549	P1-72008 (P1-061029_ Y32E_F100fE) VH T84A	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDEAMHW VRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKVPGYSGGWIDA EDVWGQGTMVTVSS
550	P1-72008 (P1-061029_ Y32E_F100fE) VH K16R T84A ДНК	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGCAgGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTCACCCTTGATGATGAGGCCATGCACTG GGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGG TCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCTAACATAGGCT ATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATG AACAGTCTGAGAgCTGAGGACACGGCCTTGTATTAC TGTGCAAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATT GACGCTGAGGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGT CACCGTCTCTTCA
551	VISTA.4 VH 41F11 С сигнальной последовательностью, которая подчеркнута	**MEFGLSWVFLVAIIKGVQC**QVQLVESGGGLVKPGG SLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISN SGSPIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAED TAVYYCARDLPGWYFDLWGRGTLVTVSS
552	VISTA.4 VK1 VL 41F11 С сигнальной последовательностью, которая подчеркнута	**MEAPAQLLFLLLLWLPDTTG**EIVLTQSPATLSLSPGE RATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSASGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRN NWPRTFGQGTKVEIK
553	VISTA.4 VK2 VL 41F11 С сигнальной последовательностью, которая подчеркнута	**MDMRVLAQLLGLLLLCFPGARC**DIQMTQSPSSLSAS VGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKSLIYAA SSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ YNSYPRTFGQGTKVEIK
554	VISTA.4 VK3 VL 41F11 С сигнальной последовательностью, которая подчеркнута	**METPAQLLFLLLLWLPDTTG**EIVLTQSPGTLSLSPGE RATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASS RATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPWTFGQGTKVEIK
555	VISTA.4 VH ДНК 41F11 С сигнальной последовательностью, которая подчеркнута	**ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGGTTTTCCTTGTTG CTATTATAAAAGGTGTCCAGTGT**CAGGTGCAGTT GGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAG GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCA CCTTCAGTGACTATTACATGAGCTGGATCCGCCAGG CTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATT AGTAATAGTGGTAGTCCCATATACTACGCAGACTCT GTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGGGACAACGC CAAGAACTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGA GAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGA GATCTCCCGGGCTGGTACTTCGATCTCTGGGGCCGT GGCACCCTGGTCACTGTCTCCTCA
556	VISTA.4 VK1 VL ДНК С сигнальной	**ATGGAAGCCCCAGCTCAGCTTCTCTTCCTCCTGC TACTCTGGCTCCCAGATACCACCGGA**GAAATTGT

SEQ ID NO	Название	Последовательность
	последовательностью, которая подчеркнута	GTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCC AGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTC AGAGTGTTAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAACAG AAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGAT GCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTT CAGTGCCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCAC CATCAGCAGCCTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTA TTACTGTCAGCAGCGTAACAACTGGCCTCGGACGTT CGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAA
557	VISTA.4.A64G VK1 VL С сигнальной последовательностью, которая подчеркнута	**MEAPAQLLFLLLLWLPDTTG**EIVLTQSPATLSLSPGE RATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRN NWPRTFGQGTKVEIK
558	VISTA.4.A64G LC С сигнальной последовательностью, которая подчеркнута	**MEAPAQLLFLLLLWLPDTTG**EIVLTQSPATLSLSPGE RATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRN NWPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC
559	VISTA.5 VH	AVQLQESGPGLVRPSQSLSLTCTVTDYSITSDYAWNW IRQFPGSKLEWLGFIGYSGNTNYNPSLESRISITRHTSK NQFFLHLNSMTTEDTATYYCARSLYGGSHWYFDVW GAGTTVTVSS
560	VISTA.5 VK1, VL	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRGSESVEYYGTILMQ WYQQKPGQPPKLLIYGASNVESGVPARFSGSGSGTDF SLNIHPVEEDDIAMYFCQQSRKVPWTFGGGTKLEIK
561	VISTA.5 VH ДНК	GCTGTGCAGCTTCAGGAGTCGGGACCTGGCCTGGT GAGACCTTCTCAGTCTCTGTCCCTCACCTGCACTGT CACTGACTACTCAATCACCAGTGATTATGCCTGGAA CTGGATCCGGCAGTTTCCAGGAAGCAAACTGGAGT GGCTGGGCTTCATAGGCTACAGTGGTAACACTAACT ACAACCCATCTCTCGAAAGTCGAATCTCTATCACTC GACACACATCCAAGAACCAGTTCTTCCTGCACTTGA ATTCTATGACTACTGAGGACACAGCCACATATTACT GTGCAAGATCCCTCTACGGTGGTAGTCACTGGTACT TCGATGTCTGGGGCGCAGGGACCACGGTCACCGTC TCCTCA
562	VISTA.5 VK1, VL ДНК	GACATTGTGCTCACCCAATCTCCAGCTTCTTTGGCT GTGTCTCTAGGGCAGAGAGCCACCATCTCCTGCAG AGGCAGTGAAAGTGTTGAATATTATGGCACAATTTT AATGCAGTGGTACCAACAGAAACCAGGACAGCCAC CCAAACTCCTCATCTATGGTGCATCCAACGTAGAAT CTGGGGTCCCTGCCAGGTTTAGTGGCAGTGGGTCTG GGACAGACTTCAGCCTCAACATCCATCCTGTGGAG GAGGATGATATTGCAATGTATTTCTGTCAGCAAAGT AGGAAGGTTCCGTGGACGTTCGGTGGAGGCACCAA GCTGGAAATCAAA

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Выделенное антитело, которое специфично связывается с VISTA человека (hVISTA) в кислотных условиях.

2. Выделенное антитело по п.1, которое специфично связывается с hVISTA в кислотных условиях, но не связывается в значительной степени в нейтральных или физиологических условиях.

3. Выделенное антитело по п.1 или 2, где антитело связывается с hVISTA в кислотных условиях с K_D, которая по меньшей мере в 10 раз ниже, чем его K_D в нейтральных или физиологических условиях.

4. Выделенное антитело по любому из пп.1-3, где антитело связывается с hVISTA в кислотных условиях с K_D, которая по меньшей мере в 100 раз ниже, чем его K_D в нейтральных или физиологических условиях.

5. Выделенное антитело по любому из пп.1-4, где антитело связывается с hVISTA в кислотных условиях с K_D, которая по меньшей мере в 1000 раз ниже, чем его K_D в нейтральных или физиологических условиях.

6. Выделенное антитело по любому из пп.1-5, где антитело связывается с hVISTA в нейтральных или физиологических условиях с K_D 10^{-5} М или больше.

7. Выделенное антитело по любому из пп.1-6, где антитело связывается с hVISTA в нейтральных или физиологических условиях с K_D 10^{-4} М или больше.

8. Выделенное антитело по любому из пп.1-7, где антитело связывается с hVISTA в нейтральных или физиологических условиях с K_D 10^{-3} М или больше.

9. Выделенное антитело по любому из пп.1-8, где антитело связывается с hVISTA в кислотных условиях с K_D 10^{-7} М или меньше.

10. Выделенное антитело по любому из пп.1-9, где антитело связывается с hVISTA в кислотных условиях с K_D 10^{-8} М или меньше.

11. Выделенное антитело по любому из пп.1-10, где антитело связывается с hVISTA в кислотных условиях с K_D 10^{-9} М или меньше.

12. Выделенное антитело по любому из пп.1-11, где антитело связывается с hVISTA в кислотных условиях с K_D 10^{-7} или меньше и связывается с hVISTA в нейтральных или физиологических условиях с K_D 10^{-4} или больше.

13. Выделенное антитело по любому из пп.1-12, где антитело связывается с hVISTA в кислотных условиях с K_D 10^{-7} или меньше и связывается с hVISTA в нейтральных или физиологических условиях с K_D 10^{-5} или больше.

14. Выделенное антитело по любому из пп.1-13, где антитело связывается с hVISTA в кислотных условиях с k_{off}, которая по меньшей мере в 5 раз ниже, чем его k_{off} в нейтральных или физиологических условиях.

15. Выделенное антитело по любому из пп.1-14, где антитело связывается с hVISTA в кислотных условиях с k_{off}, которая по меньшей мере в 10 раз ниже, чем его k_{off} в нейтральных или физиологических условиях.

16. Выделенное антитело по любому из пп.1-15, где антитело связывается с hVISTA

в кислотных условиях с k_{off}, которая по меньшей мере в 50 раз ниже, чем его k_{off} в нейтральных или физиологических условиях.

17. Выделенное антитело по любому из пп.1-16, где антитело связывается с hVISTA в кислотных условиях с k_{off}, которая по меньшей мере в 100 раз ниже, чем его k_{off} в нейтральных или физиологических условиях.

18. Выделенное антитело по любому из пп.1-17, где антитело связывается с hVISTA в кислотных условиях с k_{off} 7×10^{-3} c^{-1} или меньше.

19. Выделенное антитело по любому из пп.1-18, где антитело связывается с hVISTA в кислотных условиях с k_{off} 5×10^{-3} c^{-1} или меньше.

20. Выделенное антитело по любому из пп.1-19, где антитело связывается с hVISTA в кислотных условиях с k_{off} 3×10^{-3} c^{-1} или меньше.

21. Выделенное антитело по любому из пп.1-20, где антитело связывается с hVISTA в кислотных условиях с k_{off} 10^{-3} c^{-1} или меньше.

22. Выделенное антитело по любому из пп.1-21, где антитело связывается с hVISTA в кислотных условиях с k_{off} 7×10^{-4} c^{-1} или меньше.

23. Выделенное антитело по любому из пп.1-22, где антитело связывается с hVISTA в кислотных условиях с k_{off} 5×10^{-4} c^{-1} или меньше.

24. Выделенное антитело по любому из пп.1-23, где антитело связывается с hVISTA в кислотных условиях с k_{off} 3×10^{-4} c^{-1} или меньше.

25. Выделенное антитело по любому из пп.1-24, где антитело связывается с hVISTA в кислотных условиях с k_{off} 10^{-4} c^{-1} или меньше.

26. Выделенное антитело по любому из пп.1-25, где антитело связывается с hVISTA в кислотных условиях с k_{off} 7×10^{-5} c^{-1} или меньше.

27. Выделенное антитело по любому из пп.1-26, где антитело связывается с hVISTA в кислотных условиях с k_{off} 5×10^{-5} c^{-1} или меньше.

28. Выделенное антитело по любому из пп.1-21, где антитело связывается с hVISTA в кислотных условиях с k_{off} 3×10^{-5} c^{-1} или меньше.

29. Выделенное антитело по любому из пп.1-28, где антитело связывается с hVISTA в кислотных условиях с k_{off} 10^{-5} c^{-1} или меньше.

30. Выделенное антитело по любому из пп.1-29, где антитело связывается с hVISTA в нейтральных или физиологических условиях с k_{off} 10^{-3} c^{-1} или больше.

31. Выделенное антитело по любому из пп.1-30, где антитело связывается с hVISTA в нейтральных или физиологических условиях с k_{off} 3×10^{-3} c^{-1} или больше.

32. Выделенное антитело по любому из пп.1-31, где антитело связывается с hVISTA в нейтральных или физиологических условиях с k_{off} 5×10^{-3} c^{-1} или больше.

33. Выделенное антитело по любому из пп.1-32, где антитело связывается с hVISTA в нейтральных или физиологических условиях с k_{off} 7×10^{-3} c^{-1} или больше.

34. Выделенное антитело по любому из пп.1-33, где антитело связывается с hVISTA в нейтральных или физиологических условиях с k_{off} 10^{-2} c^{-1} или больше.

35. Выделенное антитело по любому из пп.1-34, где антитело связывается с hVISTA

в нейтральных или физиологических условиях с k_{off} 3×10^{-2} c^{-1} или больше.

36. Выделенное антитело по любому из пп.1-35, где антитело связывается с hVISTA в нейтральных или физиологических условиях с k_{off} 5×10^{-2} c^{-1} или больше.

37. Выделенное антитело по любому из пп.1-36, где антитело связывается с hVISTA в нейтральных или физиологических условиях с k_{off} 7×10^{-2} c^{-1} или больше.

38. Выделенное антитело по любому из пп.1-37, где связывание антитела с hVISTA в нейтральных или физиологических условиях не поддается обнаружению, например, с помощью поверхностного плазмонного резонанса (ППР).

39. Выделенное антитело по любому из пп.1-38, где антитело связывается с hVISTA в кислотных условиях с k_{off} 5×10^{-3} c^{-1} или меньше и в нейтральных или физиологических условиях с k_{off} 7×10^{-3} c^{-1} или больше.

40. Выделенное антитело по любому из пп.1-39, где антитело связывается с hVISTA в кислотных условиях с k_{off} 10^{-4} c^{-1} или меньше и в нейтральных или физиологических условиях с k_{off} 10^{-2} c^{-1} или больше.

41. Выделенное антитело по любому из пп.1-40, где антитело связывается с hVISTA в кислотных условиях с K_D 10^{-8} М или меньше и k_{off} 5×10^{-3} c^{-1} или меньше и в нейтральных из физиологических условиях с K_D 10^{-6} М или больше и k_{off} 7×10^{-3} c^{-1} или больше.

42. Выделенное антитело по любому из пп.1-41, где антитело связывается с hVISTA в кислотных условиях с K_D 10^{-8} М или меньше и k_{off} 3×10^{-3} c^{-1} или меньше и в нейтральных из физиологических условиях с K_D 10^{-6} М или больше и k_{off} 10^{-2} c^{-1} или больше.

43. Выделенное антитело по любому из пп.1-42, где антитело связывается с hVISTA в кислотных условиях с K_D 10^{-12}-10^{-8} М и k_{off} 10^{-4}-5×10^{-3} c^{-1} и в нейтральных из физиологических условиях с K_D 10^{-7}-10^{-4} М и k_{off} 3×10^{-3}-10^{-2} c^{-1} или больше.

44. Выделенное антитело по любому из пп.1-43, где антитело связывается с hVISTA в кислотных условиях с K_D 10^{-12}-10^{-8} М и k_{off} 10^{-4}-5×10^{-3} c^{-1} и в нейтральных из физиологических условиях с K_D 10^{-7}-10^{-4} М и k_{off} 3×10^{-3}-10^{-2} c^{-1} или больше; и где антитело связывается с VISTA яванского макака с K_D 10^{-7} или меньше.

45. Выделенное антитело по любому из пп.1-44, где антитело связывается с hVISTA с K_D, которая по меньшей мере в 10 раз ниже в pH 6,9, чем при pH 7,4, и/или с K_D, которая по меньшей мере в 100 раз ниже при pH 6,5, чем при pH 7,4, и по меньшей мере в 1000 раз ниже при pH 6,0, чем при pH 7,4.

46. Выделенное антитело по любому из пп.1-45, где антитело связывается с VISTA яванского макака (циномолгуса).

47. Выделенное антитело по п.46, где антитело связывается с VISTA циномолгуса с более высокой аффинностью в кислотных условиях по сравнению с физиологическими условиями.

48. Выделенное антитело по любому из пп.45-47, где антитело связывается с VISTA циномолгуса в кислотных условиях с K_D 10^{-8} или меньше и/или k_{off} 10^{-2} или меньше и в физиологических условиях с K_D 10^{-6} или больше и/или k_{off} 10^{-2} или больше.

49. Выделенное антитело по любому из пп.1-48, где кислые условия являются

условиями, имеющими pH 6,5 или меньше.

50. Выделенное антитело по любому из пп.1-49, где кислые условия являются условиями, имеющими pH 6,0-6,5.

51. Выделенное антитело по любому из пп.1-50, где нейтральные условия являются условиями, имеющими pH 7,0.

52. Выделенное антитело по любому из пп.1-51, где физиологические условия являются условиями, имеющими pH 7,35-7,45.

53. Выделенное антитело по любому из пп.1-52, где физиологические условия являются условиями, имеющими pH 7,4.

54. Выделенное антитело по любому из пп.1-53, где антитело ингибирует связывание hVISTA с человеческими Т-клетками, такими как человеческие CD4+ Т-клетки (антагонистическое антитело).

55. Выделенное антитело по п.54, где антитело ингибирует связывание hVISTA с человеческими Т-клетками в условиях, имеющих pH меньше чем pH 7,0.

56. Выделенное антитело по любому из пп.1-55, где антитело ингибирует связывание hVISTA с PSGL-1 человека (huPSGL-1) и/или конкурирует с huPSGL1 за связывание с hVISTA.

57. Выделенное антитело по п.56, где антитело ингибирует связывание hVISTA с huPSGL-1 в условиях, имеющих pH меньше чем pH 7,0.

58. Выделенное антитело по любому из пп.1-57, где антитело ингибирует связывание hVISTA с гепарансульфат протеогликанами.

59. Выделенное антитело по п.58, где антитело ингибирует связывание hVISTA с гепарансульфат протеогликанами в условиях, имеющих pH меньше чем pH 7,0.

60. Выделенное антитело по любому из пп.55, 57 или 59, где условие, имеющее pH меньше чем pH 7,0, представляет собой опухоль или любую пораженную область, имеющую pH меньше чем pH 7,0, у субъекта, и у которого требуется иммунная стимуляция.

61. Выделенное антитело по любому из пп.1-60, где антитело стимулирует активацию Т-клеток, о чем свидетельствует, например, повышенная пролиферация Т-клеток; повышение продукции IFN-γ Т-клетками; и/или стимуляция опосредованной Т-клеточным рецептором сигнализации NF-kB.

62. Выделенное антитело по п.61, где антитело стимулирует активацию Т-клеток в условиях, имеющих pH меньше чем pH 7,0.

63. Выделенное антитело по любому из пп.1-62, где антитело снижает опосредованную VISTA межклеточную адгезию.

64. Выделенное антитело по любому из пп.1-53, где антитело стимулирует активность VISTA (агонистическое антитело).

65. Выделенное антитело по любому из пп.1-53 и 64, где антитело стимулирует связывание hVISTA с человеческими Т-клетками, такими как человеческие CD4+ Т-клетки.

66. Выделенное антитело по п.65, где антитело стимулирует связывание hVISTA с человеческими Т-клетками в условиях, имеющих pH меньше чем pH 7,0.

67. Выделенное антитело по любому из пп.1-53 и 64-66, где антитело стимулирует связывание hVISTA с huPSGL-1.

68. Выделенное антитело по п.67, где антитело стимулирует связывание hVISTA с huPSGL-1 в условиях, имеющих pH меньше чем pH 7,0.

69. Выделенное антитело по любому из пп.1-53 и 64-68, где антитело стимулирует связывание hVISTA с гепарансульфат протеогликанами.

70. Выделенное антитело по п.69, где антитело стимулирует связывание hVISTA с гепарансульфат протеогликанами в условиях, имеющих pH меньше чем pH 7,0.

71. Выделенное антитело по любому из пп.66, 68 и 70, где условие, имеющее pH меньше, чем pH 7,0, представляет собой аутоиммунную среду (например, ревматоидный артрит и волчанку), очаг воспаления или любую пораженную область, имеющую pH меньше чем pH 7,0, у субъекта, и у которого требуется иммунное ингибирование.

72. Выделенное антитело по любому из пп.1-71, где антитело имеет среднее время удерживания (MRT) по меньшей мере 100, 200, 300, 400 или 500 дней у яванских макаков.

73. Выделенное антитело по любому из пп.1-72, где антитело не связывается в значительной степени с VISTA-положительными клетками, например нейтрофилами, в периферической крови субъекта, которому его вводят.

74. Выделенное антитело по любому из пп.1-73, где антитело не истощает значительно VISTA-положительные клетки, например нейтрофилы, в периферической крови субъекта, которому его вводят.

75. Выделенное антитело по любому из пп.1-74, где антитело было сконструировано для связывания с hVISTA при кислотном pH, но не при нейтральном или физиологическом pH.

76. Выделенное антитело по п.75, где антитело было сконструировано путем замены от 1-8 аминокислот в CDR1, CDR2 и/или CDR3 VH hVISTA-связывающего антитела остатком глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты или гистидина.

77. Выделенное антитело по любому из пп.1-63 и 72-76, где антитело включает CDR1, CDR2 и/или CDR3 VH P1-061029 или его варианта, включающие 1-6 или 1-8 аминокислотных различий в CDR1, CDR2 и/или CDR3 VH по сравнению с антителом P1-061029, где в любой CDR присутствует не больше 1, 2 или 3 аминокислотных вариаций.

78. Выделенное антитело по п.77, где антитело включает CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-061029 или его варианта, включающие 1-6 или 1-8 аминокислотных различий в CDR1, CDR2 и/или CDR3 VH по сравнению с P1-061029.

79. Выделенное антитело по п.77 или 78, где аминокислотная вариация является заменой остатком глутаминовой кислоты (E), остатком аспарагиновой кислоты (D) или остатком гистидина (H).

80. Выделенное антитело по любому из пп.77-79, где антитело включает:

- CDR1, включающую $GFTX_1X_2DX_3AMH$, где, X_1 представляет собой D или L, X_2 представляет собой E или D, и X_3 представляет собой E или Y (SEQ ID NO: 463);

- CDR2, включающую $GIX_4WX_5SX_6X_7IGYADSVKG$, где X_4 представляет собой D

или N, X_5 представляет собой D или N, X_6 представляет собой D, E, H или A, и X_7 представляет собой D, E, H или N (SEQ ID NO: 464); и/или

- CDR3, включающую VPGYSX_8GWIDAX_9DX_{10}, где, X_8 представляет собой E, H или G, X_9 представляет собой E, D или F, и X_{10} представляет собой D, E или V (SEQ ID NO: 465).

81. Антитело по п.80, где антитело включает:

- CDR1, включающую GFTX_1X_2DX_3AMH, где, X_1 представляет собой D или L, X_2 представляет собой E или D, и X_3 представляет собой E или Y (SEQ ID NO: 463);

- CDR2, включающую GIX_4WX_5SX_6X_7IGYADSVKG, где X_4 представляет собой D или N, X_5 представляет собой D или N, X_6 представляет собой D, E, H или A, и X_7 представляет собой D, E, H или N (SEQ ID NO: 464); и

- CDR3, включающую VPGYSX_8GWIDAX_9DX_{10}, где X_8 представляет собой E, H или G, X_9 представляет собой E, D или F, и X_{10} представляет собой D, E или V (SEQ ID NO: 465).

82. Выделенное антитело по п.80 или 81, где X_3 представляет собой E, и X_9 представляет собой E.

83. Выделенное антитело по любому из пп.80-82, где X_2 представляет собой E, X_7 представляет собой E, и/или X_8 представляет собой H.

84. Выделенное антитело по п.83, где удовлетворены два или более из следующих трех условий: X_2 представляет собой E, X_7 представляет собой E, и/или X_8 представляет собой H.

85. Выделенное антитело по п.84, где X_2 представляет собой E, X_7 представляет собой E, и X_8 представляет собой H.

86. Выделенное антитело по любому из пп.80-85, где X_6 представляет собой E.

87. Выделенное антитело по любому из пп.80-85, где X_6 представляет собой A.

88. Выделенное антитело по любому из пп.80-86, где X_1 представляет собой L, X_4 представляет собой N, X_5 представляет собой N, и/или X_{10} представляет собой V.

89. Выделенное антитело по п.88, где удовлетворены два или более из следующих четырех условий: X_1 представляет собой L, X_4 представляет собой N, X_5 представляет собой N, и/или X_{10} представляет собой V.

90. Выделенное антитело по п.89, где удовлетворены три или более из следующих четырех условий: X_1 представляет собой L, X_4 представляет собой N, X_5 представляет собой N, и/или X_{10} представляет собой V.

91. Выделенное антитело по п.90, где X_1 представляет собой L, X_4 представляет собой N, X_5 представляет собой N, и/или X_{10} представляет собой V.

92. Выделенное антитело по любому из пп.80-91, где X_{10} представляет собой D.

93. Выделенное антитело по любому из пп.80-92, где X_9 представляет собой E.

94. Выделенное антитело по любому из пп.80-93, где X_2 представляет собой E, X_4 представляет собой D, и/или X_6 представляет собой E.

95. Выделенное антитело по п.94, где удовлетворены два или более из следующих

условий: X_2 представляет собой E, X_4 представляет собой D, и/или X_6 представляет собой E.

96. Выделенное антитело по п.95, где X_2 представляет собой E, X_4 представляет собой D, и X_6 представляет собой E.

97. Выделенное антитело по любому из пп.80-96, где X_1 представляет собой L, X_3 представляет собой Y, X_5 представляет собой N, X_7 представляет собой N, и/или X_8 представляет собой G.

98. Выделенное антитело по п.97, где удовлетворены два или более из следующих условий: X_1 представляет собой L, X_3 представляет собой Y, X_5 представляет собой N, X_7 представляет собой N, и/или X_8 представляет собой G.

99. Выделенное антитело по п.98, где удовлетворены три или более из следующих условий: X_1 представляет собой L, X_3 представляет собой Y, X_5 представляет собой N, X_7 представляет собой N, и/или X_8 представляет собой G.

100. Выделенное антитело по п.99, где удовлетворены четыре или более из следующих условий: X_1 представляет собой L, X_3 представляет собой Y, X_5 представляет собой N, X_7 представляет собой N, и/или X_8 представляет собой G.

101. Выделенное антитело по п.100, где X_1 представляет собой L, X_3 представляет собой Y, X_5 представляет собой N, X_7 представляет собой N, и X_8 представляет собой G.

102. Выделенное антитело по любому из пп.77-101, где антитело включает CDR1, CDR2 и/или CDR3 VH из P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, или P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, или P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E или P1-061029_Y32E_F100fE.

103. Выделенное антитело по п.102, где антитело включает CDR1, CDR2 и CDR3 VH из P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-069077, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G,

или P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E или P1-061029_Y32E_F100fE.

104. Выделенное антитело по любому из пп.77-103, где антитело включает CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-061029.

105. Выделенное антитело по любому из пп.1-63 и 72-104, где антитело включает VH, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, 95%, 97%, 98% или 99% идентична соответствующей последовательности P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-069077, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, или P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E или P1-061029_Y32E_F100fE; или

включает VH из P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-069077, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, или P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-

068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E или P1-061029_Y32E_F100fE, модифицированную 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотными заменами, модифицированную 1, 2, 3, 4 или 5 консервативными аминокислотными заменами, или модифицированную одной или обеими из замен K16R и T84A.

106. Выделенное антитело по любому из пп.1-63 и 72-105, где антитело включает VH, включающую аминокислотную последовательность VH из P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-069077, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, или P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, или P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E или P1-061029_Y32E_F100fE; или

включает VH P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-069077, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, или P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E или P1-061029_Y32E_F100fE, модифицированную одной или обеими из замен K16R и T84A.

107. Выделенное антитело по любому из пп.1-106, где антитело включает VL, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, 95%, 97%, 98% или 99% идентична соответствующей последовательности P1-061029.

108. Выделенное антитело по п.107, где антитело включает VL P1-061029.

109. Выделенное антитело по любому из пп.1-63 и 72-76, где антитело включает CDR1, CDR2 и/или CDR3 VH P1-061015 или его варианта, включающие 1-6 или 1-8 аминокислотных различий в CDR1, CDR2 и/или CDR3 VH по сравнению с P1-061015, где в любой CDR присутствует не более 1, 2 или 3 аминокислотных вариаций.

110. Выделенное антитело по п.109, где антитело включает CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-061015 или его варианта, включающие 1-6 аминокислотных различий в CDR1, CDR2 и/или CDR3 VH по сравнению с P1-061015, где в любой CDR присутствуют не более 1, 2 или 3 аминокислотных вариаций.

111. Выделенное антитело по п.108 или п.109, где аминокислотная вариация является заменой остатком глутаминовой кислоты (E), остатком аспарагиновой кислоты (D) или остатком гистидина (H).

112. Выделенное антитело по любому из пп.108-111, где антитело включает:

- CDR1, включающую GFTFX$_1$X$_2$X$_3$MH, где X$_1$ представляет собой E, D, H или S; X$_2$ представляет собой H или Y; и X$_3$ представляет собой D или A (SEQ ID NO: 466);

- CDR2, включающую X$_4$X$_5$WX$_6$DGSX$_7$X$_8$X$_9$X$_{10}$ADSVKG, где X$_4$ представляет собой E, H или I; X$_5$ представляет собой D или I; X$_6$ представляет собой D или Y; X$_7$ представляет собой D или N; X$_8$ представляет собой D, H или K; X$_9$ представляет собой D, H или Y; и X$_{10}$ представляет собой E или Y (SEQ ID NO: 467); и/или

- CDR3, включающую DX$_{11}$X$_{12}$FYX$_{13}$X$_{14}$YYDFX$_{15}$, где X$_{11}$ представляет собой E или S; X$_{12}$ представляет собой E или G; X$_{13}$ представляет собой D, E или S; X$_{14}$ представляет собой D или S; и X$_{15}$ представляет собой D, E или Y (SEQ ID NO: 468).

113. Антитело по любому из пп.108-112, где антитело включает:

- CDR1, включающую GFTFX$_1$X$_2$X$_3$MH, где X$_1$ представляет собой E, D, H или S; X$_2$ представляет собой H или Y; и X$_3$ представляет собой D или A (SEQ ID NO: 466);

- CDR2, включающую X$_4$X$_5$WX$_6$DGSX$_7$X$_8$X$_9$X$_{10}$ADSVKG, где X$_4$ представляет собой E, H или I; X$_5$ представляет собой D или I; X$_6$ представляет собой D или Y; X$_7$ представляет собой D или N; X$_8$ представляет собой D, H или K; X$_9$ представляет собой D, H или Y; и X$_{10}$ представляет собой E или Y (SEQ ID NO: 467); и

- CDR3, включающую DX$_{11}$X$_{12}$FYX$_{13}$X$_{14}$YYDFX$_{15}$, где X$_{11}$ представляет собой E или S; X$_{12}$ представляет собой E или G; X$_{13}$ представляет собой D, E или S; X$_{14}$ представляет собой D или S; и X$_{15}$ представляет собой D, E или Y (SEQ ID NO: 468).

114. Выделенное антитело по любому из пп.98-102, где антитело включает CDR1, CDR2 и/или CDR3 VH P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068748, P1-068750, P1-068752 или P1-068754.

115. Выделенное антитело по п.114, где антитело включает CDR1, CDR2 и CDR3 VH P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068748, P1-068750, P1-068752 или P1-068754.

116. Выделенное антитело по любому из пп.98-115, где антитело включает CDR1, CDR2 и CDR3 VL P1-061015.

117. Выделенное антитело по любому из пп.98-116, где антитело включает VH, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, 95%, 97%, 98% или 99% идентична соответствующей последовательности P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068748, P1-068750, P1-068752 или P1-068754; или

включающую аминокислотную последовательность VH P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068748, P1-068750, P1-068752 или P1-068754, модифицированную 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотными заменами, или модифицированную 1, 2, 3, 4 или 5 консервативными аминокислотными заменами.

118. Выделенное антитело по любому из пп.98-117, где антитело включает VH, включающую аминокислотную последовательность VH P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068748, P1-068750, P1-068752 или P1-068754; или

включающую аминокислотную последовательность VH P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068748, P1-068750, P1-068752 или P1-068754, модифицированную 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотными заменами, или модифицированную 1, 2, 3, 4 или 5 консервативными аминокислотными заменами.

119. Выделенное антитело по любому из пп.98-118, где антитело включает VL, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, 95%, 97%, 98% или 99% идентична соответствующей последовательности P1-061015.

120. Выделенное антитело по п.119, где антитело включает VL, включающую аминокислотную последовательность P1-061015.

121. Выделенное антитело по любому из пп.1-120, где антитело связывается в или вблизи от богатой гистидинами области hVISTA, такой как богатое гистидинами удлинение β-слоя.

122. Выделенное антитело по п.121, где антитело связывает в или вблизи от богатой гистидинами области hVISTA, такой как богатое гистидинами удлинение β-слоя, в условиях, имеющих pH 6,0-6,5.

123. Выделенное антитело по любому из пп.1-122, где антитело конкурирует или перекрестно конкурирует за связывание hVISTA с одним или более антителами, описанными в настоящем документе, например, включающими VH и VL P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-069077, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, или P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-

068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF, P1-068767_E30D_E100fF, P1-061029_F100fE_V102D, P1-061029_F100fE, P1-061029_V102D, P1-061029_Y32E, или P1-061029_Y32E_F100fE, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068748, P1-068750, P1-068752 или P1-068754), как определено, например, с помощью конкурентного анализа биннинга эпитопов методом интерферометрии биослоя (BLI), описанного в Примере 15.

124. Выделенное антитело по любому из пп.1-123, где антитело связывается с эпитопом из Группы эпитопов A, как определено, например, с помощью конкурентного анализа биннинга эпитопов методом интерферометрии биослоя (BLI), описанного в Примере 15.

125. Выделенное антитело по любому из пп.1-124, где антитело не связывается в значительной степени с hVISTA, модифицированным таким образом, что один или более из следующих аминокислотных остатков были подвергнуты мутации: T35, Y37, K38, T39, Y41, R54, T61, F62, Q63, L65, H66, L67, H68, H69, F97, L115, V117, I119, H121, H122, S124, E125, R127, например, как определено с помощью мутационного анализа в дрожжах, описанного в Примерах.

126. Выделенное антитело, которое связывается с hVISTA, состоящим из SEQ ID NO: 1 или 2, но не связывается в значительной степени с hVISTA, модифицированным таким образом, что один или более из следующих аминокислотных остатков были подвергнуты мутации: T35, Y37, K38, T39, Y41, R54, T61, F62, Q63, L65, H66, L67, H68, H69, F97, L115, V117, I119, H121, H122, S124, E125, R127.

127. Выделенное антитело по любому из пп.1-126, где антитело не связывается в значительной степени с hVISTA, модифицированным таким образом, что 2, 3, 4, 5 или более из следующих аминокислотных остатков были подвергнуты мутации: T35, Y37, K38, T39, Y41, R54, T61, F62, Q63, L65, H66, L67, H68, H69, F97, L115, V117, I119, H121, H122, S124, E125, R127.

128. Выделенное антитело по любому из пп.125-127, где антитело не связывается с hVISTA, модифицированным таким образом, что один или более следующих остатков были подвергнуты мутации с заменой на один из соответствующих остатков, показанных в Таблице 15: H68, F97, L115, V117, I119, H121, H122, S124, E125, R127.

129. Выделенное антитело (Ат), которое связывается с hVISTA при кислотных условиях, например, при pH 6,5 (при измерении, например, с помощью одного из анализов, описанных в Примерах), где Ат ингибирует взаимодействие между hVISTA и: (a) T-клетками и/или (b) PSGL-1, и где Ат связывается с hVISTA через один или более (например, по меньшей мере 1-3, 1-5, 1-10, 5-10, 5-15 или все) энергетически важные контактные остатки антитела, описанного в настоящем документе, такого как P1-061015, P1-061029, P1-068761 или P1-068767, такие как одна или более аминокислот, выбранных из одной из следующих групп энергетически важных контактных остатков: (i) V34, T35, Y37, K38, T39, Y41, S52, R54, T61, F62, Q63, L65, H66, L67, H68, H69, F97, L115, V117, I119, H121, H122,

S124, E125, R127; (ii) V34, T35, Y37, T39, Y41, S52, R54, F62, L65, H66, H68, L115, V117, I119, R120, H121, H122, S124, E125; или (iii) Y37, T39, R54, F62, H66, L115 или V117, как определено, например, с помощью дрожжевого поверхностного дисплея и анализа NGS, описанных в Примере 15, и где нумерация соответствует нумерации зрелого hVISTA.

130. Выделенное Ат, которое связывается с hVISTA при кислотных условиях, например, при pH 6,5 (при измерении, например, с помощью одного из анализов, описанных в Примерах), где Ат ингибирует взаимодействие между hVISTA и: (a) Т-клетками и/или (b) PSGL-1, и где Ат связывается с hVISTA через один или более (например, по меньшей мере 1-3, 1-5, 1-10, 5-10, 5-15 или все) энергетически важные контактные остатки Y37, T39, R54, F62, H66, V117, I119 или S124, как определено, например, с помощью дрожжевого поверхностного дисплея и анализа NGS, описанных в Примере 15, и где нумерация соответствует нумерации зрелого hVISTA.

131. Выделенное Ат, которое связывается с hVISTA при кислотных условиях, например, при pH 6,5 (при измерении, например, с помощью одного из анализов, описанных в Примерах), где Ат ингибирует взаимодействие между hVISTA и: (a) Т-клетками и/или (b) PSGL-1, и где Ат связывается с hVISTA через один или более (например, по меньшей мере 1-3, 1-5, 1-10, 5-10, 5-15 или все) энергетически важные контактные остатки P1-061015, P1-061029, P1-068761 или P1-068767, или другого антитела, описанного в настоящем документе, как определено, например, с помощью дрожжевого поверхностного дисплея и анализа NGS, описанных в Примере 15, и где нумерация соответствует нумерации зрелого hVISTA.

132. Выделенное Ат по любому из пп.1-131, где Ат связывается с FG петлей hVISTA.

133. Выделенное Ат по любому из пп.1-132, где Ат связывается с богатым гистидинами удлинением β-слоя hVISTA, как определено, например, с помощью кристаллографии, описанной, например, в Примерах.

134. Выделенное Ат по любому из пп.1-133, где Ат связывается с H121, H122 и H123 (гистидиновой триадой) зрелого hVISTA (расстояние, например, 4.0 ангстрема (Å) или меньше), например, через водородные связи, как определено, например, с помощью кристаллографии, описанной, например, в Примерах.

135. Выделенное Ат по любому из пп.1-134, где Ат связывается с hVISTA через CDR1 VH и CDR3 VH, и, например, не связывается в значительной степени через CDR2 VH и/или через CDR VL.

136. Выделенное Ат по любому из пп.1-135, где аминокислотные остатки 110 и 112 антитела образуют водородные связи с H121 и H122 hVISTA соответственно, и, необязательно, где аминокислотный остаток антитела образует водородную связь с H123 hVISTA.

137. Выделенное Ат по любому из пп.1-136, где Ат связывается с hVISTA по меньшей мере через один или более остатков глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты или гистидина, который расположен в CDR1, CDR2 или CDR3 VH.

138. Выделенное Ат по любому из пп.1-137, где Ат не связывается в значительной

степени с hVISTA при нейтральном или физиологическом pH (при измерении, например, с помощью одного из анализов, описанных в Примерах).

139. Выделенное Ат по любому из пп.1-138, где Ат связывается с hVISTA при кислых условиях, например, при pH 6,5, с K_D (или k_{off}), которая по меньшей мере в 10 раз, 100 раз или 1000 раз ниже, чем его K_D и/или k_{off} связывания с hVISTA при нейтральном или физиологическом pH (при измерении, например, с помощью одного из анализов, описанных в Примерах).

140. Выделенное Ат по любому из пп.1-139, где Ат не связывается в значительной степени с hVISTA при нейтральном или физиологическом pH (при измерении, например, с помощью одного из анализов, описанных в Примерах).

141. Выделенное антитело (Ab), которое связывается с hVISTA при кислотных условиях, например, при pH 6,5 (при измерении, например, с помощью одного из анализов, описанных в Примерах), где Ат:

о ингибирует взаимодействие между hVISTA и: (a) Т-клетками и/или (b) PSGL-1 (например, ингибирует взаимодействие между H153 и H154 hVISTA, имеющего SEQ ID NO: 1, и тирозинами Y46 и Y48 PSGL-1);

о повышает активацию Т-клеток, например, путем повышения пролиферации Т-клеток; повышения продукции IFN-γ Т-клетками; и/или стимуляции опосредованной Т-клеточным рецептором сигнализации NF-kB;

о контактирует с hVISTA через один или более (например, по меньшей мере 1-3, 1-5, 1-10, 5-10, 5-15 или все) энергетически важные контактные остатки Y37, T39, R54, F62, H66, V117, I119 или S124, как определено, например, с помощью дрожжевого поверхностного дисплея и анализа NGS, описанных в Примере 15; и где нумерация соответствует нумерации зрелого hVISTA;

о связывается с богатым гистидинами удлинением β-слоя hVISTA, как определено, например, с помощью кристаллографии, описанной, например, в Примерах;

о контактирует с H121, H122 и/или H123 зрелого hVISTA (расстояние 4.0 ангстрема (Å) или меньше), например, через водородные связи, как определено, например, с помощью кристаллографии, описанной, например, в Примерах;

о связывается с Областью 1: $_{57}$LGPVDKGHDVTF$_{68}$; Область 2: $_{86}$RRPIRNLTFQDL$_{97}$; и Область 3: $_{148}$VVEIRHHHSEHRVHGAME$_{165}$ hVISTA, имеющего SEQ ID NO: 1, и, необязательно, где связывание является наиболее сильным в Области 2, как определено с помощью MS-HDX, описанного в Примере 21;

о конкурирует за связывание hVISTA (двунаправленная конкуренция) с одним или более антителами, описанными в настоящем документе, например, P1-061015, P1-061029, P1-068761, P1-068767 и VISTA.4;

о контактирует с hVISTA по меньшей мере через один или более остатков глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты или гистидина, который расположен в CDR1, CDR2 или CDR3 VH; и/или

о имеет низкое мишень-опосредованное распределение лекарственного средства,

приводящее к среднему времени удерживания (MRT) по меньшей мере 100, 200, 300, 400, 500, 600 или 700 часов, при измерении, например, как описано в Примерах.

142. Выделенное антитело (Ат), которое связывается с hVISTA при кислотных условиях, например, при pH 6,5 с K_D (и/или k_{off}), которая по меньшей мере в 10 раз, 100 раз или 1000 раз ниже, чем его K_D или k_{off} связывания с hVISTA при нейтральном или физиологическом pH (при измерении, например, с помощью одного из анализов, описанных в Примерах), где Ат:

о ингибирует взаимодействие между hVISTA и: (a) Т-клетками и/или (b) PSGL-1 (например, ингибирует взаимодействие между H153 и H154 hVISTA, имеющего SEQ ID NO: 1, и тирозинами Y46 и Y48 PSGL-1);

о повышает активацию Т-клеток, например, путем повышения пролиферации Т-клеток; повышения продукции IFN-γ Т-клетками; и/или стимуляции опосредванной Т-клеточным рецептором сигнализации NF-kB;

о контактирует с hVISTA через один или более (например, по меньшей мере 1-3, 1-5, 1-10, 5-10, 5-15 или все) энергетически важные контактные остатки Y37, T39, R54, F62, H66, V117, I119 или S124, как определено, например, с помощью дрожжевого поверхностного дисплея и анализа NGS, описанных в Примере 15; и где нумерация соответствует нумерации зрелого hVISTA;

о связывается с богатым гистидинами удлинением β-слоя hVISTA, как определено, например, с помощью кристаллографии, описанной, например, в Примерах;

о контактирует с H121, H122 и/или H123 зрелого hVISTA (расстояние 4,0 ангстрема (Å) или меньше), например, через водородные связи, как определено, например, с помощью кристаллографии, описанной, например, в Примерах;

о связывается с Областью 1: $_{57}$LGPVDKGHDVTF$_{68}$; Область 2: $_{86}$RRPIRNLTFQDL$_{97}$; и Область 3: $_{148}$VVEIRHHHSEHRVHGAME$_{165}$ hVISTA, имеющего SEQ ID NO: 1, и, необязательно, где связывание является наиболее сильным в Области 2, как определено с помощью MS-HDX, описанного в Примере 21;

о конкурирует за связывание с hVISTA (двунаправленая конкуренция) с одним или более антителами, описанными в настоящем документе, например, P1-061015, P1-061029, P1-068761, P1-068767 и VISTA.4;

о контактирует с hVISTA по меньшей мере через один или более остатков глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты или гистидина, который расположен в CDR1, CDR2 или CDR3 VH; и/или

о имеет низкое мишень-опосредованное распределение лекарственного средства, приводящее к среднему времени удерживания (MRT) по меньшей мере 100, 200, 300, 400 500, 600 или 700 часов, при измерении, например, как описано в Примерах.

143. Выделенное антитело по любому из пп.1-142, где антитело имеет изоэлектрическую точку (pI) между 6,5 и 6,8, при измерении, например, с помощью icIEF.

144. Выделенное антитело по любому из пп.1-143, где антитело демонстрирует низкую агрегацию, например, агрегацию, которая аналогична или ниже, чем у антител '029,

'761 или '767 (P1-061015, P1-061029, P1-068761 или P1-068767, соответственно), например, как определено в Примерах.

145. Выделенное антитело по любому из пп.1-144, где антитело демонстрирует вязкость, которая аналогична или ниже, чем у '029, '761 или '767, например, как определено в Примерах.

146. Выделенное антитело по любому из пп.1-145, где антитело демонстрирует гидродинамический радиус, который аналогичен или ниже, чем у '029, '761 или '767, например, как определено в Примерах.

147. Выделенное антитело по любому из пп.1-146, где антитело демонстрирует температуру плавления (Tm1), которая аналогична или выше, чем у '029, '761 или '767, например, как определено в Примерах.

148. Выделенное антитело по любому из пп.1-147, где антитело демонстрирует количество высокомолекулярных соединений, которое аналогично или ниже, чем у '029, '761 или '767, например, как определено в Примерах.

149. Выделенное антитело по любому из пп.1-148, которое является IgG антителом.

150. Выделенное антитело по п.149, которое является IgG1, IgG2 или IgG4 антителом (IgG4 необязательно с S228P).

151. Выделенное антитело по любому из пп.1-150, где антитело является неэффекторным антителом, например, не имеет ADCC и/или CDC, и/или антителом, не связывающимся в значительной степени с одним или более FcγR, например, FcγRIII.

152. Выделенное антитело по п.151, где константная область включает 1-5 мутаций в константной области тяжелой цепи дикого типа, которые уменьшают эффекторную функцию антитела и/или способность к связыванию с одним или более FcγR, например, FcγRIII, по сравнению с соответствующей константной областью тяжелой цепи дикого типа.

153. Выделенное антитело по любому из пп.1-152, где константная область антитела представляет собой IgG1.3, IgG1.1 или IgG1 с заменой P238K (например, IgG1.P238K).

154. Выделенное антитело по любому из пп.1-150, где антитело обладает эффекторной функцией и/или связывается с одним или более FcγR, например, FcγRIII.

155. Выделенное антитело по п.154, где антитело является афукозилированным (например, афукозилированным IgG1 антителом).

156. Выделенное антитело по п.154 или 155, где константная область включает 1-5 мутаций, которые улучшают эффекторную функцию антитела и/или способность связываться с одним или более FcγR, например, FcγRIII, по сравнению с соответствующей константной областью дикого типа.

157. Выделенное антитело по любому из пп.1-156, которое является полноразмерным антителом или антителом, включающим полноразмерную тяжелую цепь (с или без С-концевого лизина) и полноразмерную легкую цепь.

158. Выделенное антитело по любому из пп.1-156, которое является антигенсвязывающим фрагментом антитела.

159. Выделенное антитело по любому из пп.1-158, которое является мультимерным (например, димерным или тримерным) антителом.

160. Выделенное антитело по любому из пп.1-159, которое связано (например, ковалентно) с другой молекулой.

161. Выделенное антитело по п.160, где другая молекула является меткой.

162. Выделенное антитело по п.160 или 161, где другая молекула является пептидом.

163. Выделенное антитело по любому из пп.1-162, которое является конъюгатом антитела-лекарственного средства (ADC) или активируемым антителом.

164. Выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая антитело по любому из пп.1-163 или 206-212.

165. Выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая тяжелую цепь и/или легкую цепь антитела по любому из пп.1-163 или 206-212.

166. Композиция, включающая выделенную нуклеиновую кислоту, кодирующую тяжелую цепь антитела по любому из пп.1-163 или 206-212, и нуклеиновую кислоту, кодирующую легкую цепь антитела.

167. Клетка, включающая выделенную нуклеиновую кислоту по любому из пп.164-166.

168. Способ получения антитела, включающий культивирование клетки по п.167 в условиях, при которых экспрессируется антитело.

169. Композиция, включающая выделенное антитело, нуклеиновую кислоту, композицию или клетку по любому из пп.1-168 и фармацевтически приемлемый носитель.

170. Композиция по п.169, включающая второе терапевтическое средство.

171. Композиция по п.170, где второе терапевтическое средство является иммуностимулирующим средством или химиотерапевтическим средством.

172. Композиция по п.171, где второе терапевтическое средство является иммуностимулирующим средством, которое является антагонистом иммуносупрессорной молекулы, например, PD-1/PD-L1, CTLA-4 и LAG-3, или агонистом иммуностимулирующей молекулы, например, GITR и OX40.

173. Способ лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества композиции или выделенного антитела по любому из пп.1-172 или 206-212, которое стимулирует иммунный ответ и/или является антагонистическим антителом к VISTA.

174. Способ по п.173, где субъект имеет VISTA-положительные клетки, например, в опухоли рака.

175. Способ по п.174, где клетки являются VISTA-положительными инфильтрирующими лимфоцитарными (например, Т-клетками) или миеломоноцитарными клетками.

176. Способ по любому из пп.173-175, где субъекта сначала тестируют на присутствие VISTA-положительных клеток в опухоли.

177. Способ по любому из пп.173-176, где способ дополнительно включает введение

второй терапии.

178. Способ по п.177, где вторая терапия является химиотерапией, лучевой терапией, хирургией или введением второго средства.

179. Способ по п.178, где вторая терапия является вторым средством, а второе средство является иммуностимулирующим средством или химиотерапевтическим средством.

180. Способ по п.179, где второе терапевтическое средство является иммуностимулирующим средством, которое является антагонистом иммуносупрессорной молекулы, например, PD-1/PD-L1, CTLA-4 и LAG-3, или агонистом иммуностимулирующей молекулы, например, GITR и OX40.

181. Способ лечения инфекционного заболевания (например, вирусного заболевания) у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества композиции или выделенного антитела по любому из пп.1-172 или 206-212, которое стимулирует иммунный ответ и/или является антагонистом VISTA.

182. Способ лечения воспаления, воспалительного заболевания и аутоиммунного заболевания, реакции "трансплантат против хозяина" или заболевания, при котором эффективно снижение иммунного ответа, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества композиции или выделенного антитела по любому из пп.1-172 или 206-212, которое ингибирует иммунный ответ, например, активацию Т-клеток, или является агонистом VISTA.

183. Способ идентификации антитела (Ат), которое связывается с внеклеточным доменом VISTA человека (hVISTA-ECD) при pH 6,5 или меньше с K_D 10^{-7} М или меньше, включающий контакт тестируемого Ат или множества тестируемых Ат с полипептидом, включающим hVISTA-ECD или его фрагмент, включающий IgV домен hVISTA-ECD или включающий аминокислоты 20-95, 20-70, 35-70-127 или 35-127 из SEQ ID NO:2, при pH 6,5 или меньше, и отбор тестируемого Ат или Ат, которые связываются с полипептидом с K_D 10^{-7} М или меньше.

184. Способ идентификации антитела (Ат), которое связывается с внеклеточным доменом VISTA человека (hVISTA-ECD) при pH 6,5 или меньше с k_{off} 5×10^{-3} $сек^{-1}$ или меньше, включающий контакт тестируемого Ат или множества тестируемых Ат с полипептидом, включающим hVISTA-ECD или его фрагмент, включающий IgV домен hVISTA-ECD или включающий аминокислоты 20-95, 20-70, 35-70 или 35-127 из SEQ ID NO:2, при pH 6,5 или меньше, и отбор тестируемого Ат или Ат, которые связываются с полипептидом с k_{off} 5×10^{-3} $сек^{-1}$ или меньше.

185. Способ идентификации антитела (Ат), которое связывается с внеклеточным доменом VISTA человека (hVISTA-ECD) при pH 6,5 с подобной аффинностью при pH 7,0, включающий:

a. контакт тестируемого Ат или множества тестируемых Ат при pH 6,5 с полипептидом, включающим hVISTA-ECD или его фрагмент, включающий IgV домен hVISTA-ECD или включающий аминокислоты 20-95, 20-70 или 35-70, или 35-127 SEQ ID

NO:2;

b. контакт тестируемого Ат или множества тестируемых Ат при pH 7,0 с полипептидом (a); и

c. отбор тестируемого Ат, если оно связывается с полипептидом с K_D 10^{-7} M или меньше при pH 6,5 и при pH 7,0.

186. Способ идентификации антитела (Ат), которое связывается с более высокой аффинностью с внеклеточным доменом VISTA человека (hVISTA-ECD) при pH 6,5, чем при pH 7,0, включающий:

a. контакт тестируемого Ат или множества тестируемых Ат при pH 6,5 с полипептидом, включающим hVISTA-ECD или его фрагмент, включающий IgV домен hVISTA-ECD или включающий аминокислоты 20-95, 20-70, 35-70 или 35-127 SEQ ID NO:2;

b. контакт тестируемого Ат или множества тестируемых Ат при pH 7,0 с полипептидом (a); и

c. отбор тестируемого Ат, если оно связывается с полипептидом с K_D или k_{off}, которая по меньшей мере в 2 раза ниже при pH 6,5, чем при pH 7,0.

187. Способ идентификации антитела (Ат), которое специфично связывается с внеклеточным доменом VISTA человека (hVISTA-ECD), для применения в лечении рака, включающий:

a. идентификацию Ат, которые специфично связываются с hVISTA-ECD при pH 6,5 или меньше, например, согласно способам по пп.183-186; и

b. отбор антител (a), которые вызывают или усиливают иммунный ответ в модели опухоли, или ингибируют рост опухоли при pH 6,5 или меньше.

188. Способ по п.187, где шаг (b) включает измеряющуюся активность Т-лимфоцита.

189. Способ по п.187 или 188, дополнительно включающее измерение эффекта антиопухоли Ab.

190. Способ повышения противоопухолевой эффективности антитела (Ат), которое связывается с внеклеточным доменом VISTA человека (hVISTA-ECD), включающий:

a. получение Ат, которое связывается с hVISTA-ECD при pH 6,5 или меньше с аффинностью, которая меньше, чем требуемое значение;

b. замена 1-5 аминокислотных остатков в тяжелой или легкой цепи Ат другим аминокислотным остатком (например, остатком глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты или гистидина), где 1-5 аминокислотных остатков являются контактными остатками с hVISTA-ECD, например, одним или более аминокислотными остатками 26, 30, 31, 32, 110 и 112 (показанными в Таблице 24; нумерация в SEQ ID NO: 67, 51 или 55;

c. определение, имеет ли Ат, полученное в (b), более высокую аффинность к hVISTA-ECD при pH 6,5 или меньше по сравнению с Ат (a); и

d. повтор этапов (a)-(c) некоторое количество раундов, достаточное для получения Ab, связывающегося с hVISTA-ECD при pH 6,5 или меньше с K_D 10^{-7} M или меньше.

191. Способ повышения противоопухолевой эффективности антитела (Ат), которое связывается с внеклеточным доменом VISTA человека (hVISTA-ECD), включающий:

a. Получение Ат, которое связывается с hVISTA-ECD при pH 6,5 или меньше с аффинностью, которая меньше, чем требуемое значение;

b. Получение библиотеки вариантов Ат (a), где каждый вариант включает замену 1-5 аминокислотных остатков в тяжелой или легкой цепи Ат другим аминокислотным остатком (например, остатком глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты или гистидина), где 1-5 аминокислотных остаток являются контактными остатками с hVISTA-ECD, например, одним или более аминокислотными остатками 26, 30, 31, 32, 110 и 112 (показанными в Таблице 24; нумерация в SEQ ID NO: 67, 51 или 55;

c. Отбор антител из библиотеки вариантов (b), которые связываются с hVISTA-ECD при pH 6,5 или меньше с K_D 10^{-7} M или меньше; и

d. Необязательно, проверку противоопухолевой эффективности антител (c) в модели опухоли.

192. Способ улучшения фармакокинетики антитела, которое связывается с внеклеточным доменом VISTA человека (ECD), включающий повышение способности антитела связываться с VISTA человека в кислотных условиях, например, ниже или равных pH 6,5.

193. Способ отбора антитела, которое связывается с VISTA человека и обладает увеличенным полупериодом существования (хорошие фармакокинетические свойства), где способ включает отбор антитела, которое связывается с VISTA человека в кислотных условиях, например, ниже или равных pH 6,5.

194. Способ повышения эффективности антител, которые связываются с VISTA человека (hVISTA), включающий увеличение количества остатков аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты и/или гистидина в одной или более CDR-областях VH антитела, для улучшения связывания антитела с hVISTA при кислотном pH.

195. Способ выделения антител, которые связываются с VISTA человека (hVISTA) и имеют длительный полупериод существования в человеческой крови, и/или стимулируют Т-клетки в окружении опухоли, включающий скрининг библиотеки антител, связывающихся с hVISTA, на антитела, которые связываются при кислотном pH, но не связываются при нейтральном pH.

196. Способ по любому из пп.183-195, включающий обратный отбор таких антител, которые связываются при физиологическом pH.

197. Способ по любому из пп.183-196, дополнительно включающий отбор антител, которые являются антагонистом VISTA или агонистом VISTA.

198. Способ по любому из пп.183-197, включающий отбор таких антител, которые ингибируют взаимодействие между VISTA и корецептором VISTA (например, PSGL-1) и/или взаимодействие между VISTA и Т-клетками или миеломоноцитарными клетками.

199. Способ по любому из пп.183-198, дополнительно включающий отбор антител, которые обладают одним или более свойств P1-068761 или P1-068767.

200. Способ повышения противоопухолевой эффективности антитела (Ат), которое связывается с внеклеточным доменом VISTA человека (hVISTA-ECD), включающий:

a. получение Ат, которое связывается с hVISTA-ECD при pH 7,0, но не связывается в значительной степени при pH 6,5;

b. замену 1-5 аминокислотных остатков в тяжелой или легкой цепи, например, CDR-областях, Ат другим аминокислотным остатком, где, например, 1-5 аминокислотных остатков являются контактными остатками с hVISTA-ECD, например, одним или более аминокислотными остатками 26, 30, 31, 32, 110 и 112 (показанными в Таблице 24; нумерация в SEQ ID NO: 67, 51 или 55;

c. определение, имеет ли Ат, полученное в (b), более высокую аффинность к hVISTA-ECD при pH 6,5, чем при pH 7,0, и/или определение, имеет ли Ат, полученное в (b), подобную или более высокую аффинность при pH 6,5 по сравнению с исходным антителом (антителом (a)) и более низкую аффинность при pH 7,0 по сравнению с антителом (a); и

d. повтор этапов (a)-(c) некоторое число раундов, достаточное для получения Ат, которое связывается с hVISTA-ECD при pH 6,5 или меньше с K_D 10^{-7} M или меньше и связывается с hVISTA-ECD при pH 7,0 или больше с K_D 10^{-6} M или больше.

201. Способ обнаружения VISTA в образце, включающий контакт образца с антителом VISTA по любому из пп.1-163 или 206-212.

202. Способ лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту выделенного антитела, которое связывается с VISTA человека (hVISTA) и ингибирует активность hVISTA (например, активацию Т-клеток), и антагониста пути PD1/PD-L1, что приводит к увеличению количества CD4+ и CD8+ Т-клеток, например, в опухоли субъекта.

203. Способ лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту выделенного антитела, которое связывается с VISTA человека (hVISTA) и ингибирует активность hVISTA (например, активацию Т-клеток), и антагониста пути PD1/PD-L1, что приводит к снижению количества истощенных Т-клеток и/или Т-клеток, экспрессирующих PD-1, LAG3 и/или TIM-3, например, в опухоли субъекта.

204. Способ лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту выделенного антитела, которое связывается с VISTA человека (hVISTA) и ингибирует активность hVISTA (например, активацию Т-клеток), и антагониста пути PD1/PD-L1, что приводит к увеличению количества CD4+ и CD8+ Т-клеток, например, в опухоли субъекта и снижению количества истощенных Т-клеток и/или Т-клеток, экспрессирующих PD-1, LAG3 и/или TIM-3, например, в опухоли субъекта, и/или другие признаки, описанные в настоящем документе.

205. Способ по любому из пп.202-204, где антитело, которое связывается с hVISTA, является антителом, описанным в настоящем документе, таким как антитело по любому из пп.1-163 или 206-212.

206. Антитело, композиция или способ по любому из пп.1-205, где антитело включает одно или более (например, 1-5, 5-10, 10-15, 10-20 или 15-20) взаимодействий с hVISTA, перечисленных в Таблице 24.

207. Антитело, композиция или способ по любому из пп.1-206, где антитело включает глутаминовую кислоту, аспарагиновую кислоту или гистидин в одном или более

положениях 26, 30, 31, 110, 111 и 112 (например, контактные остатки, идентифицированные с помощью кристаллографии, в Таблице 24), где нумерация соответствует нумерации в SEQ ID NO: 67, 51 и 55.

208. Выделенное антитело, которое связывается с внеклеточным доменом VISTA человека при pH 6,5 и, необязательно, не связывается в значительной степени при pH 7,0, где антитело включает глутаминовую кислоту, аспарагиновую кислоту или гистидин в одном или более положениях 26, 30, 31, 110, 111 и 112 (например, контактные остатки, идентифицированные с помощью кристаллографии, в Таблице 24), где нумерация соответствует нумерации в SEQ ID NO: 67, 51 и 55.

209. Антитело, композиция или способ по любому из пп.1-208, где антитело не включают вариабельную область тяжелой цепи какого-либо из P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-068761, P1-068767, P1-068773, P1-068765, P1-061029, P1-068757, P1-068771, P1-068775, P1-068769, P1-068759, P1-068763, P1-061015, P1-068748, P1-068744, P1-068736, P1-068752, P1-068740, P1-068742, P1-068746, P1-068750, P1-068738, P1-068754, P1-069293, P1-069298, P1-069302, P1-069312, P1-069309, P1-069307, P1-070864, P1-070866, P1-070868, P1-070870, P1-070872, P1-070874, P1-070876, P1-070878, P1-070880, P1-070882, P1-070884, P1-070886, P1-070888, P1-070890, P1-070892, P1-070894, P1-070896, P1-070898, P1-070900, P1-070902, P1-070904, P1-070906, P1-070908, P1-070910, P1-070912, P1-070914, P1-070916, P1-070918, P1-070920, P1-070922, P1-070924, P1-070926, P1-070928, P1-070930, P1-070932 (т.е. SEQ ID NO: 11, 15, 19, 23, 27, 31, 35, 39, 43, 47, 51, 55, 59, 63, 67, 71, 75, 79, 83, 87, 91, 95, 99, 103, 107, 111, 115, 119, 123, 127, 131, 135, 139, 143, 147, 151, 155, 159, 185, 189, 193, 197, 201, 205, 209, 213, 217, 221, 225, 229, 233, 237, 241, 245, 249, 253, 257, 261, 265, 269, 273, 277, 281, 285, 289, 293, 297, 301, 305, 309, 313, 317, 321), или не включает вариабельную область тяжелой цепи какого-либо антитела, раскрытого в международной публикации WO2018/169993.

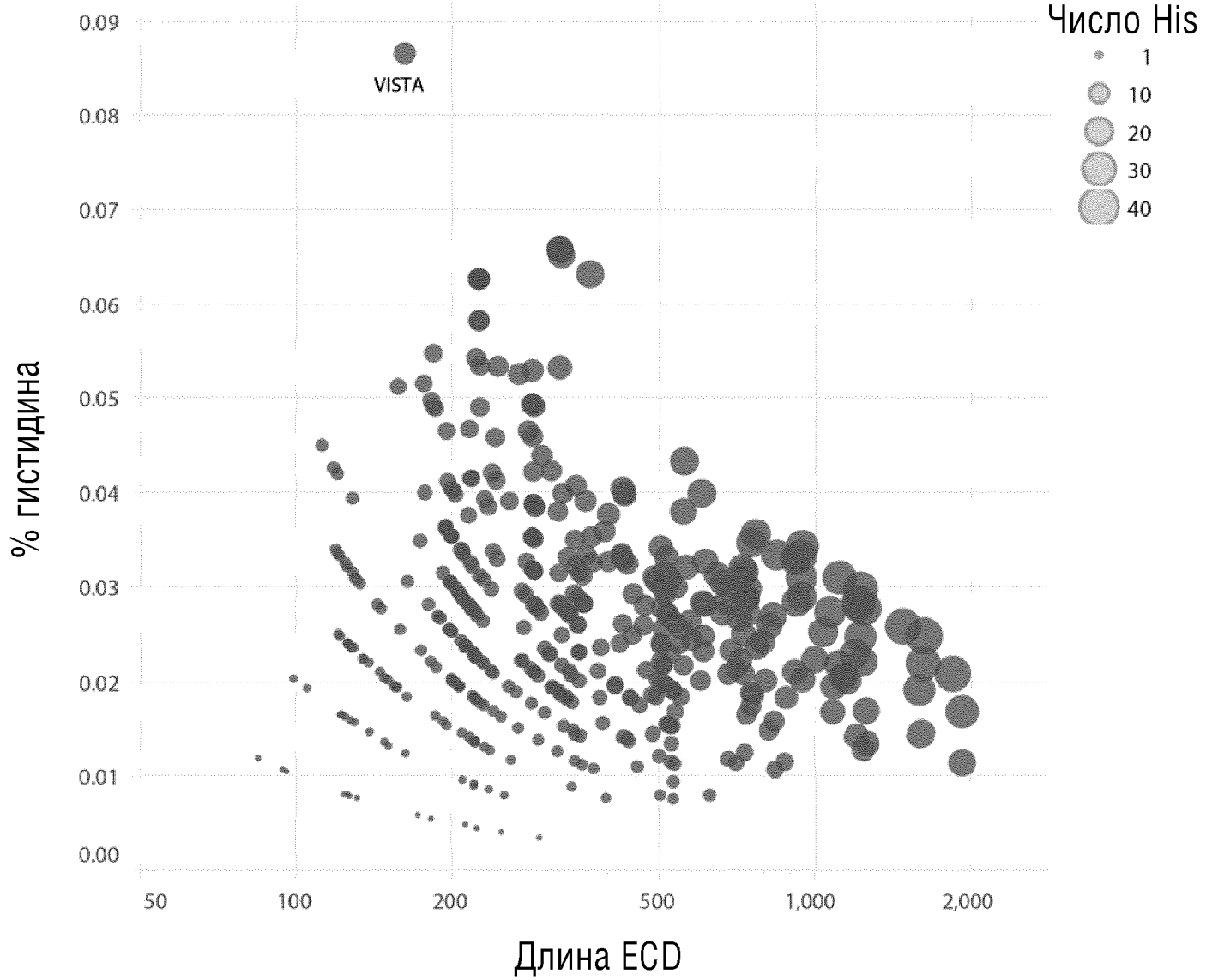
210. Антитело, композиция или способ по любому из пп.1-209, где антитело ингибирует взаимодействие между внеклеточным доменом (ECD) hVISTA и PSGL-1.

211. Антитело, композиция или способ по любому из пп.1-210, где антитело конкурирует за связывание ECD hVISTA с антителом, описанным в настоящем документе (например, с помощью BLI, описанного в настоящем документе), таким как '761 и '767, и/или которое связывается с ECD hVISTA через те же аминокислотные остатки, как и антитело, описанное в настоящем документе, такое как '761 и '767.

212. Антитело, композиция или способ по любому из пп.1-211, где антитело взаимодействуют с гистидиновой триадой (H121, 122 и 123 зрелого hVISTA), как определено с помощью рентгеновской кристаллографии, например, как определено в настоящем документе.

По доверенности

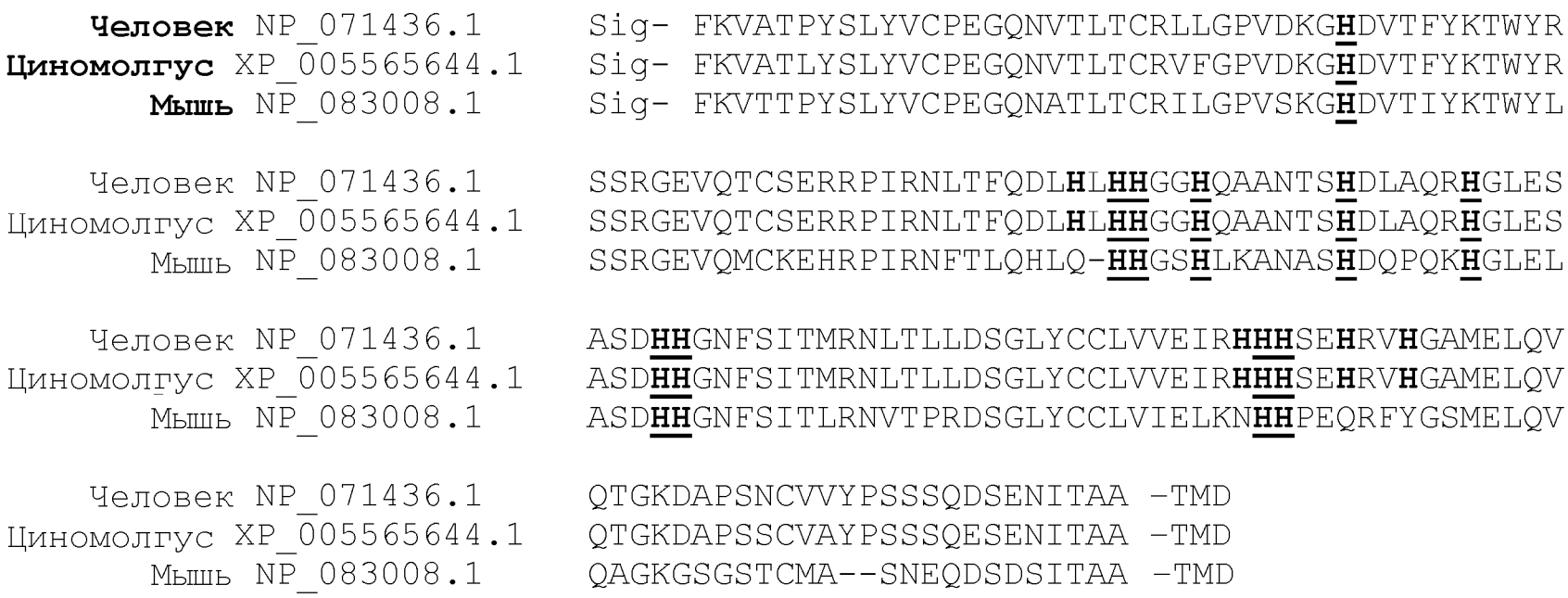
ФИГ.1А


Число His
1
10
20
30
40
VISTA
0.09
0.08
0.07
0.06
0.05
0.04
0.03
0.02
0.01
0.00
% гистидина
50
100
200
500
1,000
2,000
Длина ECD

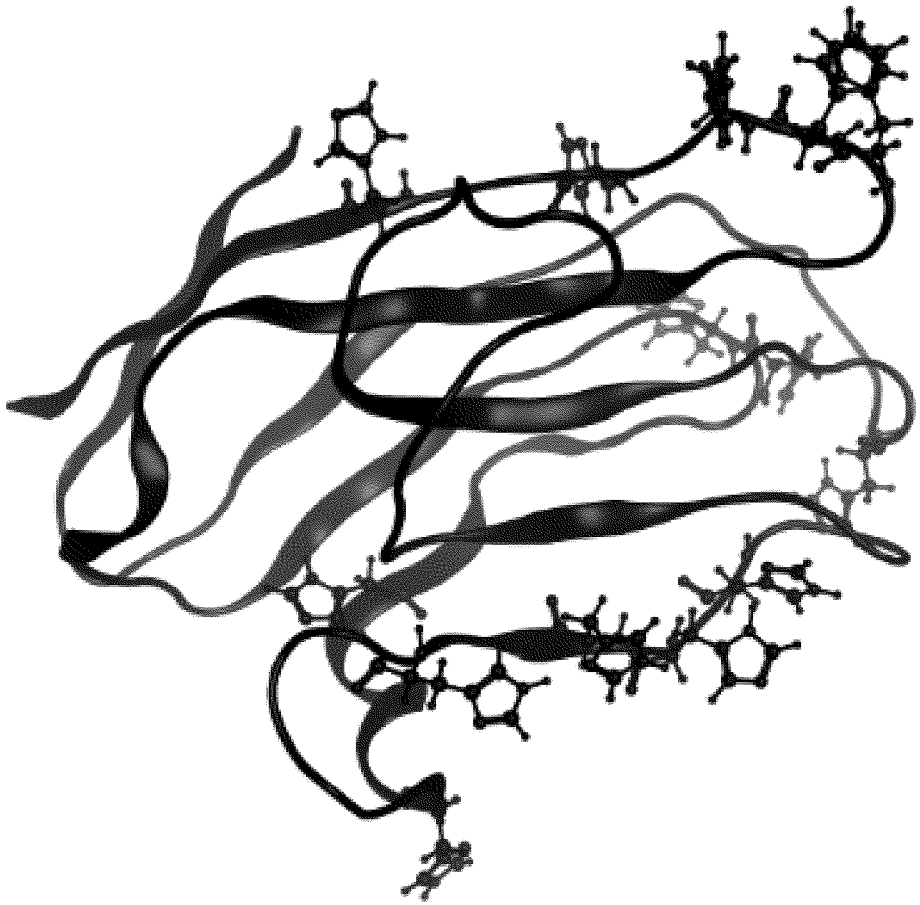
ФИГ.1В

Консервативные у Ч/Ц/М гистидины (жирный шрифт, подчеркивание)

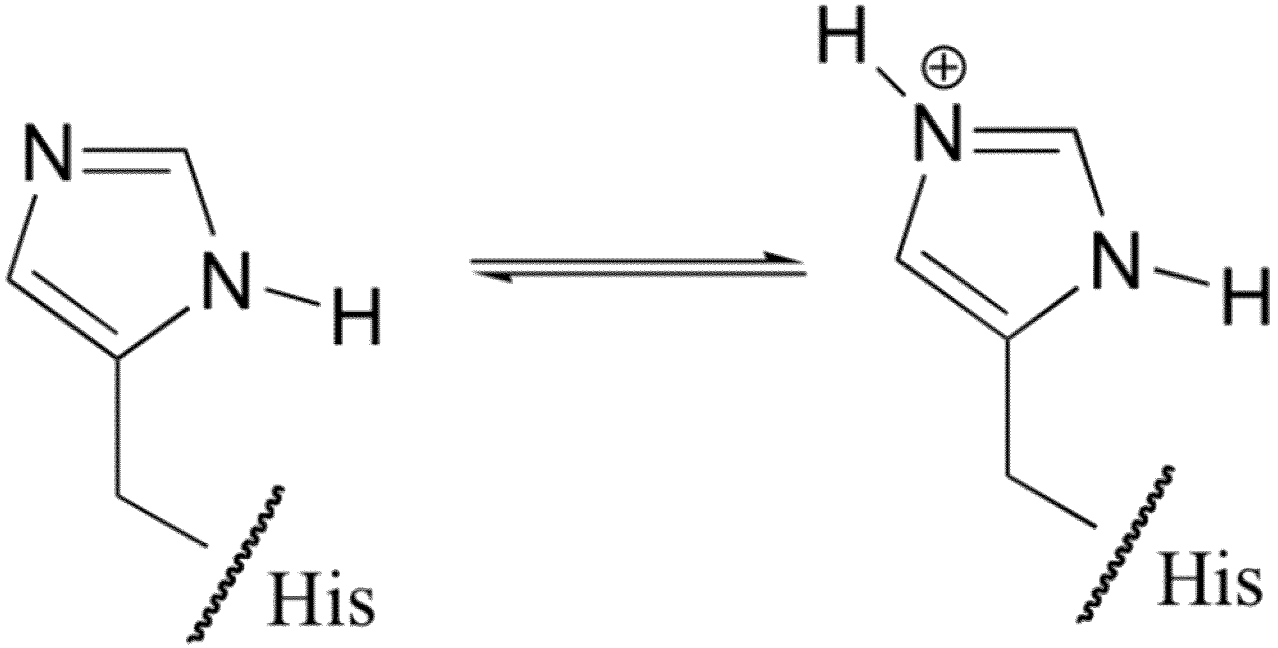
Консервативные у Ч/Ц гистидины (жирный шрифт)



ФИГ.1С

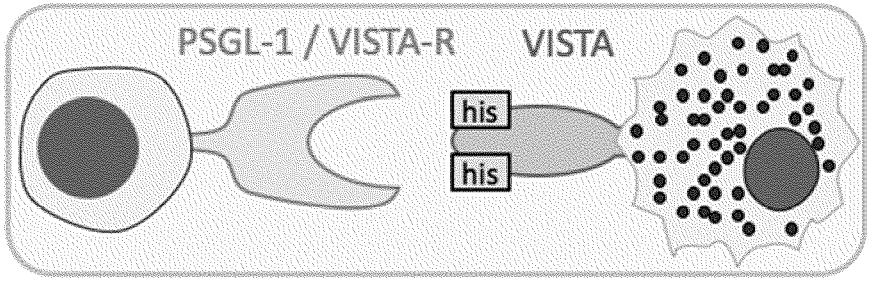


ФИГ.2А

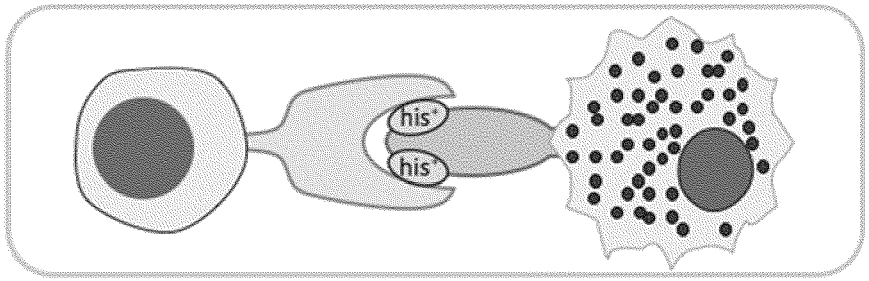


$pK_a \sim 6.5$

ФИГ.2В

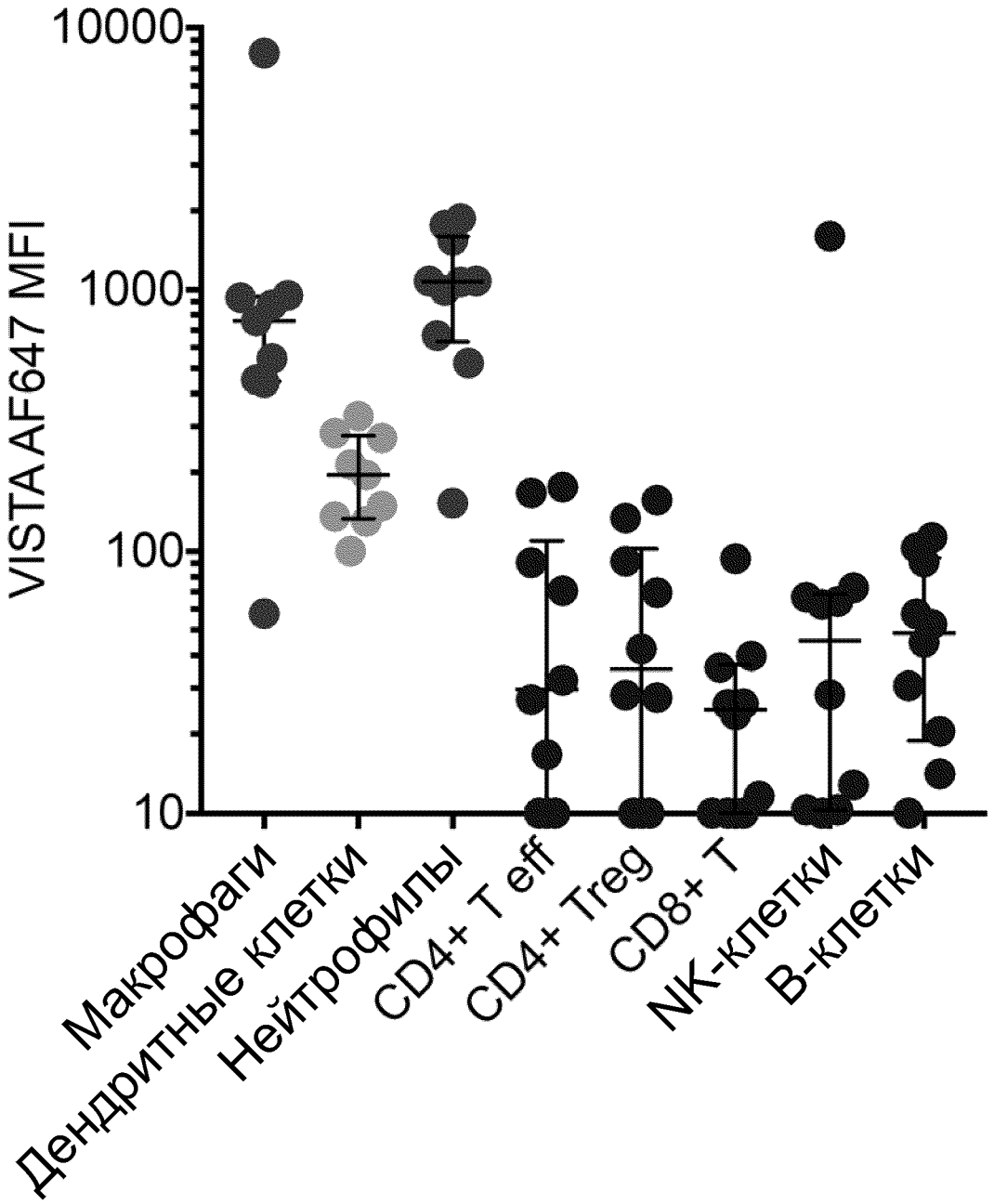


Физиологический pH (~7,4)

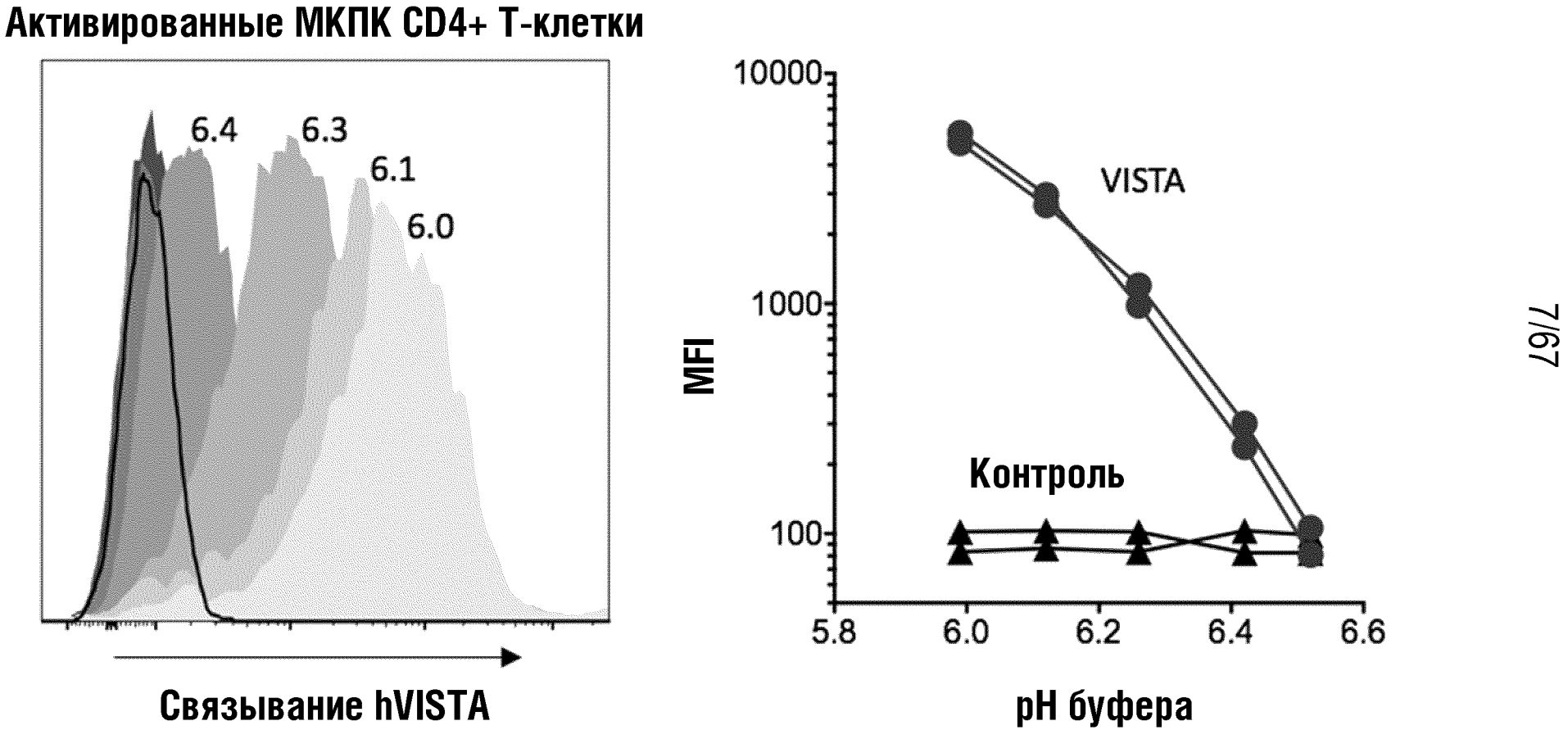


Кислотный pH (микроокружение опухоли или другая воспаленная ткань)

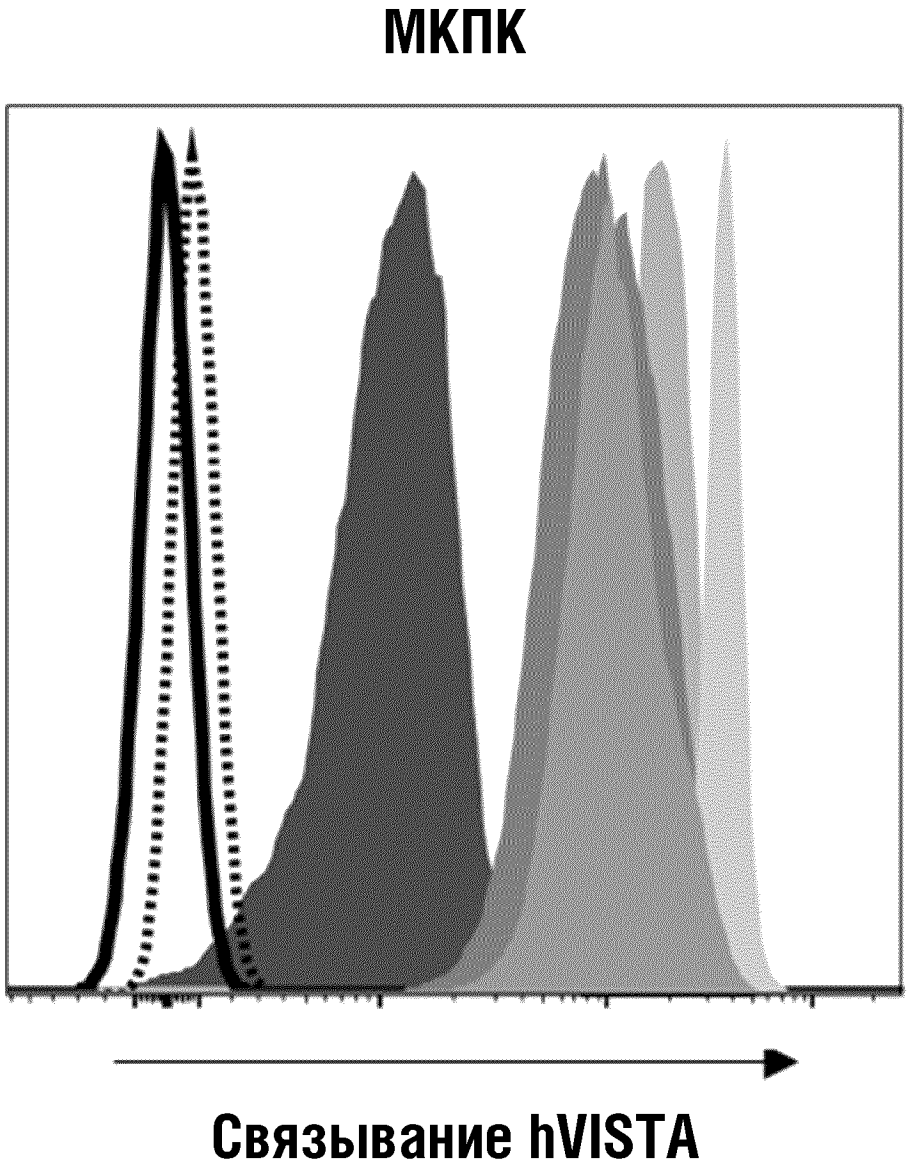
ФИГ.3


10000
1000
100
10
VISTA AF647 MFI
Макрофаги
Дендритные клетки
Нейтрофилы
CD4+ T eff
CD4+ Treg
CD8+ T
NK-клетки
B-клетки

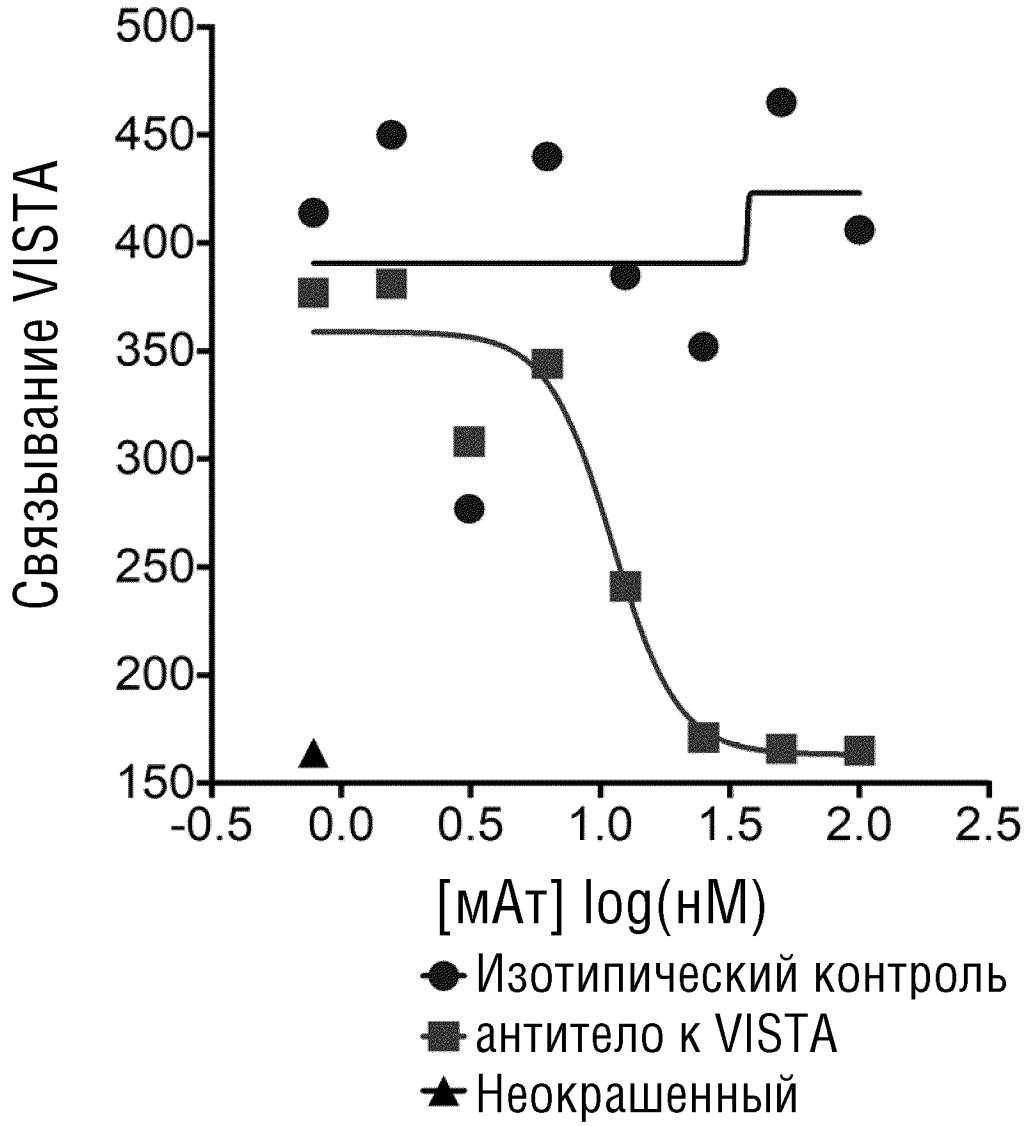
ФИГ.4А


Активированные МКПК CD4+ Т-клетки
6.4
6.3
6.1
6.0
Связывание hVISTA
10000
1000
100
MFI
VISTA
Контроль
5.8
6.0
6.2
6.4
6.6
pH буфера

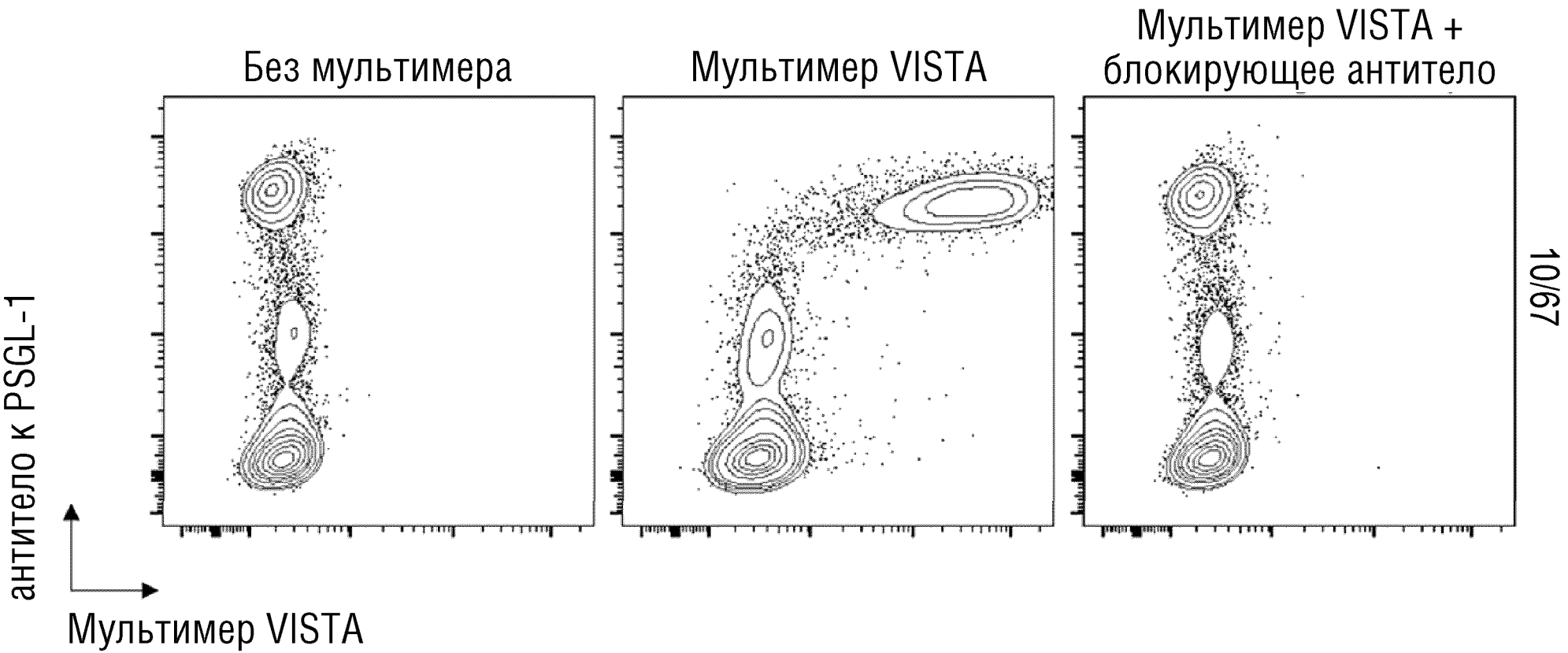
ФИГ.4В



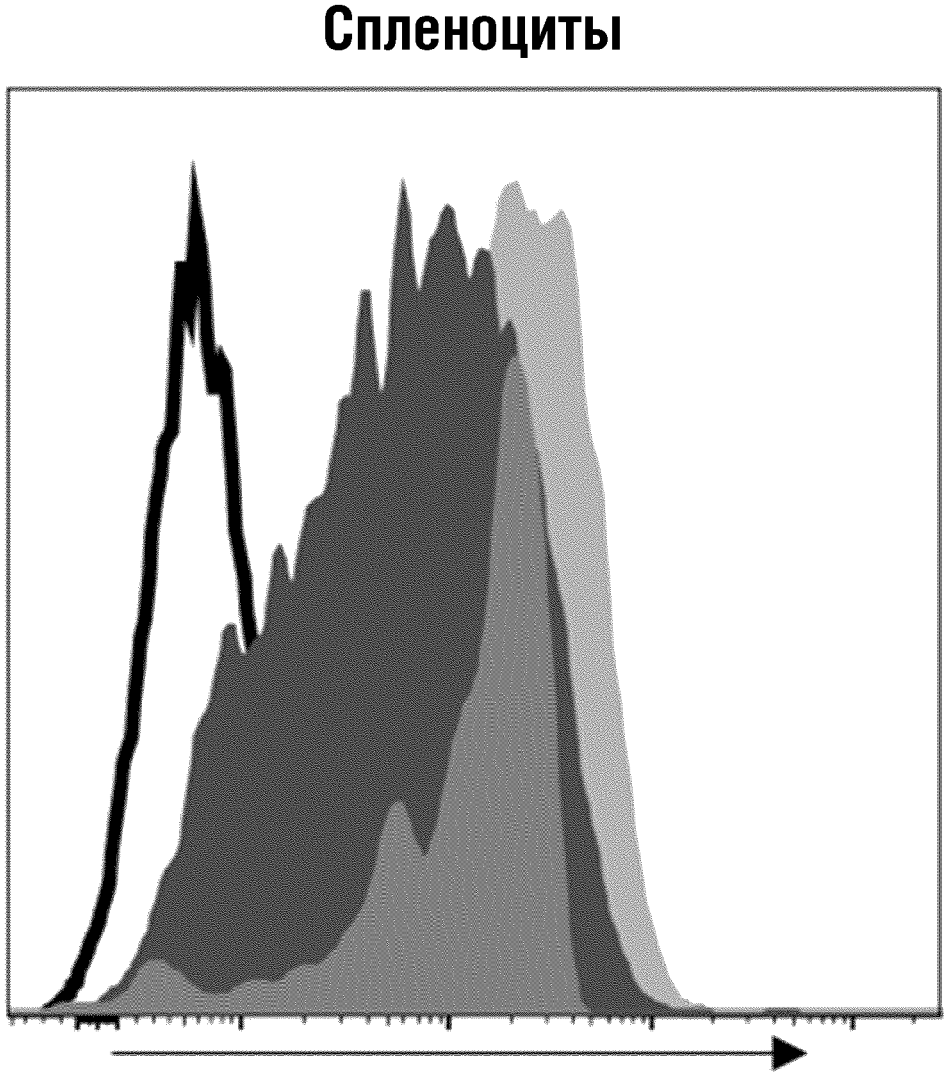
ФИГ.4С


500
450
400
350
300
250
200
150
Связывание VISTA
-0.5
0.0
0.5
1.0
1.5
2.0
2.5
[мАт] log(нМ)
Изотипический контроль
антитело к VISTA
Неокрашенный

ФИГ.4D

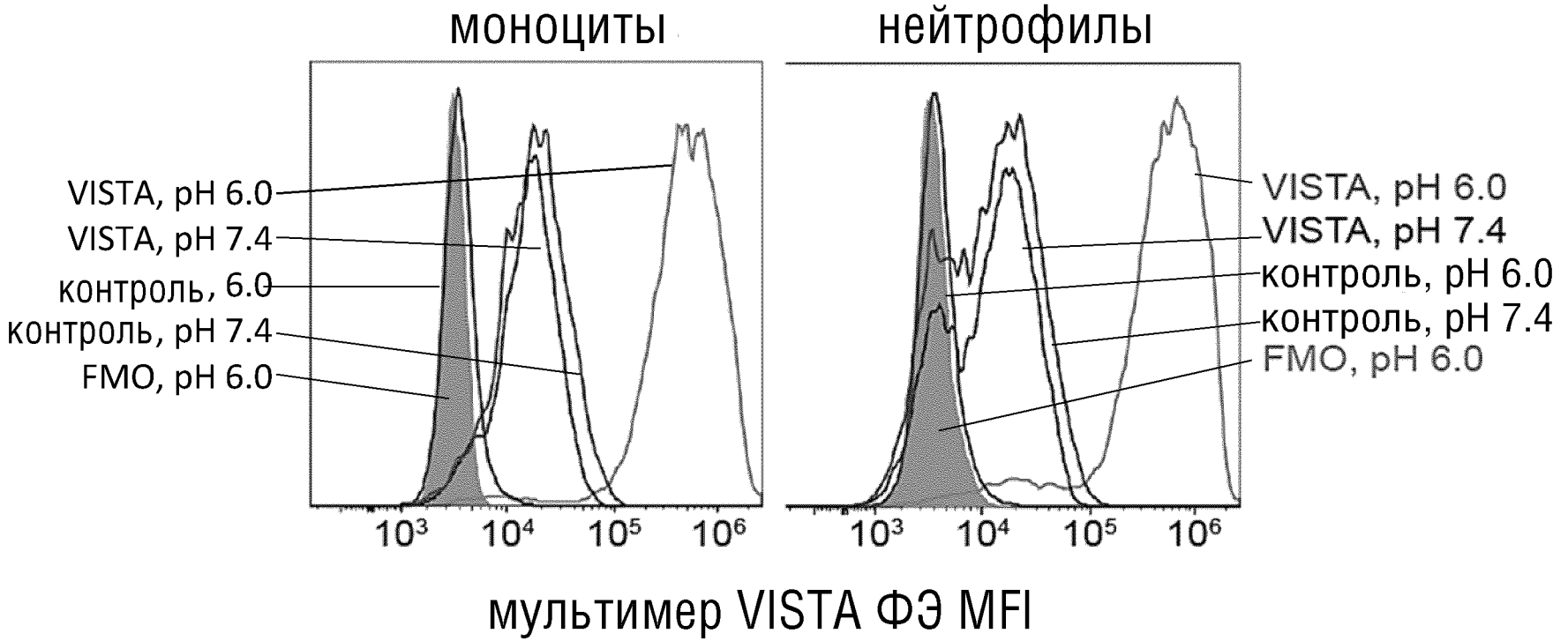

Без мультимера
Мультимер VISTA
Мультимер VISTA +
блокирующее антитело
10/67
антитело к PSGL-1
Мультимер VISTA

ФИГ.4E

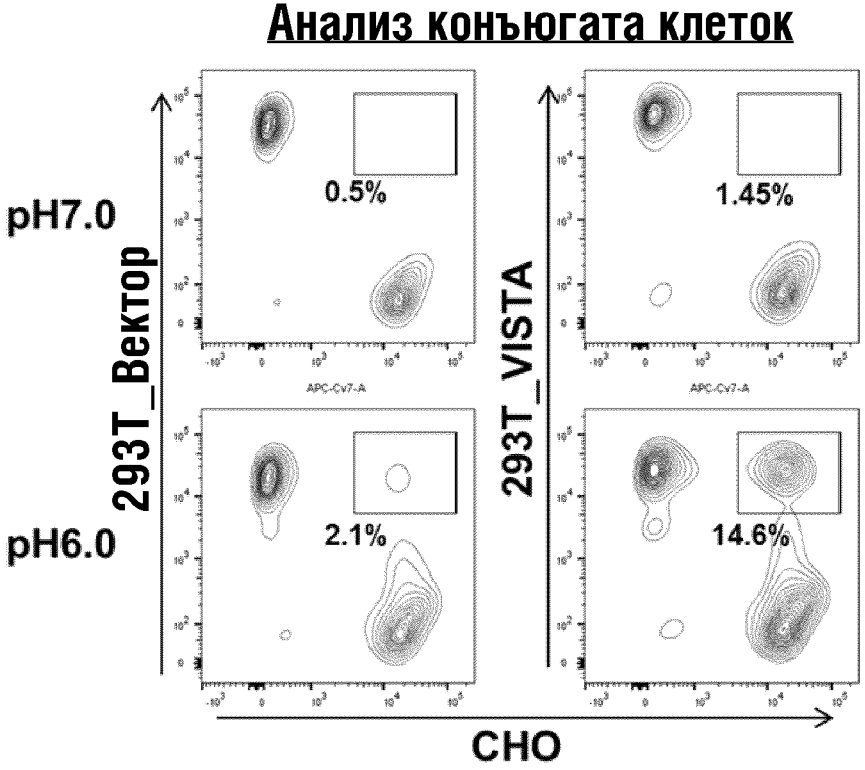


ФИГ.4F

ФИГ.4G


моноциты
нейтрофилы
VISTA, pH 6.0
VISTA, pH 7.4
контроль, 6.0
контроль, pH 7.4
FMO, pH 6.0
VISTA, pH 6.0
VISTA, pH 7.4
контроль, pH 6.0
контроль, pH 7.4
FMO, pH 6.0
10³
10⁴
10⁵
10⁶
мультимер VISTA ФЭ MFI

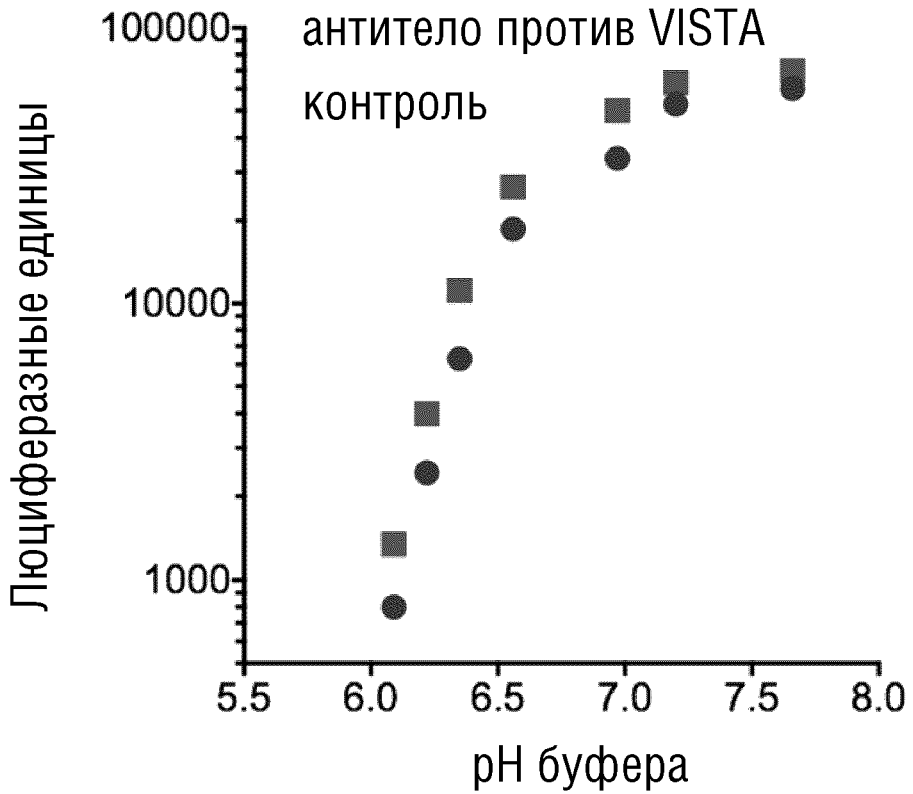
ФИГ.5А


Анализ конъюгата клеток
pH7.0
pH6.0
293T_Вектор
293T_VISTA
0.5%
1.45%
2.1%
14.6%
APC-Cy7-A
CHO

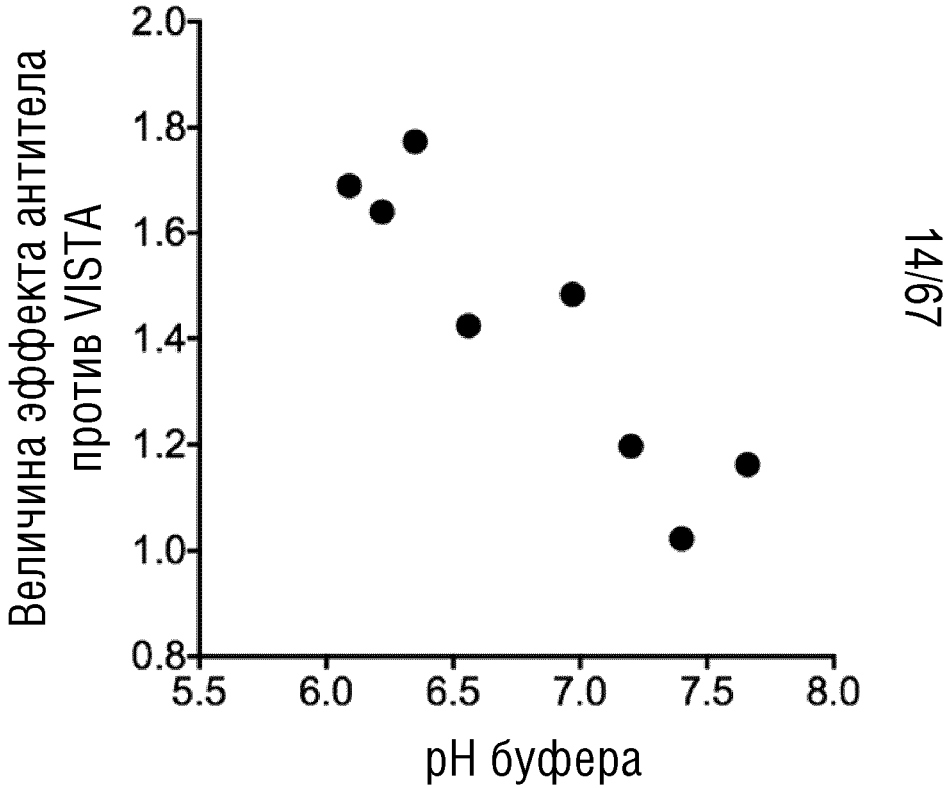
ФИГ.5В

Образование конъюгата 293
Процент конъюгатов
15
10
5
293T_Исходные + + + + + - - - - -
293T_VISTA - - - - - + + + + +
проводили при pH 6.0
hIgG1 cAb
блокирующее мАт против VISTA
mIgG2b cAb
неблокирующее мАт против VISTA

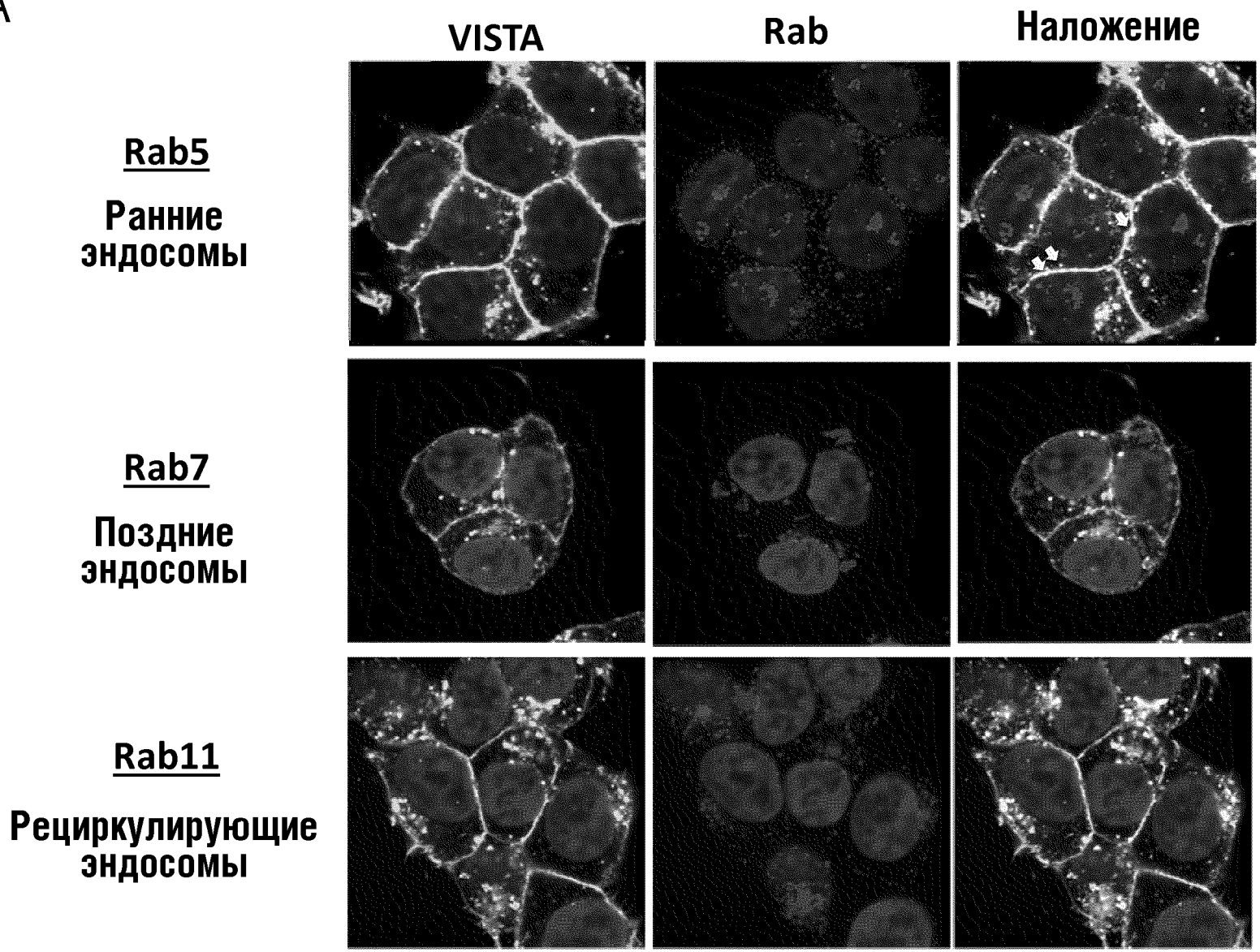
ФИГ.5C


антитело против VISTA
контроль
Люциферазные единицы
100000
10000
1000
5.5
6.0
6.5
7.0
7.5
8.0
pH буфера

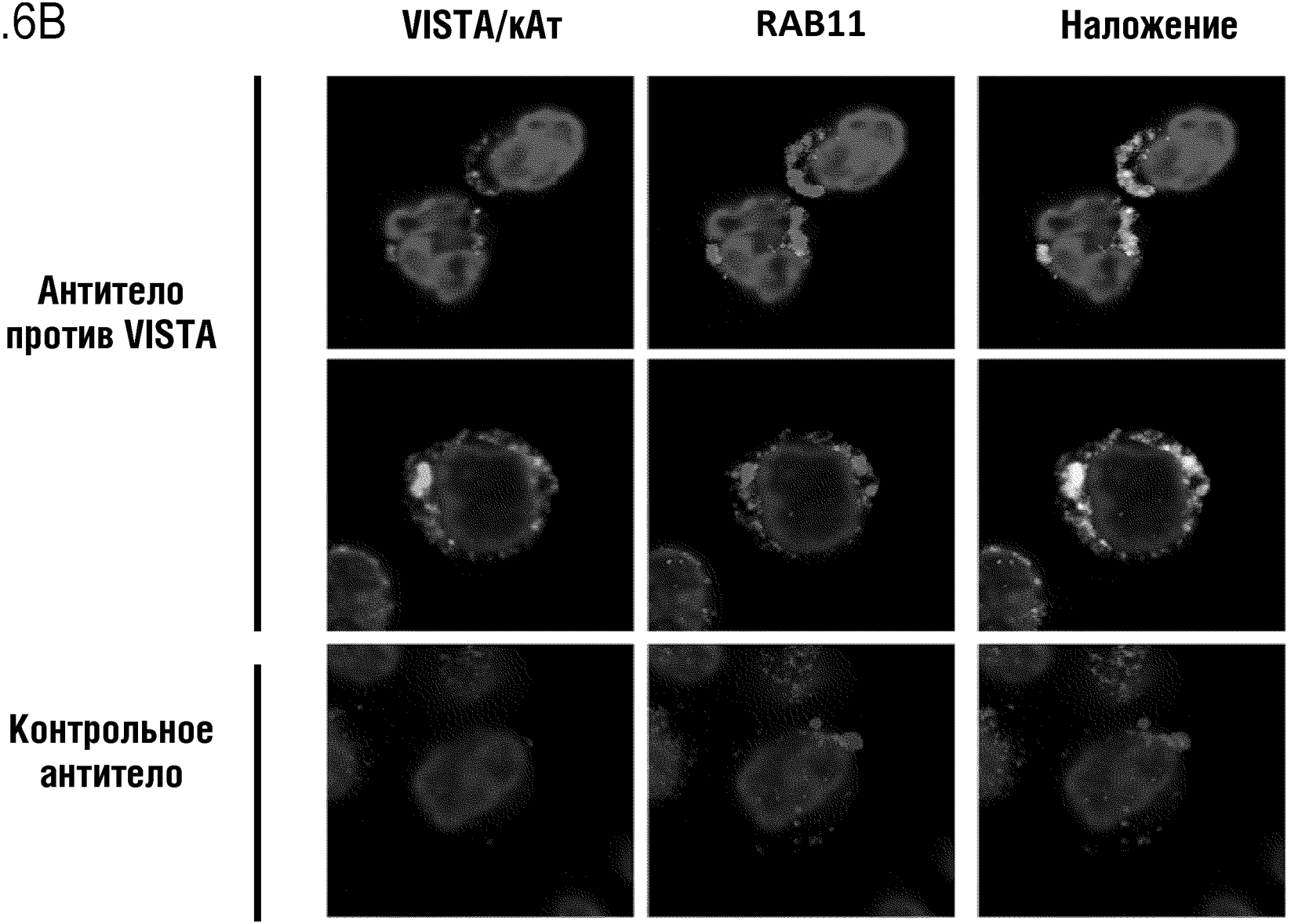
ФИГ.5D


Величина эффекта антитела против VISTA
2.0
1.8
1.6
1.4
1.2
1.0
0.8
5.5
6.0
6.5
7.0
7.5
8.0
pH буфера

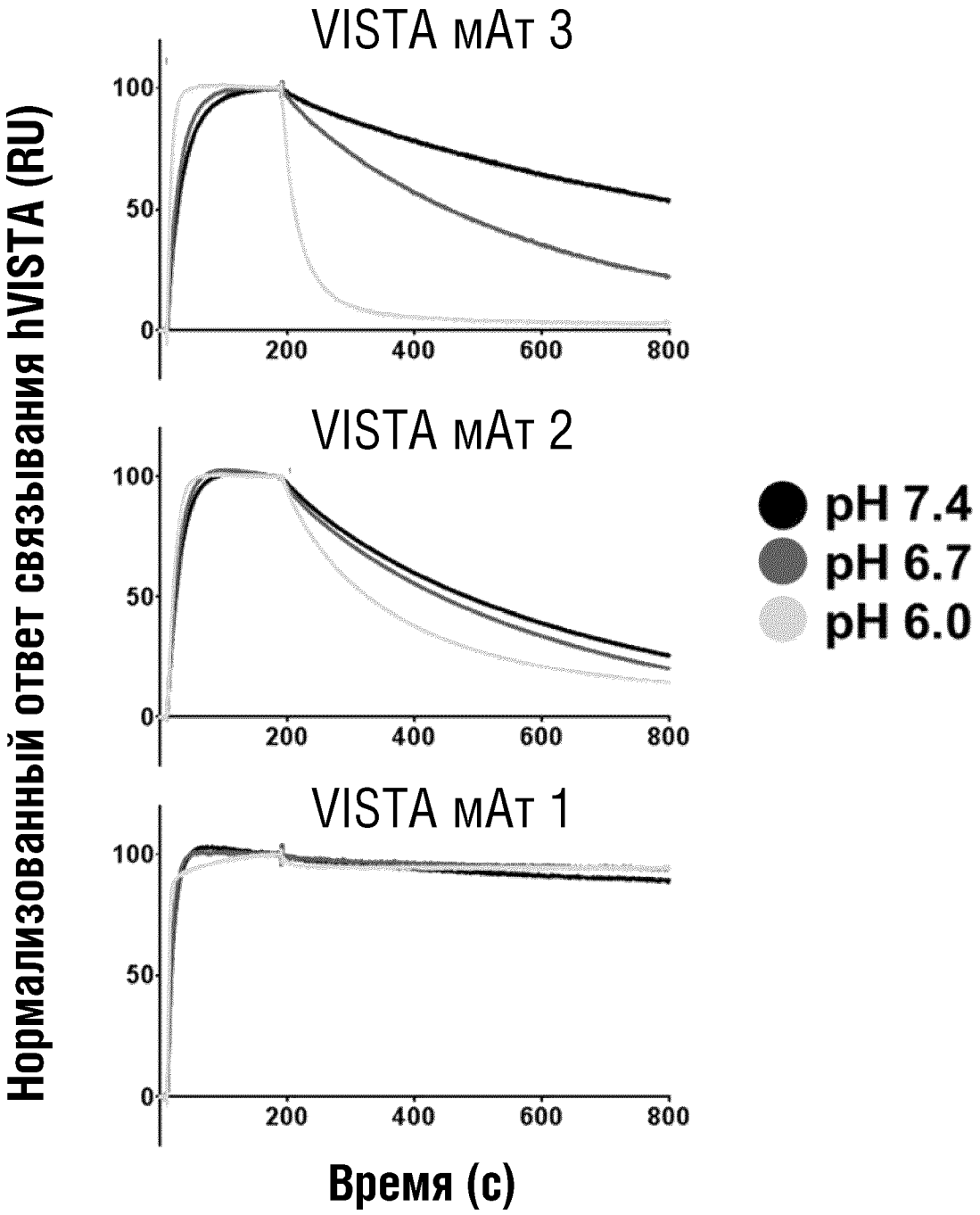
ФИГ.6А


VISTA
Rab
Наложение
Rab5
Ранние эндосомы
Rab7
Поздние эндосомы
Rab11
Рециркулирующие эндосомы

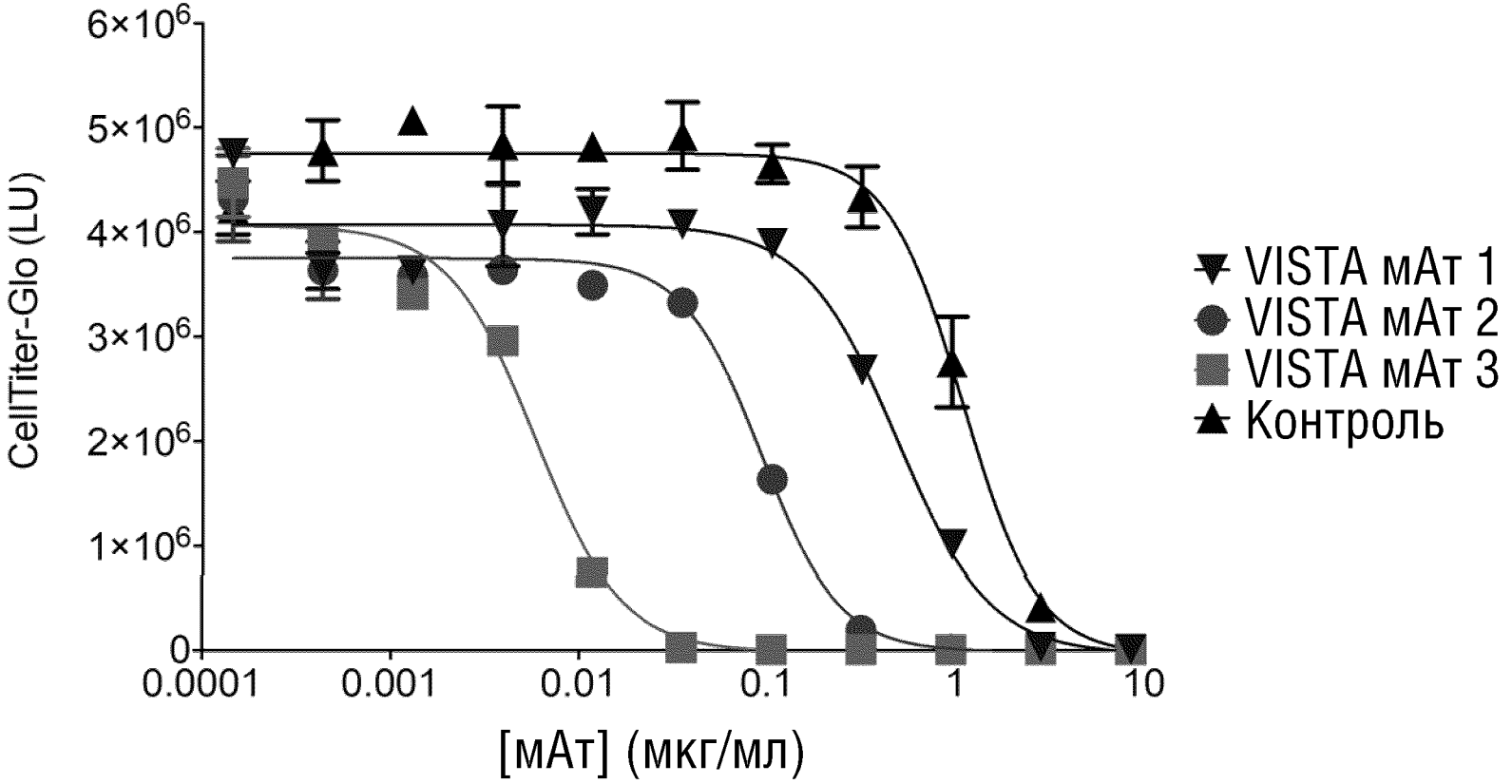
ФИГ.6B


VISTA/кАт
RAB11
Наложение
Антитело против VISTA
Контрольное антитело

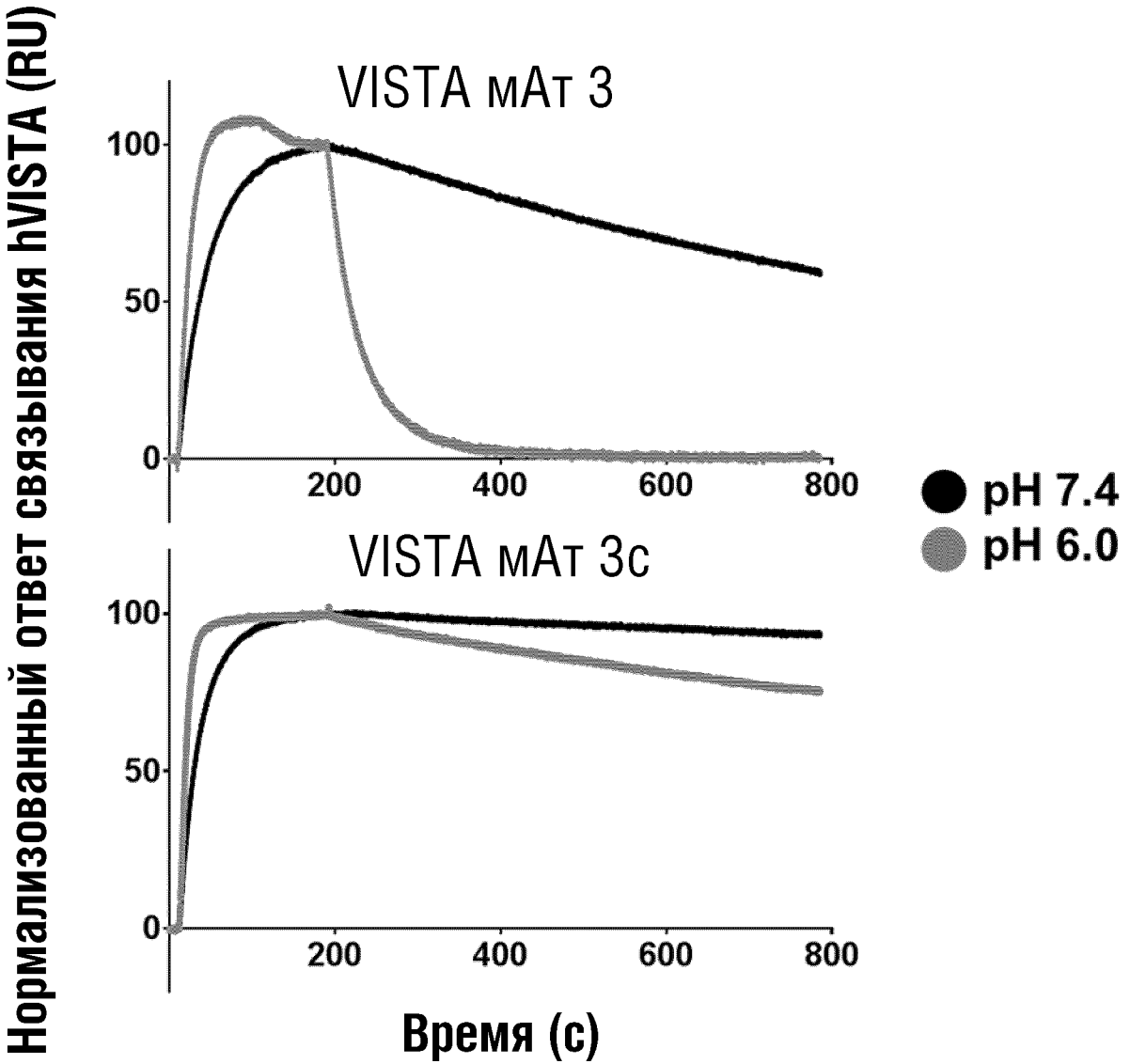
ФИГ.6С


VISTA мАт 3
VISTA мАт 2
VISTA мАт 1
100
50
0
200
400
600
800
Нормализованный ответ связывания hVISTA (RU)
Время (с)
pH 7.4
pH 6.7
pH 6.0

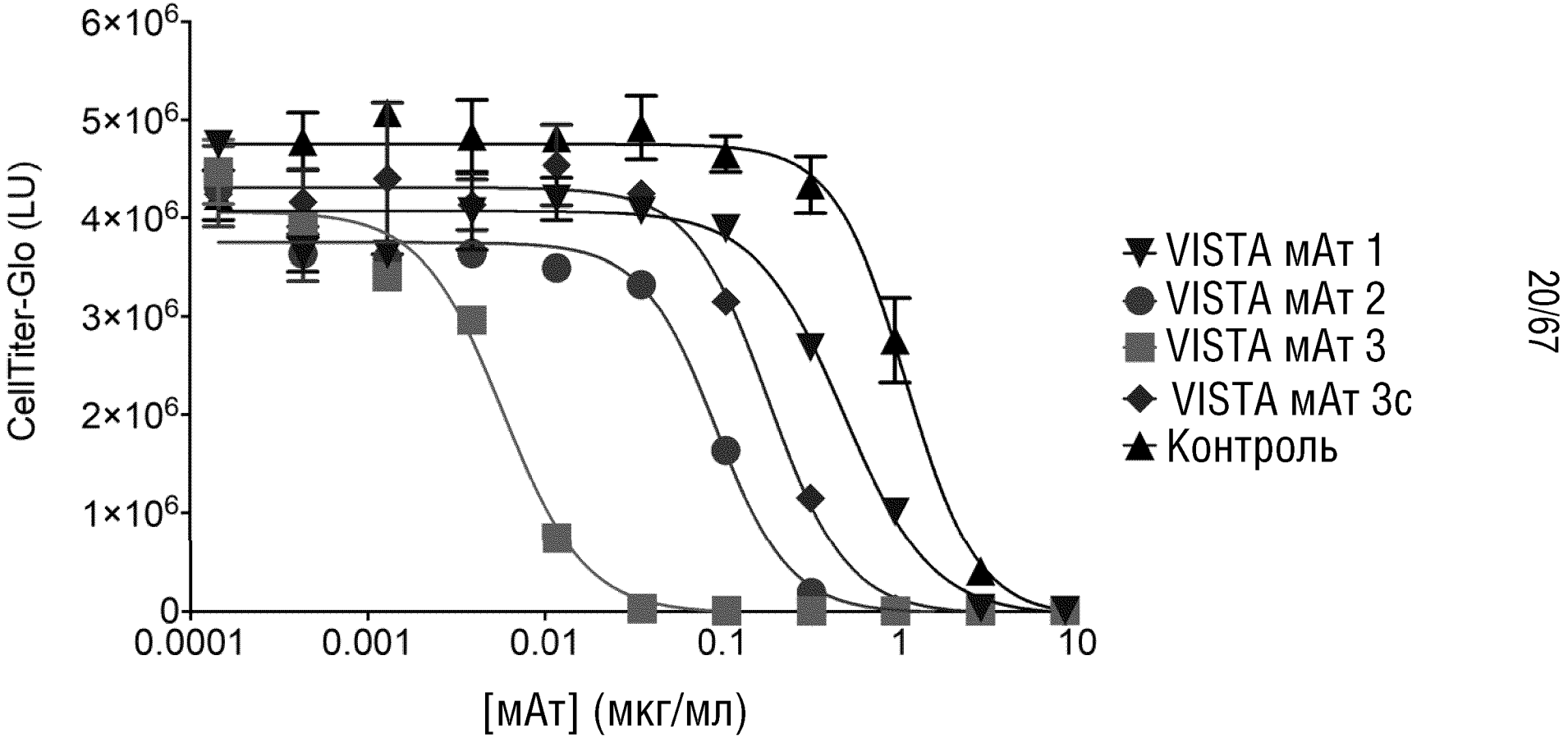
ФИГ.6D


6×10^6
5×10^6
4×10^6
3×10^6
2×10^6
1×10^6
0
CellTiter-Glo (LU)
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
[мАт] (мкг/мл)
VISTA мАт 1
VISTA мАт 2
VISTA мАт 3
Контроль

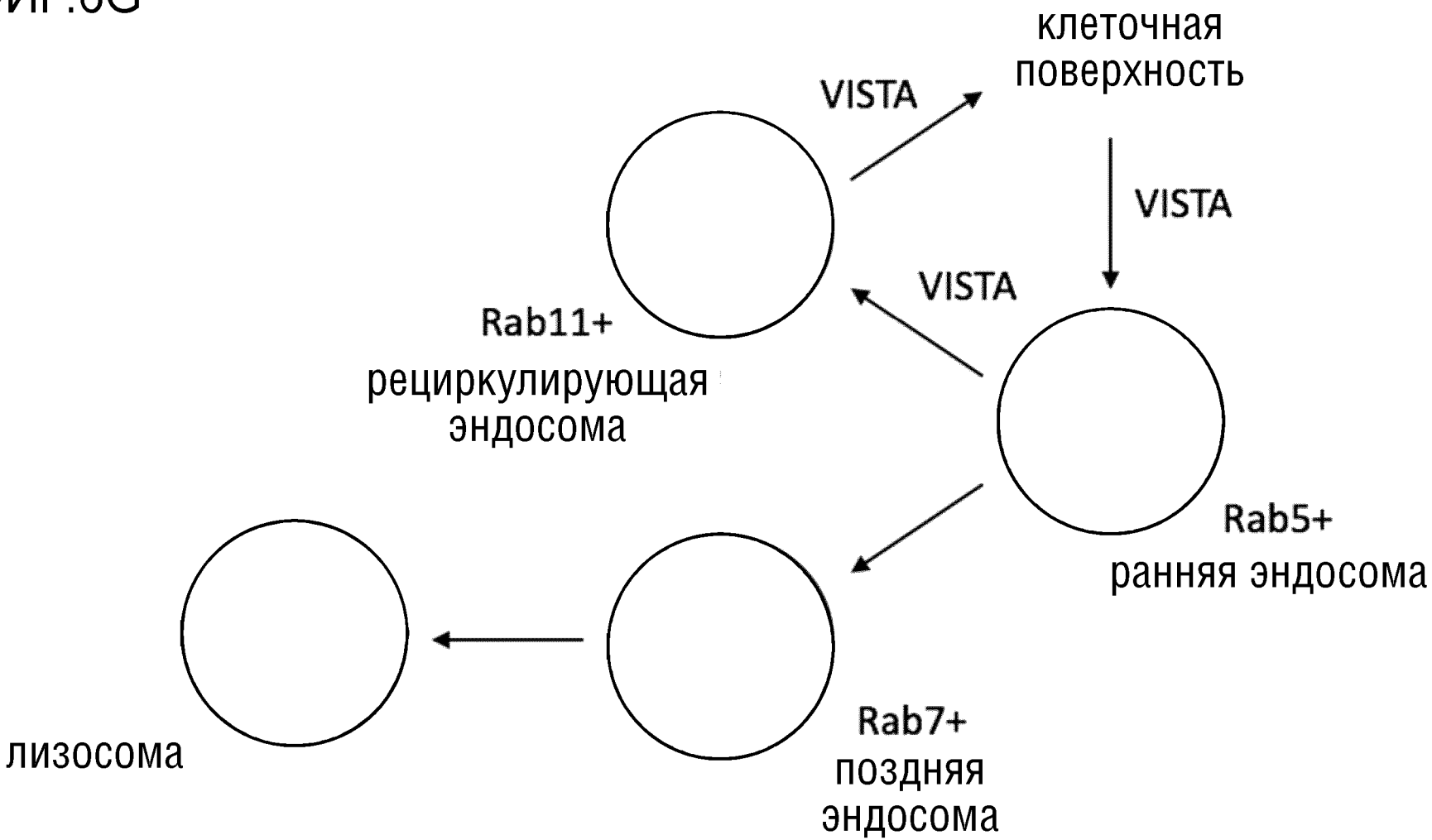
ФИГ.6E


VISTA мАт 3
VISTA мАт 3c
100
50
0
200
400
600
800
Нормализованный ответ связывания hVISTA (RU)
Время (с)
pH 7.4
pH 6.0

ФИГ.6F


6×10^6
5×10^6
4×10^6
3×10^6
2×10^6
1×10^6
0
CellTiter-Glo (LU)
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
[мАт] (мкг/мл)
VISTA мАт 1
VISTA мАт 2
VISTA мАт 3
VISTA мАт 3c
Контроль

ФИГ.6G

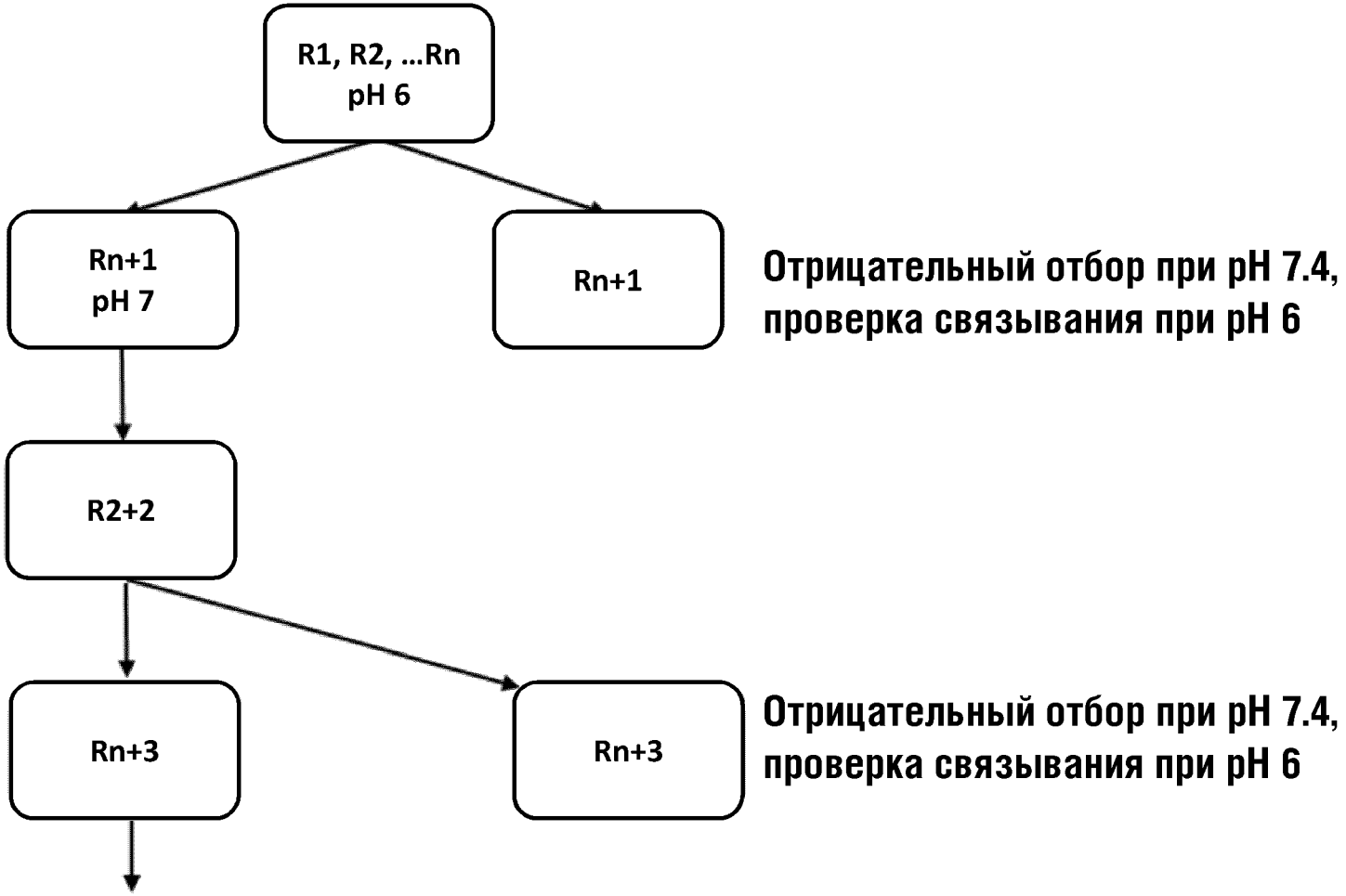

клеточная
поверхность
VISTA
VISTA
VISTA
Rab11+
рециркулирующая
эндосома
Rab5+
ранняя эндосома
Rab7+
поздняя
эндосома
лизосома

ФИГ.7А

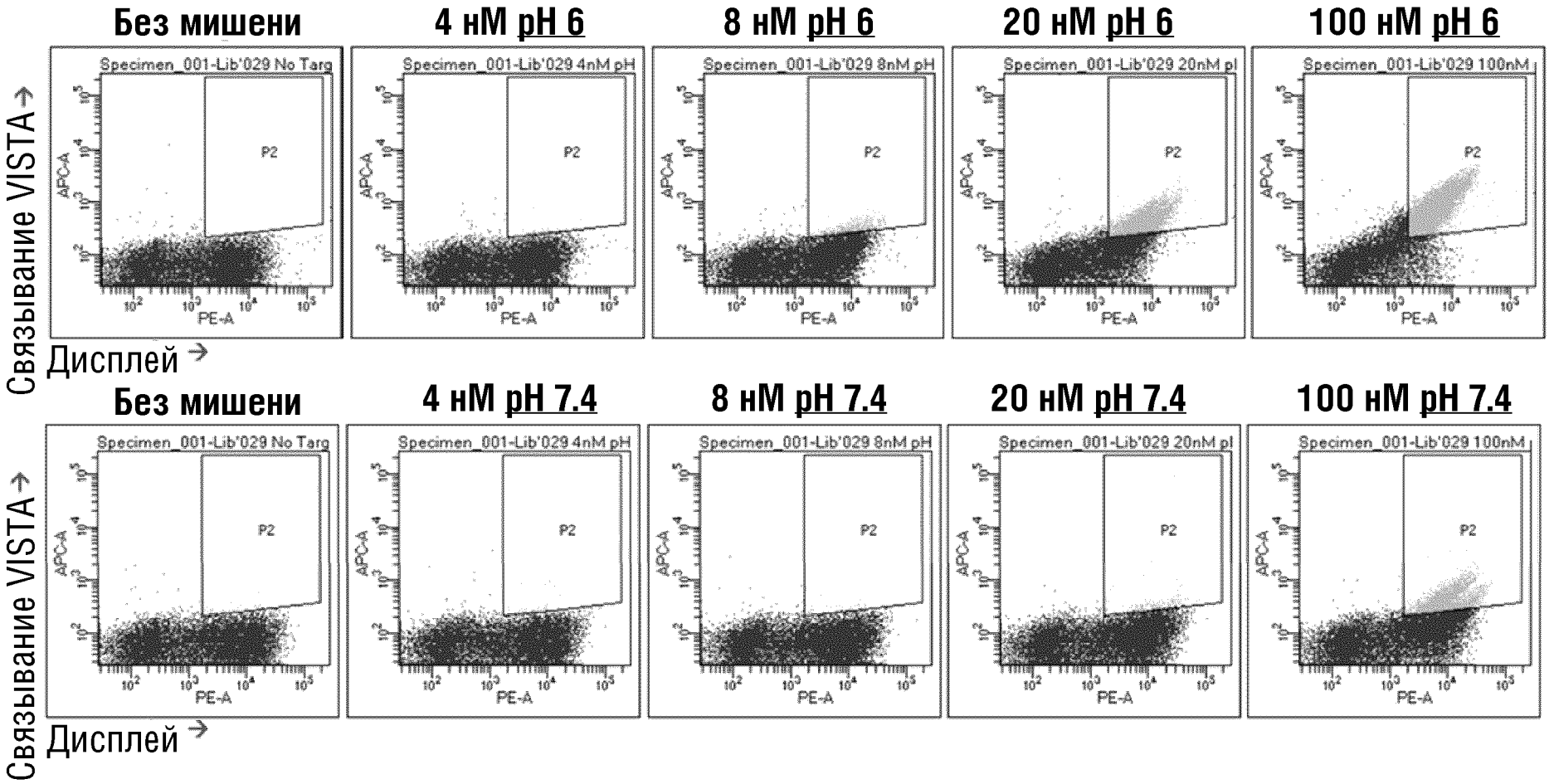
P1-061029 HCDR3 чип олиги

1. X=H, D или E
2. Последовательности в квадратных скобках исключали из синтеза, чтобы избежать введения склонностей
3. Всего синтезировали 647 уникальных последовательностей HCDR3 P1-061029 с 1-2 мутациями

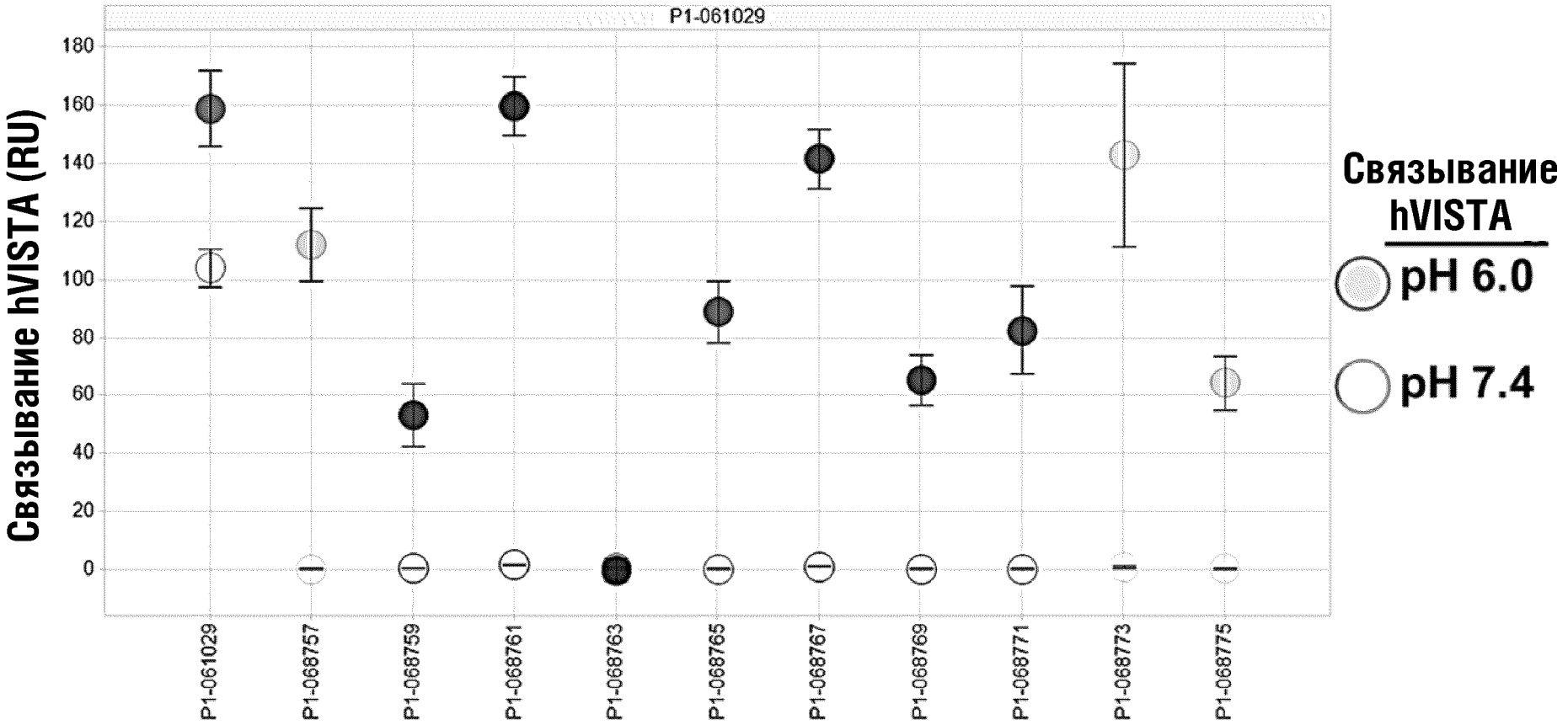
ФИГ.7В


R1, R2, ...Rn
pH 6
Rn+1
pH 7
Rn+1
Отрицательный отбор при pH 7.4,
проверка связывания при pH 6
R2+2
Rn+3
Rn+3
Отрицательный отбор при pH 7.4,
проверка связывания при pH 6

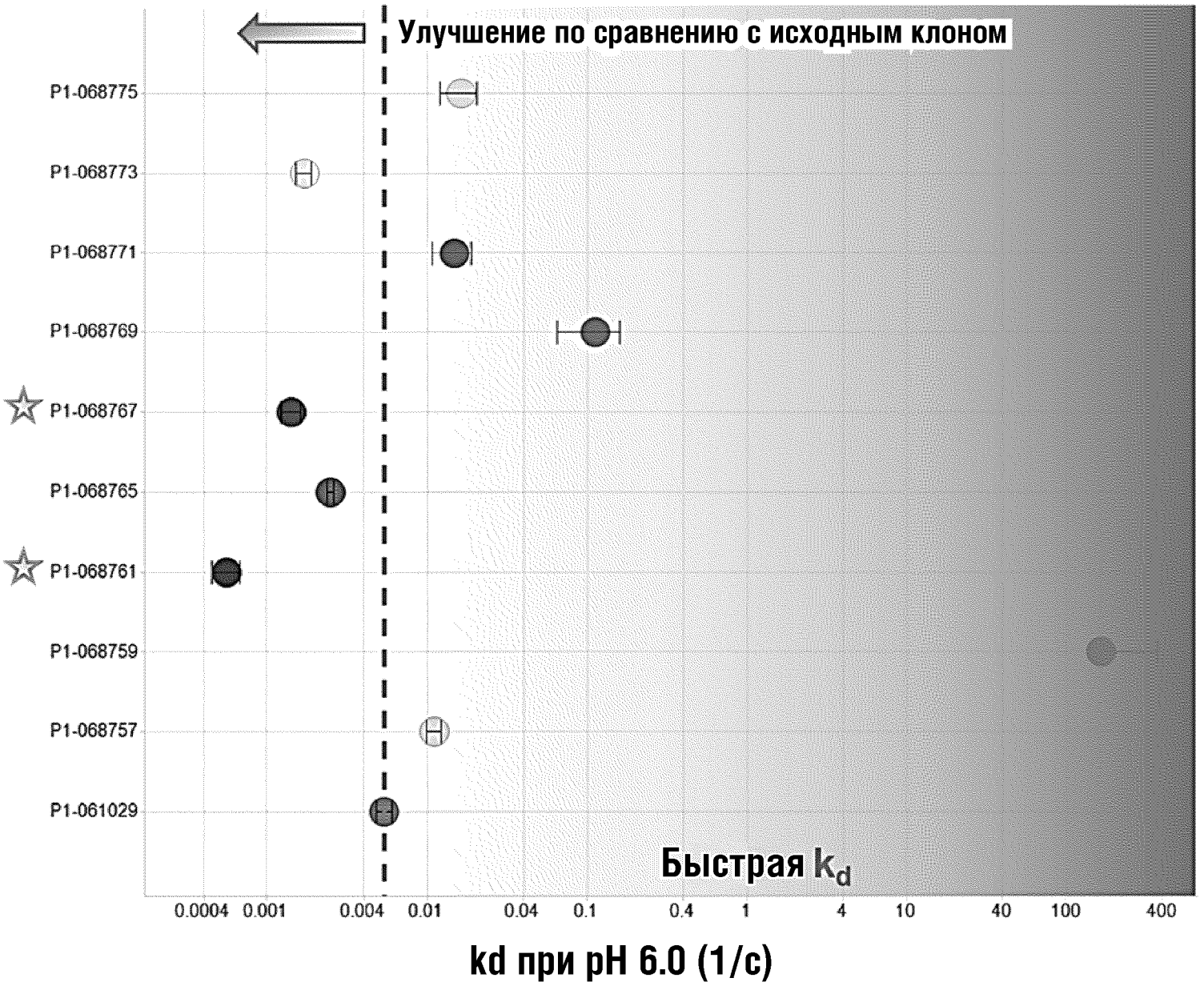
ФИГ.7С


Без мишени
4 нМ pH 6
8 нМ pH 6
20 нМ pH 6
100 нМ pH 6
Specimen_001-Lib'029 No Targ
Specimen_001-Lib'029 4nM pH
Specimen_001-Lib'029 8nM pH
Specimen_001-Lib'029 20nM pI
Specimen_001-Lib'029 100nM
P2
APC-A
PE-A
Связывание VISTA →
Дисплей →
Без мишени
4 нМ pH 7.4
8 нМ pH 7.4
20 нМ pH 7.4
100 нМ pH 7.4
Specimen_001-Lib'029 No Targ
Specimen_001-Lib'029 4nM pH
Specimen_001-Lib'029 8nM pH
Specimen_001-Lib'029 20nM pI
Specimen_001-Lib'029 100nM
P2
APC-A
PE-A
Связывание VISTA →
Дисплей →

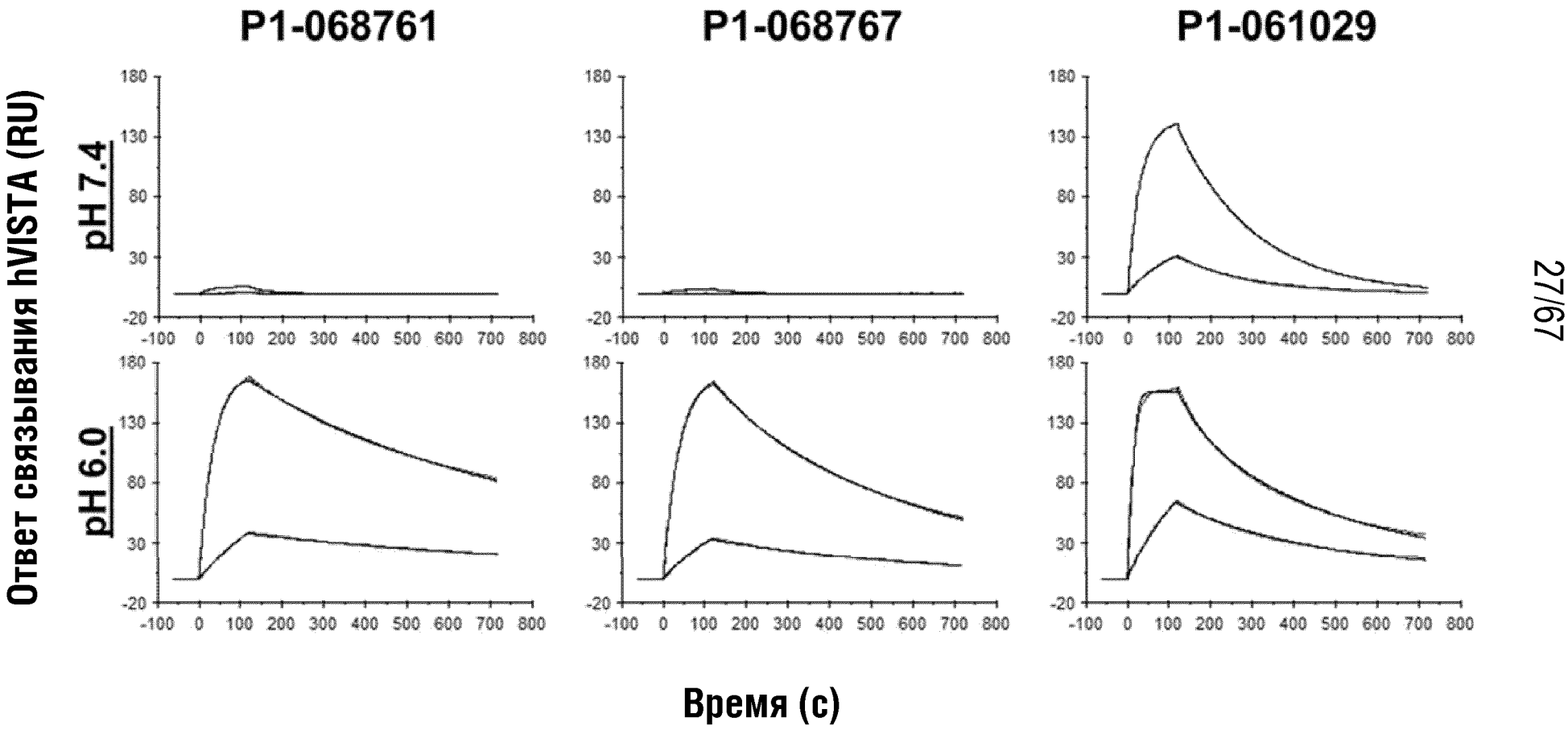
ФИГ.7D


P1-061029
Связывание hVISTA (RU)
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
P1-061029
P1-068757
P1-068759
P1-068761
P1-068763
P1-068765
P1-068767
P1-068769
P1-068771
P1-068773
P1-068775
Связывание hVISTA
pH 6.0
pH 7.4

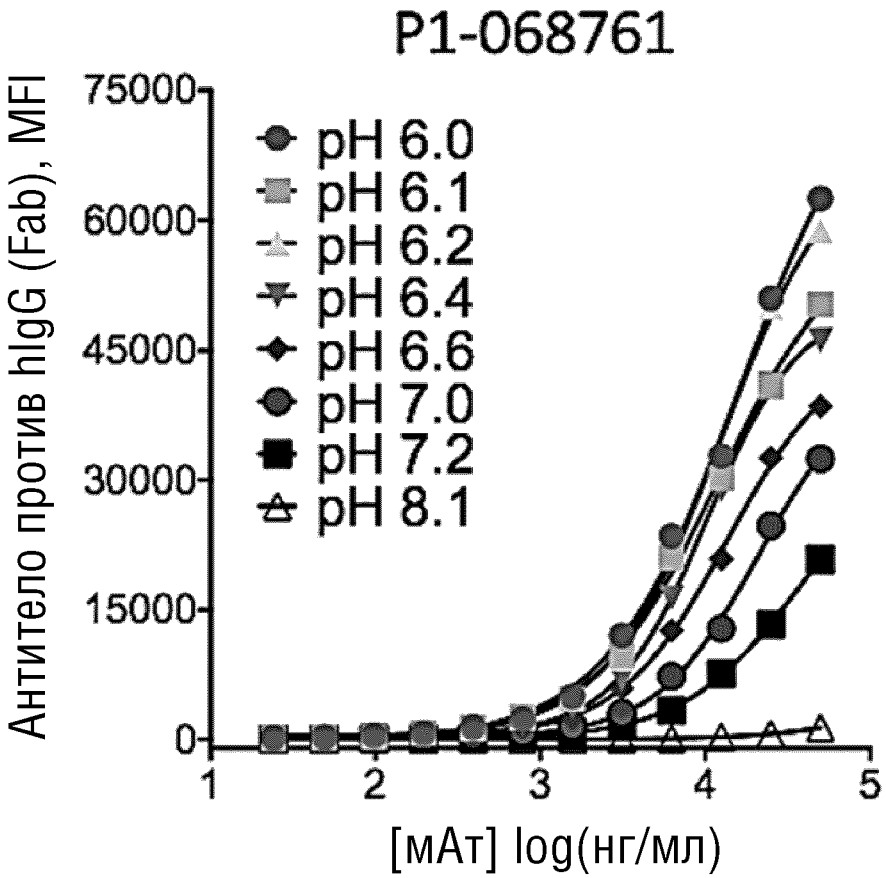
ФИГ.7E


Улучшение по сравнению с исходным клоном
P1-068775
P1-068773
P1-068771
P1-068769
P1-068767
P1-068765
P1-068761
P1-068759
P1-068757
P1-061029
Быстрая k_d
0.0004
0.001
0.004
0.01
0.04
0.1
0.4
1
4
10
40
100
400
kd при pH 6.0 (1/c)

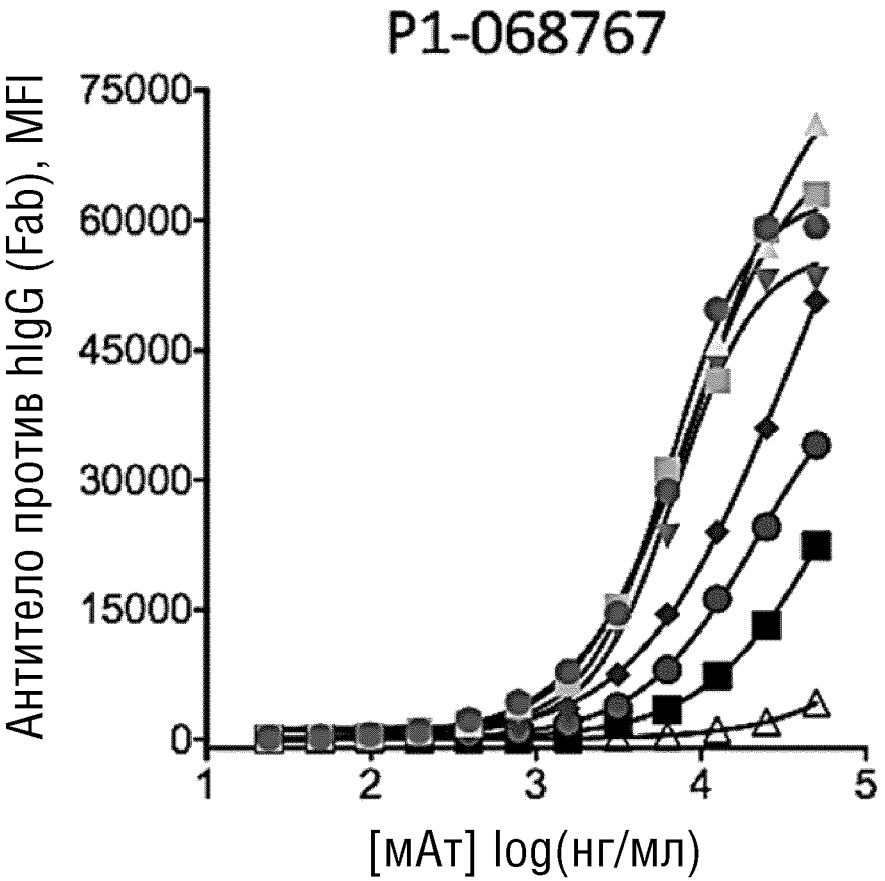
ФИГ.7F


P1-068761
P1-068767
P1-061029
pH 7.4
pH 6.0
Ответ связывания hVISTA (RU)
Время (с)
180
130
80
30
-20
-100
0
100
200
300
400
500
600
700
800

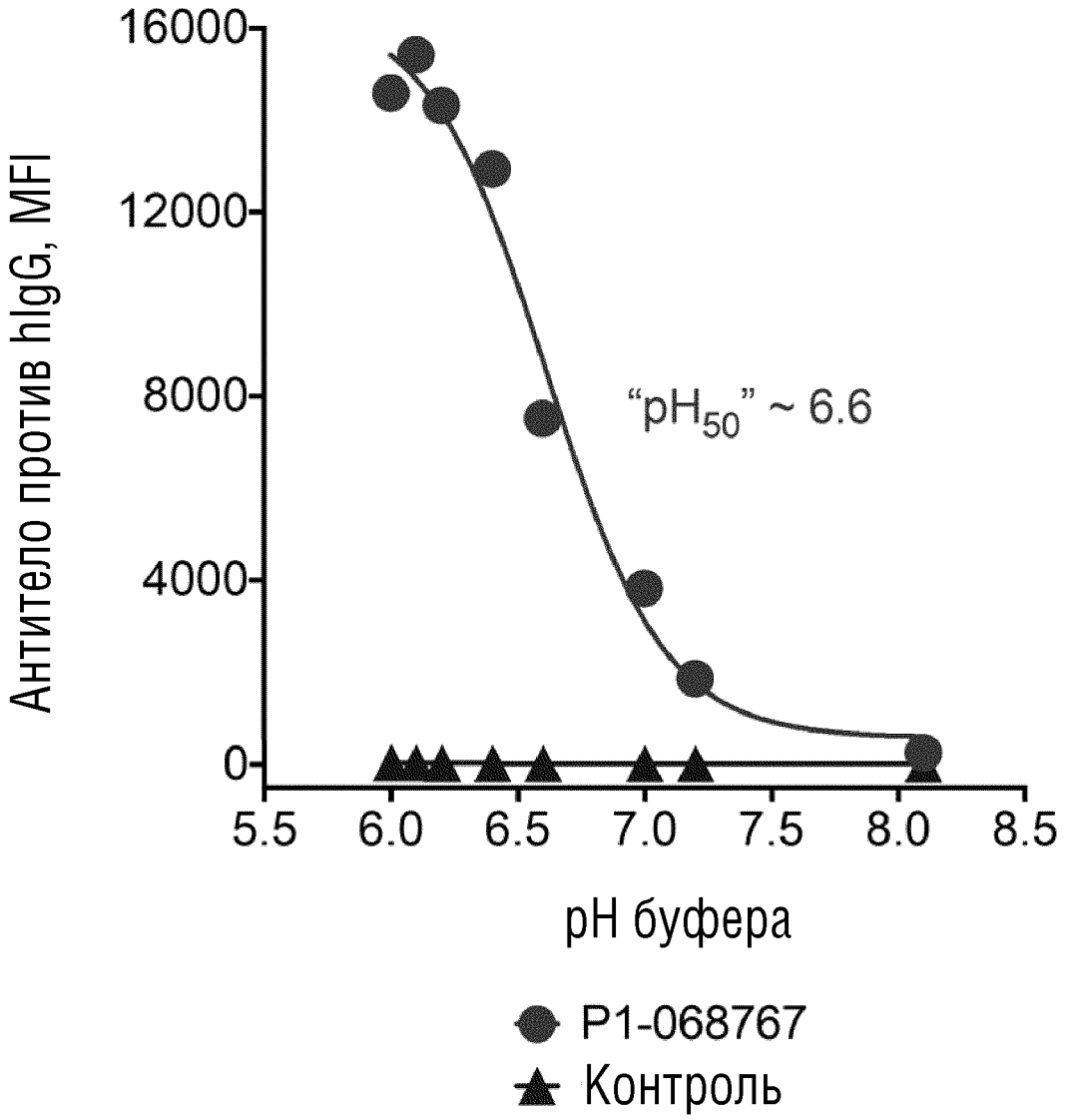
ФИГ.8А


P1-068761
Антитело против hIgG (Fab), MFI
75000
60000
45000
30000
15000
0
1
2
3
4
5
[мАт] log(нг/мл)
pH 6.0
pH 6.1
pH 6.2
pH 6.4
pH 6.6
pH 7.0
pH 7.2
pH 8.1

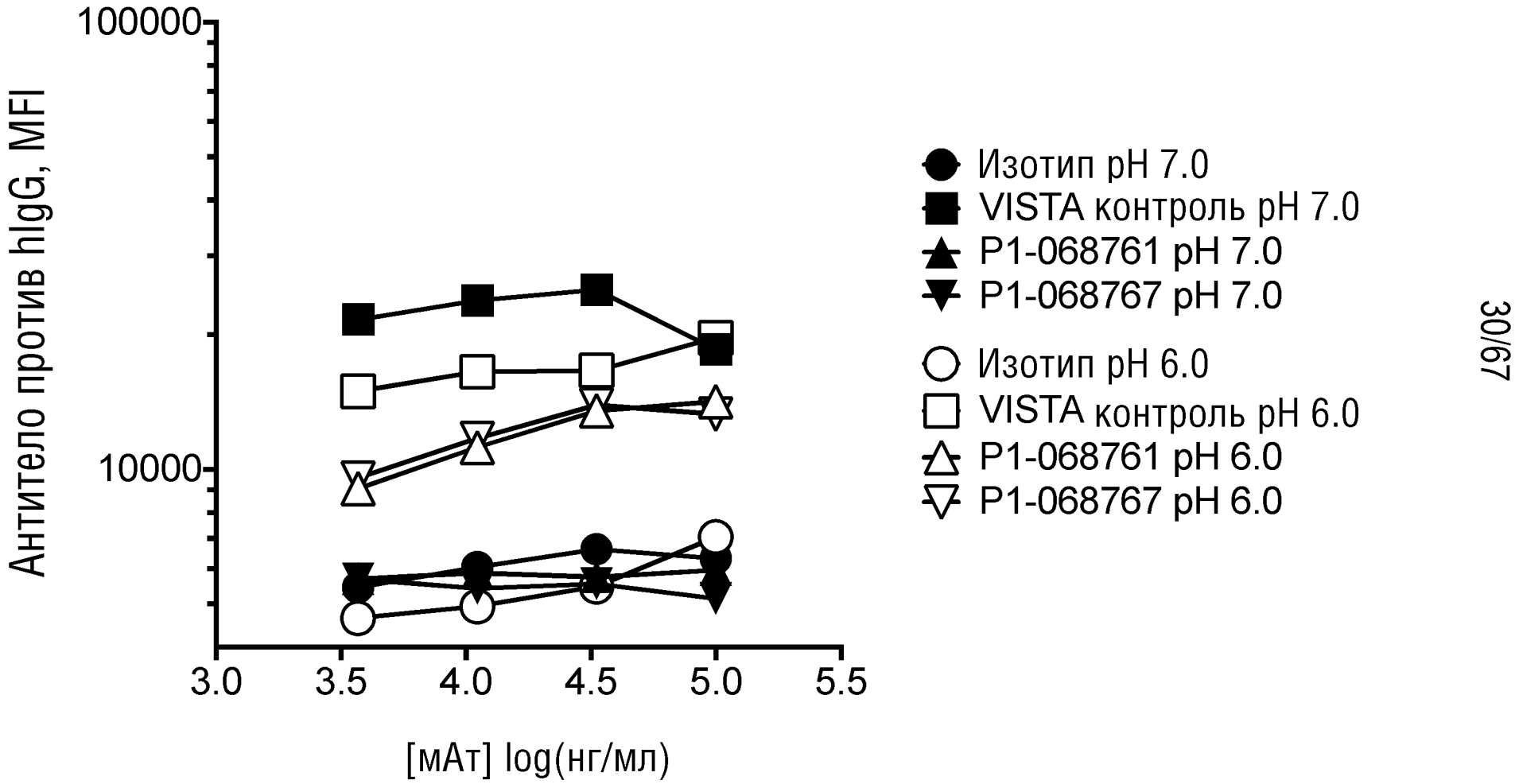
ФИГ.8В


P1-068767
Антитело против hIgG (Fab), MFI
75000
60000
45000
30000
15000
0
1
2
3
4
5
[мАт] log(нг/мл)

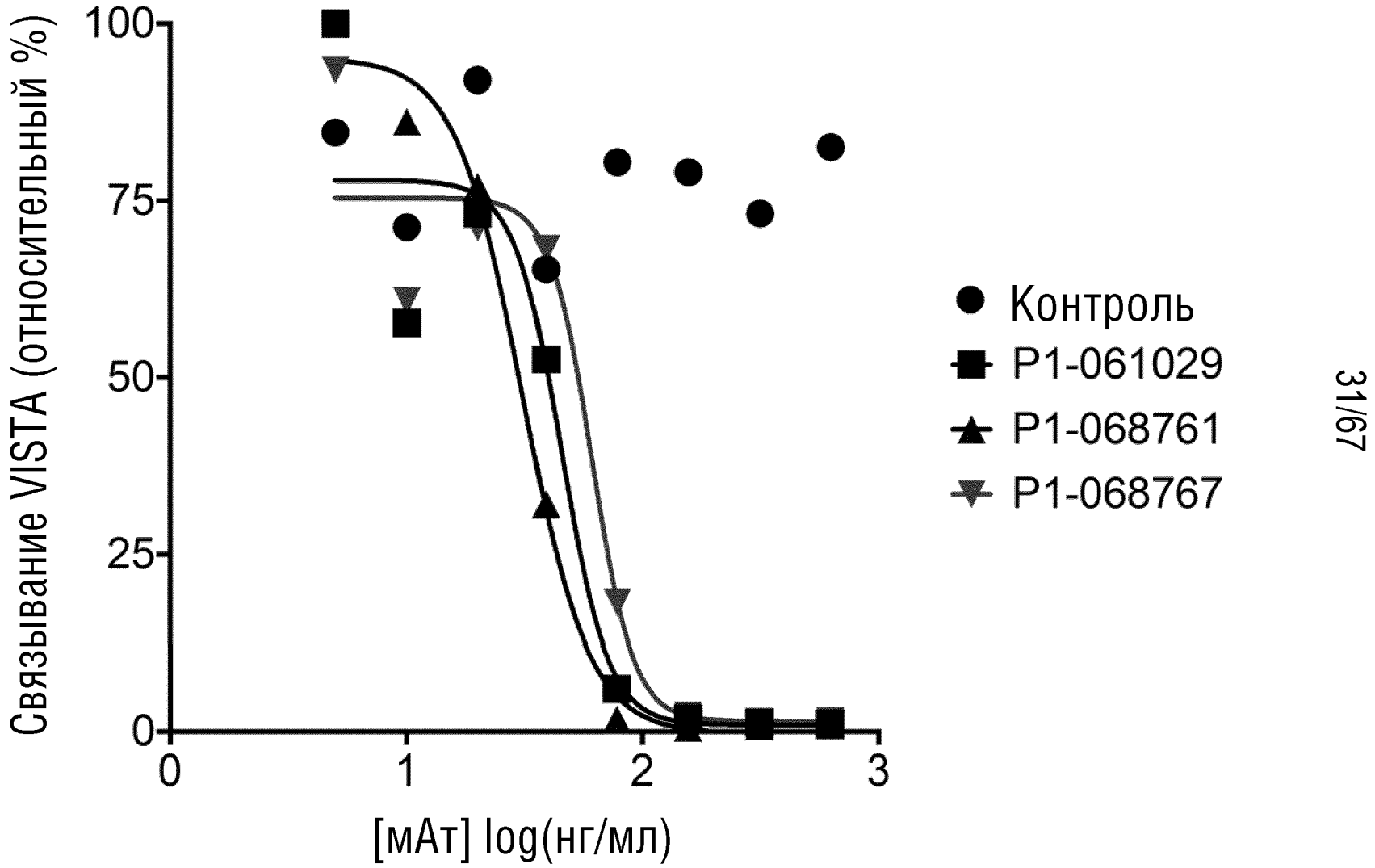
ФИГ.8С


16000
12000
8000
4000
0
Антитело против hIgG, MFI
"pH50" ~ 6.6
5.5
6.0
6.5
7.0
7.5
8.0
8.5
pH буфера
P1-068767
Контроль

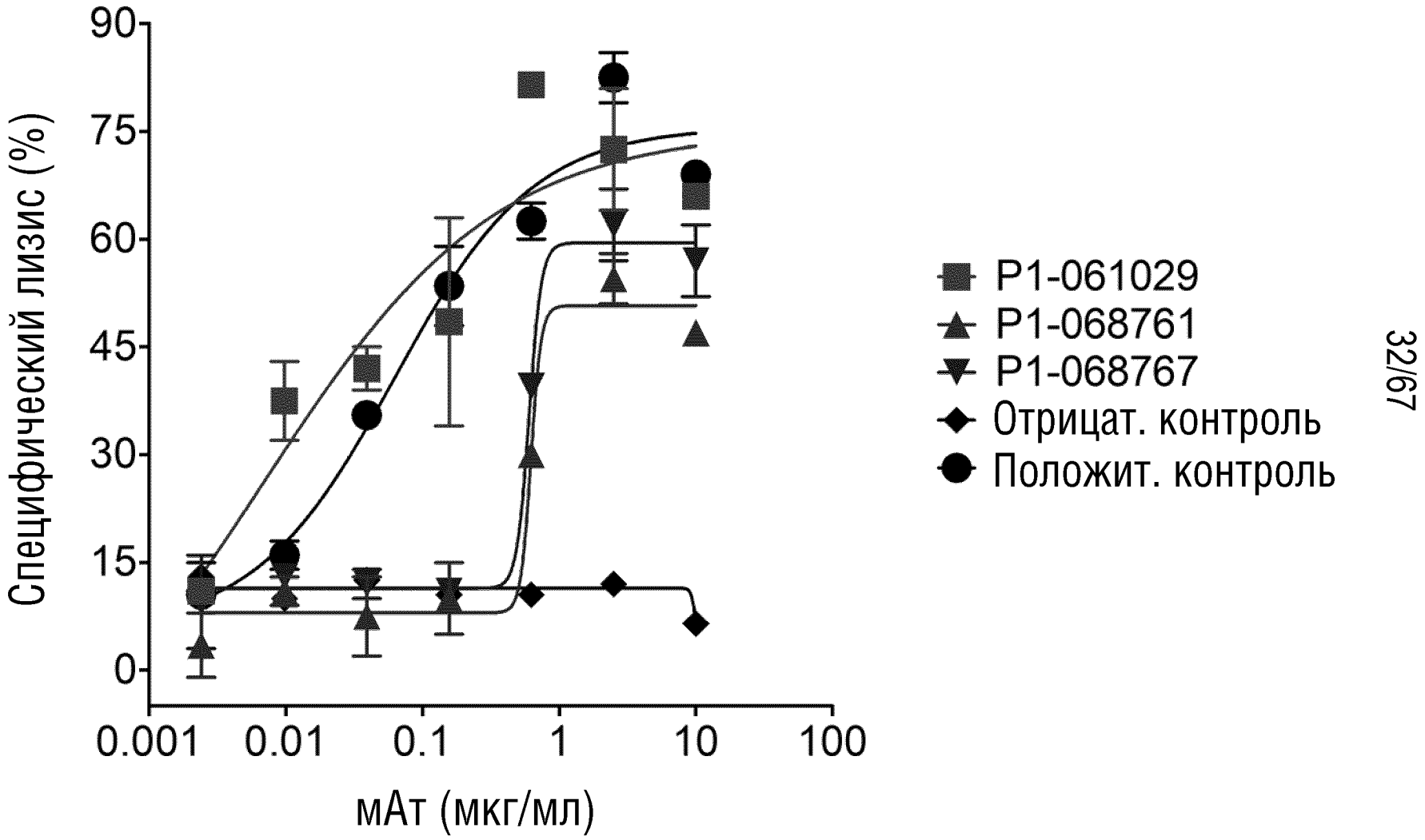
ФИГ.8D


100000
10000
Антитело против hIgG, MFI
3.0
3.5
4.0
4.5
5.0
5.5
[мАт] log(нг/мл)
Изотип pH 7.0
VISTA контроль pH 7.0
P1-068761 pH 7.0
P1-068767 pH 7.0
Изотип pH 6.0
VISTA контроль pH 6.0
P1-068761 pH 6.0
P1-068767 pH 6.0

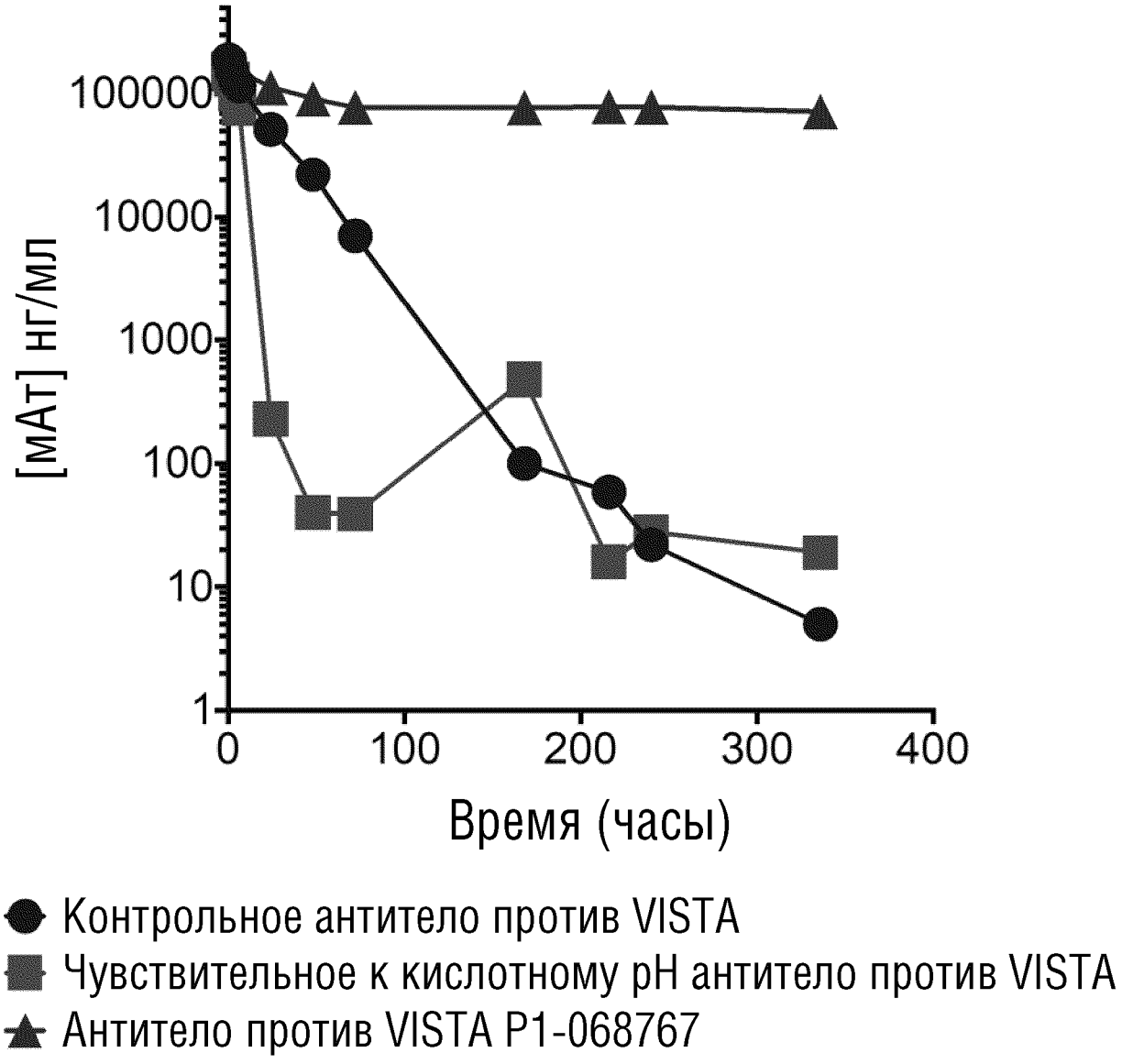
ФИГ.8E


Связывание VISTA (относительный %)
100
75
50
25
0
0
1
2
3
[мАт] log(нг/мл)
Контроль
P1-061029
P1-068761
P1-068767

ФИГ.8F


Специфический лизис (%)
90
75
60
45
30
15
0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
мАт (мкг/мл)
P1-061029
P1-068761
P1-068767
Отрицат. контроль
Положит. контроль

ФИГ.9


100000
10000
1000
100
10
1
[мАт] нг/мл
0
100
200
300
400
Время (часы)
Контрольное антитело против VISTA
Чувствительное к кислотному pH антитело против VISTA
Антитело против VISTA P1-068767

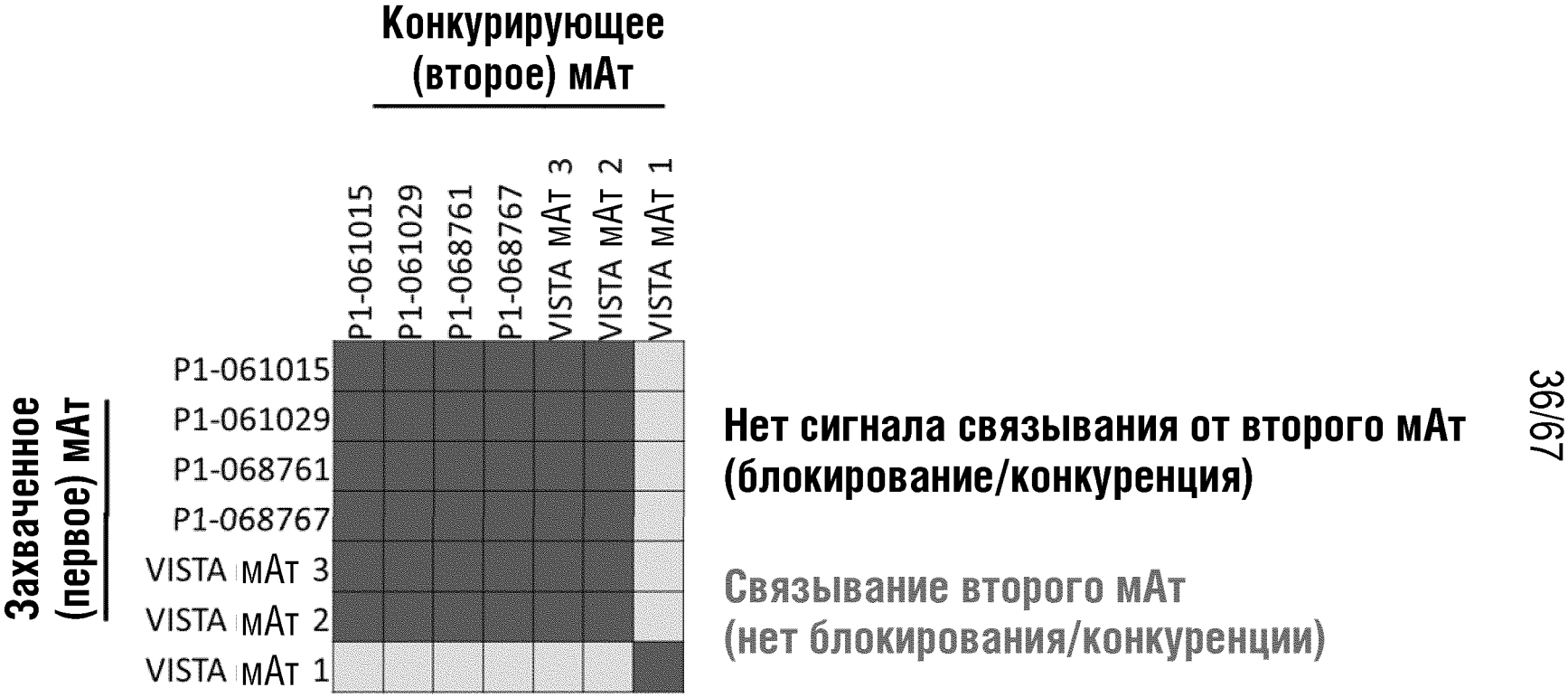
ФИГ.10А

Антитело	P1 ID	pH 7.4			pH 6.7			pH 6.0			HCDR1	HCDR2	HCDR3
		kd (1/c)	KD (M)	hVISTA %Rmax	kd (1/s)	KD (M)	hVISTA %Rmax	kd (1/s)	KD (M)	hVISTA %Rmax			
P1-068761_E100fF	P1-070874	1.3E-03	2.0E-08	73.3	2.2E-04	1.3E-09	117.0	1.3E-04	1.9E-10	130.1	....E.E...	......EE.........	.....H........
P1-068761_E55A_E100fF	P1-070898	1.7E-03	1.4E-08	82.3	2.8E-04	1.5E-09	119.8	1.8E-04	2.6E-10	133.7	....E.E...	.......E.........	.....H........
P1-068761_H100G_E100fF	P1-070880	2.3E-03	4.1E-08	61.8	4.0E-04	2.3E-09	116.7	2.1E-04	2.3E-10	126.7	....E.E...	......EE.........	....
P1-068761_E30D_E100fF	P1-070896	3.5E-03	4.8E-08	65.2	5.7E-04	3.7E-09	112.6	3.3E-04	4.3E-10	130.4	......E...	......EE.........	.....H........
P1-068761_E56N_E100fF	P1-070902	3.0E-03	6.5E-08	47.4	6.1E-04	6.5E-09	85.9	3.8E-04	1.4E-09	116.5	....E.E...	......E..........	.....H........
P1-068761_E32Y	P1-070866	2.5E-03	1.8E-08	102.5	6.4E-04	1.6E-09	120.9	4.1E-04	2.1E-10	123.1	....E.....	......EE.........	.....H.....E..
P1-068761_E32Y_E55A	P1-070882	2.7E-03	2.3E-08	89.3	6.0E-04	2.0E-09	116.3	5.7E-04	3.1E-10	117.6	....E.....	.......E.........	.....H.....E..
P1-068761_E32Y_E56N	P1-070884	3.2E-03	4.2E-08	73.7	8.3E-04	5.1E-09	104.4	7.0E-04	1.2E-09	115.8	....E.....	......E..........	.....H.....E..
P1-068761_E30D_E32Y	P1-070876	3.5E-03	2.1E-08	110.8	9.9E-04	2.0E-09	124.0	7.1E-04	2.4E-10	124.9	....	......EE.........	.....H.....E..
P1-068761_E32Y_H100G	P1-070886	5.5E-03	7.2E-08	68.0	1.3E-03	5.0E-09	113.4	9.2E-04	4.8E-10	120.4	....E.....	......EE.........	..........E..
P1-068761_E32Y_E100fF	P1-070888	1.9E-03	3.7E-09	132.1	9.5E-04	1.1E-09	125.0	1.1E-03	2.5E-10	120.8	....E.....	......EE.........	.....H........
P1-068761	P1-068761	**NB**	**NB**	0.7	6.6E-03	7.1E-08	49.7	1.4E-03	2.6E-09	122.5	....E.E...	......EE.........	.....H.....E..
P1-068761_E55A	P1-070868	**NB**	**NB**	2.8	6.4E-03	1.2E-07	42.2	1.7E-03	3.4E-09	113.1	....E.E...	.......E.........	.....H.....E..
P1-068761_H100G	P1-070872	**NB**	**NB**	2.9	1.4E-02	2.3E-07	36.1	5.2E-03	4.4E-09	121.0	....E.E...	......EE.........	..........E..
P1-068761_E56N	P1-070870	**NB**	**NB**	1.7	>1E-02	~8.2E-06	17.6	5.5E-03	1.9E-08	86.3	....E.E...	......E..........	.....H.....E..
P1-068761_E55A_E56N	P1-070878	**NB**	**NB**	0.9	2.9E-02	2.1E-07	16.4	5.6E-03	2.1E-08	79.3	....E.E...	....	.....H.....E..
P1-068761_E30D	P1-070864	**NB**	**NB**	0.4	1.8E-02	3.7E-07	25.6	6.2E-03	8.3E-09	109.9	......E...	......EE.........	.....H.....E..
P1-068761_E30D_E55A	P1-070890	**NB**	**NB**	1.8	>1E-02	~1.1E-07	22.1	7.4E-03	1.2E-08	99.1	......E...	.......E.........	.....H.....E..
P1-061029	P1-061029	7.5E-03	3.2E-08	93.4	4.4E-03	1.1E-08	96.9	8.2E-03	4.5E-09	98.5	GFTLDDYAMH	GINWNSANIGYADSVKG	VPGYSGGWIDAFDV
P1-068761_E56N_H100G	P1-070900	**NB**	**NB**	4.4	**NB**	**NB**	19.4	8.1E-03	1.0E-08	110.9	....E.E...	......E..........	..........E..
P1-068761_E30D_H100G	P1-070894	**NB**	**NB**	3.1	>1E-02	~8.1E-08	14.6	2.1E-02	1.5E-08	91.9	......E...	......EE.........	..........E..
P1-068761_E30D_E56N	P1-070892	**NB**	**NB**	0.4	>1E-02	~3.2E-08	8.3	3.4E-02	5.0E-08	56.3	......E...	......E..........	.....H.....E..

ФИГ.10В

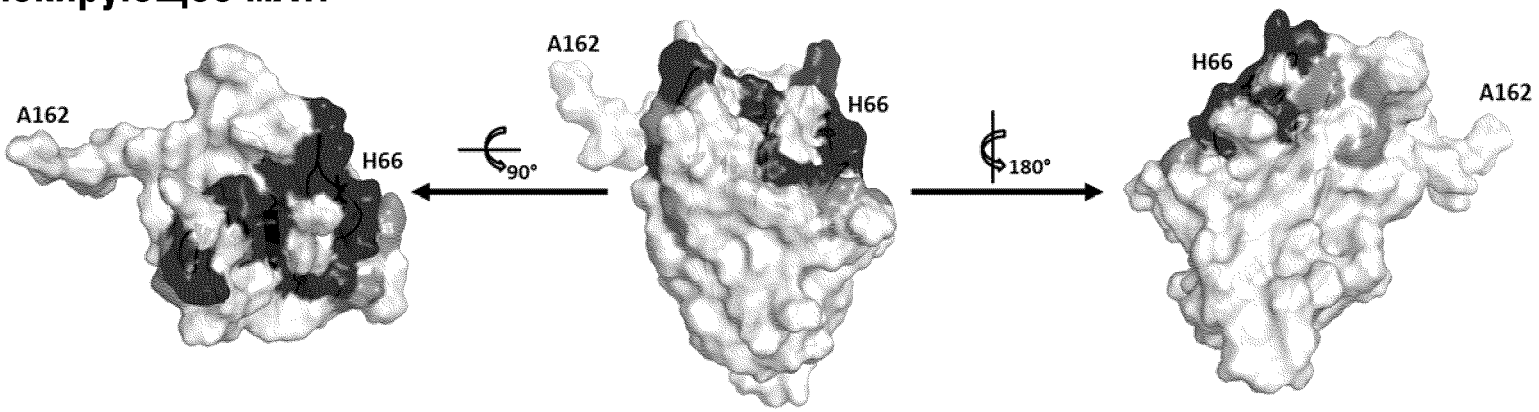
Антитело	P1 ID	pH 7.4			pH 6.7			pH 6.0			HCDR1	HCDR2	HCDR3
		kd (1/c)	KD (M)	hVISTA %Rmax	kd (1/s)	KD (M)	hVISTA %Rmax	kd (1/s)	KD (M)	hVISTA %Rmax			
P1-068767_D52N_D102V	P1-070930	6.7E-03	8.7E-08	60.0	1.8E-03	7.5E-09	101.0	1.2E-03	8.8E-10	114.6	....E.....	......E.....	..........E..
P1-068767_D52N	P1-070906	NB	NB	3.9	6.7E-03	2.1E-07	38.9	1.5E-03	3.2E-09	116.6	....E.....	......E.....	..........E.D
P1-068767_D52N_E55A	P1-070916	NB	NB	2.3	5.5E-03	1.2E-07	33.7	1.5E-03	4.0E-09	112.0	....E.....	.....	..........E.D
P1-068767_E55A_D102V	P1-070932	1.0E-02	2.8E-07	35.4	3.1E-03	1.5E-08	85.7	2.0E-03	1.9E-09	111.3	....E.....	..D.....	..........E..
P1-068767_D102V	P1-070912	9.2E-03	1.7E-07	44.7	2.8E-03	1.4E-08	98.5	2.0E-03	1.3E-09	111.9	....E.....	..D...E.....	..........E..
P1-068767_E55A	P1-070908	NB	NB	2.8	8.5E-03	3.8E-07	26.8	2.3E-03	5.7E-09	108.0	....E.....	..D.....	..........E.D
P1-068767_E30D_D52N	P1-070914	NB	NB	4.5	1.1E-02	1.2E-07	35.8	2.3E-03	5.8E-09	105.7	.....	......E.....	..........E.D
P1-068767	P1-068767	NB	NB	1.9	7.2E-03	1.8E-07	31.1	2.4E-03	5.2E-09	111.7	....E.....	..D...E.....	..........E.D
P1-068767_E30D_D102V	P1-070926	1.1E-02	2.2E-07	40.8	3.5E-03	1.7E-08	95.7	3.0E-03	2.1E-09	114.8	.....	..D...E.....	..........E..
P1-068767_E30D	P1-070904	NB	NB	5.8	NB	NB	21.0	3.2E-03	9.6E-09	99.8	.....	..D...E.....	..........E.D
P1-068767_E30D_E55A	P1-070922	NB	NB	3.5	NB	NB	22.6	3.5E-03	8.3E-09	108.8	.....	..D.....	..........E.D
P1-061029	P1-061029	7.5E-03	3.2E-08	93.4	4.4E-03	1.1E-08	96.9	8.2E-03	4.5E-09	98.5	GFTLDDYAMH	GINWNSANIGYADSVKG	VPGYSGGWIDAFDV
P1-068767_E100fF_D102V	P1-070920	8.3E-03	4.1E-08	86.8	4.7E-03	1.1E-08	103.4	8.2E-03	2.7E-09	103.4	....E.....	..D...E.....	.....
P1-068767_E55A_E100fF	P1-070918	NB	NB	1.8	NB	NB	8.6	1.3E-02	6.2E-08	42.5	....E.....	..D.....	.....D
P1-068767_D52N_E100fF	P1-070928	NB	NB	9.4	>1E-02	~3.9E-08	22.7	6.6E-02	2.0E-08	64.0	....E.....	......E.....	.....D
P1-068767_E100fF	P1-070910	NB	NB	1.8	2.6E-02	5.2E-06	9.6	>1E-02	~4.2E-08	49.4	....E.....	..D...E.....	.....D
P1-068767_E30D_E100fF	P1-070924	NB	NB	1.0	2.7E-02	1.0E-05	7.0	>1E-02	~8.2E-08	32.9	.....	..D...E.....	.....D

ФИГ.11А


Конкурирующее (второе) мАт
P1-061015
P1-061029
P1-068761
P1-068767
VISTA мАт 3
VISTA мАт 2
VISTA мАт 1
Захваченное (первое) мАт
P1-061015
P1-061029
P1-068761
P1-068767
VISTA мАт 3
VISTA мАт 2
VISTA мАт 1
Нет сигнала связывания от второго мАт (блокирование/конкуренция)
Связывание второго мАт (нет блокирования/конкуренции)

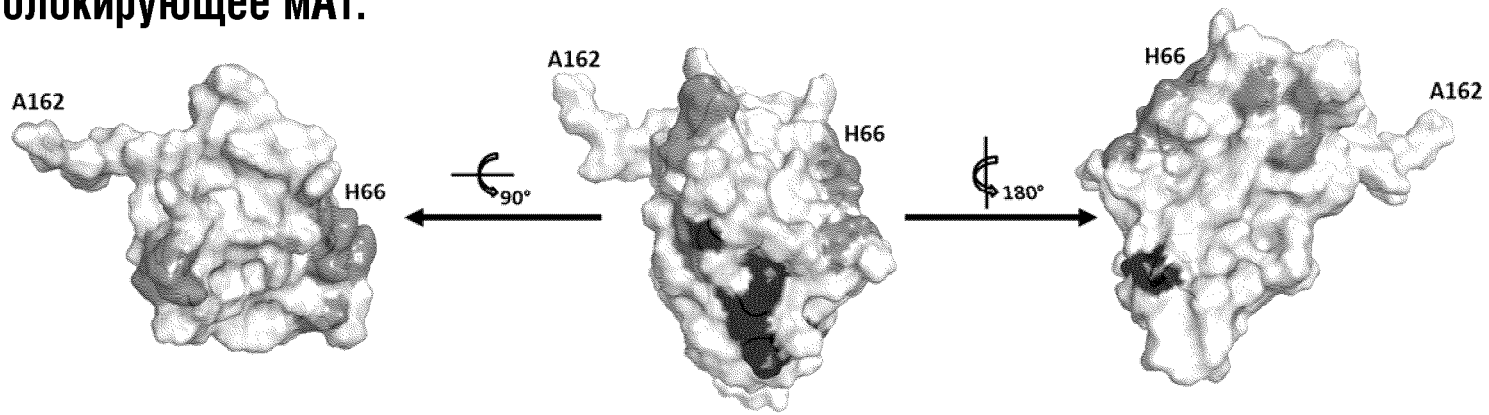
ФИГ.11B

Блокирующее мАт:

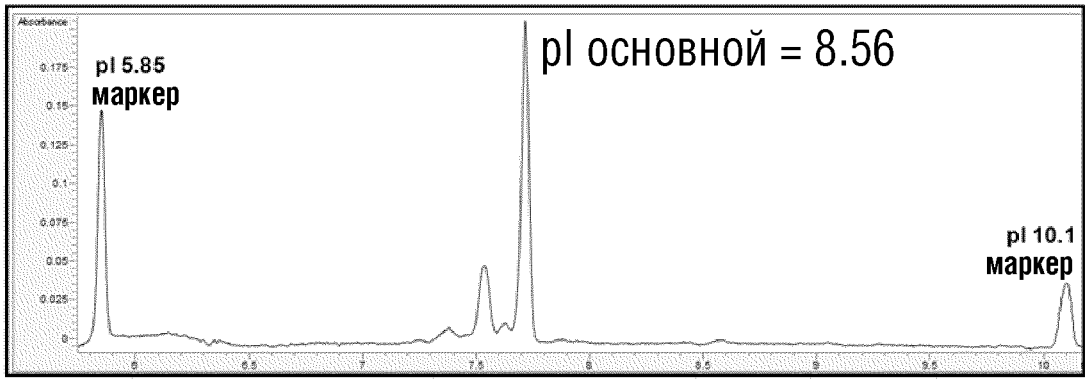


ФИГ.11C

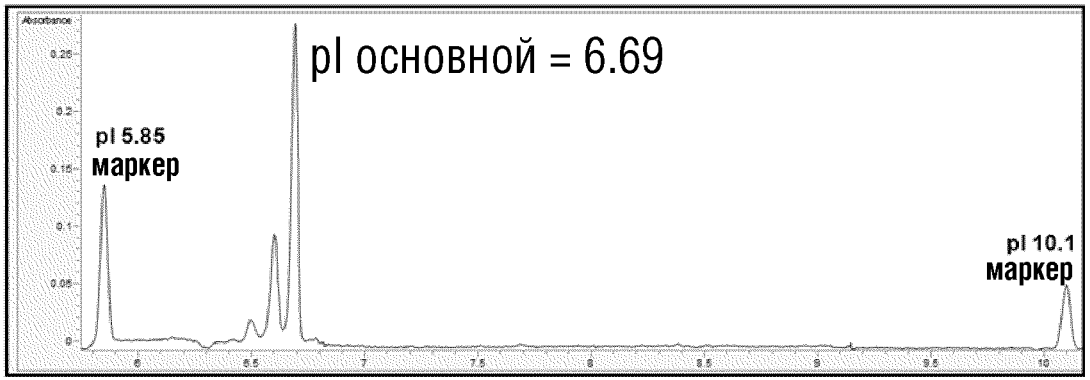
Неблокирующее мАт:



ФИГ.12A

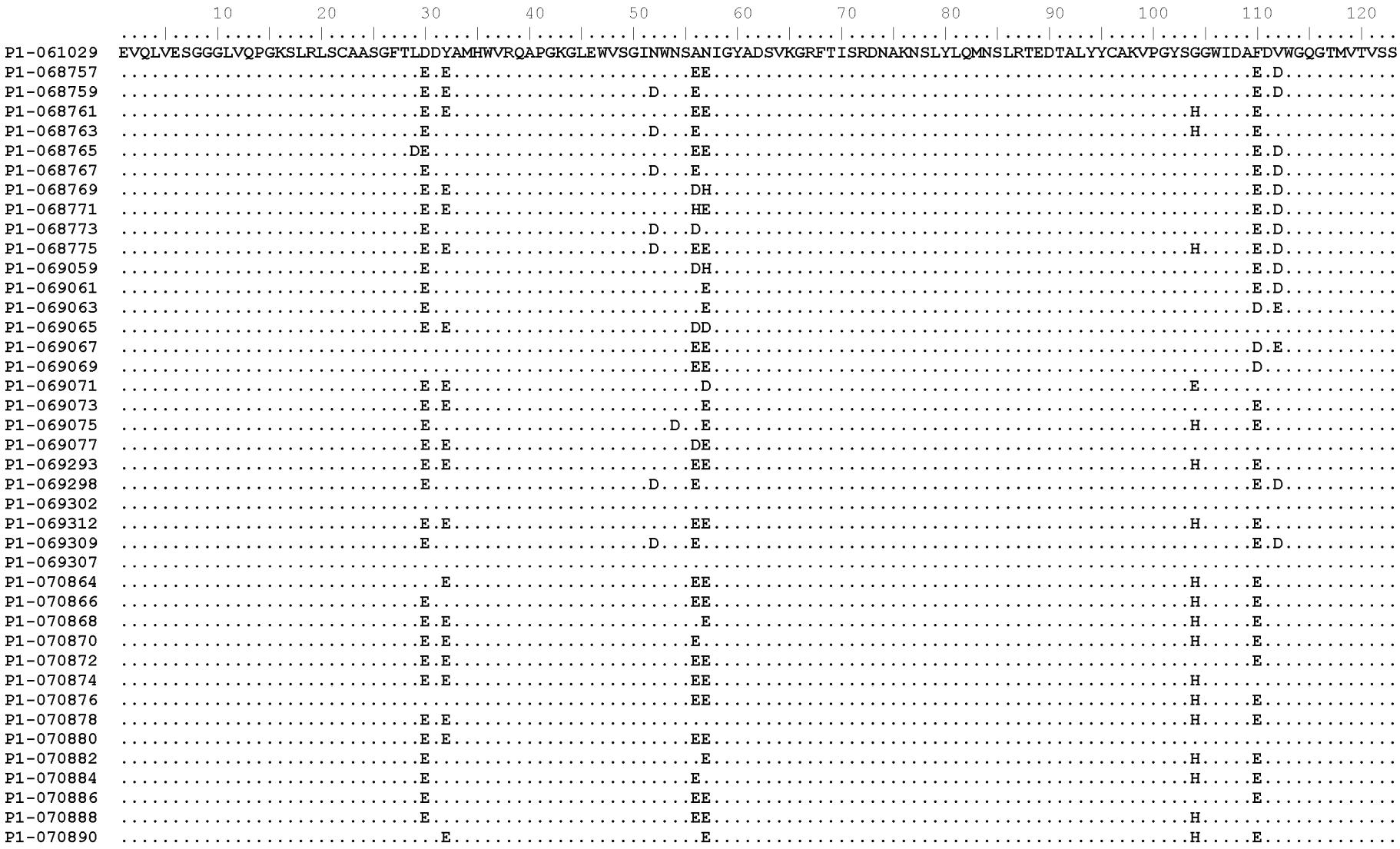


ФИГ.12B

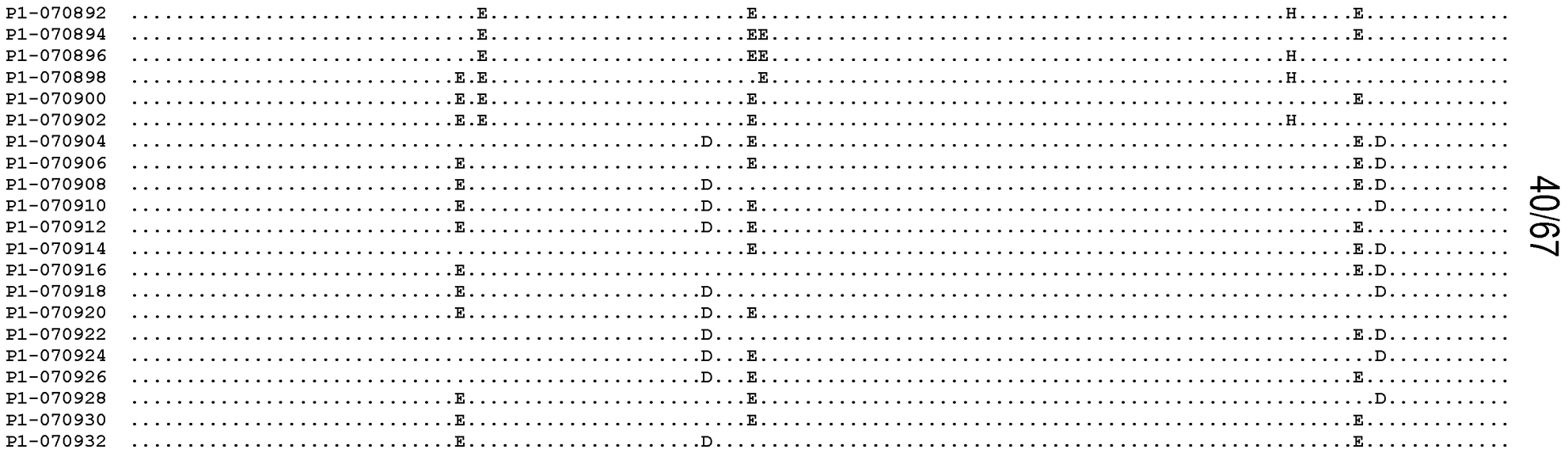


ФИГ.12C

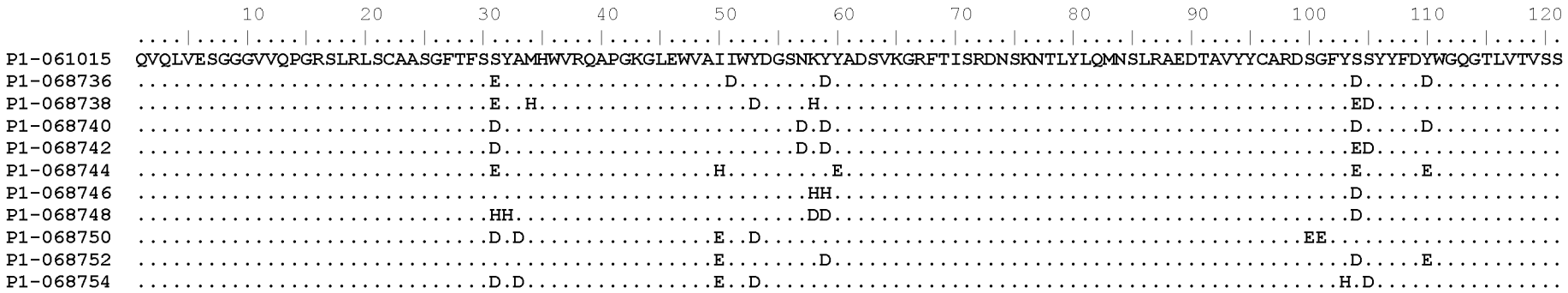
ФИГ.13A


10 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110 120
P1-061029 EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAFDVWGQGTMVTVSS
P1-068757
P1-068759
P1-068761
P1-068763
P1-068765
P1-068767
P1-068769
P1-068771
P1-068773
P1-068775
P1-069059
P1-069061
P1-069063
P1-069065
P1-069067
P1-069069
P1-069071
P1-069073
P1-069075
P1-069077
P1-069293
P1-069298
P1-069302
P1-069312
P1-069309
P1-069307
P1-070864
P1-070866
P1-070868
P1-070870
P1-070872
P1-070874
P1-070876
P1-070878
P1-070880
P1-070882
P1-070884
P1-070886
P1-070888
P1-070890

ФИГ.13A (продолжение)



ФИГ.13B


10 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110 120
P1-061015 QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVAIIWYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSGFYSSYYFDYWGQGTLVTVSS
P1-068736 .....E.....D.....D.....D.....D.....
P1-068738 .....E..H.....D....H.....ED.....
P1-068740 .....D.....D.D.....D.....D.....
P1-068742 .....D.....D.D.....ED.....
P1-068744 .....E.....H.....E.....E.....E.....
P1-068746 .....HH.....D.....
P1-068748 .....HH.....DD.....D.....
P1-068750 .....D.D.....E..D.....EE.....
P1-068752 .....E.....D.....D.....E.....
P1-068754 .....D.D.....E..D.....H.D.....

ФИГ.14

761 EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVRQAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLY

P1-068761_VH_K16R_T84A EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVRQAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLY

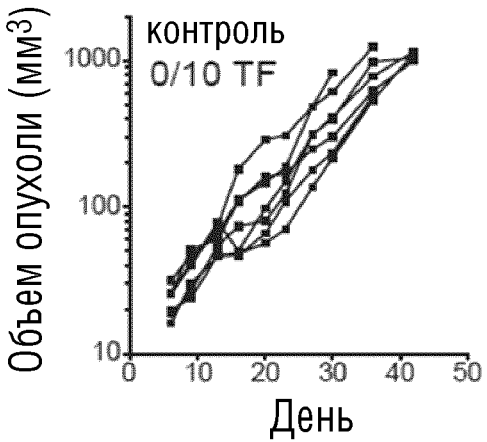
Номер столбца 10 20 30 40 50 60 70 80

761 LQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQGTMVTVSS (SEQ ID NO: 51)

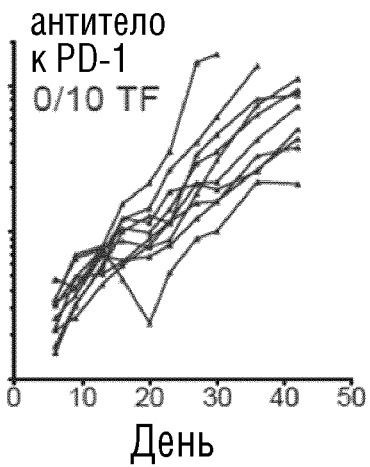
P1-068761_VH_K16R_T84A LQMNSLRAEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQGTMVTVSS (SEQ ID NO: 463)

Номер столбца 90 100 110 120

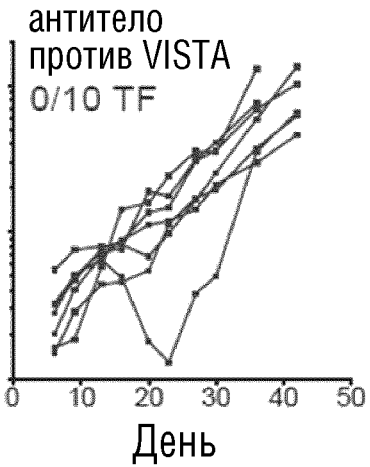
ФИГ.15A



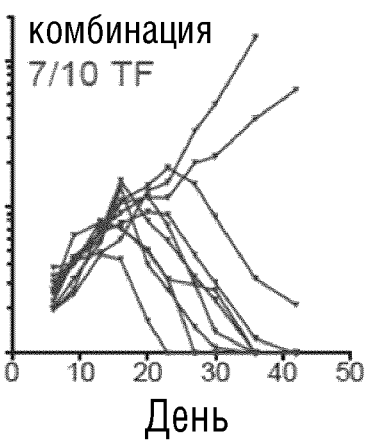
ФИГ.15B



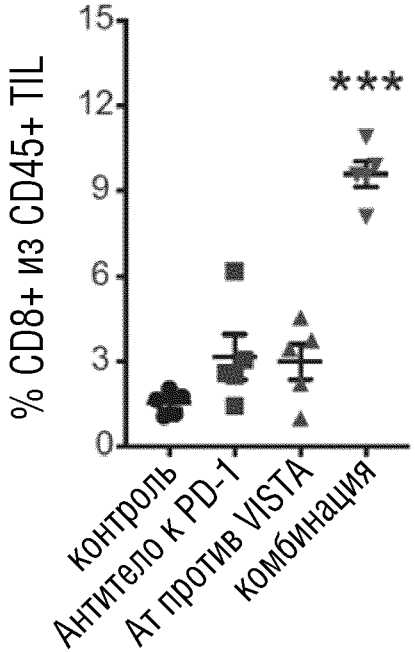
ФИГ.15C



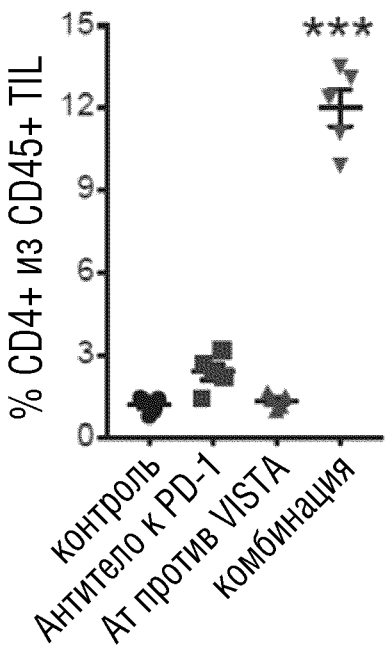
ФИГ.15D



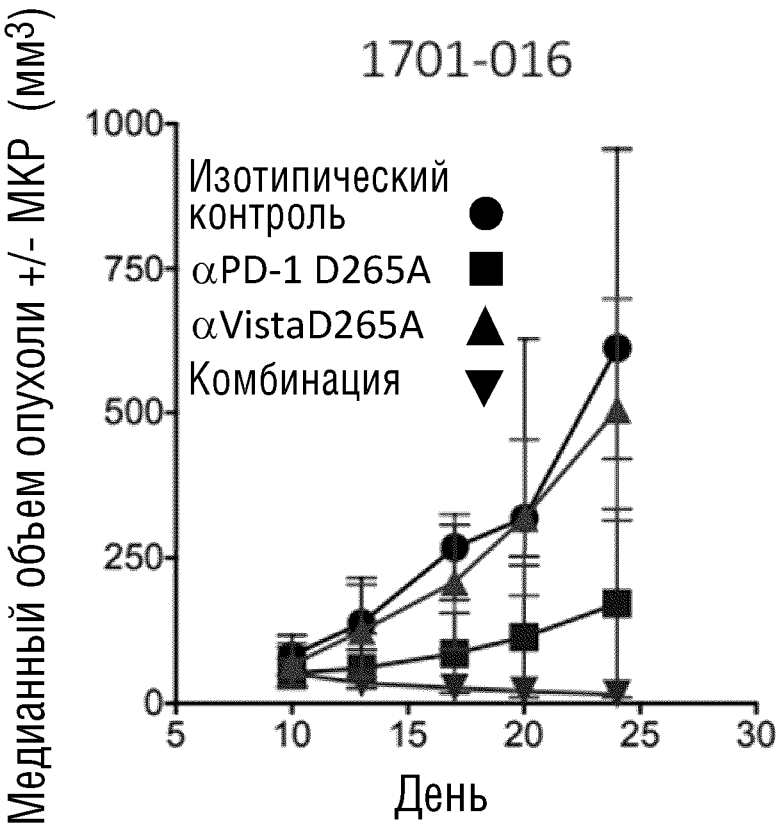
ФИГ.15E



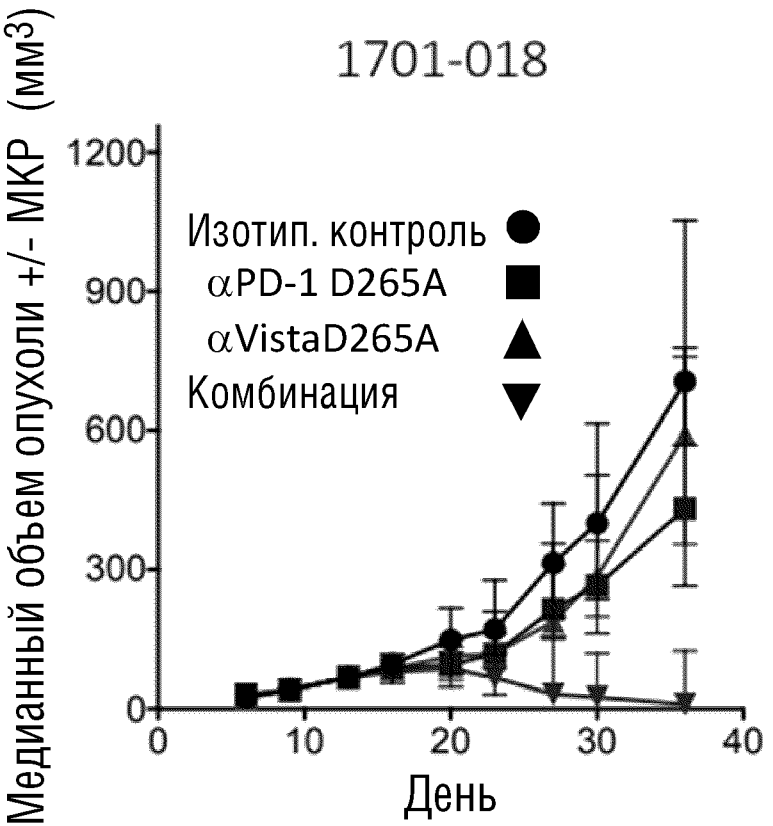
ФИГ.15F



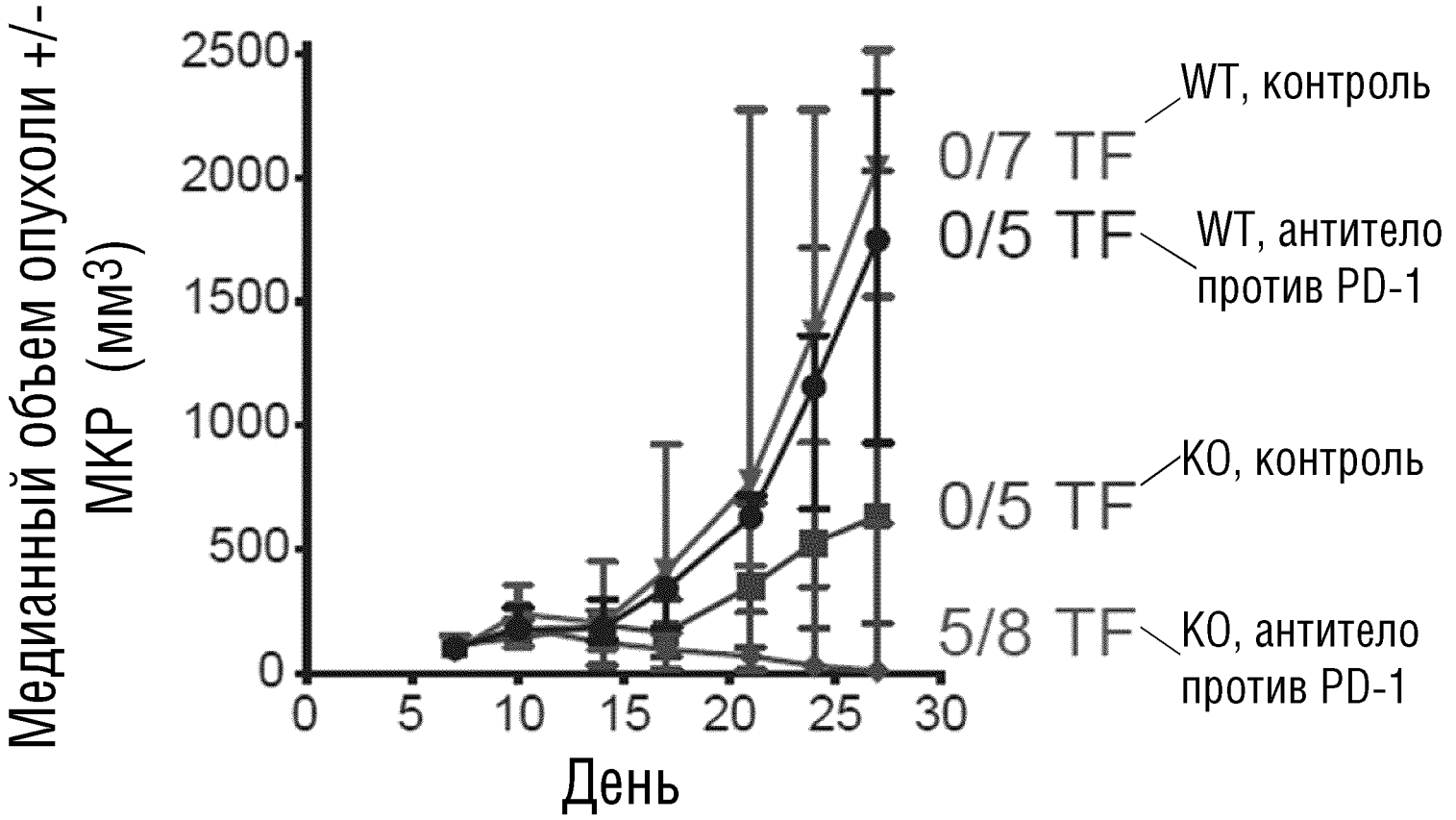
ФИГ.15G



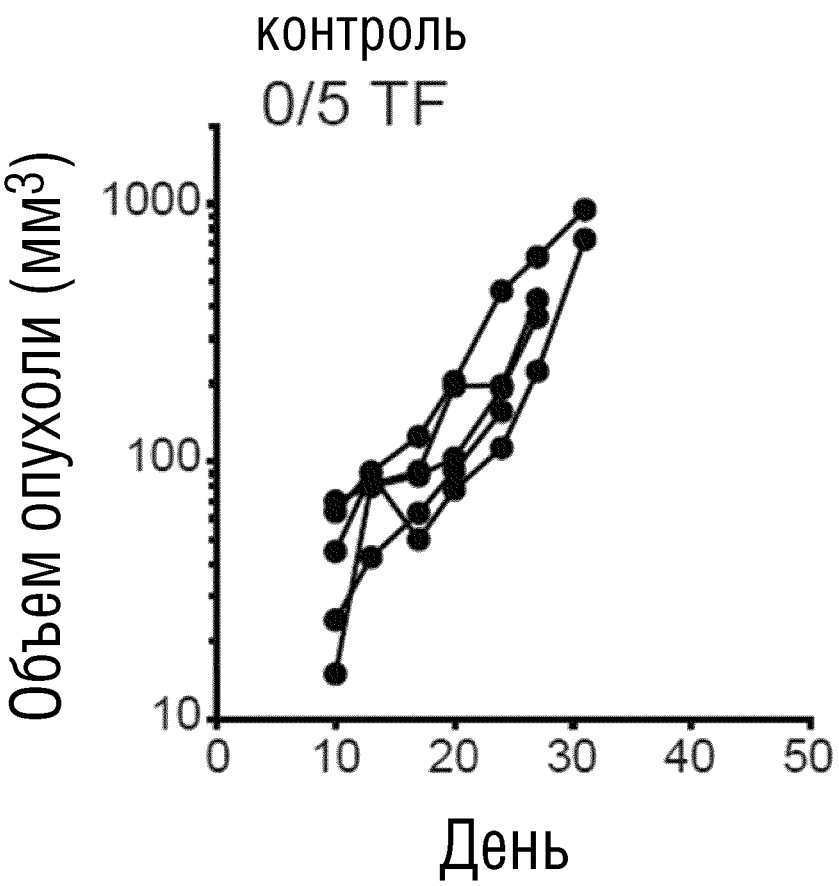
ФИГ.15H



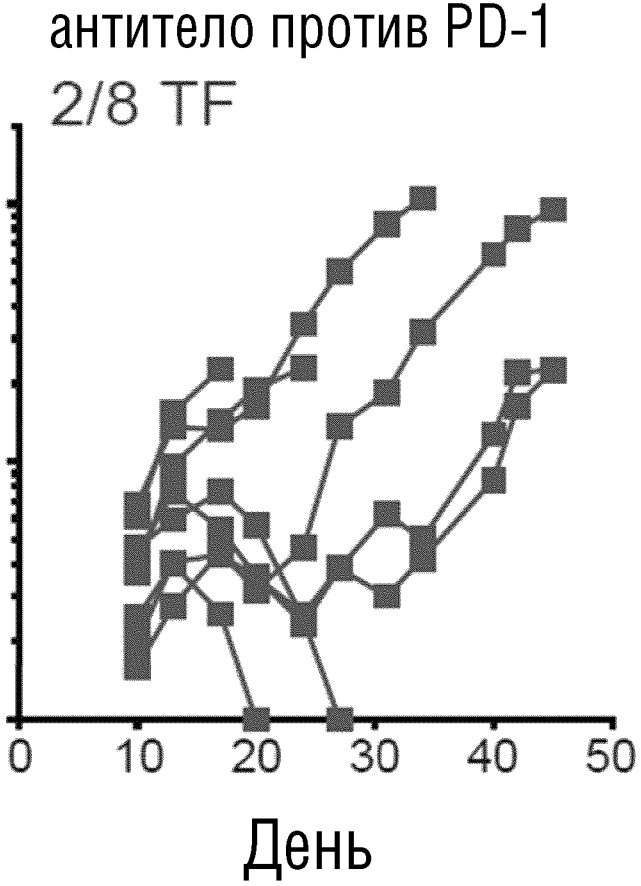
ФИГ.15I


Медианный объем опухоли +/- МКР (мм3)
2500
2000
1500
1000
500
0
0
5
10
15
20
25
30
День
0/7 TF
0/5 TF
0/5 TF
5/8 TF
WT, контроль
WT, антитело против PD-1
KO, контроль
KO, антитело против PD-1

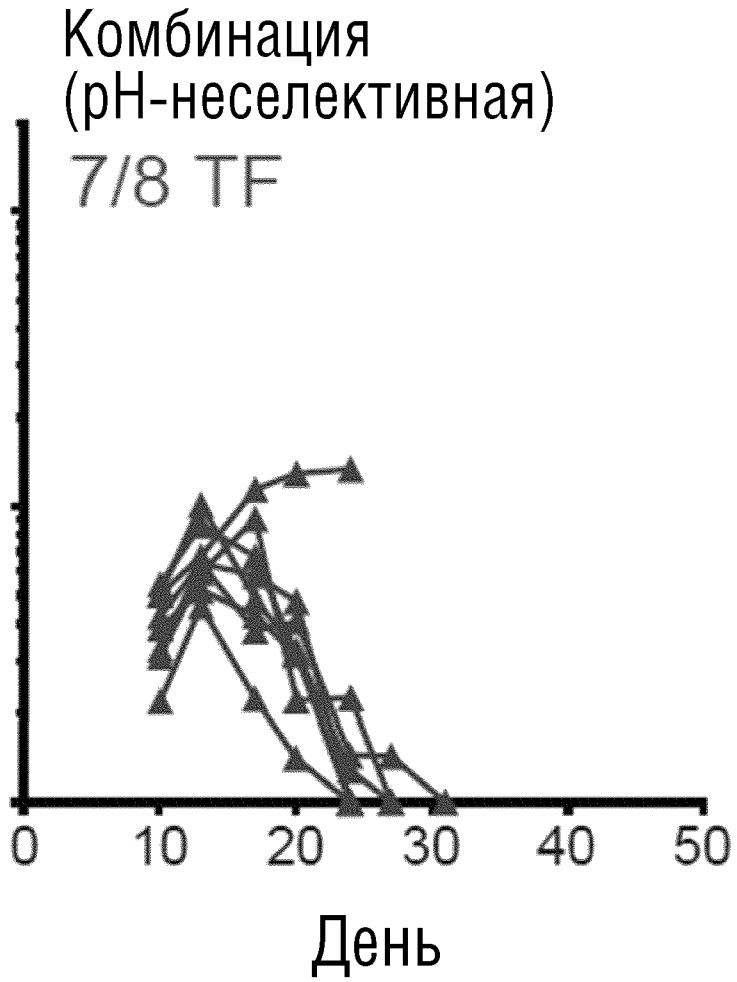
ФИГ.15J



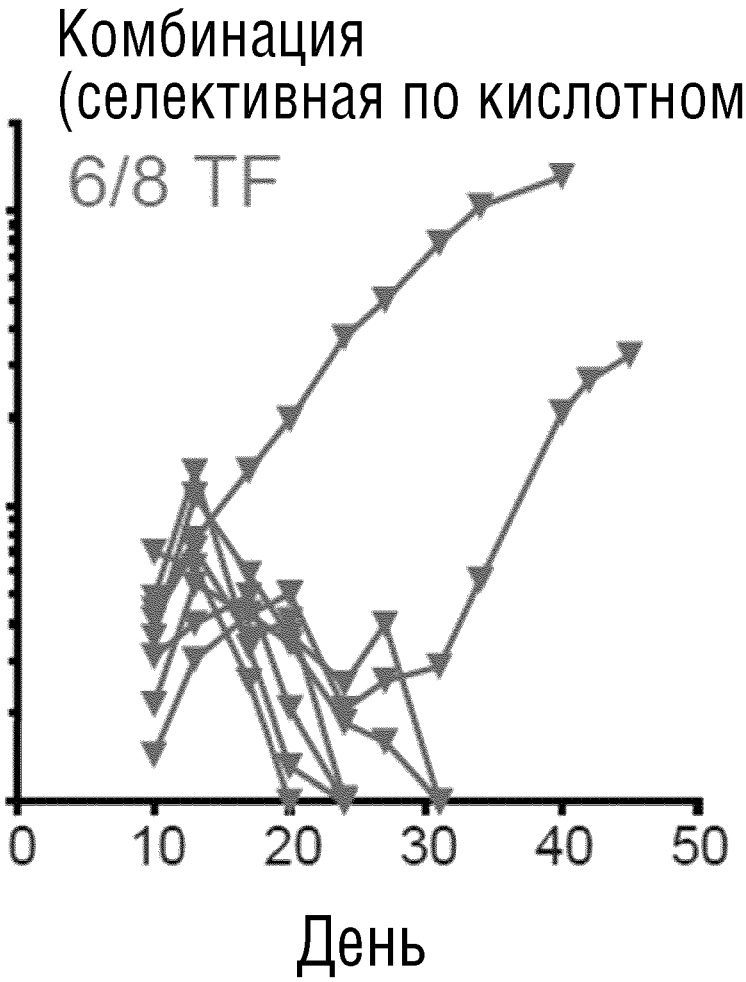
ФИГ.15K



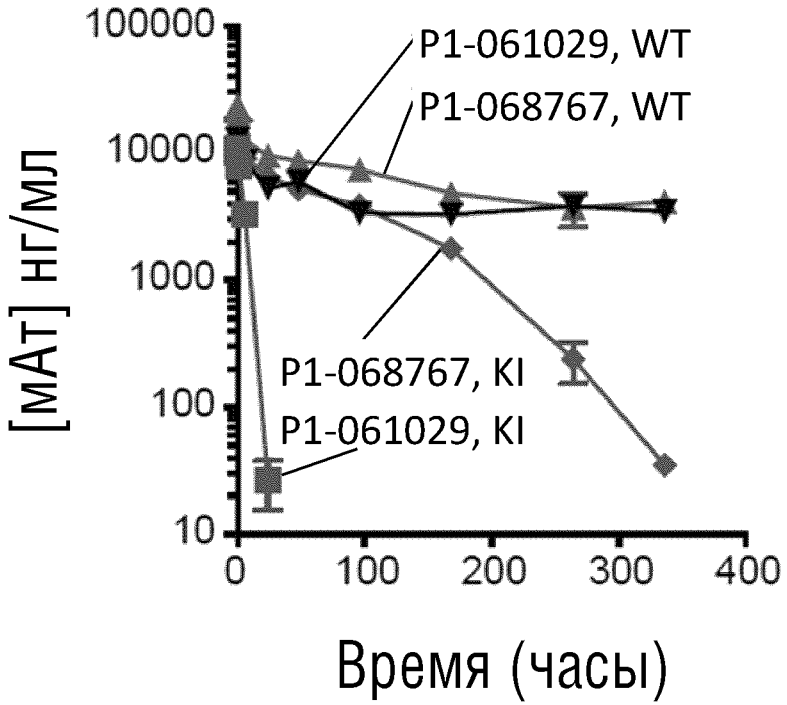
ФИГ.15L



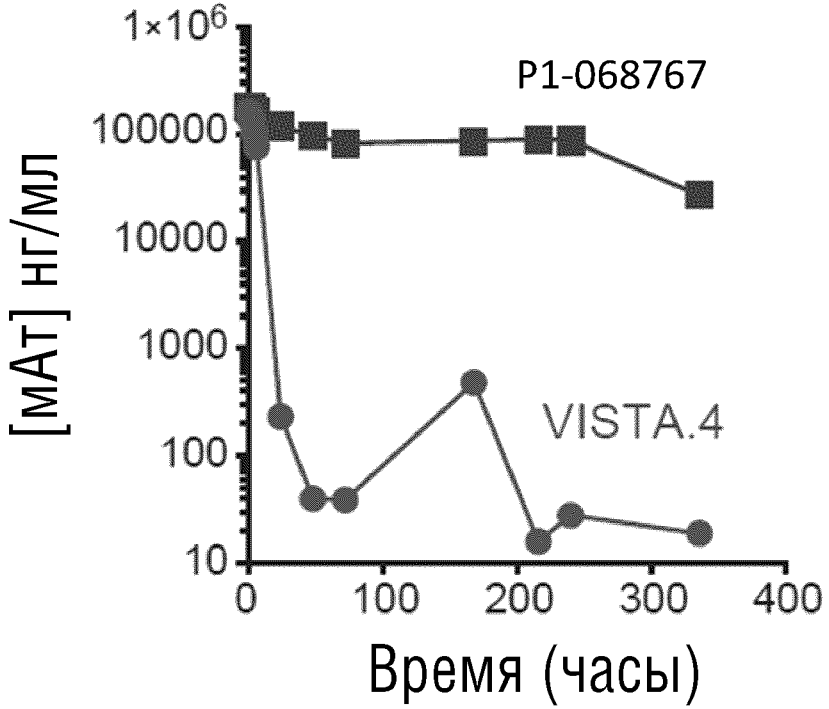
ФИГ.15M



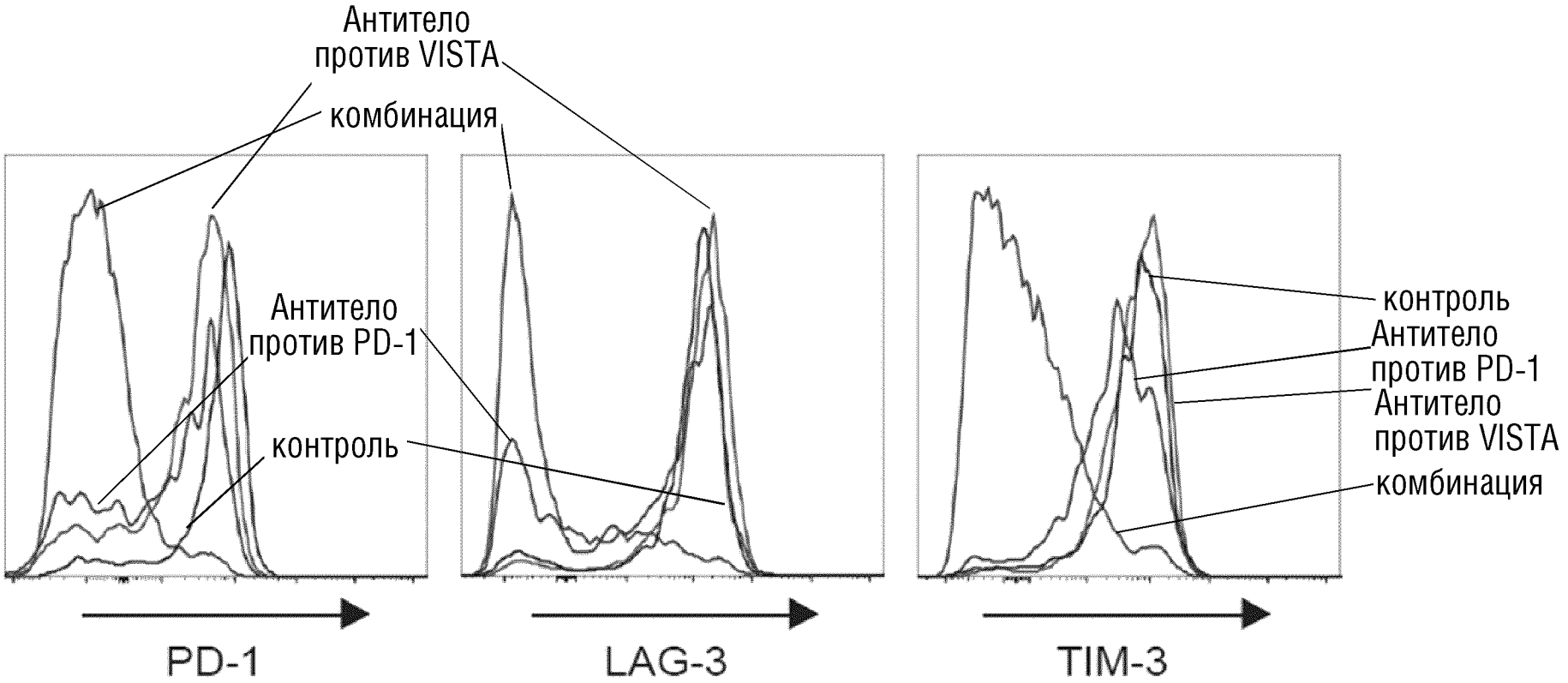
ФИГ.15N



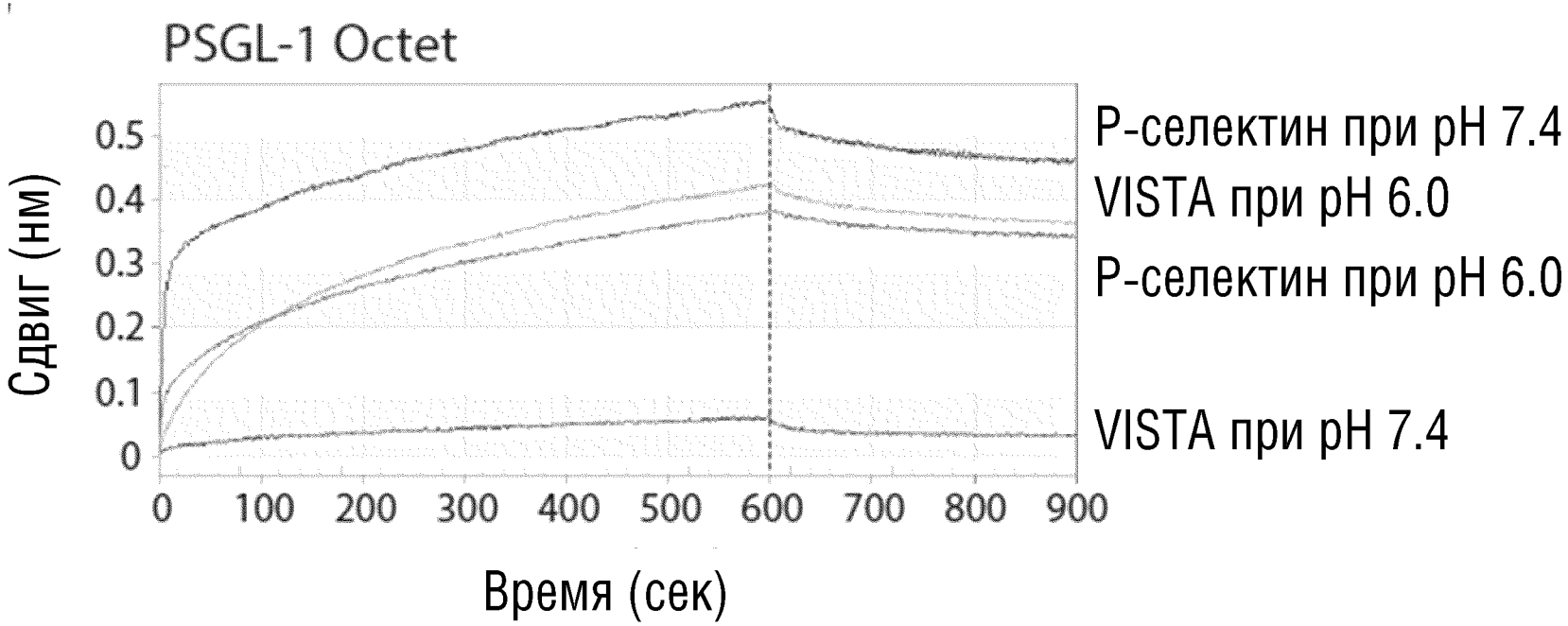
ФИГ.15O



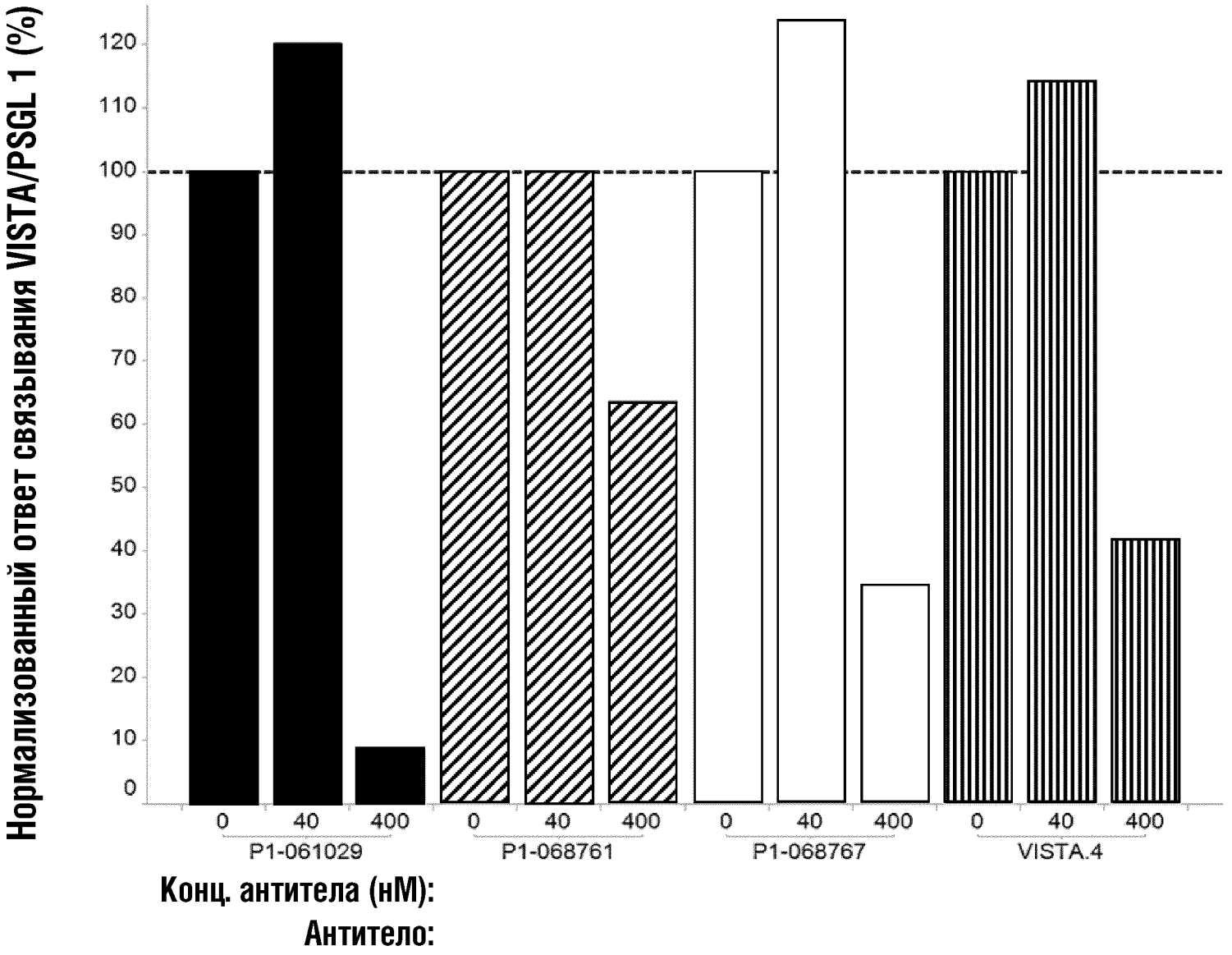
ФИГ.16A ФИГ.16B ФИГ.16C



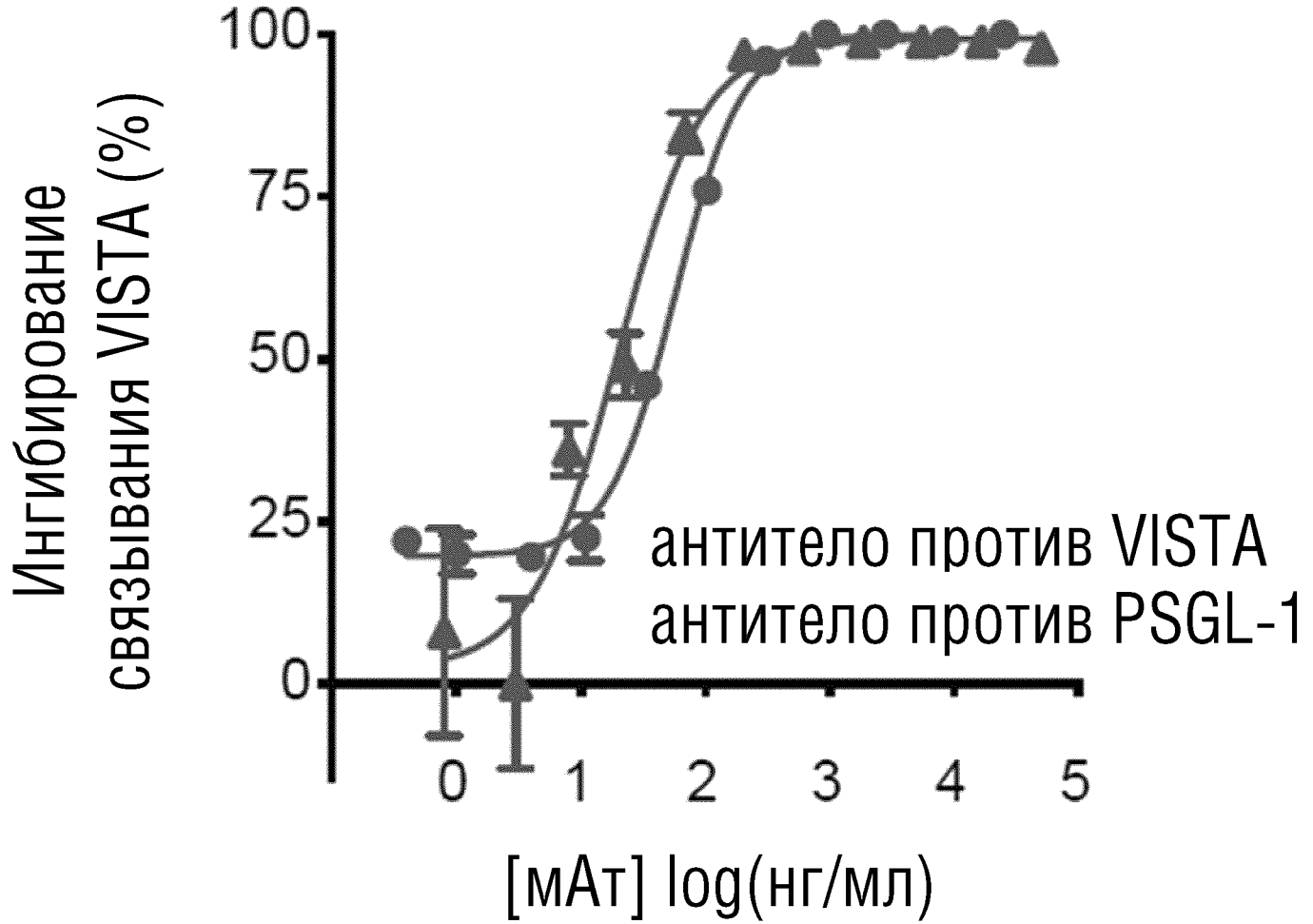
ФИГ.17А


PSGL-1 Octet
Сдвиг (нм)
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
0
100
200
300
400
500
600
700
800
900
Время (сек)
P-селектин при pH 7.4
VISTA при pH 6.0
P-селектин при pH 6.0
VISTA при pH 7.4

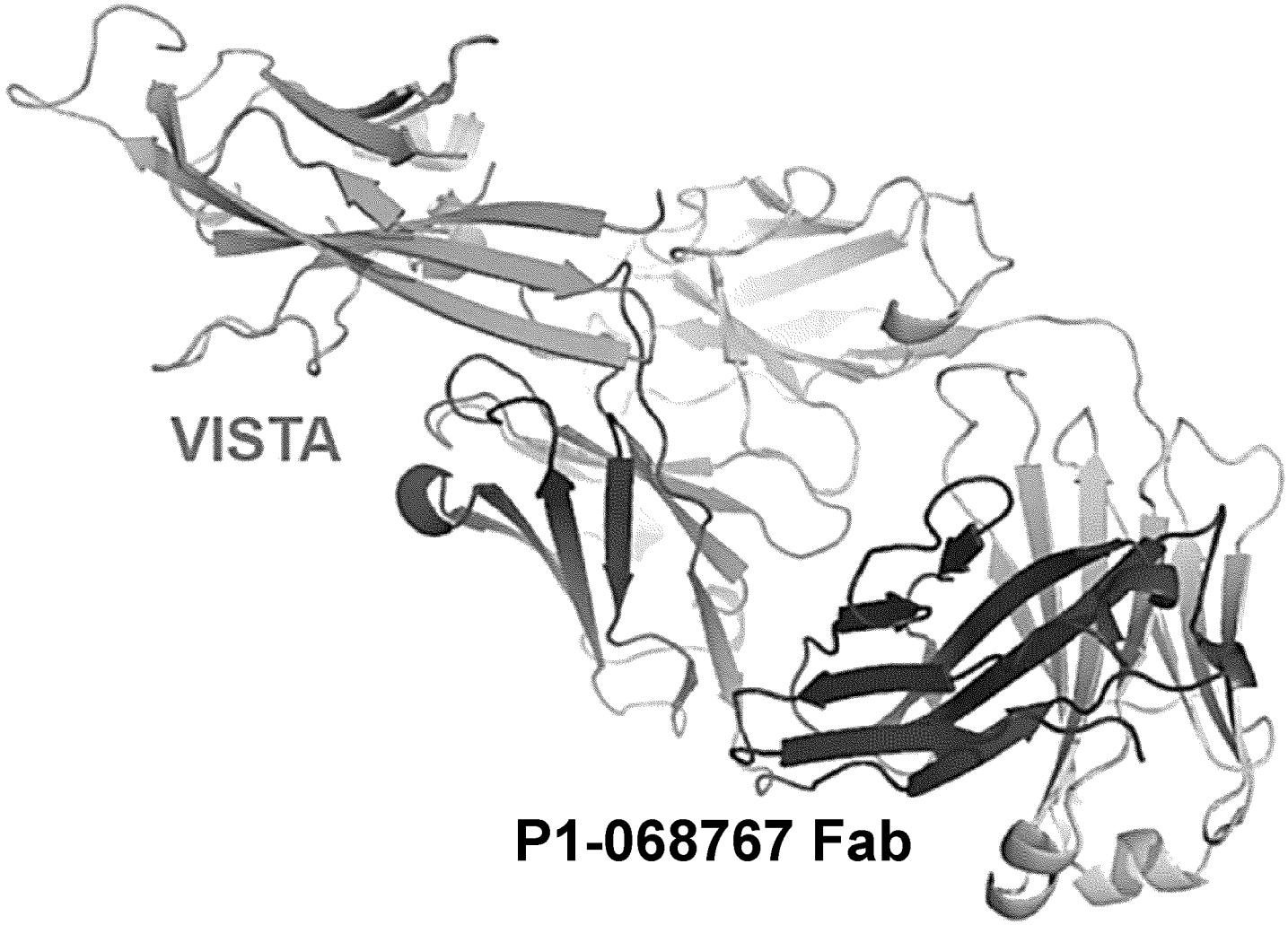
ФИГ.17B


Нормализованный ответ связывания VISTA/PSGL 1 (%)
120
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0
40
400
P1-061029
P1-068761
P1-068767
VISTA.4
Конц. антитела (нМ):
Антитело:

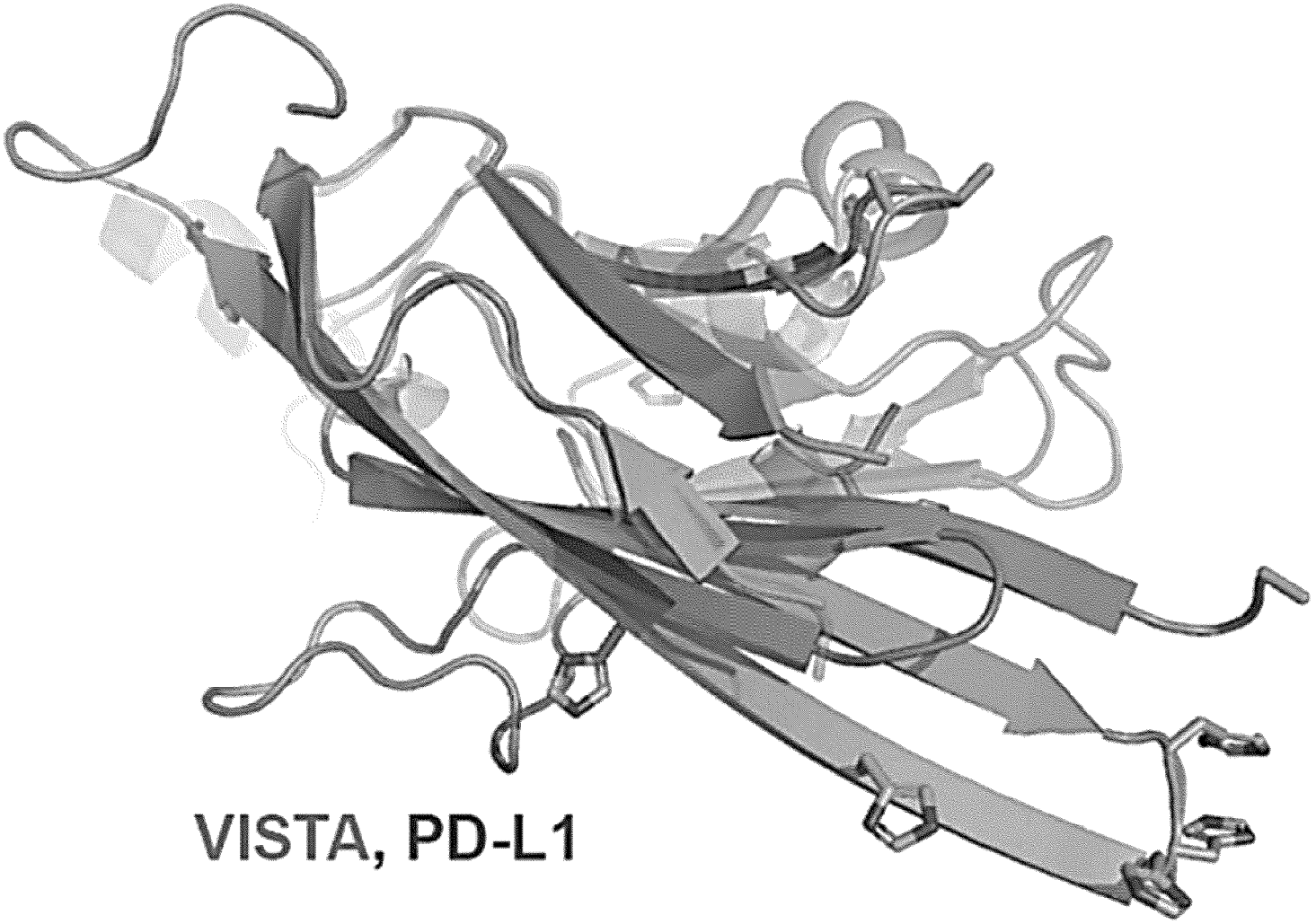
ФИГ.17C


Ингибирование связывания VISTA (%)
100
75
50
25
0
0
1
2
3
4
5
[мАт] log(нг/мл)
антитело против VISTA
антитело против PSGL-1

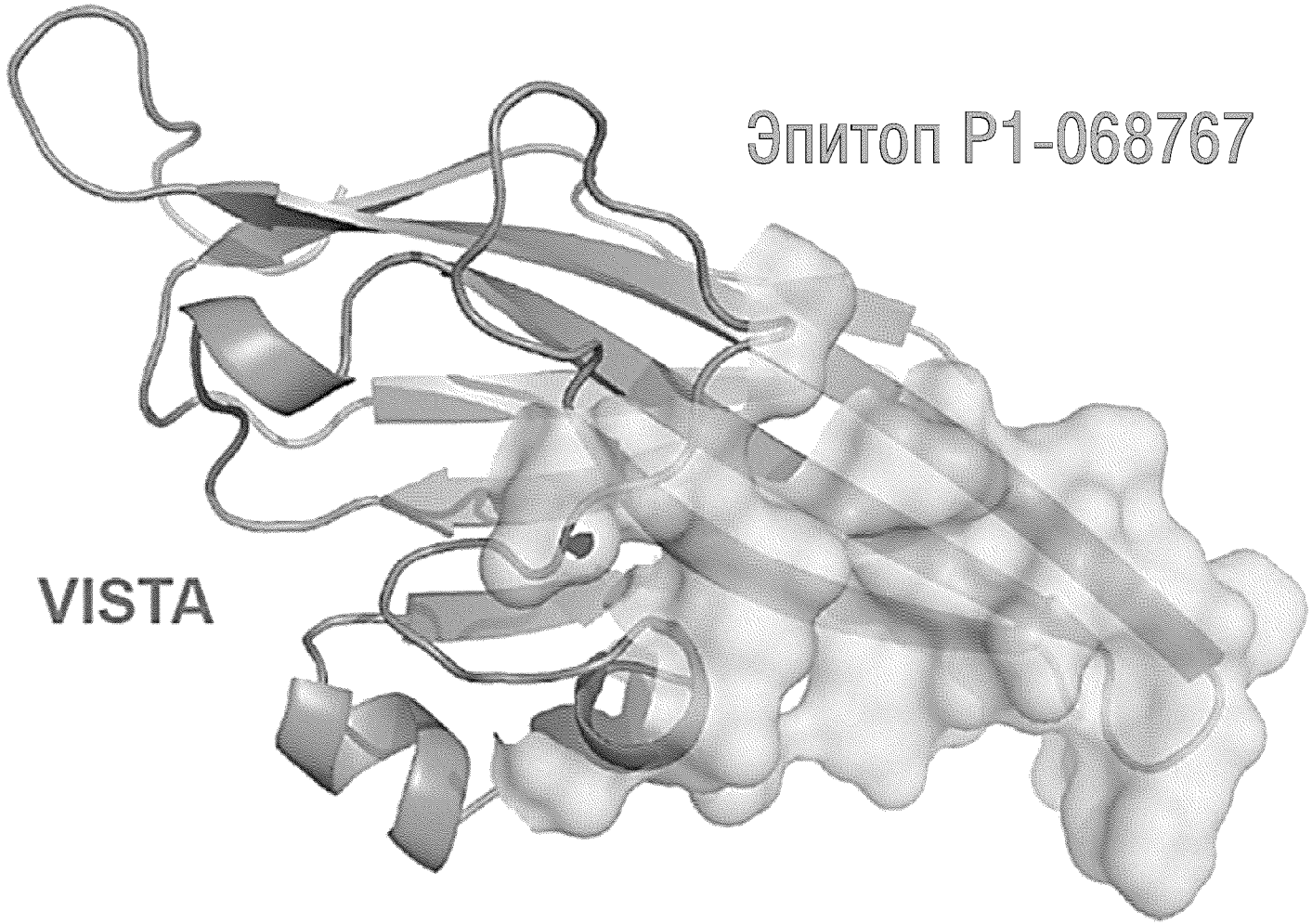
ФИГ.18А



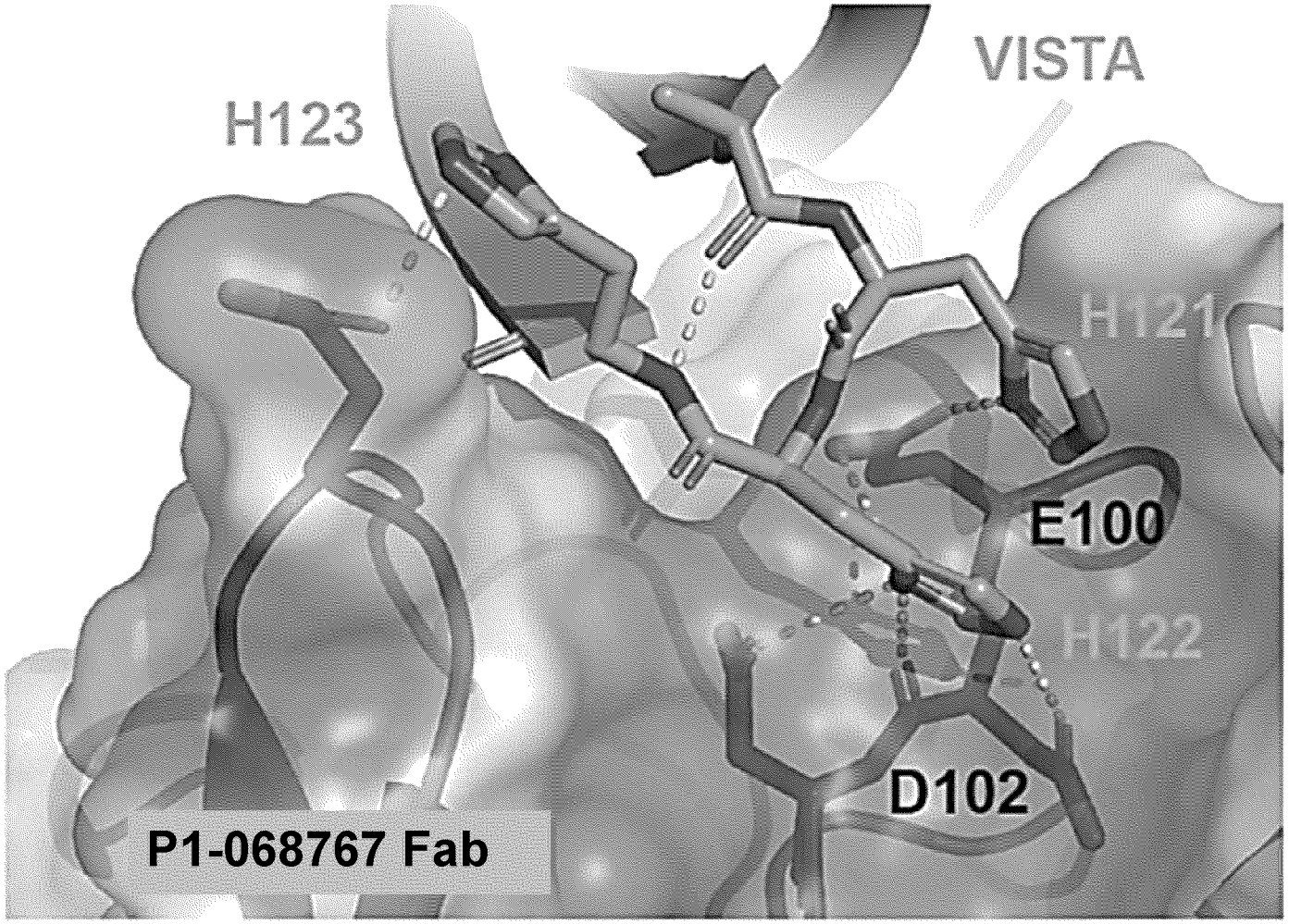
ФИГ.18B



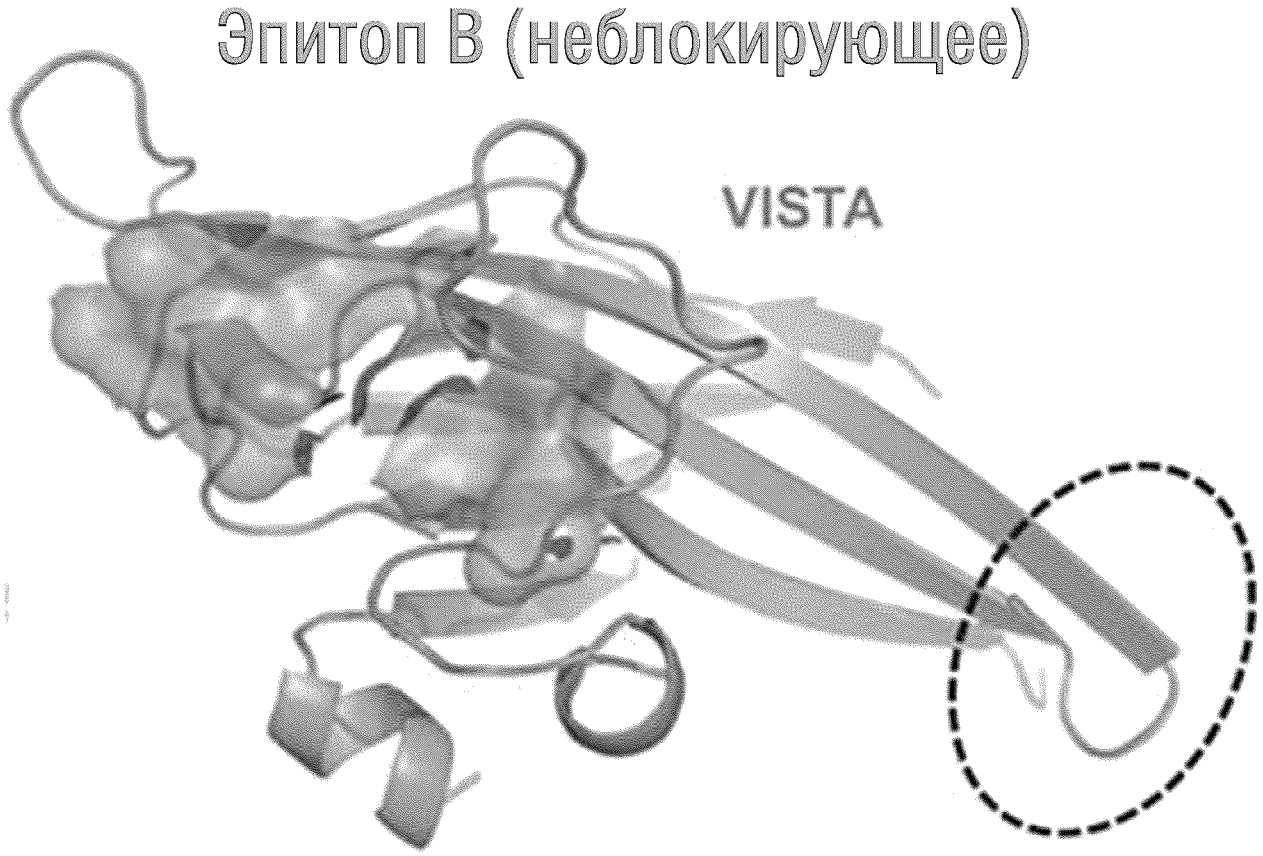
ФИГ.18C



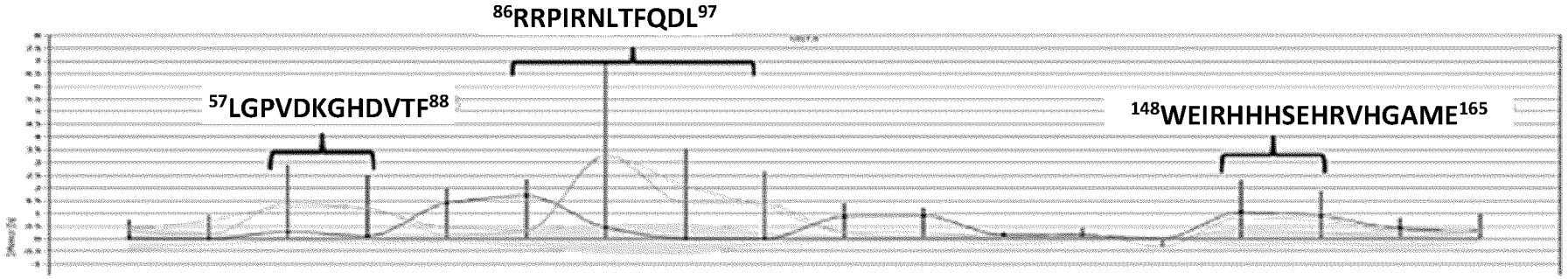
ФИГ.18D



ФИГ.18E



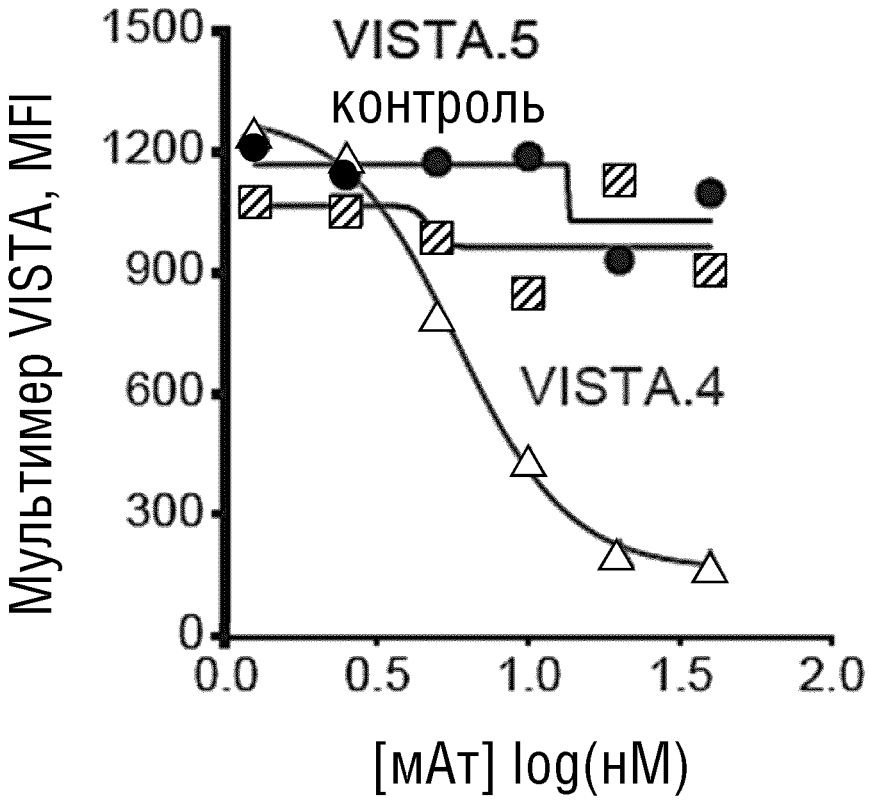
ФИГ.19



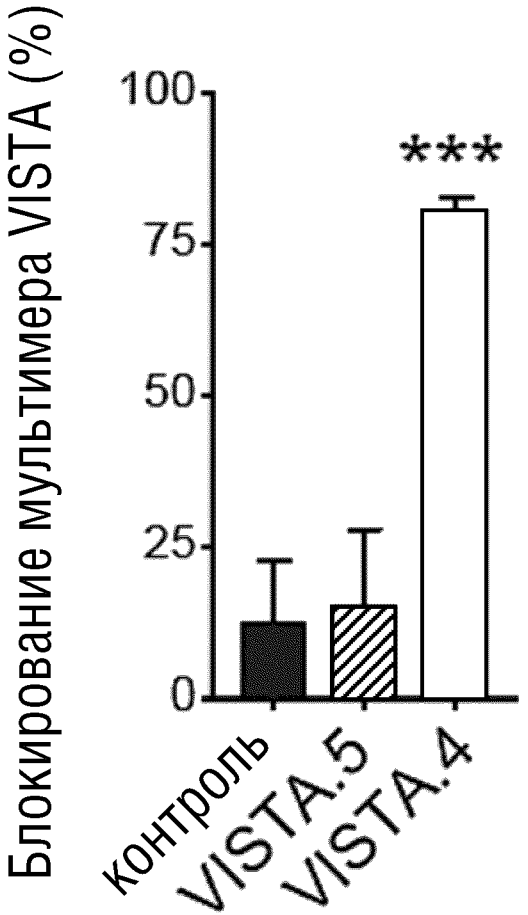
ФИГ.20

```
          10                  20                  30                  40                  50
MGVPTALEAG SWRWGSLLFA LFLAASLGPV AAFKVATPYS LYVCPEGQNV
          60                  70                  80                  90                  100
TLTCRLLGPV DKGHDVTFYK TWYRSSRGEV QTCSERRPIR NLTFQDLHLH
          110                 120                 130                 140                 150
HGGHQAANTS HDLAQRHGLE SASDHHGNFS ITMRNLTLLD SGLYCCLVVE
          160                 170                 180                 190                 200
IRHHHSEHRV HGAMELQVQT GKDAPSNCVV YPSSSQDSEN ITAAALATGA
```

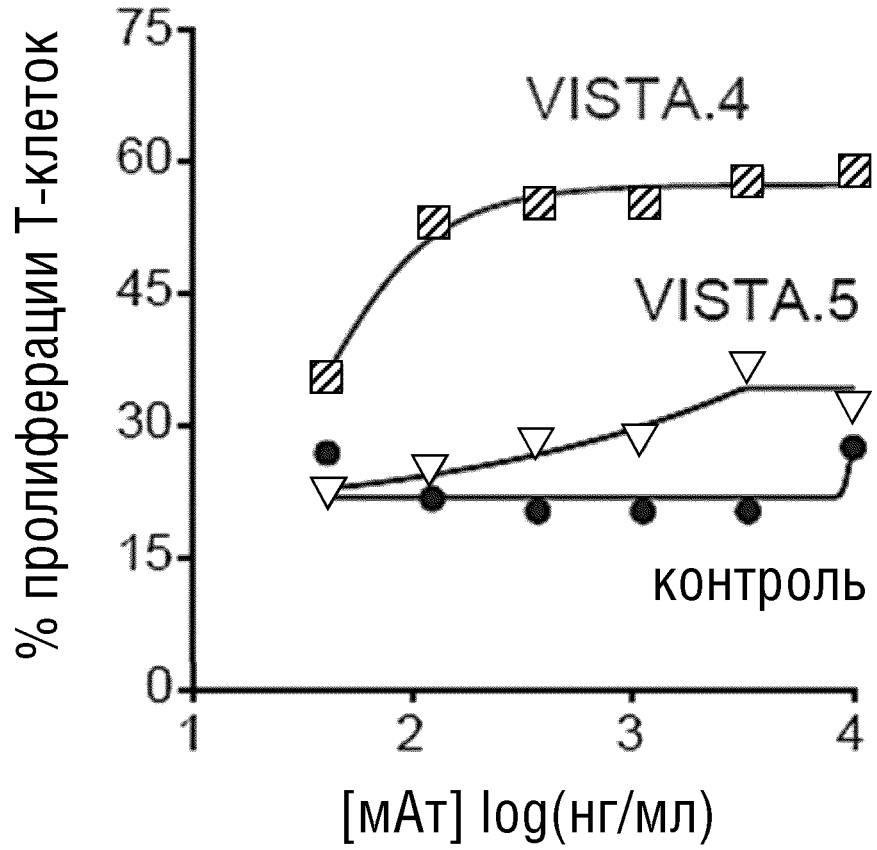
ФИГ.21A



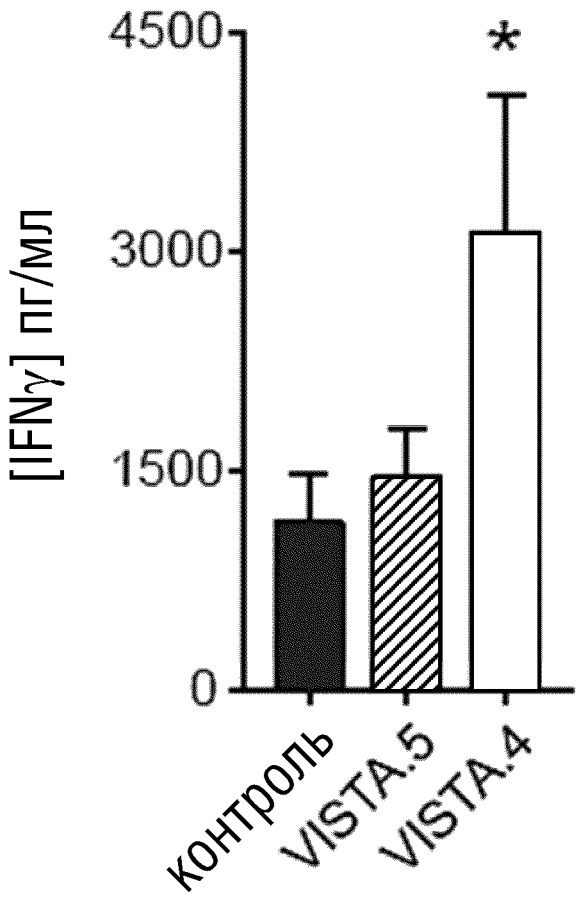
ФИГ.21B



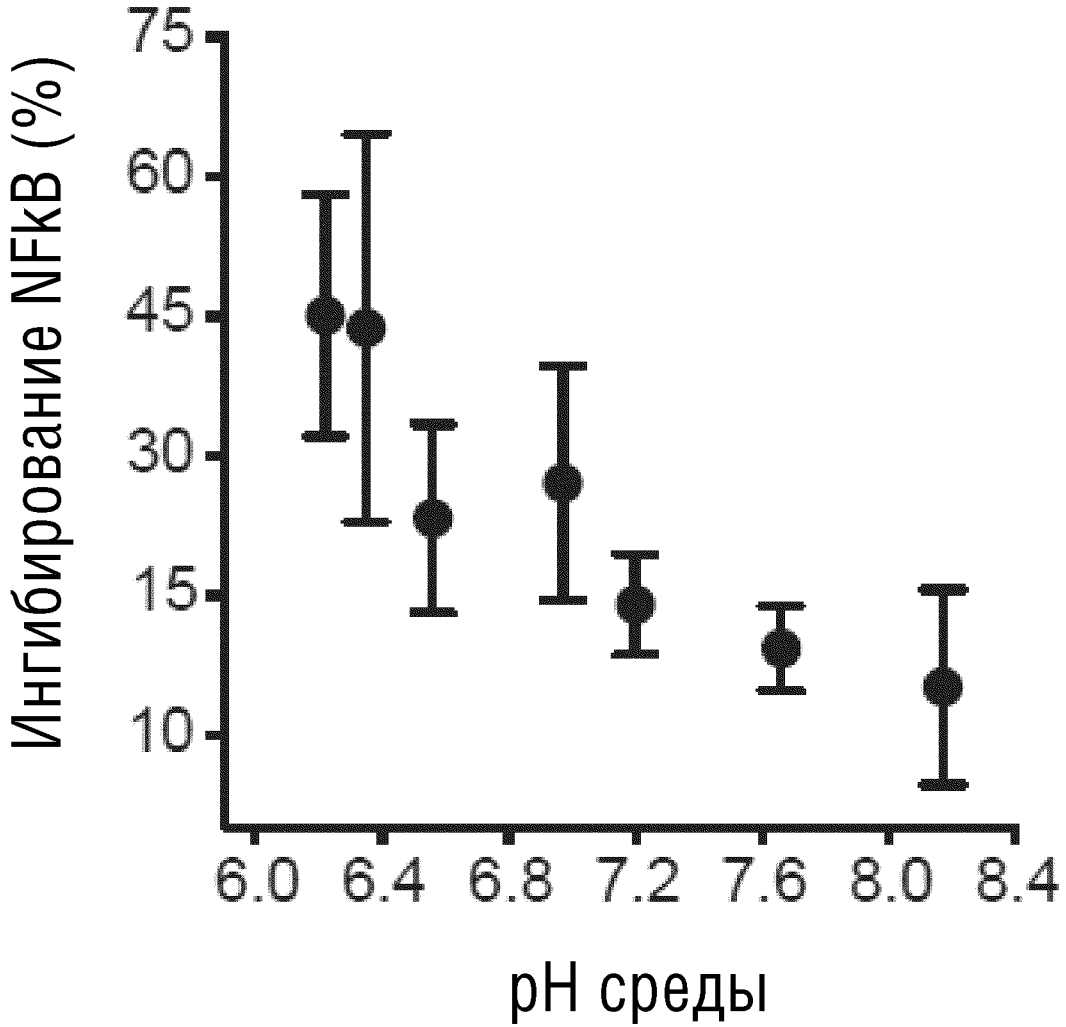
ФИГ.22A



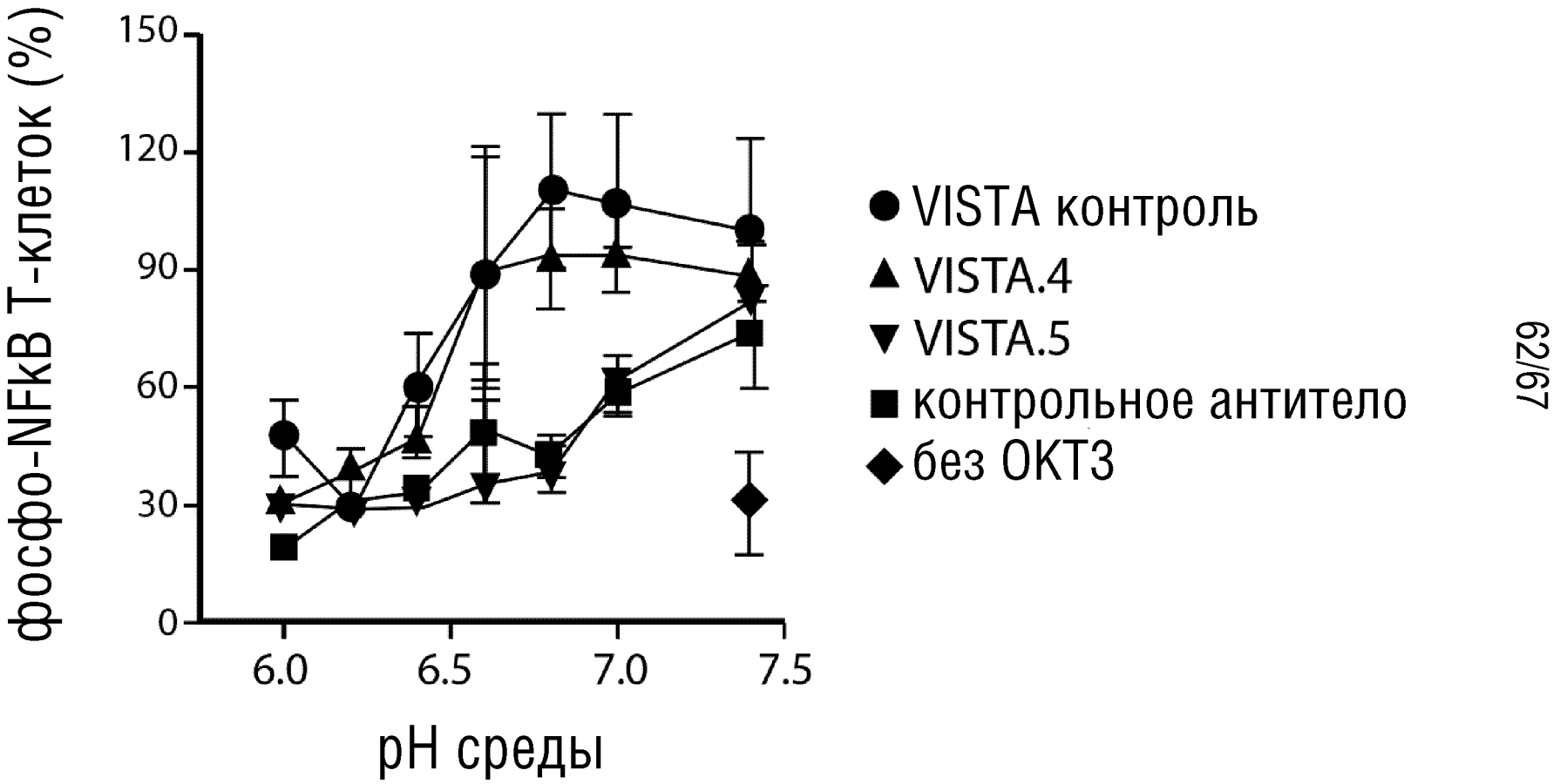
ФИГ.22B



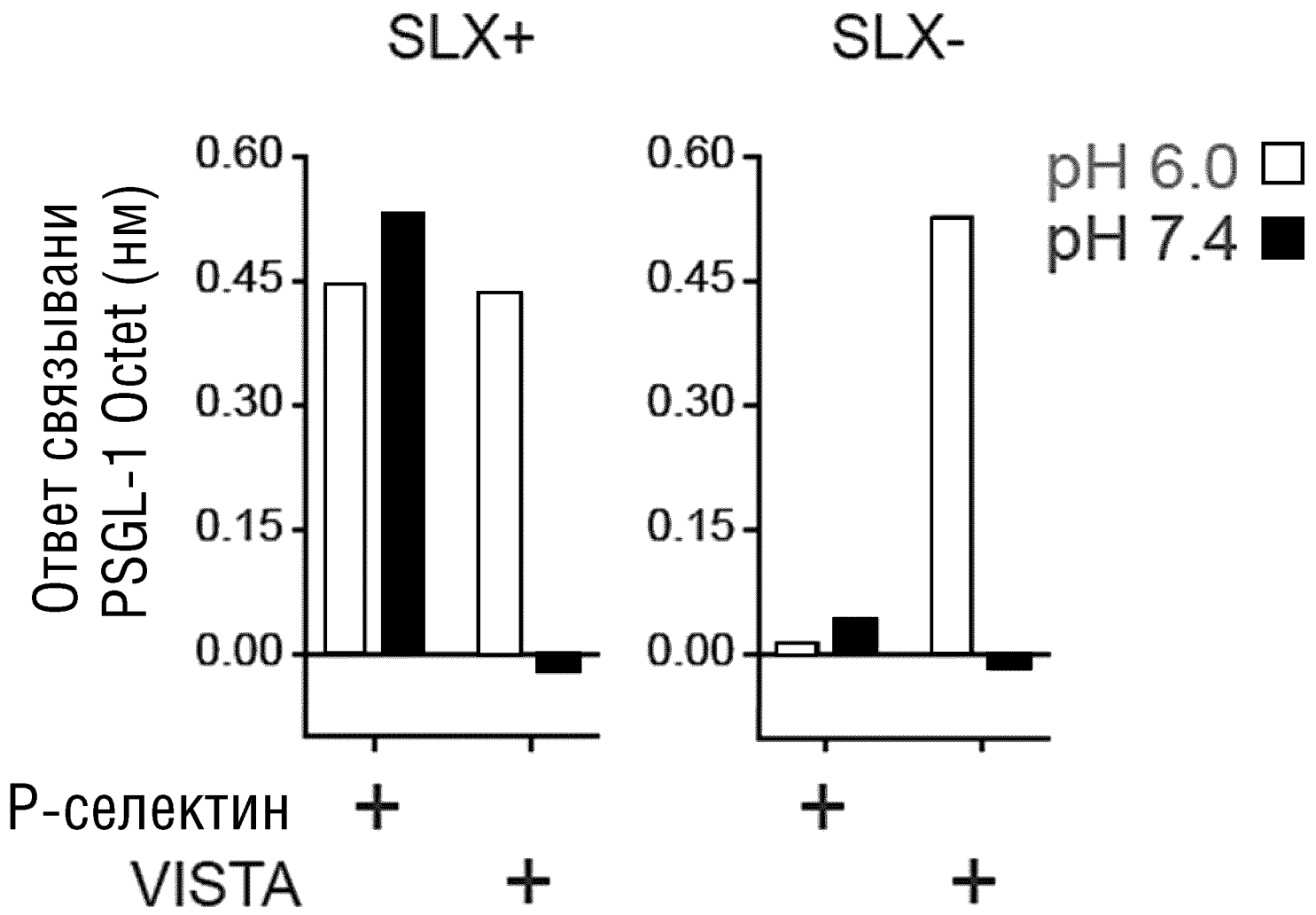
ФИГ.23


Ингибирование NFkB (%)
75
60
45
30
15
10
6.0
6.4
6.8
7.2
7.6
8.0
8.4
pH среды

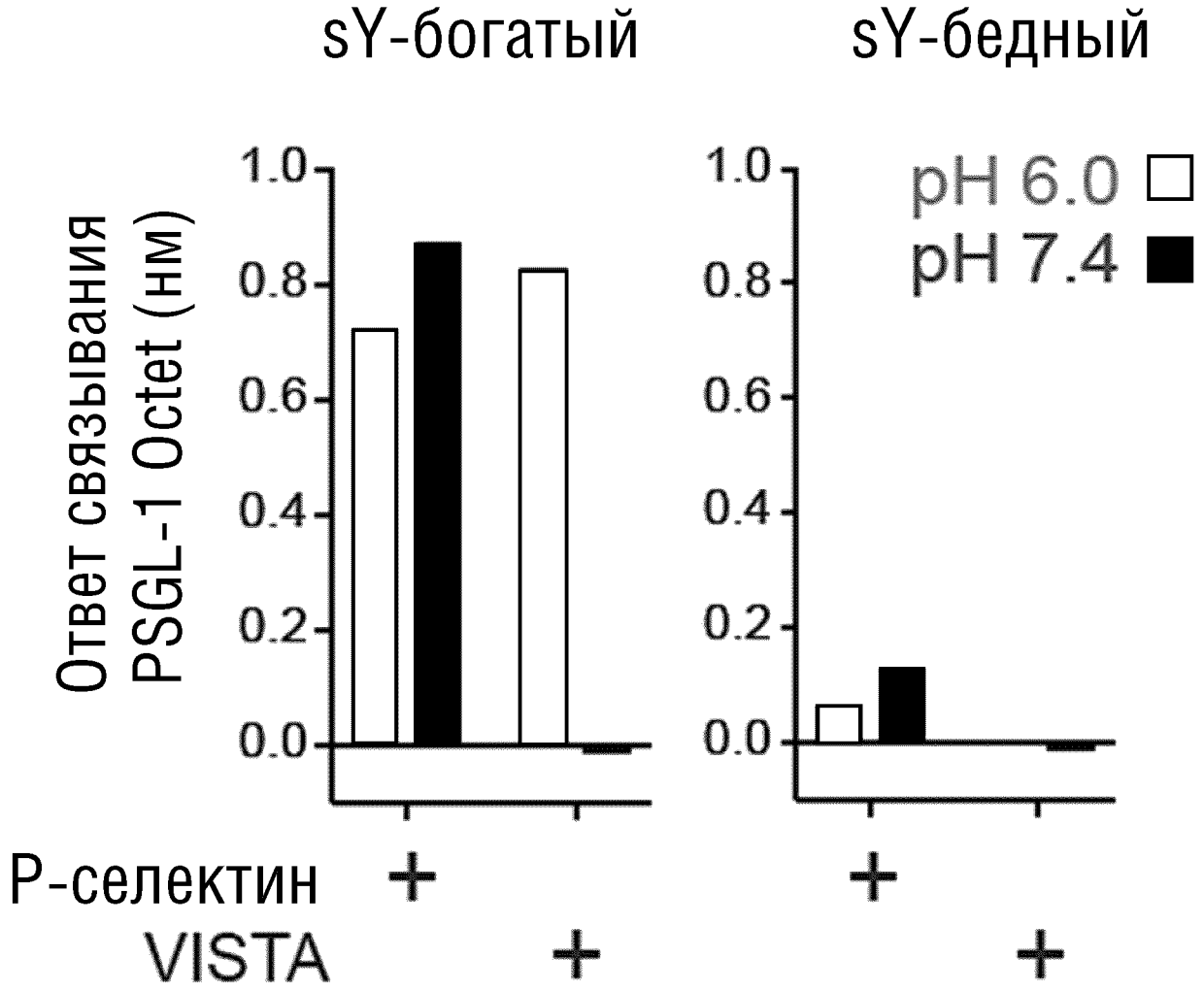
ФИГ.24


фосфо-NFkB Т-клеток (%)
150
120
90
60
30
0
6.0
6.5
7.0
7.5
pH среды
VISTA контроль
VISTA.4
VISTA.5
контрольное антитело
без OKT3

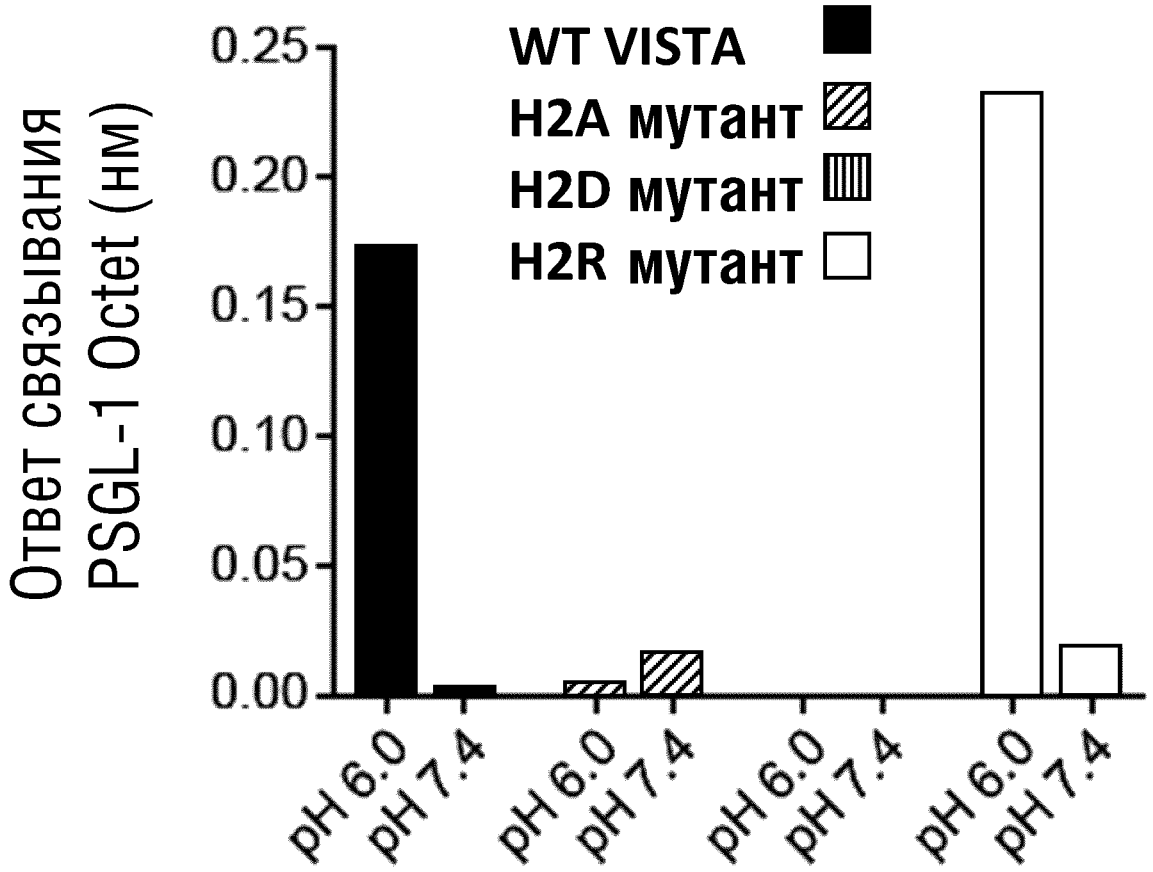
ФИГ.25А


SLX+
SLX-
Ответ связывани
PSGL-1 Octet (нм)
0.60
0.45
0.30
0.15
0.00
pH 6.0
pH 7.4
P-селектин
VISTA
+
+
+
+

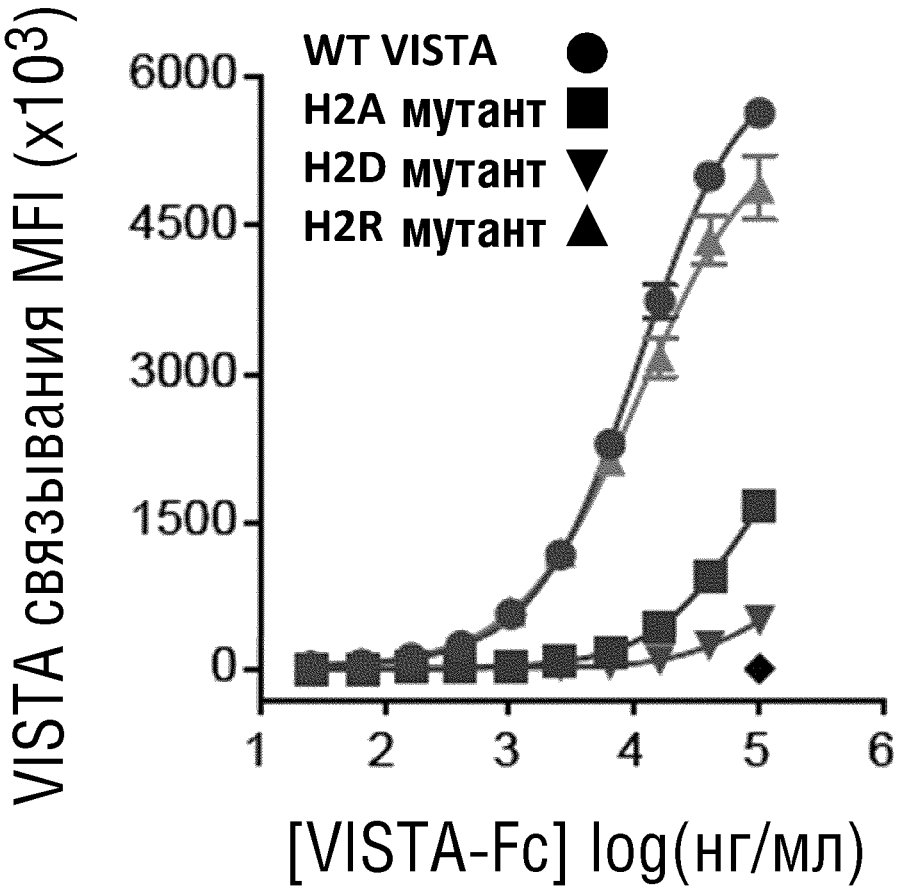
ФИГ.25B


sY-богатый
sY-бедный
Ответ связывания PSGL-1 Octet (нм)
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
pH 6.0
pH 7.4
P-селектин
VISTA
+
+
+
+

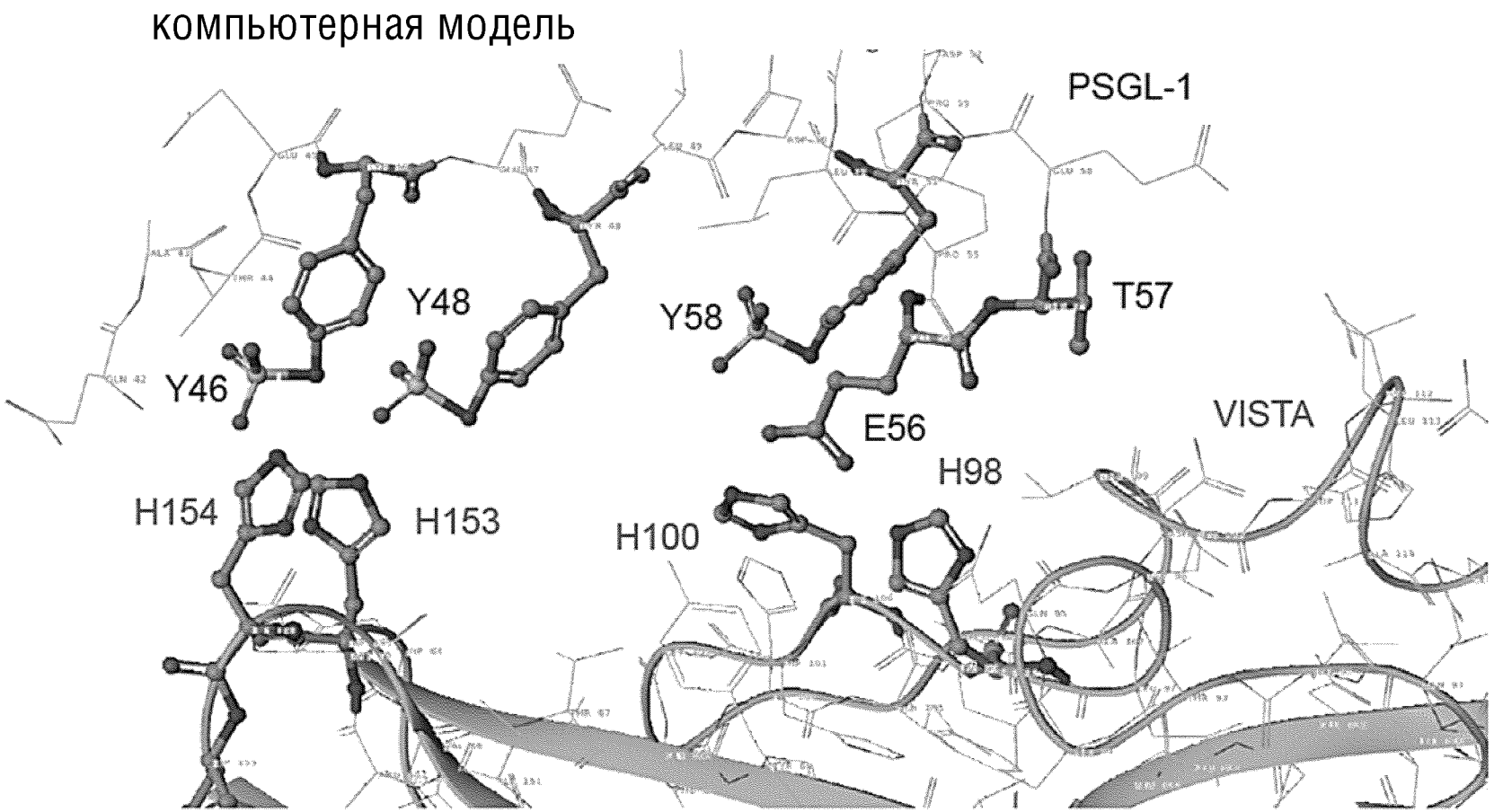
ФИГ.25C


Ответ связывания
PSGL-1 Octet (нм)
0.25
0.20
0.15
0.10
0.05
0.00
WT VISTA
H2A мутант
H2D мутант
H2R мутант
pH 6.0
pH 7.4
pH 6.0
pH 7.4
pH 6.0
pH 7.4
pH 6.0
pH 7.4

ФИГ.25D


WT VISTA
H2A мутант
H2D мутант
H2R мутант
VISTA связывания MFI (x10³)
6000
4500
3000
1500
0
1
2
3
4
5
6
[VISTA-Fc] log(нг/мл)

ФИГ.25E


компьютерная модель
PSGL-1
Y48
Y58
T57
Y46
E56
VISTA
H98
H154
H153
H100