

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

(21)(22) Заявка: 2017114166, 20.02.2014

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
20.02.2013 US 61/766,765;
18.09.2013 US 61/879,338(62) Номер и дата подачи первоначальной заявки,
из которой данная заявка выделена:
2015135884 25.08.2015(43) Дата публикации заявки: 29.01.2019 Бюл. №
04

Адрес для переписки:

119019, Москва, Гоголевский б-р, 11, этаж 3,
"Гоулинг ВЛГ (Интернэшил) Инк.", Карпенко
Оксана Юрьевна

(71) Заявитель(и):

РЕГЕНЕРОН ФАРМАСЬЮТИКАЛС,
ИНК. (US)

(72) Автор(ы):

МАКВИРТЕР Джон (US),
ГУРЕР Каган (US),
МИГЕР Каролина А. (US),
МАКДОНАЛД Линн (US),
МЕРФИ Эндрю Дж. (US)(54) НЕ ЯВЛЯЮЩИЕСЯ ЧЕЛОВЕКОМ ЖИВОТНЫЕ С МОДИФИЦИРОВАННЫМИ
ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЯМИ ТЯЖЕЛЫХ ЦЕПЕЙ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ

(57) Формула изобретения

1. Не являющееся человеком животное, геном зародышевой линии которого содержит локус тяжелой цепи иммуноглобулина, который содержит нуклеотидную последовательность реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека.
2. Не являющееся человеком животное по п. 1, отличающееся тем, что указанное не являющееся человеком животное представляет собой млекопитающее.
3. Не являющееся человеком животное по п. 2, отличающееся тем, что указанное млекопитающее представляет собой грызуна.
4. Не являющееся человеком животное по п. 3, отличающееся тем, что указанный грызун выбран из группы, состоящей из мыши, крысы и хомяка.
5. Не являющееся человеком животное по п. 1, отличающееся тем, что указанное не являющееся человеком животное является гомозиготным по нуклеотидной последовательности реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека.
6. Не являющееся человеком животное по п. 1, отличающееся тем, что указанная нуклеотидная последовательность реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека функционально связана с имеющей нечеловеческое происхождение последовательностью гена константной области тяжелой цепи.
7. Не являющееся человеком животное по п. 6, отличающееся тем, что указанная имеющая нечеловеческое происхождение последовательность гена константной области

A
166 4117114166 A
RU

R U 2 0 1 7 1 1 4 1 6 6 A

тяжелой цепи кодирует Fc.

8. Не являющееся человеком животное по п. 7, отличающееся тем, что указанная имеющая нечеловеческое происхождение последовательность гена константной области тяжелой цепи представляет собой последовательность гена константной области тяжелой цепи мыши или крысы.

9. Не являющееся человеком животное по п. 1, отличающееся тем, что указанное не являющееся человеком животное представляет собой грызуна, и нуклеотидная последовательность реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека функционально связана с последовательностью гена константной области тяжелой цепи человека.

10. Не являющееся человеком животное по любому из пп. 6-9, отличающееся тем, что указанную последовательность гена константной области тяжелой цепи выбирают из CH1,

шарнира, CH2, CH3 и их комбинации.

11. Не являющееся человеком животное по п. 1, отличающееся тем, что указанная нуклеотидная последовательность реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека получена из сегмента гена V_H тяжелой цепи человека, сегмента D гена тяжелой цепи человека и сегмента гена J_H тяжелой цепи человека.

12. Не являющееся человеком животное по п. 11, отличающееся тем, что указанная нуклеотидная последовательность реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека получена из сегмента V_H тяжелой цепи зародышевой линии человека, сегмента D тяжелой цепи зародышевой линии человека и сегмента J_H тяжелой цепи зародышевой линии человека.

13. Не являющееся человеком животное по п. 1, отличающееся тем, что указанная нуклеотидная последовательность реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека кодирует последовательность $V_H3-23/GY/J_H4-4$ человека.

14. Не являющееся человеком животное по п. 1, отличающееся тем, что по существу все эндогенные функциональные сегменты генов V_H , D и J_H удалены из локуса тяжелой цепи иммуноглобулина не являющегося человеком животного, или их функциональность устранена.

15. Не являющееся человеком животное по п. 1, отличающееся тем, что у указанного не являющегося человеком животного имеется модификация, которая обеспечивает удаление или устранение функциональности эндогенных функциональных сегментов гена V_H , D и J_H ; и у указанного не являющегося человеком животного имеется нуклеотидная последовательность реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека, при этом указанная нуклеотидная последовательность реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека присутствует эктопически.

16. Не являющееся человеком животное по п. 1, отличающееся тем, что вариабельный домен тяжелой цепи иммуноглобулина, кодируемый указанной нуклеотидной последовательностью реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи, не является иммуногенным для указанного не являющегося человеком животного.

17. Не являющееся человеком животное по п. 1, отличающееся тем, что у указанного не являющегося человеком животного имеется ген Adam β , ген Adam $\delta\beta$ или оба указанных гена.

18. Не являющееся человеком животное по п. 1, отличающееся тем, что у указанного не являющегося человеком животного дополнительно имеется нуклеотидная последовательность,

кодирующая сегмент V гена нереаранжированной легкой цепи иммуноглобулина человека (V_L) и сегмент J гена нереаранжированной легкой цепи иммуноглобулина человека (J_L).

19. Не являющееся человеком животное по п. 18, отличающееся тем, что указанная нуклеотидная последовательность, кодирующая сегмент V гена нереаранжированной легкой цепи (V_L) и сегмент гена нереаранжированной легкой цепи (J_L), функционально связана с последовательностью гена константной области легкой цепи иммуноглобулина.

20. Не являющееся человеком животное по п. 19, отличающееся тем, что указанная последовательность гена константной области легкой цепи выбрана из последовательности гена константной области грызуна и человека.

21. Не являющееся человеком животное по п. 20, отличающееся тем, что указанный грызун выбран из мыши, крысы и хомяка.

22. Не являющееся человеком животное по п. 18, отличающееся тем, что указанный сегмент гена нереаранжированной легкой цепи иммуноглобулина человека (V_L) и сегмент гена неаранжированного иммуноглобулина человека (J_L) функционально связаны в эндогенном локусе грызуна с последовательностью гена константной области иммуноглобулина грызуна.

23. Не являющееся человеком животное по п. 1, отличающееся тем, что указанный локус тяжелой цепи иммуноглобулина содержит несколько копий нуклеотидной последовательности реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека.

24. Локус тяжелой цепи имеющего нечеловеческое происхождение иммуноглобулина в геноме имеющей нечеловеческое происхождение зародышевой клетки, содержащий нуклеотидную последовательность реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека, функционально связанную с последовательностью гена константной области тяжелой цепи, при этом указанная последовательность гена константной области содержит имеющую нечеловеческое происхождение последовательность, человеческую последовательность или их комбинацию.

25. Локус тяжелой цепи иммуноглобулина по п. 24, отличающийся тем, что указанная нуклеотидная последовательность реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека функционально связана с эндогенной последовательностью гена константной области имеющего нечеловеческое происхождение иммуноглобулина.

26. Локус тяжелой цепи иммуноглобулина по п. 25, отличающийся тем, что указанная эндогенная последовательность гена константной области имеющего нечеловеческое происхождение иммуноглобулина представляет собой последовательность гена константной области тяжелой цепи мыши или крысы.

27. Способ получения не являющегося человеком животного, включающий:
(а) модификацию генома не являющегося человеком животного с удалением или устраниением функциональности эндогенных функциональных сегментов гена V_H, D и J_H тяжелых цепей иммуноглобулина; и

(б) введение в указанный геном нуклеотидной последовательности реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека.

28. Способ по п. 27, отличающийся тем, что указанная нуклеотидная последовательность реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека функционально связана с последовательностью гена константной области тяжелой цепи имеющего нечеловеческое происхождение иммуноглобулина.

29. Способ по п. 28, отличающийся тем, что указанная последовательность гена

константной области тяжелой цепи имеющего нечеловеческое происхождение иммуноглобулина представляет собой последовательность гена константной области тяжелой цепи иммуноглобулина мыши или крысы.

30. Способ по п. 27, отличающийся тем, что указанная нуклеотидная последовательность реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека расположена в эндогенном локусе тяжелой цепи иммуноглобулина в геноме.

31. Способ по п. 27, отличающийся тем, что указанная нуклеотидная последовательность реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека находится в геноме зародышевой линии не являющегося человеком животного.

32. Способ по п. 27, отличающийся тем, что указанная нуклеотидная последовательность реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека находится в эктопическом локусе в геноме.

33. Способ по п. 27, отличающийся тем, что у указанного не являющегося человеком животного имеется несколько копий нуклеотидной последовательности реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека.

34. Способ по п. 27, отличающийся тем, что у указанного не являющегося человеком животного имеется ген *Adam6a*, ген *Adam6b* или оба указанных гена.

35. Способ по п. 27, отличающийся тем, что указанное не являющееся человеком животное

представляет собой грызуна, выбранного из группы, состоящей из мыши, крысы или хомяка.

36. Не являющееся человеком животное, гетерозиготное по локусу тяжелой цепи иммуноглобулина по п. 24, отличающееся тем, что у указанного не являющегося человеком животного экспрессируется нуклеотидная последовательность реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека преимущественно из локуса тяжелой цепи иммуноглобулина.

37. Не являющееся человеком животное, у которого имеется генетически модифицированный иммуноглобулиновый локус, содержащий:

(а) нуклеотидную последовательность реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека, функционально связанную с последовательностью гена константной области легкой цепи; и

(б) нуклеотидную последовательность нереаранжированной вариабельной области легкой цепи иммуноглобулина человека, функционально связанную с последовательностью гена константной области тяжелой цепи.

38. Не являющееся человеком животное по п. 37, отличающееся тем, что указанное не являющееся человеком животное представляет собой млекопитающее.

39. Не являющееся человеком животное по п. 38, отличающееся тем, что указанное млекопитающее выбран из группы, состоящей из мыши, крысы и хомяка.

40. Не являющееся человеком животное по п. 37, отличающееся тем, что указанная нуклеотидная последовательность реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека функционально связана с последовательностью гена константной области легкой цепи κ .

41. Не являющееся человеком животное по п. 37, отличающееся тем, что указанная нуклеотидная последовательность реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека функционально связана с последовательностью гена константной области легкой цепи λ .

42. Не являющееся человеком животное по п. 37, отличающееся тем, что указанная последовательность гена константной области легкой цепи представляет собой

последовательность гена константной области легкой цепи мыши или крысы.

43. Не являющееся человеком животное по п. 37, отличающееся тем, что указанная последовательность гена константной области легкой цепи представляет собой последовательность гена константной области легкой цепи человека.

44. Не являющееся человеком животное по п. 37, отличающееся тем, что указанная последовательность гена константной области тяжелой цепи представляет собой последовательность гена константной области тяжелой цепи мыши или крысы.

45. Не являющееся человеком животное по п. 37, отличающееся тем, что указанная последовательность гена константной области тяжелой цепи представляет собой последовательность гена константной области тяжелой цепи человека.

46. Не являющееся человеком животное по любому из пп. 44 или 45, отличающееся тем, что указанная последовательность гена константной области тяжелой цепи кодирует последовательность, выбранную из СН1, шарнира, СН2, СН3 и их комбинации.

47. Не являющееся человеком животное по п. 37, отличающееся тем, что указанная нуклеотидная последовательность нереаранжированной вариабельной области легкой цепи иммуноглобулина человека содержит последовательность гена к вариабельного домена легкой цепи человека.

48. Не являющееся человеком животное по п. 37, отличающееся тем, что указанная нуклеотидная последовательность нереаранжированной вариабельной области легкой цепи иммуноглобулина человека содержит последовательность гена вариабельного домена легкой цепи λ человека.

49. Не являющееся человеком животное по п. 37, отличающееся тем, что указанная нуклеотидная последовательность реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека получена из сегмента гена V_H тяжелой цепи человека, сегмента D гена тяжелой цепи человека и сегмента гена I_H тяжелой цепи человека

50. Не являющееся человеком животное по п. 49, отличающееся тем, что указанная нуклеотидная последовательность реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека получена из сегмента V_H тяжелой цепи зародышевой линии человека, сегмента D тяжелой цепи зародышевой линии человека и сегмента J_H тяжелой цепи зародышевой линии человека.

51. Не являющееся человеком животное по п. 49, отличающееся тем, что указанный сегмент гена V_H человека выбран из группы, состоящей из V_{H1-2} , V_{H1-3} , V_{H1-8} , V_{H1-18} , V_{H1-24} , V_{H1-45} , V_{H1-46} , V_{H1-58} , V_{H1-69} , V_{H2-5} , V_{H2-26} , V_{H2-70} , V_{H3-7} , V_{H3-9} , V_{H3-11} , V_{H3-13} , V_{H3-15} , V_{H3-16} , V_{H3-20} , V_{H3-21} , V_{H3-23} , V_{H3-30} , $V_{H3-30-3}$, $V_{H3-30-5}$, V_{H3-33} , V_{H3-35} , V_{H3-38} , V_{H3-43} , V_{H3-48} ,

$V_H3-49, V_H3-53, V_H3-64, V_H3-66, V_H3-72, V_H3-73, V_H3-74, V_H4-4, V_H4-28, V_H4-30-1, V_H4-30-2, V_H4-30-4, V_H4-31, V_H4-34, V_H4-39, V_H4-59, V_H4-61, V_H5-51, V_H6-1, V_H7-4-1, V_H7-81$ и их полиморфных вариантов.

52. Не являющееся человеком животное по п. 49, отличающееся тем, что указанный сегмент D гена человека выбран из группы, состоящей из D1-1, D1-7, D1-14, D1-20, D1-26, D2-2, D2-8, D2-15, D2-21, D3-3, D3-9, D3-10, D3-16, D3-22, D4-4, D4-11, D4-17, D4-23, D5-12, D5-5, D5-18, D5-24, D6-6, D6-13, D6-19, D6-25, D7-27 и их полиморфных вариантов.

53. Не являющееся человеком животное по п. 49, отличающееся тем, что указанный сегмент гена J_H человека выбран из группы, состоящей из J_{H1} , J_{H2} , J_{H3} , J_{H4} , J_{H5} , J_{H6} и их полиморфных вариантов.

54. Не являющееся человеком животное по п. 37, отличающееся тем, что указанная нуклеотидная последовательность реарранжированной вариабельной области тяжелой

цепи иммуноглобулина человека кодирует последовательность $V_H3-23/GY/J_H4-4$ человека (SEQ ID NO: 137).

55. Не являющееся человеком животное по п. 37, отличающееся тем, что указанный генетически модифицированный иммуноглобулиновый локус присутствует в зародышевой линии не являющегося человеком животного.

56. Не являющееся человеком животное по п. 37, отличающееся тем, что по существу все эндогенные функциональные сегменты генов V_H , D и J_H удалены из локуса тяжелой цепи иммуноглобулина не являющегося человеком животного, или их функциональность устранена.

57. Не являющееся человеком животное по п. 37, отличающееся тем, что у указанного не являющегося человеком животного имеется модификация, которая обеспечивает удаление или устранение функциональности эндогенных функциональных сегментов гена V_H , D и J_H ; и у указанного не являющегося человеком животного имеется нуклеотидная последовательность реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека, функционально связанная с последовательностью гена константной области легкой цепи, при этом указанная нуклеотидная последовательность реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека находится в эктопическом локусе в геноме.

58. Не являющееся человеком животное по п. 37, отличающееся тем, что у указанного не являющегося человеком животного имеется ген $Adam\beta$, ген $Adam\beta b$ или оба указанных гена.

59. Не являющееся человеком животное по п. 37, отличающееся тем, что вариабельный домен

тяжелой цепи, кодируемый нуклеотидной последовательностью реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека, не является иммуногенным для указанного не являющегося человеком животного.

60. Не являющееся человеком животное по п. 37, отличающееся тем, что указанный генетически модифицированный иммуноглобулиновый локус содержит несколько копий нуклеотидной последовательности реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека, функционально связанной с последовательностью гена константной области легкой цепи.

61. Иммуноглобулиновый локус в геноме зародышевой линии не являющегося человеком животного, содержащий:

(1) нуклеотидную последовательность реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека, функционально связанную с последовательностью гена константной области легкой цепи, и

(2) нуклеотидную последовательность нереаранжированной вариабельной области легкой цепи иммуноглобулина человека, функционально связанную с последовательностью гена константной области тяжелой цепи.

62. Генетически модифицированный иммуноглобулиновый локус по п. 61, отличающийся тем, что указанная последовательность гена константной области легкой цепи представляет собой последовательность гена константной области легкой цепи κ .

63. Генетически модифицированный иммуноглобулиновый локус по п. 61, отличающийся тем, что указанная последовательность гена константной области легкой цепи представляет собой последовательность гена константной области легкой цепи λ .

64. Генетически модифицированный иммуноглобулиновый локус по п. 61, отличающийся тем, что указанная последовательность гена константной области легкой

цепи представляет собой последовательность гена константной области легкой цепи мыши или крысы.

65. Способ получения не являющегося человеком животного, у которого имеется модифицированный иммуноглобулиновый локус, включающий:

(а) модификацию генома не являющегося человеком животного с удалением или устраниением функциональности:

(i) эндогенных функциональных сегментов V, D и J гена тяжелых цепей иммуноглобулина, и

(ii) эндогенных функциональных сегментов V и J генов легкой цепи иммуноглобулина; и

(b) введение в указанный геном:

(i) нуклеотидной последовательности реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека, функционально связанной с последовательностью гена константной области легкой цепи, и

(ii) нуклеотидной последовательности нереаранжированной вариабельной области легкой цепи иммуноглобулина человека, функционально связанной с последовательностью гена константной области тяжелой цепи.

66. Способ по п. 65, отличающийся тем, что указанная нуклеотидная последовательность нереаранжированной вариабельной области легкой цепи иммуноглобулина человека кодирует вариабельный домен легкой цепи κ.

67. Способ по п. 65, отличающийся тем, что указанная нуклеотидная последовательность нереаранжированной вариабельной области легкой цепи иммуноглобулина человека кодирует вариабельный домен легкой цепи λ.

68. Способ по п. 65, отличающийся тем, что указанная последовательность гена константной области тяжелой цепи представляет собой последовательность гена константной области тяжелой цепи имеющего нечеловеческое происхождение иммуноглобулина.

69. Способ по п. 68, отличающийся тем, что указанная последовательность гена константной области тяжелой цепи имеющего нечеловеческое происхождение иммуноглобулина представляет собой последовательность гена константной области тяжелой цепи мыши или крысы.

70. Способ по п. 68 или 69, отличающийся тем, что указанная последовательность гена константной области тяжелой цепи кодирует последовательность, выбранную из СН1, шарнира, СН2, СН3 и их комбинации.

71. Способ по п. 65, отличающийся тем, что указанное не являющееся человеком животное представляет собой грызуна, выбранного из группы, состоящей из мыши, крысы или хомяка.

72. Способ по п. 65, отличающийся тем, что указанный модифицированный иммуноглобулиновый локус находится в геноме зародышевой линии не являющегося человеком животного.

73. Способ по п. 65, отличающийся тем, что у указанного не являющегося человеком животного имеется ген Adam β , ген Adam δ или оба указанных гена.

74. Не являющееся человеком животное, у которого имеется модифицированный локус тяжелой цепи иммуноглобулина, который содержит нуклеотидную последовательность реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека, содержащую последовательность сегмента V тяжелой цепи (V_H), функционально связанную через спейсер с последовательностью сегмента J тяжелой цепи (J_H), причем указанный спейсер содержит по меньшей мере один аминокислотный остаток.

75. Не являющееся человеком животное по п. 74, отличающееся тем, что указанное

не являющееся человеком животное представляет собой грызуна.

76. Не являющееся человеком животное по п. 75, отличающееся тем, что указанного грызуна выбран из группы, состоящей из мыши, крысы и хомяка.

77. Не являющееся человеком животное по п. 74, отличающееся тем, что указанная нуклеотидная последовательность реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека функционально связана с имеющей нечеловеческое происхождение последовательностью гена константной области тяжелой цепи.

78. Не являющееся человеком животное по п. 77, отличающееся тем, что указанная имеющая нечеловеческое происхождение последовательность гена константной области тяжелой цепи представляет собой последовательность гена константной области мыши или крысы.

79. Не являющееся человеком животное по п. 74, отличающееся тем, что указанная нуклеотидная последовательность реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека функционально связана с последовательностью гена константной области тяжелой цепи человека.

80. Не являющееся человеком животное по любому из пп. 77-79, отличающееся тем, что указанная последовательность гена константной области тяжелой цепи кодирует последовательность, выбранную из СН1, шарнира, СН2, СН3 и их комбинации.

81. Не являющееся человеком животное по п. 74, отличающееся тем, что указанные последовательности V_H и J_H происходят из сегмента V_H гена человека и сегмента J_H гена человека.

82. Не являющееся человеком животное по п. 81, отличающееся тем, что указанный сегмент гена V_H человека выбирают из группы, состоящей из V_H 1-2, V_H 1-3, V_H 1-8, V_H 1-18, V_H 1-24, V_H 1-45, V_H 1-46, V_H 1-58, V_H 1-69, V_H 2-5, V_H 2-26, V_H 2-70, V_H 3-7, V_H 3-9, V_H 3-11, V_H 3-13, V_H 3-15, V_H 3-16, V_H 3-20, V_H 3-21, V_H 3-23, V_H 3-30, V_H 3-30-3, V_H 3-30-5, V_H 3-33, V_H 3-35, V_H 3-38, V_H 3-43, V_H 3-48,

V_H 3-49, V_H 3-53, V_H 3-64, V_H 3-66, V_H 3-72, V_H 3-73, V_H 3-74, V_H 4-4, V_H 4-28, V_H 4-30-1, V_H 4-30-2, V_H 4-30-4, V_H 4-31, V_H 4-34, V_H 4-39, V_H 4-59, V_H 4-61, V_H 5-51, V_H 6-1, V_H 7-4-1, V_H 7-81 и их полиморфных вариантов.

83. Не являющееся человеком животное по п. 81, отличающееся тем, что указанный сегмент V_H гена человека представляет собой V_H 3-23 или его полиморфный вариант.

84. Не являющееся человеком животное по п. 74, отличающееся тем, что указанный спейсер кодирует последовательность, происходящую из сегмента D гена человека.

85. Не являющееся человеком животное по п. 84, отличающееся тем, что указанный сегмент Dгена человека выбирают из группы, состоящей из D1-1, D1-7, D1-14, D1-20, D1-26, D2-2, D2-8, D2-15, D2-21, D3-3, D3-9, D3-10, D3-16, D3-22, D4-4, D4-11, D4-17, D4-23, D5-12, D5-5, D5-18, D5-24, D6-6, D6-13, D6-19, D6-25, D7-27 и их полиморфных вариантов.

86. Не являющееся человеком животное по п. 84, отличающееся тем, что указанный спейсер кодирует последовательность D4-4 или ее полиморфный вариант.

87. Не являющееся человеком животное по п. 81, отличающееся тем, что указанный сегмент J_H гена человека выбран из группы, состоящей из J_H 1, J_H 2, J_H 3, J_H 4, J_H 5, J_H 6 и их полиморфных вариантов.

88. Не являющееся человеком животное по п. 81, отличающееся тем, что указанный сегмент J_H человека представлен J_H 4-4 или его полиморфным вариантом.

89. Не являющееся человеком животное по п. 74, отличающееся тем, что указанная нуклеотидная последовательность реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина кодирует последовательность V_H 3-23/GY/ J_H 4-4 человека (SEQ

ID NO: 137).

90. Не являющееся человеком животное по п. 74, отличающееся тем, что по существу все эндогенные функциональные сегменты генов V_H , D и J_H удалены из локуса вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина не являющегося человеком животного, или их функциональность устраниены.

91. Не являющееся человеком животное по п. 74, отличающееся тем, что у указанного не являющегося человеком животного имеется модификация, которая обеспечивает удаление или устранение функциональности эндогенных функциональных сегментов гена V_H , D и J_H ; и у указанного не являющегося человеком животного имеется нуклеотидная последовательность реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека в эктопическом локусе генома.

92. Не являющееся человеком животное по п. 74, отличающееся тем, что вариабельный домен тяжелой цепи, кодируемый нуклеотидной последовательностью реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека, не является иммуногенным для указанного не являющегося человеком животного.

93. Не являющееся человеком животное по п. 74, отличающееся тем, что у указанного не являющегося человеком животного имеется ген $Adam\beta$, ген $Adam\beta b$ или оба указанных гена.

94. Локус тяжелой цепи иммуноглобулина в геноме зародышевой линии не являющегося человеком животного, содержащий нуклеотидную последовательность реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека, содержащую сегмент гена вариабельной области тяжелой цепи (V_H), который функционально связан через спейсер с сегментом гена J тяжелой цепи (J_H), причем указанный спейсер кодирует по меньшей мере один аминокислотный остаток.

95. Локус тяжелой цепи иммуноглобулина по п. 94, отличающийся тем, что указанная нуклеотидная последовательность реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека функционально связана с имеющей нечеловеческое происхождение последовательностью гена константной области тяжелой цепи.

96. Локус тяжелой цепи иммуноглобулина по п. 95, отличающийся тем, что указанная имеющая нечеловеческое происхождение последовательность гена константной области тяжелой цепи представляет собой последовательность гена константной области тяжелой цепи мыши или крысы.

97. Локус тяжелой цепи иммуноглобулина по п. 94, отличающийся тем, что указанный иммуноглобулиновый локус содержит несколько копий реаранжированной нуклеотидной последовательности вариабельной области тяжелой цепи.

98. Способ получения не являющегося человеком животного, имеющего модифицированный локус тяжелой цепи иммуноглобулина, включающий:

(а) модификацию генома не являющегося человеком животного с удалением или устраниением функциональности эндогенных функциональных сегментов V_H , D и J_H гена тяжелой цепи иммуноглобулина; и

(б) введение в указанный геном нуклеотидной последовательности реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека, содержащей сегмент гена вариабельной области тяжелой цепи (V_H), который функционально

связан через спейсер с сегментом гена J тяжелой цепи (J_H), причем указанный спейсер содержит по меньшей мере один аминокислотный остаток.

99. Способ по п. 98, отличающийся тем, что указанная нуклеотидная последовательность реаранжированной тяжелой цепи иммуноглобулина человека функционально связана с последовательностью гена константной области тяжелой цепи иммуноглобулина нечеловеческого происхождения.

100. Способ по п. 99, отличающийся тем, что указанная последовательность гена константной области тяжелой цепи имеющего нечеловеческое происхождение иммуноглобулина представляет собой последовательность гена константной области тяжелой цепи мыши или крысы.

101. Способ по п. 98, отличающийся тем, что указанная нуклеотидная последовательность реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека расположена в эндогенном локусе тяжелой цепи иммуноглобулина в геноме.

102. Способ по п. 98, отличающийся тем, что указанная нуклеотидная последовательность реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека находится в эктопическом локусе в геноме.

103. Способ по п. 98, отличающийся тем, что указанный модифицированный локус тяжелой цепи содержит несколько копий нуклеотидной последовательности реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека.

104. Способ по п. 98, отличающийся тем, что указанное не являющееся человеком животное представляет собой грызуна, выбранного из группы, состоящей из мыши, крысы или хомяка.

105. Способ по п. 98, отличающийся тем, что у указанного не являющегося человеком животного имеется ген *Adam6a*, ген *Adam6b* или оба указанных гена.

106. Способ по п. 98, отличающийся тем, что указанный модифицированный локус тяжелой цепи иммуноглобулина находится в геноме зародышевой линии не являющегося человеком животного.

107. Модифицированное, не являющееся человеком животное, в геноме которого содержатся:

(i) локус тяжелой цепи иммуноглобулина, который нуклеотидную последовательность реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи человека, функционально связанную с нуклеотидной последовательностью тяжелой цепи константной области; и

(ii) локус легкой цепи иммуноглобулина, который содержит один или более, но меньше, чем у дикого типа, сегментов V_L и J_L гена легкой цепи иммуноглобулина человека, функционально связанных с нуклеотидной последовательностью константной области легкой цепи.

108. Модифицированное, не являющееся человеком животное по п. 107, отличающееся тем, что указанное не являющееся человеком животное представляет собой млекопитающее.

109. Модифицированное, не являющееся человеком животное по п. 108, отличающееся тем, что указанное млекопитающее представляет собой грызуна.

110. Модифицированное, не являющееся человеком животное по п. 109, отличающееся тем, что указанный грызун выбран из группы, состоящей из мыши, крысы и хомяка.

111. Модифицированное, не являющееся человеком животное по п. 107, отличающееся тем, что указанная нуклеотидная последовательность константной области тяжелой цепи представляет собой последовательность константной области грызуна, которая кодирует иммуноглобулин изотипа, выбранного из IgM, IgD, IgG, IgE, IgA и их комбинаций.

112. Модифицированное, не являющееся человеком животное по п. 107, отличающееся тем, что указанная нуклеотидная последовательность константной области легкой цепи представляет собой нуклеотидную последовательность константной области κ или λ грызуна.

113. Модифицированное, не являющееся человеком животное по п. 107, отличающееся тем, что указанная нуклеотидная последовательность реаранжированной вариабельной

области тяжелой цепи человека выбрана из сегмента V_H зародышевой линии человека, сегмента D зародышевой линии человека и сегмента J_H зародышевой линии человека.

114. Модифицированное, не являющееся человеком животное по п. 107, отличающееся тем, что указанная нуклеотидная последовательность реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи человека функционально связана с нуклеотидной последовательностью константной области в эндогенном локусе.

115. Модифицированное, не являющееся человеком животное по п. 107, отличающееся тем, что указанные один или большее, но меньшее, чем у дикого типа, сегментов гена V_L и J_L легкой цепи иммуноглобулина человека функционально связаны с нуклеотидной последовательностью константной области легкой цепи в эндогенном локусе.

116. Модифицированное, не являющееся человеком животное по п. 107, отличающееся тем, что у указанного не являющегося человеком животного имеется не более чем два сегмента V_L гена

неаранжированного иммуноглобулина человека, и один, два, три или большее количество нереаранжированных сегментов гена J_L человека.

117. Модифицированное, не являющееся человеком животное по п. 113, отличающееся тем, что указанный сегмент гена V_H зародышевой линии человека выбран из группы, состоящей из V_H1-2 , V_H1-3 , V_H1-8 , V_H1-18 , V_H1-24 , V_H1-45 , V_H1-46 , V_H1-58 , V_H1-69 , V_H2-5 , V_H2-26 , V_H2-70 , V_H3-7 , V_H3-9 , V_H3-11 , V_H3-13 , V_H3-15 , V_H3-16 , V_H3-20 , V_H3-21 , V_H3-23 , V_H3-30 , $V_H3-30-3$, $V_H3-30-5$, V_H3-33 , V_H3-35 , V_H3-38 , V_H3-43 , V_H3-48 , V_H3-49 , V_H3-53 , V_H3-64 , V_H3-66 , V_H3-72 , V_H3-73 , V_H3-74 , V_H4-4 , V_H4-28 , $V_H4-30-1$, $V_H4-30-2$, $V_H4-30-4$, V_H4-31 , V_H4-34 , V_H4-39 , V_H4-59 , V_H4-61 , V_H5-51 , V_H6-1 , V_H7-4-1 , V_H7-81 и их полиморфных вариантов.

118. Модифицированное, не являющееся человеком животное по п. 113, отличающееся тем, что указанный сегмент V_H гена зародышевой линии человека представляет собой сегмент гена V_H3-23 .

119. Модифицированное, не являющееся человеком животное по п. 107, отличающееся тем, что указанная нуклеотидная последовательность реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи кодирует последовательность $V_H3-23/GY/J_H4-4$ человека (SEQ ID NO: 137).

120. Модифицированное, не являющееся человеком животное по п. 107, отличающееся тем, что указанная нуклеотидная последовательность реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи кодирует последовательность $V_H3-23/X_1X_2/J$, где X_1 представляет собой любую аминокислоту, и X_2 представляет собой любую аминокислоту.

121. Модифицированное, не являющееся человеком животное по п. 120, отличающееся тем, что X_1 представляет собой Gly, и X_2 представляет собой Tyr.

122. Модифицированное, не являющееся человеком животное по п. 107, отличающееся тем, что указанный локус тяжелой цепи иммуноглобулина содержит функциональный ген Adam β , ген Adam δ или оба указанных гена.

123. Модифицированное, не являющееся человеком животное по п. 122, отличающееся тем, что указанный ген Adam β , ген Adam δ или оба указанных гена представляют собой эндогенные гены Adam.

124. Модифицированное, не являющееся человеком животное по п. 107, отличающееся тем, что указанное модифицированное не являющееся человеком животное содержит ген Adam β , ген Adam δ или оба указанных гена в эктопическом локусе генома.

125. Модифицированное, не являющееся человеком животное по п. 107, отличающееся

тем, что указанные сегменты генов V_L и J_L вариабельных областей человека способны к реаранжировке и кодированию вариабельного домена легкой цепи иммуноглобулина человека.

126. Модифицированное, не являющееся человеком животное по п. 107, отличающееся тем, что указанный локус легкой цепи иммуноглобулина содержит два сегмента гена V_L , V_{k1-39} и V_{k3-20} человека.

127. Модифицированное, не являющееся человеком животное по п. 126, отличающееся тем, что указанные сегменты генов представляют собой сегменты генов зародышевой линии.

128. Модифицированное, не являющееся человеком животное по п. 126, отличающееся тем, что у указанного не являющегося человеком животного имеются сегменты генов J_{k1} , J_{k2} , J_{k3} , J_{k4} и J_{k5} .

129. Модифицированное, не являющееся человеком животное по п. 107, отличающееся тем, что два или большее количество, три или большее количество, четыре или большее количество, или пять или большее количество сегментов гена V_L человека, и два или большее количество сегментов гена J_L человека присутствуют в эндогенном локусе легкой цепи.

130. Модифицированное, не являющееся человеком животное по п. 107, отличающееся тем, что по меньшей мере один из сегментов гена V_L или J_L легкой цепи человека кодирует один или большее количество гистидиновых кодонов, не кодируемых соответствующим сегментом гена вариабельной области легкой цепи зародышевой линии человека.

131. Модифицированное, не являющееся человеком животное по п. 107, отличающееся тем, что по меньшей мере один из сегментов гена V_L содержит добавление гистидинового кодона или замену на гистидиновый кодон по меньшей мере одного негистидинового кодона, кодируемого соответствующей последовательностью сегмента V_L зародышевой линии человека.

132. Модифицированное, не являющееся человеком животное по п. 131, отличающееся тем, что указанный добавленный или заменяющий гистидиновый кодон находится в CDR3.

133. Модифицированное, не являющееся человеком животное по п. 107, отличающееся тем, что указанные сегменты генов V_L человека представляют собой сегменты генов V_{k1-39} и V_{k3-20} человека, и каждый из указанных сегментов гена V_{k1-39} и V_{k3-20} человека содержит замену по меньшей мере одного негистидинового кодона, кодируемого соответствующим сегментом гена V_L

зародышевой линии человека, на гистидиновый кодон.

134. Модифицированное, не являющееся человеком животное по п. 133, отличающееся тем, что указанная замена представляет собой замену трех негистидиновых кодонов сегмента гена V_{k1-39} человека, при этом указанная замена предназначена для экспрессии гистидинов в положениях 106, 108 и 111.

135. Модифицированное, не являющееся человеком животное по п. 133, отличающееся тем, что указанная замена представляет собой замену четырех негистидиновых кодонов сегмента гена V_{k1-39} человека, и указанная замена предназначена для обеспечения экспрессии гистидинов в положениях 105, 106, 108 и 111.

136. Модифицированное, не являющееся человеком животное по п. 133, отличающееся тем, что указанная замена представляет собой замену трех негистидиновых кодонов сегмента гена V_{k3-20} человека, и указанная замена предназначена для обеспечения экспрессии гистидинов в положениях 105, 106 и 109.

137. Модифицированное, не являющееся человеком животное по п. 133, отличающееся тем, что указанная замена представляет собой замену четырех негистидиновых кодонов сегмента гена V_{k3-20} человека, и указанная замена предназначена для обеспечения экспрессии гистидинов в положениях 105, 106, 107 и 109.

138. Модифицированное, не являющееся человеком животное по п. 107, отличающееся тем, что у указанного не являющегося человеком животного при стимуляции представляющим интерес антигеном экспрессируется антигенсвязывающий белок, который специфически связывает указанный антиген, при этом указанный антигенсвязывающий белок содержит последовательность аминокислот, происходящую из сегментов гена V_L и J_L человека, и при этом указанный антигенсвязывающий белок содержит по меньшей мере один гистидиновый остаток в положении аминокислоты, кодируемый сегментом гена V_L человека.

139. Модифицированное, не являющееся человеком животное по п. 107, отличающееся тем, что у указанного не являющегося человеком животного экспрессируется популяция антигенсвязывающих белков в ответ на антиген, при этом все антигенсвязывающие белки в указанной популяции содержат: (a) тяжелые цепи иммуноглобулина, содержащие вариабельные домены тяжелых цепей человека, происходящие из нуклеотидной последовательности реаранжированной вариабельной области человека; и (b) легкие цепи иммуноглобулина,

содержащие вариабельные домены легких цепей иммуноглобулина, полученные в результате реаранжировки сегментов гена V_L и сегментов гена J_L человека в геноме не являющегося человеком животного, и при этом по меньшей мере один из сегментов гена V_L человека кодирует один или большее количество гистидиновых кодонов, не кодируемых соответствующим сегментом V_L гена зародышевой линии человека.

140. Способ получения не являющегося человеком животного, у которого имеется модифицированный иммуноглобулиновый локус, включающий:

(a) модификацию генома не являющегося человеком животного с удалением или устраниением функциональности:

(i) эндогенных функциональных сегментов гена V_H , D и/или J_H тяжелой цепи иммуноглобулина, и

(ii) эндогенных функциональных сегментов гена V_L и J_L легкой цепи иммуноглобулина; и

(b) введение в модифицированный геном не являющегося человеком животного:

(i) нуклеотидной последовательности реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека, функционально связанной с нуклеотидной последовательностью константной области тяжелой цепи иммуноглобулина; и

(ii) одного или более, но меньше, чем у дикого типа, сегментов VL и JL гена легкой цепи иммуноглобулина человека, функционально связанных с нуклеотидной последовательностью константной области легкой цепи иммуноглобулина.

141. Способ по п. 140, отличающийся тем, что указанное не являющееся человеком животное представляет собой грызуна.

142. Способ по п. 141, отличающийся тем, что указанный грызун представляет собой мышь, крысу или хомяка.

143. Способ по п. 140, отличающийся тем, что указанная нуклеотидная последовательность реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека функционально связана с последовательностью гена константной области мыши или крысы

тяжелой цепи, выбранной из $CH1$, шарнира, $CH2$, $CH3$ и их комбинации.

144. Способ по п. 140, отличающийся тем, что указанная нуклеотидная

последовательность реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека и сегменты генов легкой цепи V_L и J_L иммуноглобулина человека введена в соответствующую нуклеотидную последовательность или возле соответствующей нуклеотидной последовательности не являющегося человеком животного дикого типа.

145. Способ по п. 140, отличающийся тем, что указанную нуклеотидную последовательность реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека и сегменты генов легкой цепи V_L и J_L иммуноглобулина человека вводят в эктопический локус в геноме.

146. Способ по п. 140, отличающийся тем, что у указанного не являющегося человеком животного имеется локус тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащий эндогенный ген $Adam6a$, ген $Adam6b$ или оба указанных гена.

147. Способ по п. 140, отличающийся тем, что у указанного не являющегося человеком животного имеется ген $Adam6a$, ген $Adam6b$ или оба указанных гена в эктопическом локусе генома.

148. Способ по п. 140, отличающийся тем, что указанная нуклеотидная последовательность реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека кодирует последовательность человека $V_{H3-23}/GY/J_{H4-4}$ (SEQ ID NO: 137).

149. Способ по п. 140, отличающийся тем, что указанная нуклеотидная последовательность константной области легкой цепи иммуноглобулина представляет собой нуклеотидную последовательность константной области Ск крысы или мыши.

150. Способ по п. 140, отличающийся тем, что указанные сегменты V_L и J_L иммуноглобулина гена легкой цепи человека способны к реаранжировке и кодированию вариабельного домена легкой цепи иммуноглобулина человека.

151. Способ по п. 140, отличающийся тем, что у указанного не являющегося человеком животного имеется локус легкой цепи иммуноглобулина, содержащий два сегмента гена V_L человека, V_{k1-39} и V_{k3-20} .

152. Способ по п. 151, отличающийся тем, что у указанного не являющегося человеком

животного имеются сегменты генов J_{k1} , J_{k2} , J_{k3} , J_{k4} и J_{k5} .

153. Способ по п. 140, отличающийся тем, что два или большее количество, три или большее количество, четыре или большее количество, или пять или большее количество сегментов гена V_L человека, и два или большее количество сегментов гена J_L человека присутствуют в эндогенном локусе легкой цепи.

154. Способ по п. 140, отличающийся тем, что по меньшей мере один из сегментов гена легкой цепи V_L или J_L иммуноглобулина человека кодирует один или большее количество гистидиновых кодонов, не кодируемыем соответствующим сегментом гена вариабельной области легкой цепи зародышевой линии человека.

155. Способ по п. 140, отличающийся тем, что по меньшей мере один из сегментов гена V_L содержит добавление гистидинового кодона или замену на гистидиновый кодон по меньшей мере одного негистидинового кодона, кодируемого соответствующей последовательностью сегмента V_L зародышевой линии человека.

156. Способ по п. 155, отличающийся тем, что указанный добавленный или заменяющий гистидиновый кодон находится в CDR3.

157. Способ по п. 155, отличающийся тем, что указанные сегменты генов V_L человека представляют собой сегменты генов V_{k1-39} и V_{k3-20} человека, и каждый из указанных сегментов гена V_{k1-39} и V_{k3-20} человека содержит замену по меньшей мере одного

негистидинового кодона, кодируемого соответствующим сегментом гена V_L зародышевой линии человека, на гистидиновый кодон.

158. Способ по п. 157, отличающийся тем, что указанная замена представляет собой замену трех негистидиновых кодонов сегмента гена V_{k1-39} человека, при этом указанная замена предназначена для обеспечения экспрессии гистидинов в положениях 106, 108 и 111.

159. Способ по п. 157, отличающийся тем, что указанная замена представляет собой замену четырех негистидиновых кодонов сегмента гена V_{k1-39} человека, при этом указанная замена предназначена для обеспечения экспрессии гистидинов в положениях 105, 106, 108 и 111.

160. Способ по п. 157, отличающийся тем, что указанная замена представляет собой замену трех негистидиновых кодонов сегмента гена V_{k3-20} человека, при этом указанная замена предназначена для обеспечения экспрессии гистидинов в положениях 105, 106 и 109.

161. Способ по п. 157, отличающийся тем, что указанная замена представляет собой замену четырех негистидиновых кодонов сегмента гена V_{k3-20} человека, и указанная замена предназначена для обеспечения экспрессии гистидинов в положениях 105, 106, 107 и 109.

162. Способ получения нуклеотидной последовательности, которая кодирует вариабельный домен легкой цепи иммуноглобулина (V_L), способный к связыванию антигена независимо от вариабельного домена тяжелой цепи, включающий:

(а) иммунизацию не являющегося человеком животного представляющим интерес антигеном или его иммуногеном, при этом в геноме указанного не являющегося человеком животного содержатся: (i) нуклеотидную последовательность реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека, функционально связанная с нуклеотидной последовательностью тяжелой цепи константной области; и (ii) два или более, но меньше, чем у дикого типа, сегментов гена вариабельной области легкой цепи иммуноглобулина человека (V_L и J_L), функционально связанных с нуклеотидной последовательностью константной области легкой цепи;

(b) обеспечение возможности развития иммунного ответа у указанного не являющегося человеком животного;

(c) выделение из указанного иммунизированного не являющегося человеком животного клетки, содержащей нуклеотидную последовательность, которая кодирует вариабельный домен легкой цепи, способный связывать антиген; и

(d) получение из указанной клетки нуклеотидной последовательности, которая кодирует указанный вариабельный домен легкой цепи (V_L домен), способный связывать антиген.

163. Способ по п. 162, отличающийся тем, что этап выделения (c) проводят путем сортировки клеток с активированной флуоресценцией (FACS) или проточной цитометрии.

164. Способ по п. 162, отличающийся тем, что указанная клетка, содержащая нуклеотидную последовательность, которая кодирует указанный вариабельный домен легкой цепи, связывающий антиген, представляет собой лимфоцит.

165. Способ по п. 164, отличающийся тем, что указанный лимфоцит включает естественные киллерные клетки, Т-клетки или В-клетки.

166. Способ по п. 162, отличающийся тем, что указанный способ дополнительно включает: (c)' слияние указанного лимфоцита с раковой клеткой.

167. Способ по п. 166, отличающийся тем, что указанная раковая клетка представляет собой клетку миеломы.

168. Способ по п. 162, отличающийся тем, что указанную нуклеотидную последовательность по (d) соединяют с нуклеотидной последовательностью, кодирующей нуклеотидную последовательность константной области иммуноглобулина.

169. Способ по п. 162, отличающийся тем, что указанная нуклеотидная последовательность константной области легкой цепи представляет собой каппа-последовательность человека или лямбда-последовательность человека.

170. Способ по п. 162, отличающийся тем, что указанная нуклеотидная последовательность константной области тяжелой цепи представляет собой последовательность человека, выбранную из СН1, шарнира, СН2, СН3 и их комбинации.

171. Способ по п. 162, отличающийся тем, что указанная нуклеотидная последовательность по (d) содержит одну или большее количество замен или вставок гистидиновых кодонов, происходящих из нереаранжированного сегмента гена V_L в геноме указанного животного.

172. Способ получения антигенсвязывающего белка, который содержит вариабельный домен легкой цепи иммуноглобулина, способный связывать антиген независимо от вариабельного домена тяжелой цепи, включающий:

(а) иммунизацию генетически модифицированного не являющегося человеком животного первым антигеном, который содержит первый эпитоп или его иммуногенную часть, при этом в геноме указанного не являющегося человеком животного содержатся:

(i) нуклеотидная последовательность реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи человека, функционально связанная с нуклеотидной последовательностью тяжелой цепи константной области; и

(ii) два или более, но меньше, чем у дикого типа, сегментов гена вариабельной области легкой цепи иммуноглобулина человека (V_L и J_L), функционально связанных с нуклеотидной последовательностью константной области легкой цепи иммуноглобулина;

(b) обеспечение возможности развития иммунного ответа на первый эпитоп или его иммуногенную часть у указанного не являющегося человеком животного;

(c) выделение из указанного не являющегося человеком животного клетки, содержащей нуклеотидную последовательность, которая кодирует вариабельный домен легкой цепи, специфически связывающий указанный первый эпитоп или его иммуногенную часть;

(d) получение из указанной клетки по (c) нуклеотидной последовательности, которая кодирует указанный вариабельный домен легкой цепи, специфически связывающий указанный первый эпитоп или его иммуногенную часть;

(e) применение нуклеотидной последовательности по (d) в экспрессионной конструкции, соединенной с нуклеотидной последовательностью константной области иммуноглобулина человека; и

(f) экспрессию нуклеотидной последовательности по (d) в производственной клеточной линии, экспрессирующую тяжелую цепь иммуноглобулина человека, которая специфически связывает второй антиген или эпитоп, для получения легкой цепи антигенсвязывающего белка, кодируемой нуклеиновой кислотой по (d) и связывающей первый эпитоп или его иммуногенную часть независимо от тяжелой цепи, тяжелая цепь которого специфически связывает указанный второй антиген или эпитоп.

173. Способ по п. 172, отличающийся тем, что по меньшей мере один из сегментов гена V_L или J_L легкой цепи человека кодирует один или большее количество гистидиновых кодонов, не кодируемых соответствующим сегментом гена вариабельной области легкой цепи зародышевой линии человека.

174. Способ по п. 172, отличающийся тем, что указанный первый эпитоп получен из

рецептора клеточной поверхности.

175. Способ по п. 174, отличающийся тем, что указанный рецептор клеточной поверхности представляет собой Fc-рецептор.

176. Способ по п. 175, отличающийся тем, что указанный Fc-рецептор представляет собой FcRn.

177. Способ по п. 172, отличающийся тем, что указанный второй антиген или эпитоп получен из

растворимого антигена.

178. Способ по п. 172, отличающийся тем, что указанный второй антиген или эпитоп получен из рецептора клеточной поверхности.

179. Способ по п. 172, отличающийся тем, что указанный первый антиген представляет собой Fc-рецептор, второй антиген представляет собой растворимый белок, и указанный антигенсвязывающий белок содержит одну или большее количество замен и вставок гистидина, происходящих из сегмента гена V_L в геноме не являющегося человеком животного.

180. Способ получения нуклеотидной последовательности, которая кодирует вариабельный домен легкой цепи иммуноглобулина (V_L), способный к связыванию антигена независимо от вариабельного домена тяжелой цепи, включающий:

(а) иммунизацию не являющегося человеком животного первым антигеном, который содержит первый эпитоп или его иммуногенную часть, при этом в геноме указанного не являющегося человеком животного содержатся: (i) нуклеотидная последовательность реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека, функционально связанная с нуклеотидной последовательностью тяжелой цепи константной области, и (ii) нуклеотидная последовательность нереаранжированной вариабельной области легкой цепи иммуноглобулина человека, функционально связанная с нуклеотидной последовательностью константной области легкой цепи;

(б) обеспечение возможности развития иммунного ответа у указанного не являющегося человеком животного;

(с) выделение из указанного иммунизированного не являющегося человеком животного клетки, содержащей нуклеотидную последовательность, которая кодирует вариабельный домен легкой цепи, способный связывать антиген; и

(д) получение из указанной клетки нуклеотидной последовательности, которая кодирует указанный вариабельный домен легкой цепи (домен V_L), способный связывать антиген.

181. Способ по п. 180, отличающийся тем, что этап выделения (с) проводят путем сортировки клеток с активированной флуоресценцией (FACS) или проточной цитометрии.

182. Способ по п. 180, отличающийся тем, что указанная клетка, содержащая нуклеотидную

последовательность, которая кодирует указанный вариабельный домен легкой цепи, связывающий антиген, представляет собой лимфоцит.

183. Способ по п. 182, отличающийся тем, что указанный лимфоцит включает естественные киллерные клетки, Т-клетки или В-клетки.

184. Способ по п. 180, отличающийся тем, что указанный способ дополнительно включает: (с)' слияния указанного лимфоцита с раковой клеткой.

185. Способ по п. 184, отличающийся тем, что указанная раковая клетка представляет собой клетку миеломы.

186. Способ по п. 180, отличающийся тем, что указанную нуклеотидную последовательность по (д) соединяют с нуклеотидной последовательностью, кодирующей нуклеотидную последовательность константной области иммуноглобулина.

187. Способ по п. 180, отличающийся тем, что указанная нуклеотидная последовательность константной области легкой цепи представляет собой каппа-последовательность человека или лямбда-последовательность человека.

188. Способ по п. 180, отличающийся тем, что указанная нуклеотидная последовательность константной области тяжелой цепи представляет собой последовательность человека, выбранную из CH1, шарнира, CH2, CH3 и их комбинации.

189. Способ по п. 180, отличающийся тем, что указанная нуклеотидная последовательность по (d) содержит одну или большее количество замен или вставок гистидиновых кодонов, происходящих из нереаранжированного сегмента гена V_L в геноме указанного животного.

190. Способ получения нуклеотидной последовательности, которая кодирует вариабельный домен легкой цепи иммуноглобулина (V_L), способный к связыванию антигена независимо от вариабельного домена тяжелой цепи, включающий:

(а) иммунизацию не являющегося человеком животного первым антигеном, который содержит первый эпитоп или его иммуногенную часть, при этом в геноме указанного не являющегося человеком животного содержатся: (i) нуклеотидная последовательность реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина человека, функционально связанная с нуклеотидной последовательностью константной области легкой цепи, и (ii) сегменты гена вариабельной области легкой цепи иммуноглобулина человека (V_L и J_L), функционально связанные с нуклеотидной последовательностью тяжелой цепи константной области;

(b) обеспечение возможности развития иммунного ответа у указанного не являющегося человеком животного;

(c) выделение из указанного иммунизированного не являющегося человеком животного клетки, содержащей нуклеотидную последовательность, которая кодирует вариабельный домен легкой цепи, способный связывать антиген; и

(d) получение из указанной клетки нуклеотидной последовательности, которая кодирует указанный вариабельный домен легкой цепи (домен V_L), способный связывать антиген.

191. Способ по п. 190, отличающийся тем, что этап выделения (c) проводят путем сортировки клеток с активированной флуоресценцией (FACS) или проточной цитометрии.

192. Способ по п. 190, отличающийся тем, что указанная клетка, содержащая нуклеотидную последовательность, которая кодирует указанный вариабельный домен легкой цепи, связывающий антиген, представляет собой лимфоцит.

193. Способ по п. 192, отличающийся тем, что указанный лимфоцит включает естественные киллерные клетки, Т-клетки или В-клетки.

194. Способ по п. 190, отличающийся тем, что указанный способ дополнительно включает: (c)' слияния указанного лимфоцита с раковой клеткой.

195. Способ по п. 194, отличающийся тем, что указанная раковая клетка представляет собой клетку миеломы.

196. Способ по п. 190, отличающийся тем, что указанную нуклеотидную последовательность по (d) соединяют с нуклеотидной последовательностью, кодирующей нуклеотидную последовательность константной области иммуноглобулина.

197. Способ по п. 190, отличающийся тем, что указанная нуклеотидная последовательность константной области легкой цепи представляет собой каппа-последовательность человека или лямбда-последовательность человека.

198. Способ по п. 190, отличающийся тем, что указанная нуклеотидная последовательность константной области тяжелой цепи представляет собой последовательность человека, выбранную из CH1, шарнира, CH2, CH3 и их комбинации.

199. Способ по п. 190, отличающийся тем, что указанная нуклеотидная последовательность по (d) содержит одну или большее количество замен или вставок гистидиновых кодонов, происходящих из нереаранжированного сегмента гена V_L в геноме указанного животного.

200. Способ получения антигенсвязывающего белка, который содержит вариабельный домен легкой цепи иммуноглобулина, способный связывать антиген независимо от вариабельного домена тяжелой цепи, включающий:

(а) иммунизацию генетически модифицированного не являющегося человеком животного первым антигеном, который содержит первый эпитоп или его иммуногенную часть, при этом в геноме указанного не являющегося человеком животного содержатся:

(i) нуклеотидная последовательность реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи человека, функционально связанная с нуклеотидной последовательностью тяжелой цепи константной области;

(ii) нереаранжированные сегменты гена вариабельной области легкой цепи иммуноглобулина человека (V_L и J_L), функционально связанные с нуклеотидной последовательностью константной области легкой цепи;

(b) обеспечение возможности развития иммунного ответа на первый эпитоп или его иммуногенную часть у указанного не являющегося человеком животного;

(c) выделение из указанного не являющегося человеком животного клетки, содержащей нуклеотидную последовательность, которая кодирует вариабельный домен легкой цепи, специфически связывающий указанный первый эпитоп или его иммуногенную часть;

(d) получение из указанной клетки по (c) нуклеотидной последовательности, которая кодирует указанный вариабельный домен легкой цепи, специфически связывающий указанный первый эпитоп или его иммуногенную часть;

(e) применение нуклеотидной последовательности по (d) в экспрессионной конструкции, соединенной с нуклеотидной последовательностью константной области иммуноглобулина человека; и

(f) экспрессию нуклеотидной последовательности по (d) в продукционной клеточной линии, экспрессирующую тяжелую цепь иммуноглобулина человека, которая специфически связывает второй антиген или эпитоп, для получения легкой цепи антигенсвязывающего белка, кодируемой нуклеиновой кислотой по (d) и связывающей первый эпитоп или его иммуногенную часть независимо от тяжелой цепи, тяжелая цепь которого специфически связывает указанный второй антиген или эпитоп.

201. Способ по п. 200, отличающийся тем, что по меньшей мере один из сегментов гена V_L или J_L легкой цепи человека кодирует один или большее количество гистидиновых кодонов, не кодируемых соответствующим сегментом гена вариабельной области легкой цепи зародышевой линии человека.

202. Способ по п. 200, отличающийся тем, что указанный первый эпитоп получен из рецептора клеточной поверхности.

203. Способ по п. 202, отличающийся тем, что указанный рецептор клеточной поверхности представляет собой Fc-рецептор.

204. Способ по п. 203, отличающийся тем, что указанный Fc-рецептор представляет собой FcRn.

205. Способ по п. 200, отличающийся тем, что указанный второй антиген или эпитоп получен из растворимого антигена.

206. Способ по п. 200, отличающийся тем, что указанный второй антиген или эпитоп получен из рецептора клеточной поверхности.

207. Способ по п. 200, отличающийся тем, что указанный первый антиген

представляет собой Fc-рецептор, второй антиген представляет собой растворимый белок, и указанный антигенсвязывающий белок содержит одну или большее количество замен и вставок гистидина, происходящих из сегмента гена V_L в геноме не являющегося человеком животного.

208. Способ получения антигенсвязывающего белка, который содержит вариабельный домен легкой цепи иммуноглобулина, способный связывать антиген независимо от вариабельного домена тяжелой цепи, включающий:

(а) иммунизацию генетически модифицированного не являющегося человеком животного

первым антигеном, который содержит первый эпитоп или его иммуногенную часть, при этом в геноме указанного не являющегося человеком животного содержатся:

(i) нуклеотидная последовательность реаранжированной вариабельной области тяжелой цепи человека, функционально связанная с нуклеотидной последовательностью константной области легкой цепи; и

(ii) нереаранжированные сегменты гена вариабельной области легкой цепи иммуноглобулина человека (V_L и J_L), функционально связанные с нуклеотидной последовательностью тяжелой цепи константной области;

(b) обеспечение возможности развития иммунного ответа на первый эпитоп или его иммуногенную часть у указанного не являющегося человеком животного;

(c) выделение из указанного не являющегося человеком животного клетки, содержащей нуклеотидную последовательность, которая кодирует вариабельный домен легкой цепи, специфически связывающий указанный первый эпитоп или его иммуногенную часть;

(d) получение из указанной клетки по (c) нуклеотидной последовательности, которая кодирует указанный вариабельный домен легкой цепи, специфически связывающий указанный первый эпитоп или его иммуногенную часть;

(e) применение нуклеотидной последовательности по (d) в экспрессионной конструкции, соединенной с нуклеотидной последовательностью константной области иммуноглобулина человека; и

(f) экспрессию нуклеотидной последовательности по (d) в производственной клеточной линии, экспрессирующую тяжелую цепь иммуноглобулина человека, которая специфически связывает второй антиген или эпитоп, для получения легкой цепи антигенсвязывающего белка, кодируемой нуклеиновой кислотой по (d) и связывающей первый эпитоп или его иммуногенную часть независимо от тяжелой цепи, тяжелая цепь которого специфически связывает указанный второй антиген или эпитоп.

209. Способ по п. 208, отличающийся тем, что по меньшей мере один из сегментов гена легкой цепи V_L или J_L человека кодируют один или большее количество гистидиновых кодонов, не кодируемых соответствующим сегментом гена вариабельной области легкой цепи зародышевой линии человека.

210. Способ по п. 208, отличающийся тем, что указанный первый эпитоп получен из рецептора клеточной поверхности.

211. Способ по п. 210, отличающийся тем, что указанный рецептор клеточной поверхности представляет собой Fc-рецептор.

212. Способ по п. 211, отличающийся тем, что указанный Fc-рецептор представляет собой FcRn.

213. Способ по п. 208, отличающийся тем, что указанный второй антиген или эпитоп получен из растворимого антигена.

214. Способ по п. 208, отличающийся тем, что указанный второй антиген или эпитоп получен из рецептора клеточной поверхности.

215. Способ по п. 208, отличающийся тем, что указанный первый антиген представляет собой Fc-рецептор, второй антиген представляет собой растворимый белок, и указанный антигенсвязывающий белок содержит одну или большее количество замен и вставок гистидина, происходящих из сегмента гена V_L в геноме не являющегося человеком животного.