

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(11) 015536

(13) B1

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента

2011.08.30

(21) Номер заявки

200801343

(22) Дата подачи заявки

2006.12.14

(51) Int. Cl. C07K 16/22 (2006.01)

C07K 16/46 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

### (54) АНТИТЕЛО ИЛИ ЕГО ФРАГМЕНТЫ, СВЯЗЫВАЮЩИЕСЯ С NOGO-А ЧЕЛОВЕКА, И ПРИМЕНЕНИЕ АНТИТЕЛА И ФРАГМЕНТОВ

(31) 0525662.3

(32) 2005.12.16

(33) GB

(43) 2008.12.30

(86) PCT/EP2006/069737

(87) WO 2007/068750 2007.06.21

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:

ГЛАКСО ГРУП ЛИМИТЕД (GB)

(72) Изобретатель:

Клэгг Стефани Джейн, Эллис

Джонатан Генри, Гермашевски

Фолькер, Хэмблин Пол Эндрю (GB),

Копсидас Георг (AU), Макадам Рут,

Принджха Рабиндер Кумар (GB)

(74) Представитель:

Поликарпов А.В., Борисова Е.Н. (RU)

(56) BANDTLOW CHRISTINE ET AL.: "The Escherichia coli-derived Fab fragment of the IgM/kappa antibody IN-1 recognizes and neutralizes myelin-associated inhibitors of neurite growth". EUROPEAN JOURNAL OF BIOCHEMISTRY, BERLIN, DE, vol. 241, no. 2, 1996, pages 468-475, XP000991434, ISSN: 0014-2956, the whole document, especially figure 1

PAPADOPΟULΟΣ C.M. ET AL.: "FUNCTIONAL RECOVERY ANF NEUROANATOMICAL PLASTICITY FOLLOWING MIDDLE CEREBRAL ARTERY OCCLUSION AND IN-1 ANTIBODY TREATMENT IN THE ADULT RAT". ANNALS OF NEUROLOGY, BOSTON, US, vol. 51, no. 4, April 2002 (2002-04), pages 433-441, XP008034394, ISSN: 0364-5134, the whole document

BROESAMLE C. ET AL.: "Regeneration of lesioned corticospinal tract fibers in the adult rat induced by a recombinant, humanized IN-1 antibody fragment". JOURNAL OF NEUROSCIENCE, NEW YORK, NY, US, vol. 20, no. 21, 1 November 2000 (2000-11-01), pages 8061-8068, XP002238449, ISSN: 0270-6474, the whole document

US-A1-2005215770

WO-A-2005061544

B1

(57) Настоящее изобретение относится к антителам к NOGO, содержащим их фармацевтическим композициям и к применению таких антител в лечении и/или профилактике неврологических заболеваний/расстройств.

015536

015536 B1

### Область изобретения

Настоящее изобретение относится к иммуноглобулинам, в частности к антителам, которые связываются с NOGO и нейтрализуют его активность, к кодирующими такие антитела полинуклеотидам, к содержащим указанные антитела фармацевтическим композициям и к применению таких антител в лечении и/или профилактике неврологических заболеваний. Другие аспекты, задачи и преимущества настоящего изобретения станут очевидными из приведенного ниже описания.

### Предшествующий уровень техники

Инсульт является основной причиной смерти и нетрудоспособности в странах Запада. Не существует другой утвержденной терапии для лечения инсульта, кроме тканевого плазминогена (t-PA), который должен быть введен в течение 3 ч от начала после проведения компьютерной томографии для исключения кровоизлияния. К настоящему времени большинство терапевтических агентов, направленных на лечение острого инсульта (т.е. на нейропротекцию), преимущественно были нацелены на глутаматные рецепторы и их нисходящие сигнальные пути, которые, как известно, вовлечены в острую гибель клеток. Однако к настоящему времени эти стратегии признаны неудачными в клинических испытаниях и часто ассоциированы с ограничивающими дозу побочными эффектами (Hill & Hachinski, *The Lancet*, 352: (suppl III), 10-14 (1998)). Поэтому существует потребность в новых подходах, направленных на уменьшение гибели клеток после прекращения кровотока. Нейропротекция представляет собой способность лечения предупреждать или уменьшать потерю нервных клеток в ответ на инсульт или патологический процесс. Этого можно достичь путем нацеливания непосредственно на нейроны или опосредованно путем предупреждения гибели глиальных клеток (включая олигодендроциты).

После начала инсульта у многих пациентов наблюдается некоторая степень спонтанного функционального восстановления, что позволяет предположить, что мозг обладает (хотя и ограниченно) способностью к восстановлению и/или ремоделированию после повреждения. Поэтому агенты, способные усиливать такое восстановление, могут сделать возможным осуществление вмешательства в гораздо более поздние сроки (потенциально, сутки) после начала церебоальной ишемии. Агенты, способные обеспечивать как экстренную нейропротекцию, так и усиление функционального восстановления, могут обеспечить значительные преимущества по сравнению с современными потенциальными нейропротективными стратегиями.

Болезнь Альцгеймера (AD) характеризуется наличием двух диагностических признаков патологии. Это амилоидные бляшки и нейрофибрillaryные клубки, состоящие из агрегированного бета-амилоидного пептида ( $\text{A}\beta 40$  и  $\text{A}\beta 42$ ) и гиперfosфорилированного тау соответственно (Dawnbarn & Allen 2001, *Neurobiology of Alzheimer's Disease* OUP).

В комплексном исследовании у пациентов была показана строгая связь между накоплением бета-амилоида и снижением когнитивных способностей (Naslund et al., *JAMA*, March 22/29, 2000, Vol. 283, No.12, p. 1571-1577). Это соответствует генетическим и эпидемиологическим исследованиям, которые предполагают, что некоторые мутации в генах APP (белок-предшественник амилоида) и пресенилина могут провоцировать раннее развитие AD, а также повышать уровни пептидов  $\text{A}\beta 40$  и  $\text{A}\beta 42$ , включая их соотношение.

Для образования бета-амилоидного пептида необходимо расщепление трансмембранныго APP типа I двумя различными протеазами, обозначенными как бета- и гамма-секретаза. Была подтверждена молекулярная идентичность бета-секретазы с аспартил-протеазой Asp2/BACE1 (Hussain et al. *Mol. Cell. NeuroSci.* 16, 609-619 (2000); Vassar et al., *Science* (1999), Oct. 22; 286 (5440): 735-741). Природа гамма-секретазы является источником некоторой дискуссии и, вероятно, состоит из высокомолекулярного комплекса, состоящего по меньшей мере из следующих белков: пресенилины, Aph1, Pen2 и никастрин (см. обзор в Medina & Dotti *Cell Signalling*, 2003 15(9): 829-41).

Процессинг APP в ЦНС, вероятно, происходит во многих типах клеток, включая нейроны, олигодендроциты, астроциты и микроглию, хотя на общую скорость процессинга APP в этих клетках будет влиять относительный уровень экспрессии APP, BACE1/Asp2, пресенилина-1 и -2, Aph1, Pen2 и никастрина.

Кроме того, дополнительные факторы, регулирующие внутриклеточную локализацию APP, также могут влиять на его процессинг, как показано в результате обнаружения того, что мутация мотива YENP в цитоплазматическом домене APP, блокирующая его эндоцитоз, снижает продукцию бета-амилоида (Perez et al. 1999, *J. Biol. Chem.* 274 (27), 18851-6). Удерживание APP-бета-CTF в ER посредством добавления KKQN-удерживающего мотива является достаточным для уменьшения продукции амилоида в трансфицированных клетках (Maltese et al. 2001, *J. Biol. Chem.* 276 (23), 20267-20279). Наоборот, повышение эндоцитоза посредством сверхэкспрессии Rab5 является достаточным для повышения секреции амилоида из трансфицированных клеток (Grbovic et al. 2003, *J. Biol. Chem.* 278 (33), 31261-31268).

В соответствии с этими открытиями дополнительные исследования показали, что снижение уровня клеточного холестерина (хорошо известный фактор риска AD) уменьшало образование бета-амилоида. Это изменение зависело от измененного эндоцитоза, как продемонстрировано с использованием доминантно-негативных динаминовых мутантов (K44A) и сверхэкспрессии Rab5 ГТФаза-активирующего белка RN-Tre (Ehehalt et al. 2003, J. Cell. Biol. 160 (1), 113-123).

Обогащенные холестерином микродомены или рафты также представляют собой важный клеточный участок продукции бета-амилоида, и было показано, что APP, BACE1 и компоненты гамма-секретазного комплекса временно располагаются в пределах рафтов. Перекрестное связывание антителами APP и BACE1 с обогащенными холестерином рафтами способствовало повышению продукции бета-амилоида (Ehehalt et al. 2003 J. Cell. Biol. 160 (1), 113-123). Аналогично, экспрессия GPI-заякоренного BACE1, который нацелен исключительно на обогащенные липидами рафты, способствует повышению расщепления APP и продукции бета-амилоида (Cordy et al. 2003, PNAS 100(20), 11735-11740).

Механизмы, лежащие в основе функционального восстановления после инсульта или другой ситуации или заболевания, сопровождающегося повреждением нервной ткани, в настоящее время неизвестны. В качестве одного из возможных механизмов было предложено прорастание поврежденных или неповрежденных аксонов. Однако, хотя исследования *in vivo* продемонстрировали, что лечение повреждения спинного мозга или инсульта нейротрофическими факторами приводит к усилению функционального восстановления и степени прорастания аксонов, они не доказывают наличие прямой связи между степенью прорастания аксонов и степенью функционального восстановления (Jakeman, et al. 1998, Exp. Neurol. 154: 170-184, Kawamata et al. 1997, Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 94: 8179-8184, Ribotta, et al. 2000, J. Neurosci. 20: 5144-5152). Кроме того, прорастание аксонов требует наличия жизнеспособного нейрона. Поэтому при заболеваниях, таких как инсульт, которые ассоциированы с массовой гибелью клеток, усиление функционального восстановления, обеспечиваемое введенным агентом после инсульта, может происходить благодаря механизмам, отличным от прорастания аксонов, таким как дифференцировка эндогенных стволовых клеток, активация резервных путей, изменения в распределении рецепторов или возбудимости нейронов или глии (Fawcett & Asher, 1999, Brain Res. Bulletin, 49: 377-391, Horner & Gage, 2000, Nature 407 963-970).

Ограниченнную способность центральной нервной системы (ЦНС) восстанавливаться после повреждения связывают отчасти с молекулами в среде ЦНС, которые обладают ингибирующим эффектом на прорастание аксонов (нейритных отростков). Миelin ЦНС, как полагают, содержит ингибирующие молекулы (Schwab M.E. and Caroni P. (1988), J. Neurosci. 8, 2381-2193). Два миelinовых белка, миelin-ассоциированный гликопротеин (MAG) и NOGO, клонировали и идентифицировали в качестве предполагаемых ингибиторов нейритных отростков (Sato S. et al. (1989), Biochem. Biophys. Res. Comm. 163, 1473-1480; McKerracher L. et al. (1994), Neuron, 13, 805-811; Mukhopadhyay G. et al. (1994), Neuron, 13, 757-767; Torigoe K. and Lundborg G. (1997), Exp. Neurology, 150, 254-262; Schafer et al. (1996), Neuron, 16, 1107-1113; WO 9522344; WO 9701352; Prinjha R. et al. (2000), Nature, 403, 383-384; Chen M.S. et al. (2000), Nature, 403, 434-439; GrandPre T. et al. (2000), Nature, 403, 439-444; US 005250414 A; WO 200005364 A1; WO 0031235).

Идентифицированы три формы человеческого NOGO:

NOGO-A, имеющий 1192 аминокислотных остатка (инвентарный № GenBank AJ251383);

NOGO-B, сплайс-вариант, в котором отсутствуют остатки с 186 по 1004 в предполагаемом внеклеточном домене (инвентарный № GenBank AJ251384); и

более короткий сплайс-вариант, NOGO-C, в котором также отсутствуют остатки с 186 по 1004, а также имеется меньший альтернативный N-концевой домен (инвентарный № GenBank AJ251385) (Prinjha R. et al. (2000), выше).

Ингибирование ингибиторных белков ЦНС, таких как NOGO, может обеспечить терапевтическое средство для уменьшения нейронального повреждения и стимуляции нейронального восстановления и роста, тем самым потенциально содействующее восстановлению после нейронального повреждения, такого, какое обеспечивается при инсульте. Примеры таких ингибиторов NOGO могут включать небольшие молекулы, пептиды и антитела.

Сообщили, что мышье моноклональное антитело, IN-1, полученное против NI-220/250, миelinового белка, который является потенциальным ингибитором роста нейритов (и, как было показано впоследствии, является фрагментом NOGO-A), стимулирует регенерацию аксонов (Caroni, P. and Schwab, M.E. (1988), Neuron, 1, 85-96; Schnell, L. and Schwab, M.E. (1990). Nature, 343 269-272; Bregman, B.S. et al. (1995), Nature, 378, 498-501 and Thallmair, M. et al. (1998), Nature Neuroscience, 1, 124-131). Также сообщили, что NOGO-A является антигеном для IN-1 (Chen et al. (2000) Nature 403 434-439). Введение Fab-фрагмента IN-1 или гуманизированного IN-1 крысам, подвергнутым перерезке спинного мозга, улучшало восстановление (Fiedler, M. et al. (2002), Protein Eng, 15, 931-941; Brosamle, C. et al. (2000), J. Neuroscience, 20, 8061-8068).

Моноклональные антитела, которые связываются с NOGO, описаны в WO 04/052932 и WO 2005028508. В WO 04/052932 раскрыто мышье антитело 11C7, которое связывается с конкретными формами человеческого NOGO с высокой аффинностью.

В заявке на патент WO 05/061544 также раскрыты моноклональные антитела с высокой аффинностью, включая мышью моноклональное антитело 2A10, и в общем раскрыты их гуманизированные варианты, например H1L11 (последовательности для H1 и L11 представлены в SEQ ID NO:33 и 34 соответственно (только V<sub>H</sub> или V<sub>L</sub> последовательности)). Раскрыты антитела связываются с человеческим NOGO-A с высокой аффинностью. Мышиное антитело 2A10 (и его CDR-трансплантированные гуманизированные варианты) характеризуются следующими последовательностями областей, определяющих комплементарность (CDR) (как определено с использованием методики Kabat (Kabat et al. (1991), "Sequences of proteins of immunological interest", Fifth Edition; US Department of Health and Human Services; NIH publication, No 91-3242)), в пределах вариабельных областей их легких и тяжелых цепей.

Таблица 1

## CDR легкой цепи антитела 2A10

CDR	Последовательность
L1	RSSKSLLYKDGKTYLN (SEQ ID NO:4)
L2	LMSTRAS (SEQ ID NO:5)
L3	QQLVEYPLT (SEQ ID NO:6)

Таблица 2

## CDR тяжелой цепи антитела 2A10

CDR	Последовательность
H1	SYWMH (SEQ ID NO:1)
H2	NINPSNGGTNYNEKFKS (SEQ ID NO:2)
H3	GQGY (SEQ ID NO:3)

В WO 05/061544 также раскрыты "аналоги" антител, которые содержат CDR из вышеприведенных табл. 1 и 2; такие "аналоги" обладают такой же антигенсвязывающей специфичностью и/или нейтрализующей способностью, как и донорные антитела, из которых они получены.

Несмотря на то что в предшествующем уровне техники предложены антитела против NOGO с высокой аффинностью, весьма желательной целью остается выделение и развитие альтернативных или улучшенных терапевтически полезных моноклональных антител, которые связывают и ингибируют активность человеческого NOGO.

Процесс нейродегенерации лежит в основе многих неврологических заболеваний/расстройств, включая острые заболевания, такие как инсульт (ишемический или геморрагический), травматическое повреждение головного и спинного мозга; а также хронические заболевания, включая болезнь Альцгеймера, лобно-височные деменции (тауопатии), периферическую невропатию, болезнь Паркинсона, болезнь Крейтицфельдта-Якоба (CJD), шизофрению, боковой амиотрофический склероз (ALS), рассеянный склероз, болезнь Гентингтона, рассеянный склероз и миозит с тельцами включения. Поэтому моноклональные антитела против NOGO и т.п. по настоящему изобретению могут быть полезны в лечении этих заболеваний/расстройств. В настоящем изобретении предложены и подробно описаны антитела для лечения вышеупомянутых заболеваний/расстройств.

**Краткое описание графических материалов**

Фиг. 1. GST-человеческий NOGO-A56 наносили в концентрации 1,0 мкг/мл на очищенные антитела в ELISA.

Фиг. 2. GST-человеческий NOGO-A56 наносили в концентрации 0,5 мкг/мл на очищенные антитела в ELISA.

Фиг. 3. GST-человеческий NOGO-A56 наносили в концентрации 1,0 мкг/мл на очищенные антитела в ELISA.

Фиг. 4. GST-человеческий NOGO-A56 наносили в концентрации 0,5 мкг/мл на очищенные антитела в ELISA.

Фиг. 5. Картирование epitопов с использованием 2A10.

Фиг. 6. Картирование epitопов с использованием H28L16.

Фиг. 7 и 8. Сравнение связывающей активности Hc(G95M)Lc и HcLc в ELISA.

Фиг. 9. Варианты группы 1.

Фиг. 10. Варианты группы 2.

Фиг. 11. ELISA с прямым связыванием антител пула предварительных кандидатов с рекомбинантным человеческим NOGO-A (GST-NOGO-A 5+6). Рекомбинантный GST-NOGO-A 5+6 наносили на планшеты в концентрации А) 1,0 мкг/мл и Б) 0,05 мкг/мл. Связывание антител определяли с использованием конъюгата HRP с антителами против человеческого IgG (Sigma #A7340X). В качестве отрицательного контроля использовали антитело против β-амилоида (H2L1). Значения EC<sub>50</sub> получали с использованием Robosage. На каждом из графиков ниже представлена типичная кривая для трех независимых анализов.

Фиг. 12. Обратный формат ELISA связывания антител пула предварительных кандидатов с рекомбинантным человеческим NOGO-A (GST-NOGO-A 5+6). Антитела против NOGO-A иммобилизовали с антителами против человеческого IgG (Sigma #I9764). Связывание рекомбинантного GST-NOGO-A 5+6 определяли с использованием коньюгата анти-CST-HRP (Sigma #A7340). В качестве отрицательного контроля использовали неродственное антитело.

Значения EC<sub>50</sub> получали с использованием Robosage. На графике ниже представлена типичная кривая для трех независимых анализов.

Фиг. 13. Конкурентный ELISA антител пула предварительных кандидатов с родительским антителом 2A10. Рекомбинантный человеческий NOGO-A (GST-NOGO-A 5+6) наносили на планшеты. 2A10 и гуманизированные антитела предварительно смешивали и определяли связывание 2A10 с использованием коньюгата антител против мышиного IgG с HRP (Dakocytomation, #P0260). В качестве положительного контроля использовали HcLc. Значения IC<sub>50</sub> получали с использованием Robosage. На графике ниже представлена типичная кривая для трех независимых анализов.

Фиг. 14. Связывание гуманизированных антител против NOGO-A с человеческим NOGO-A, экспрессирующимся на клеточной поверхности. Для экспрессии человеческого NOGO-A сконструировали клетки CHO-K1. Клетки окрашивали в двух повторностях 100 мкг/мл гуманизированных антител против NOGO-A с последующим разведением 1:100 PE-меченого вторичного антитела против человеческого IgG (Sigma, #P8047). В качестве отрицательного контроля включали неродственное антитело. Представленные данные являются типичным примером одной из повторностей.

Фиг. 15. Связывание гуманизированных антител против NOGO-A с внутриклеточным человеческим NOGO-A. Клетки IRM32 подвергали пермеабилизации, фиксировали и окрашивали 3-90 мкг/мл гуманизированных антител против NOGO-A, затем 30 мкг/мл PE-меченого вторичного антитела против человеческого IgG (Sigma, P-9047). В качестве отрицательного контроля включали неродственное антитело (-ve Ab). Представленные данные являются типичными для трех независимых экспериментов.

Фиг. 16. Сравнение гуманизированных антител против NOGO-A в анализе роста нейритов. H28L16, H27L16 и H20L16 сравнивали с родительскими антителами (2A10, HcLc), антителом 11C7 и различными контрольными антителами (контрольный IgG и Campath). Повышенный рост нейритов наблюдали только для антител против NOGO-A. Эффекты были дозозависимыми и статистически значимыми.

Фиг. 17. ELISA с прямым связыванием H28L16 с рекомбинантным полноразмерным сплайс-вариантом человеческого NOGO-A (GST-NOGO-A-Biocat 113015). Рекомбинантный сплайс-вариант NOGO-A наносили на планшеты в концентрации 1,0 мкг/мл. Связывание антител определяли с использованием коньюгата антител против человеческого IgG с HRP (Sigma, #A7340X). В качестве отрицательного контроля использовали антитело против  $\beta$ -амилоида. Значения EC<sub>50</sub> получали с использованием Robosage. На графике ниже представлена типичная кривая для двух независимых анализов.

Фиг. 18. H28L16 демонстрирует пониженное связывание с C1q. Планшеты ELISA покрывали очищенными гуманизированными и контрольными антителами в фиксированной концентрации (1 мкг/мл). C1q человека (Sigma, C0660) инкубировали с антителами и связанный C1q определяли количественно с использованием коньюгата антител против человеческого C1q с HRP (The Binding Site, PP020X). Контрольные антитела представляют собой Campath IgG1, Campath IgG4 и Campath IgG1 Fc-.

Фиг. 19. ELISA с прямым связыванием H28L16, HcLc и 11C7 с GST-NOGO-A56: А) крысы, Б) макака, В) мартышки и Г) беличьей обезьяны. HcLc включали для сравнения. В качестве отрицательного контроля включали неродственное антитело. На графиках ниже представлена типичная кривая для трех независимых анализов.

Фиг. 20. Конкурентный ELISA для сравнения связывания эпитопов H28L16 и 11C7. Рекомбинантный человеческий NOGO-A (GST-NOGO-A 5+6) наносили на планшеты. 2A10 и либо 11C7, либо H28L16 предварительно смешивали и определяли связывание 2A10 с использованием коньюгата антител против мышиного IgG с HRP (Dakocytomation, #P0260). Значения IC<sub>50</sub> получали с использованием Robosage. На графике ниже представлена типичная кривая для трех независимых анализов.

Фиг. 21. Конкурентный ELISA для сравнения связывания NOGO-5+6 (GST-NOGO-A 5+6) и пептидных фрагментов с H28L16. На графике ниже представлена типичная кривая для двух независимых анализов.

Фиг. 22. Данные ELISA для варианта G101S/Q37R в сравнении с H6L13 и H27L16.

### Краткое изложение сущности изобретения

Согласно изобретению предложены конкретные вариабельные области тяжелой цепи и антитела или их фрагменты, содержащие указанные конкретные вариабельные области тяжелой цепи, и вариабельную область легкой цепи, которые позволяют, при спаривании с вариабельными областями тяжелой цепи, Fv-димеру связывать с высокой аффинностью человеческий NOGO-A и, таким образом, нейтрализовать активность человеческого NOGO-A.

Вариабельные области тяжелой цепи по настоящему изобретению могут быть отформатированы вместе с вариабельными областями легкой цепи для обеспечения связывания с человеческим NOGO-A в форме стандартного иммуноглобулина (например, человеческий IgG, IgA, IgM и т.д.) или любого другого его фрагмента, или в "антитело-подобном" формате, который связывается с человеческим NOGO-A (например, одноцепочечный Fv, диатела, Tandabs<sup>TM</sup> и т.д. (краткое описание альтернативных "антителенных" форматов см. в Holliger and Hudson, Nature Biotechnology, 2005, Vol. 23, No. 9, 1126-1136)).

Вариабельная область тяжелой цепи содержит третью CDR, состоящую, по существу, из аминокислотных остатков GQGY, где указанная CDR содержит по меньшей мере одну замену в коровой последовательности GQGY, выбранную из следующих замен: где G в первом положении заменен на R, I, W или M; Q во втором положении заменен на D, I, A, L, V или S; G в третьем положении заменен на W, N, Y, S, L или F и Y в четвертом положении заменен на W.

В другом воплощении третья CDR тяжелой цепи (CDR H3) содержит только одну замену с получением следующих CDR H3:

RQGY (SEQ ID NO:75), IQGY (SEQ ID NO:76), MQGY (SEQ ID NO:45), GDGY (SEQ ID NO:77), GIGY (SEQ ID NO:78), GSGY (SEQ ID NO:79), GQNY (SEQ ID NO:80), GQYY (SEQ ID NO:81), GQSY (SEQ ID NO:62), GQLY (SEQ ID NO:82), GQFY (SEQ ID NO:83), GQGW (SEQ ID NO:84), WQGY (SEQ ID NO:86), GAGY (SEQ ID NO:87), GLGY (SEQ ID NO:88), GVGY (SEQ ID NO:89), GQWY (SEQ ID NO:90).

В еще одном воплощении вышеупомянутые вариабельные области тяжелой цепи дополнительно содержат другие CDR, перечисленные в табл. 2, т.е. CDR H1 (SEQ ID NO:1) и CDR H2 (SEQ ID NO:2).

Антитела по настоящему изобретению или их фрагменты сохраняют активность связывания с человеческим NOGO антителом, содержащих CDR H3 (GQGY), в контексте их активности, измеренной в ELISA (твердофазный иммуноферментный анализ) и Biacore экспериментах, а в некоторых случаях активность в этих экспериментах повышается.

Человеческие или гуманизированные вариабельные области тяжелой цепи, содержащие G95M  
(нумерация замен по Kabat)

В одном воплощении настоящего изобретения вариабельные области тяжелой цепи по настоящему изобретению содержат CDR, определенные в табл. 3 (как определено по Kabat).

Таблица 3

CDR	Последовательность
H1	SYWMH (SEQ ID NO:1)
H2	NINPNSNGGTNYNEKFKS (SEQ ID NO:2)
H3	MQGY (SEQ ID NO:45)

Согласно одному воплощению настоящего изобретения предложена человеческая или гуманизированная вариабельная область тяжелой цепи, содержащая каждую из CDR, перечисленных в табл. 3. Согласно другому воплощению настоящего изобретения предложена гуманизированная вариабельная область тяжелой цепи, содержащая CDR, перечисленные в табл. 3, в пределах большей последовательности человеческой вариабельной области тяжелой цепи. Согласно еще одному воплощению гуманизированная вариабельная область тяжелой цепи содержит CDR, перечисленные в табл. 3, в пределах рамки акцепторного антитела, имеющей более чем 40%-ную идентичность по рамочным областям, или более чем 50%, или более чем 60%, или более чем 65%-ную идентичность с вариабельной областью тяжелой цепи мышоного донорного антитела 2A10 (SEQ ID NO:7).

В тех случаях, когда используют все CDR из табл. 3, в одном воплощении последовательность вариабельной области тяжелой цепи представляет собой последовательность H98, предложенную в виде SEQ ID NO:66 (VH H98 является эквивалентом VH H1 (SEQ ID NO:33), отличающимся только тем, что CDR H3 в H98 представляет собой MQGY вместо GQGY, обнаруженного в H1).

Согласно одному аспекту настоящего изобретения антитела содержат вариабельную область тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:66 (вариабельная область H98), дополнительно содержащую ряд замен по одному или более положениям: 38, 40, 48, 67, 70, 72, 74 и 79; где каждый замещенный аминокислотный остаток заменен на аминокислотный остаток, находящийся в эквивалентном положении в SEQ ID NO:7 (вариабельная область тяжелой цепи донорного антитела 2A10), и число замен составляет от 1 до 9. В других воплощениях число замен составляет 1, или 2, или 3, или 4, или 5, или 6, или 7, или 8, или 9.

В этом контексте описанные замены эквивалентны по своему характеру "обратным мутациям", где аминокислотные остатки человеческой рамки в конкретных положениях в пределах последовательности H98 подвергают обратной мутации до аминокислотных остатков, находящихся в эквивалентном положении в пределах последовательности донорного антитела 2A10.

Если не указано иначе в противоположность описанному в данном изобретении, когда числовое положение аминокислотного остатка, находящегося в конкретной последовательности, упомянуто в данном документе, например "положение 12", то предполагают, что квалифицированный читатель присваивает первой аминокислоте в последовательности положение "1" и начинает отсчет от положения "один" и определяет аминокислоту, которая находится в желаемом положении, в этом примере - двенадцатый аминокислотный остаток в последовательности. Квалифицированный читатель заметит, что эта система нумерации не соответствует системе нумерации Kabat, которую часто используют для определения положений аминокислот в последовательностях антител.

При гуманизации мышного антитела 2A10 (VH для которого представляет собой SEQ ID NO:7) обнаружено, что для оптимальной аффинности связывания пары аминокислотных остатков в положениях 48 и 68 должна представлять собой I и A соответственно (как они находятся в 2A10) или M и V соответственно (как они находятся в H98). Ожидают, что вышеупомянутое открытие также важно для гуманизации G95M-варианта 2A10.

Следующая таблица включает фрагменты трех различных вариабельных областей (VH) тяжелой цепи, которые могут образовывать часть антител по настоящему изобретению. Каждая из раскрытых VH основана на VH H98 (SEQ ID NO:66), дополнительно включая замены, указанные в табл. 4, где остаток H98 в соответствующем положении замещен остатком 2A10 в этом положении (в таблице "-" означает, что в этом положении замены нет, и, таким образом, остаток остается таким же, как в последовательности H98).

Таблица 4

Новая VH (SEQ ID NO:X)	Числовой № остатка	38	40	48	67	68	70	72	74	79
	№ по Kabat	38	40	48	66	67	69	71	73	78
	2A10	K	R	I	K	A	L	V	K	A
H98	R	A	M	R	V	M	R	T	V	
H26 (47)	-	-	I	-	A	-	-	-	-	A
H27 (48)	K	R	I	K	A	L	V	K	A	
H28 (49)	-	-	I	K	A	-	-	-	-	A

Таким образом, в одном воплощении настоящего изобретения вариабельные области (VH) тяжелой цепи по настоящему изобретению представляют собой H26 VH (SEQ ID NO:47), H27 VH (SEQ ID NO:48) и H28 VH (SEQ ID NO:49).

**SEQ ID 47: гуманизированная конструкция H26 VH**  
 QVQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGNIN  
 PSNNGGTNYNEKFKSATMTRDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCELMQGYWG  
 QGTLTVSS

**SEQ ID 48: гуманизированная конструкция H27 VH**  
 QVQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPGQGLEWIGNIN  
 PSNNGGTNYNEKFKSATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCELMQGYWG  
 QGTLTVSS

**SEQ ID 49: гуманизированная конструкция H28 VH**  
 QVQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGNIN  
 PSNNGGTNYNEKFKSATMTRDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCELMQGYWG  
 QGTLTVSS

Человеческие или гуманизированные вариабельные области тяжелой цепи, содержащие G101S  
 (нумерация замен по Kabat)

Согласно другому воплощению настоящего изобретения предложена человеческая или гуманизированная вариабельная область тяжелой цепи, содержащая CDR, определенные в табл. 5.

Таблица 5

CDR	По Kabat
H1	SYWMH (SEQ ID NO:1)
H2	NINPSNNGGTNYNEKFKS (SEQ ID NO:2)
H3	GQSY (SEQ ID NO:62)

В одном воплощении в последовательность человеческой вариабельной области тяжелой цепи включены CDR из табл. 5. В другом воплощении гуманизированная вариабельная область тяжелой цепи содержит CDR, перечисленные в табл. 5, в пределах рамки акцепторного антитела с более чем 40%-ной идентичностью рамочных областей, или более чем с 50%, или более чем с 60%, или более чем с 65%-ной идентичностью вариабельной области тяжелой цепи мышного донорного антитела 2A10 (SEQ ID NO:7).

В другом воплощении CDR из табл. 5 включены в человеческую вариабельную область тяжелой цепи с получением следующей последовательности (H99):

QVQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWMGNI  
NPSNGGTNYNEKFKSRVTMTRDTSTVYMEMLSSLRSEDTAVYYCELGQSYW  
GQGTLTVSS (SEQ ID 61: гуманизированная конструкция H99 VH 2A10).

В других воплощениях в последовательность H99 VH добавлены дополнительные обратные мутации по любому одному из положений (указанных числовым положением остатка) 38, 40, 48, 67, 68, 70, 72, 74 или 79; где каждый замещенный аминокислотный остаток заменен на аминокислотный остаток, находящийся в эквивалентном положении в SEQ ID NO:7 (вариабельная область тяжелой цепи донорного антитела 2A10), и число замен составляет от 1 до 9. В других воплощениях число замен составляет 1, или 2, или 3, или 4, или 5, или 6, или 7, или 8, или 9. H99 VH представляет собой эквивалент H1 VH (SEQ ID NO:33), отличающийся только тем, что CDR H3 в H99 представляет собой GQSY вместо GQGY, обнаруженного в H1.

При гуманизации мышного антитела 2A10 (VH для которого представляет собой SEQ ID NO:7) обнаружено, что для оптимальной аффинности связывания пара аминокислотных остатков в положениях 48 и 68 должна представлять собой I и A соответственно (как они существуют в 2A10) или M и V соответственно (как они существуют в H98). Ожидают, что вышеуказанное открытие также важно для гуманизации G95M-варианта 2A10.

В одном воплощении обратные мутации находятся в положениях, указанных в табл. 6, где остаток H99 в соответствующем положении замещен остатком 2A10 в этом положении (в таблице "-" означает, что в этом положении замены нет, и, таким образом, остаток сохраняется, как в последовательности H1).

Таблица 6

<b>Новая VH (SEQ ID NO:X)</b>	<b>Числовой № остатка</b>	38	40	48	67	68	70	72	74	79
	<b>№ по Kabat</b>	38	40	48	66	67	69	71	73	78
<b>2A10</b>	K	R	I	K	A	L	V	K	A	
<b>H99</b>	R	A	M	R	V	M	R	T	V	
<b>H100 (63)</b>	-	-	I	-	A	-	-	-	-	A
<b>H101 (64)</b>		K	R	I	K	A	L	V	K	A
<b>H102 (65)</b>		-	-	I	K	A	-	-	-	A

Антитела или фрагменты, содержащие человеческие или гуманизированные вариабельные области тяжелой цепи и вариабельные области легкой цепи

V<sub>H</sub>-конструкции по настоящему изобретению могут быть спарены с легкой цепью с образованием связывающейся с человеческим NOGO-A (Fv) единицы в любом формате, включая формат стандартного IgG антитела, имеющего полноразмерные (FL) последовательности вариабельного и константного доменов тяжелой цепи. Примерами полноразмерных (FL) последовательностей тяжелой цепи IgG1, содержащих V<sub>H</sub>-конструкции по настоящему изобретению и инактивирующих мутации в положениях 235 и 237 (нумерация EU Index) для придания антителу устойчивости к лизису, являются SEQ ID NO:53, 54 и 55.

SEQ ID 53: Гуманизированная конструкция тяжелой цепи H26  
**MGWSCIIFLVATATGVHSQVQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYTFTSYWM**  
**HWVRQAPGQGLEWIGNINPSNGGTNYNEKFKS RATMTRDTSTSTAYMELSSL**  
**RSEDTAVYYCELMQGYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL**  
**GCLVKDVFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT**  
**QTYICNVNHPKSNKVDKKVEPKSCDKTHTCPCPAPELAGAPS VFLFPPKPKD**  
**TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV/DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV**  
**VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISAKGQPREPQVYTLPPSRD**  
**ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKL**  
**TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK.**

SEQ ID 54: Гуманизированная конструкция тяжелой цепи H27  
**MGWSCIIFLVATATGVHSQVQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYTFTSYWM**  
**HWVKQRPGQGLEWIGNINPSNGGTNYNEKFKS ATLTVKDSTSTAYMELSSLR**  
**SEDTAVYYCELMQGYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG**  
**CLVKDVFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ**  
**TYICNVNHPKSNKVDKKVEPKSCDKTHTCPCPAPELAGAPS VFLFPPKPKD**  
**LTMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV/DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV**  
**SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISAKGQPREPQVYTLPPSRD**  
**ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLT**  
**VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK**

SEQ ID 55: Гуманизированная конструкция тяжелой цепи H28  
**MGWSCIIFLVATATGVHSQVQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYTFTSYWM**  
**HWVRQAPGQGLEWIGNINPSNGGTNYNEKFKS RATMTRDTSTSTAYMELSSL**  
**SEDTAVYYCELMQGYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG**  
**CLVKDVFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ**  
**TYICNVNHPKSNKVDKKVEPKSCDKTHTCPCPAPELAGAPS VFLFPPKPKD**  
**LTMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV/DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV**  
**SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISAKGQPREPQVYTLPPSRD**  
**ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLT**  
**VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK**

Последовательность вариабельной области легкой цепи, которая образует Fv с последовательностями вариабельной области тяжелой цепи по настоящему изобретению, может представлять собой любую последовательность, которая позволяет Fv связываться с человеческим NOGO-A.

В одном воплощении настоящего изобретения вариабельная область легкой цепи представляет собой легкую цепь 2A10 (см. WO 05/061544), вариабельная область легкой цепи которого предложена в данном изобретении как SEQ ID NO:8, или ее гуманизированные варианты. Гуманизированные варианты легкой цепи 2A10 предпочтительно содержат все CDR вариабельной области легкой цепи, которые описаны в табл. 1, перенесенные (grafted) на акцепторную рамку человеческой вариабельной области легкой цепи. В одном воплощении гуманизированные вариабельные области легкой цепи представляют собой L11 (SEQ ID NO:34), L13 (SEQ ID NO:13) или L16 (SEQ ID NO:14). Альтернативные вариабельные области легкой цепи на основе L13 и L16, содержащие конкретные замены в положениях 37 и/или 45 по Kabat, предложены в табл. 7.

Таблица 7

Описание	SEQ ID NO.	Последовательность
L100 (L13+Q37R)	67	DIVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSKSLLYKDGKTYLNWFRQ RPGQSPQLLIYLMSTRASGPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEA EDVGVYYCQQQLVEYPLTFGQGTKEIK
L101 (L13+Q45R)	68	DIVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSKSLLYKDGKTYLNWFQQ RPGQSPRLIYLMSTRASGPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAE DVGVYYCQQQLVEYPLTFGQGTKEIK
L102 (L13+Q37R/Q45R)	69	DIVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSKSLLYKDGKTYLNWFRQ RPGQSPRLIYLMSTRASGPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAE DVGVYYCQQQLVEYPLTFGQGTKEIK
L103 (L16+Q37R)	70	DIVMTQSPLSNPVTLGQPVSISCRSSKSLLYKDGKTYLNWFRQ RPGQSPQLLIYLMSTRASGPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEA EDVGVYYCQQQLVEYPLTFGQGTKEIK
L104 (L16+Q45R)	71	DIVMTQSPLSNPVTLGQPVSISCRSSKSLLYKDGKTYLNWFLQ RPGQSPRLIYLMSTRASGPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAE DVGVYYCQQQLVEYPLTFGQGTKEIK
L105 (L16+Q37R/Q45R)	72	DIVMTQSPLSNPVTLGQPVSISCRSSKSLLYKDGKTYLNWFRQ RPGQSPRLIYLMSTRASGPDRFSGGGSGTDFTLKISRVEAE DVGVYYCQQQLVEYPLTFGQGTKEIK

В другом воплощении полноразмерные (FL) последовательности легкой цепи представляют собой L11FL (SEQ ID NO:36), L13FL (SEQ ID NO:17) или L16FL (SEQ ID NO:18).

В еще одном воплощении антитела, их фрагменты или функциональные эквиваленты содержат последовательность  $V_H$ , выбранную из H26, H27, H28, H100, H101 и H102; в комбинации с любой одной из следующих последовательностей  $V_L$ : L11, L13, L16, L100, L101, L102, L103, L104 и L105.

Предполагают, что все возможные комбинации перечисленных вариабельных областей тяжелой цепи и вариабельных областей легкой цепи конкретно раскрыты (например, H28L104 и др.).

В конкретных воплощениях антитела, их фрагменты или функциональные эквиваленты содержат следующие пары вариабельных областей:

- H27L16 (SEQ ID NO:48 + SEQ ID NO:14);
- H28L13 (SEQ ID NO:49 + SEQ ID NO:13);
- H28L16 (SEQ ID NO:49 + SEQ ID NO:14).

В другом воплощении антитела по настоящему изобретению содержат следующие полноразмерные последовательности:

- H27FL L16FL (SEQ ID NO:54 + SEQ ID NO:18);
- H28FL L13FL (SEQ ID NO:55 + SEQ ID NO:17);
- H28FL L16FL (SEQ ID NO:55 + SEQ ID NO:18).

В одном воплощении антитело по настоящему изобретению содержит

27L16 (SEQ ID NO:48 + SEQ ID NO:14)

или представляет собой полноразмерное антитело

H28FL L16FL (SEQ ID NO:55 + SEQ ID NO:18).

В другом воплощении антитело или его фрагмент связываются с таким же эпитопом человеческого NOGO, что и H28L16, или конкурируют с H28L16 за связывание с человеческим NOGO, отличающиеся в обоих случаях тем, что конкурирующее антитело или его фрагмент не являются мышьяным антителом 2A10 или его человеческим или гуманизированным вариантом, содержащим CDR H3, имеющую последовательность GQGY (SEQ ID NO:3) или последовательность, содержащую одну аминокислотную замену в CDR H3.

В конкретных воплощениях антитела, их фрагменты или функциональные эквиваленты содержат следующие пары вариабельных областей:

- H100L16 (SEQ ID NO:63 + SEQ ID NO:14);
- H101L13 (SEQ ID NO:64 + SEQ ID NO:13);
- H102L16 (SEQ ID NO:65 + SEQ ID NO:14).

Картирование эпитопов и дополнительные антитела, которые связываются  
с одним и тем же эпитопом

Согласно другому воплощению предложено антитело или его фрагмент, которые способны связываться с человеческим белком NOGO или его фрагментом, таким как белок GST-NOGO-A56 (SEQ ID NO:32), в ELISA анализе, где интенсивность связывания антитела или его фрагмента с человеческим белком NOGO или его фрагментом в ELISA анализе снижается в присутствии пептида, имеющего следующую последовательность: VLPDIVMEAPLN (SEQ ID NO:60); и не снижается в присутствии нерелевантного пептида, например пептида из человеческого NOGO, который не перекрывается с SEQ ID NO:60 (такого как SEQ ID NO:85: YESIKHEPENPPPYEE), отличающиеся тем, что указанные антитело или его фрагмент не являются антителом, содержащим вариабельный домен тяжелой цепи, имеющий CDR H3, состоящую из аминокислотных остатков GQGY, или ее аналоги, имеющие одну аминокислотную замену в CDR H3. Альтернативно, конкурирующий пептид представляет собой TPSPVLPDIVMEAPLN (SEQ ID NO:73) или VLPDIVMEAPLNSAVP (SEQ ID NO:74). Кроме того, антитело, которое связывается с тем же эпитопом, что и антитела или их фрагменты, может представлять собой антитело, которое не содержит все CDR, перечисленные в табл. 1 и 2, или любое антитело, которое содержит набор CDR, имеющих 80%-ную или большую гомологию с CDR, перечисленными в табл. 1 и 2 вместе или в табл. 1 или 2 по отдельности.

Согласно другому воплощению настоящего изобретения предложено антитело или его фрагмент, которые способны в ELISA анализе связываться с областью человеческого белка NOGO, состоящей из полипептидной последовательности VLPDIVMEAPLN (SEQ ID NO:60), отличающиеся тем, что указанные антитело или его фрагмент не являются антителом, содержащим вариабельный домен тяжелой цепи, имеющий CDR H3, состоящую из аминокислотных остатков GQGY, или ее аналоги, имеющие одну аминокислотную замену в CDR H3. Альтернативно, антитело или его фрагмент способны связываться с TPSPVLPDIVMEAPLN (SEQ ID NO:73) или VLPDIVMEAPLNSAVP (SEQ ID NO:74). Кроме того, антитело, которое связывается с тем же эпитопом, что и антитела или их фрагменты, может представлять собой антитело, которое не содержит все CDR, перечисленные в табл. 1 и 2, или любое антитело, которое содержит набор CDR, имеющих 80%-ную или большую гомологию с CDR, перечисленными в табл. 1 и 2 вместе или в табл. 1 или 2 по отдельности.

Согласно еще одному воплощению настоящего изобретения предложен способ получения антитела или его связывающего фрагмента, которые связываются с эпитопом VLPDIVMEAPLN (SEQ ID NO:60) человеческого NOGO, включающий иммунизацию млекопитающего указанным пептидом и выделение клеток, способных продуцировать антитело, которое связывается с указанным пептидом. Согласно другому воплощению настоящего изобретения предложен способ получения выделенного антитела или его связывающего фрагмента, которые связываются с эпитопом VLPDIVMEAPLN (SEQ ID NO:60) человеческого NOGO, включающий скрининг библиотеки, которая содержит множество антител или их связывающих фрагментов, каждый из которых может быть выделен из данной библиотеки вместе с нуклеотидной последовательностью, кодирующей антитело или его связывающий фрагмент, посредством связывания антитела или его связывающего фрагмента с эпитопом VLPDIVMEAPLN (SEQ ID NO:60) человеческого NOGO.

#### Фармацевтические композиции.

Согласно дополнительному аспекту данного изобретения предложена фармацевтическая композиция, содержащая антитело против NOGO по настоящему изобретению или его функциональный фрагмент или эквивалент вместе с фармацевтически приемлемым разбавителем или носителем.

Согласно еще одному аспекту настоящего изобретения предложен способ лечения или профилактики инсульта (особенно ишемического инсульта) и других неврологических заболеваний у человека, в частности болезни Альцгеймера, и лечения пациента, страдающего от механической травмы ЦНС (такой как повреждение спинного мозга), включающий введение указанному человеку, нуждающемуся в этом, эффективного количества антитела против NOGO по данному изобретению или его функциональных фрагментов.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения предложено применение антитела против NOGO по данному изобретению или его функционального фрагмента в изготовлении лекарственного средства для лечения или профилактики инсульта (особенно ишемического инсульта) и других неврологических заболеваний, в частности болезни Альцгеймера, и лечения пациента, страдающего от механической травмы ЦНС (такой как повреждение спинного мозга).

Согласно еще одному аспекту настоящего изобретения предложен способ ингибиования нейродегенерации и/или стимуляции функционального восстановления у пациента-человека, страдающего от развития инсульта (особенно ишемического инсульта) или другого неврологического заболевания или имеющего риск развития инсульта (особенно ишемического инсульта) или другого неврологического заболевания, в частности болезни Альцгеймера, и лечения пациента, страдающего от механической травмы ЦНС (такой как повреждение спинного мозга), включающий введение указанному человеку, нуждающемуся в этом, эффективного количества антитела против NOGO по данному изобретению или его функционального фрагмента.

Согласно еще одному аспекту настоящего изобретения предложено применение антитела против NOGO по данному изобретению или его функционального фрагмента в изготовлении лекарственного средства для ингибиования нейродегенерации и/или стимуляции функционального восстановления у пациента-человека, страдающего от развития инсульта и другого неврологического заболевания или имеющего риск развития инсульта и другого неврологического заболевания, в частности болезни Альцгеймера, и лечения пациента, страдающего от механической травмы ЦНС (такой как повреждение спинного мозга).

Другие аспекты и преимущества настоящего изобретения описаны далее в подробном описании и предпочтительных воплощениях.

#### Подробное описание изобретения

Вариабельные области тяжелой цепи по данному изобретению можно форматировать в структуру природного антитела или его функционального фрагмента или эквивалента. Поэтому антитело может содержать V<sub>H</sub>-области по изобретению, форматированные в полноразмерное антитело, (Fab)<sub>2</sub>-фрагмент, Fab-фрагмент или его эквивалент (такой как scFV, би-, три- или тетратела, Tandabs и т.д.) при спариваниях с соответствующей легкой цепью. Антитело может представлять собой IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4 или IgM, IgA, IgE, IgD или его модифицированный вариант. Константный домен тяжелой цепи антитела может быть выбран соответствующим образом. Константный домен легкой цепи может представлять собой каппа- или лямбда-константный домен. Кроме того, антитело может содержать модификации всех классов, например IgG-димеры, Fc-мутанты, которые больше не связываются с Fc-рецепторами или не опосредуют Clq-связывание. Антитело может представлять собой также химерное антитело типа описанного в WO 86/01533, которое содержит антигенсвязывающую область и неиммуноглобулиновую область.

Константную область выбирают согласно требуемой функциональности. Как правило, IgG1 будет демонстрировать литическую способность посредством связывания с комплементом и/или будет опосредовать ADCC (антителозависимая клеточная цитотоксичность). Если требуется нецитотоксическое блокирующее антитело, то предпочтительным будет IgG4. Однако IgG4 антитела могут демонстрировать нестабильность при получении, и поэтому может быть более предпочтительной модификация обычно более стабильных IgG1. Предлагаемые модификации описаны в EP 0307434, предпочтительные модифи-

кации включают модификации по положениям 235 и 237. Поэтому согласно изобретению предложена липитическая или нелипитическая форма антитела по изобретению.

Поэтому в предпочтительных формах антитело по изобретению представляет собой полноразмерное (т.е. H2L2-тетрамер) нелипитическое IgG1 антитело, имеющее описанные в данном изобретении вариабельные области тяжелой цепи.

Согласно другому аспекту изобретения предложены полинуклеотиды, кодирующие описанные в данном изобретении вариабельные области тяжелой цепи.

"NOGO" относится к любому полипептиду NOGO, включая варианты формы. Они включают, но не ограничиваются этим, NOGO-A, имеющий 1192 аминокислотных остатка (инвентарный № GenBank AJ251383); NOGO-B, сплайс-вариант, который не содержит остатки с 186 по 1004 в предполагаемом внеклеточном домене (инвентарный № GenBank AJ251384); и более короткий сплайс-вариант, NOGO-C, который также не содержит остатки с 186 по 1004 и также имеет меньший альтернативный аминоконцептный домен (инвентарный № GenBank AJ251385) (Prinjha R. et al. (2000), см выше). Все ссылки на "NOGO" в данном описании подразумевают включение любой и всех различных форм NOGO, таких как NOGO-A и описанных сплайс-вариантов, если не указана конкретная форма.

"Нейтрализация" и грамматические варианты этого термина относятся к ингибираванию, либо полному, либо частичному, функции NOGO, включая его связывание с нейронами и ингибиование нейритного роста.

Термины Fv, Fc, Fd, Fab или F(ab)<sub>2</sub> используют в их стандартных значениях (см., например, Harlow et al., *Antibodies A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory (1988)).

"Химерное антитело" относится к типичному образцу сконструированного антитела, которое содержит встречающуюся в природе вариабельную область (легких или тяжелых цепей), происходящую из донорного антитела в ассоциации с константными областями легких и тяжелых цепей, происходящих из акцепторного антитела.

"Гуманизированное антитело" относится к типу сконструированного антитела, имеющего CDR, происходящие из донорного иммуноглобулина, не являющегося человеческим, причем оставшиеся части иммуноглобулина происходят из одного (или более) человеческого иммуноглобулина(ов). Кроме того, поддерживающие рамку остатки могут быть изменены для сохранения аффинности связывания (см., например, Queen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86:10029-10032 (1989), Hodgson et al., Bio/Technology, 9:421 (1991)). Подходящим человеческим акцепторным антителом может быть антитело, выбранное из стандартной базы данных, например базы данных КАВАТ®, базы данных Los Alamos и базы данных Swiss Protein, посредством определения гомологии с нуклеотидными и аминокислотными последовательностями донорного антитела (в данном случае мышного донорного антитела 2A10). Человеческое антитело, характеризующееся гомологией с рамочными областями донорного антитела (на аминокислотной основе), может быть подходящим для обеспечения константной области тяжелой цепи и/или вариабельной рамочной области тяжелой цепи для вставки донорных CDR (см. табл. 1 для CDR 2A10 для вставки в акцепторную рамку). Подходящее акцепторное антитело, способное быть донором константных или вариабельных рамочных областей, может быть выбрано похожим образом. Следует отметить, что тяжелые и легкие цепи акцепторного антитела не обязательно происходят из одного и того же акцепторного антитела. В предшествующем уровне техники описано несколько способов продукции таких гуманизированных антител - см., например, EP-A-0239400 и EP-A-054951.

Термин "донорное антитело" относится к антителу, не являющемуся человеческим, которое вносит аминокислотные последовательности своих вариабельных областей, CDR или других функциональных фрагментов или их аналогов в гуманизированное антитело и обеспечивает тем самым гуманизированное антитело с антигенной специфичностью и нейтрализующей активностью, характерной для донорного антитела.

Термин "акцепторное антитело" относится к антителу, гетерологичному по отношению к донорному антителу, которое предоставляет аминокислотные последовательности рамочных областей их тяжелой и/или легкой цепи и/или константных областей их тяжелой и/или легкой цепи для гуманизированного антитела. Акцепторное антитело может происходить от любого млекопитающего при условии, что оно является неиммуногенным у людей. Предпочтительно акцепторное антитело представляет собой человеческое антитело.

Альтернативно, гуманизации можно достичь с помощью процесса "маскировки" (veeneering). Статистический анализ уникальных вариабельных областей тяжелых и легких цепей человеческих и мышиных иммуноглобулинов показал, что определенные паттерны поверхностных остатков различаются в человеческих и мышиных антителах, и большинство индивидуальных поверхностных положений имеют строгое предпочтение небольшого количества разных остатков (см. Padlan E.A. et al., (1991), Mol. Immunol. 28, 489-498 и Pedersen J.T. et al. (1994), J. Mol. Biol. 235; 959-973). Следовательно, можно уменьшить иммуногенность Fv, не являющегося человеческим, путем замены экспонированных на поверхности остатков в его рамочных областях, которые отличаются от тех, которые обычно обнаруживаются в человеческих антителах. Поскольку антигенный белок может коррелировать с доступностью поверхности, замена поверхностных остатков может быть достаточной для придания "невидимости" мышиной вари-

бельной области для иммунной системы человека (см. также Mark G.E. et al. (1994) в *Handbook of Experimental Pharmacology*, vol. 113: *The pharmacology of monoclonal Antibodies*, Springer-Verlag, p. 105-134). Такую методику гуманизации называют "маскировкой", поскольку изменяют только поверхность антитела, оставляя нетронутыми поддерживающие остатки. Другой альтернативный подход изложен в WO 04/006955.

Термин "CDR" определяют как аминокислотные последовательности определяющих комплементарность областей антитела, которые представляют собой гипервариабельные области тяжелой и легкой цепей иммуноглобулина (см., например, Kabat et al., *Sequences of Proteins of immunological Interest*, 4<sup>th</sup> Ed., U.S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health (1987)). В вариабельной области иммуноглобулина есть три CDR (или области CDR) тяжелой цепи и три CDR легкой цепи. Таким образом, "CDR" в данном описании используют в отношении всех трех CDR тяжелой цепи или трех CDR легкой цепи (или всех CDR тяжелой и всех CDR легкой цепи, если уместно). Структура и фолдинг белка антитела могут подразумевать, что другие остатки рассматриваются как часть антигенсвязывающей области, и это должно подразумеваться квалифицированным специалистом (см., например, Chothia et al. (1989), *Conformations of immunoglobulin hypervariable regions*; *Nature*, 342, p. 877-883).

Биспецифическое антитело представляет собой антитело, обладающее специфичностью связывания по меньшей мере с двумя различными эпитопами. Способы получения таких антител известны в уровне техники. Традиционно рекомбинантная продукция биспецифических антител основана на коэкспрессии двух пар иммуноглобулиновых H-цепи-L-цепи, где две H-цепи обладают различной специфичностью связывания (см. Millstein et al., *Nature* 305, 537-539 (1983), WO 93/08829 и Traunecker et al. EMBO, 10, 1991, 3655-3659). Вследствие случайной реаранжировки H- и L-цепей получают потенциальную смесь из десяти различных структур антитела, из которых только одна обладает желаемой специфичностью связывания. Альтернативный подход включает слияние вариабельных доменов с желаемой специфичностью связывания с константной областью тяжелой цепи, содержащей по меньшей мере часть шарнирной области, CH2- и CH3-областей. Предпочтительно наличие по меньшей мере в одном из слияний CH1-области, содержащей участок, необходимый для связывания легкой цепи. ДНК, кодирующую эти слияния, и, при желании, L-цепь вставляют в отдельные экспрессирующие векторы и затем котрансфицируют в подходящий организм-хозяин. Однако можно вставлять кодирующие последовательности для двух или всех трех цепей в один экспрессирующий вектор. Согласно одному предпочтительному подходу биспецифическое антитело состоит из H-цепи с первой специфичностью связывания в одном плече и пары H-L-цепей, обеспечивающей вторую специфичность связывания в другом плече (см. WO 94/04690, см. также Suresh et al. *Methods in Enzymology*. 121, 210, 1986).

Согласно одному воплощению данного изобретения предложено биспецифическое терапевтическое антитело, где по меньшей мере одна специфичность связывания указанного антитела относится к связыванию с человеческим NOGO в эпитопе, описанном в SEQ ID NO:60. В другом воплощении настоящего изобретения биспецифическое антитело содержит последовательность MQGY (SEQ ID NO:45) CDR H3 вариабельной области тяжелой цепи. В другом воплощении биспецифическое антитело содержит следующие пары вариабельных областей тяжелой и легкой цепи:

H27L16 (SEQ ID NO:48 + SEQ ID NO:14);  
H28L13 (SEQ ID NO:49 + SEQ ID NO:13) или  
H28L16 (SEQ ID NO:49 + SEQ ID NO:14).

Антитела по настоящему изобретению могут быть получены посредством трансфекции в клетку-хозяина экспрессирующего вектора, содержащего кодирующую последовательность для антител по изобретению. Экспрессирующий вектор или рекомбинантную плазмиду получают, помещая эти кодирующие последовательности для антитела в функциональную ассоциацию со стандартными регуляторными последовательностями, способными контролировать репликацию и экспрессию в клетке-хозяине и/или секрецию из клетки-хозяина. Регуляторные последовательности включают промоторные последовательности, например промотор CMV, и сигнальные последовательности, которые могут происходить из других известных антител. Аналогично можно получить второй экспрессирующий вектор, имеющий последовательность ДНК, которая кодирует комплементарную легкую или тяжелую цепь антитела. Предпочтительно этот второй экспрессирующий вектор идентичен первому, за исключением того, что рассматриваются кодирующие последовательности и селективные маркеры, обеспечивающие, насколько это возможно, функциональную экспрессию каждой полипептидной цепи. Альтернативно, последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепь, для измененного антитела могут располагаться в одном векторе.

Выбранную клетку-хозяин подвергают котрансфекции первым и вторым векторами (или просто трансфекции одним вектором) с помощью стандартных методик для получения трансфицированной клетки-хозяина по изобретению, содержащей обе рекомбинантные или синтетические легкую и тяжелую цепи. Затем трансфицированную клетку культивируют с помощью стандартных методик с получением сконструированного антитела по изобретению. Антитело, которое включает ассоциацию обеих рекомбинантных тяжелой цепи и/или легкой цепи, отбирают из культуры с помощью подходящего анализа, такого как ELISA или RIA (радиоиммуноанализ). Похожие стандартные методики можно использовать для конструирования других измененных антител и молекул.

Одна используемая экспрессирующая система представляет собой глутаматсингтетазную систему (такую как продается фирмой Lonza Biologics), особенно когда клетка-хозяин представляет собой СНО NS0 (см. ниже). Полинуклеотид, кодирующий антитело, без труда выделяют и секвенируют с использованием стандартных методик (например, олигонуклеотидные зонды). Векторы, которые могут быть использованы, включают плазмиды, вирусы, фаги, транспозоны, минихромосомы, из которых типичным воплощением являются плазмиды. Как правило, такие векторы дополнительно включают сигнальную последовательность, область начала репликации, один или более маркерных генов, энхансерный элемент, промоторную последовательность и последовательность терминации транскрипции, функциональным образом связанные с полинуклеотидом легкой и/или тяжелой цепи для облегчения экспрессии. Полинуклеотид, кодирующий легкую и тяжелую цепи, может быть включен в отдельные векторы и введен (например, посредством электропорации) в одну и ту же клетку-хозяина или, при желании, и тяжелая цепь, и легкая цепь могут быть вставлены в один и тот же вектор для трансфекции в клетку-хозяина. Таким образом, согласно одному воплощению настоящего изобретения предложен способ конструирования вектора, кодирующего легкую и/или тяжелую цепи терапевтического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по изобретению, включающий вставку в вектор полинуклеотида, кодирующего либо легкую цепь, либо тяжелую цепь терапевтического антитела по изобретению.

Согласно другому воплощению предложен полинуклеотид, кодирующий вариабельную область гуманизированной тяжелой цепи, имеющий последовательность, представленную как SEQ ID NO:47, 48 или 49.

Согласно еще одному воплощению предложен полинуклеотид, кодирующий гуманизированную тяжелую цепь, имеющую последовательность, представленную как SEQ ID NO:53, 54 или 55.

Специалисту в данной области сразу же будет понятно, что благодаря избыточности генетического кода также доступны полинуклеотиды, альтернативные полинуклеотидам, описанным в данном изобретении, которые будут кодировать полипептиды по изобретению.

Векторы, подходящие для стадий клонирования и субклонирования, используемых в способах и конструировании композиций по данному изобретению, могут быть выбраны специалистом в данной области. Например, можно использовать стандартные серии pUC векторов для клонирования. Один вектор, pUC19, коммерчески доступен от фирм, занимающихся снабжением, таких как Amersham (Buckinghamshire, United Kingdom) или Pharmacia (Uppsala, Sweden). Кроме того, для клонирования можно использовать любой вектор, способный к быстрой репликации, имеющий множество участков клонирования и селективных генов (например, устойчивости к антибиотикам) и легкий в манипуляции. Таким образом, отбор вектора для клонирования не является ограничивающим фактором для данного изобретения. Другие предпочтительные векторные последовательности включают поли-А-сигнальную последовательность, такую как последовательность бычьего гормона роста (BGH) и промоторную последовательность бета-глобина (betaglopro). Экспрессирующие векторы, используемые в данном описании, можно синтезировать с помощью методик, хорошо известных специалистам в данной области. Типичные гены селекции кодируют белки, которые (а) придают устойчивость к антибиотикам или другим токсинам, например ампициллину, неомицину, метотрексату или тетрациклину, или (б) дополняют ауксотрофный дефицит или обеспечивают поступление питательных веществ, не доступных в сложной среде. Схема селекции может включать остановку роста клетки-хозяина. Клетки, успешно трансформированные генами, кодирующими терапевтическое антитело по настоящему изобретению, выживают благодаря, например, лекарственной устойчивости, обеспечиваемой селективным маркером. Другим примером является так называемый маркер DHFR-селекции, где трансформанты культивируют в присутствии метотрексата. Клетки СНО являются особенно используемой клеточной линией для DHFR-селекции. Способы селекции трансформированных клеток-хозяев и амплификации числа клеточных копий трансгена включают использование DHFR-системы (см. Kaufman R.J. et al. J. Mol. Biol. (1982), 159, 601-621, см. обзор Werner R.G., Noe W., Kopp K., Schluter M., "Appropriate mammalian expression systems for biopharmaceuticals", Arzneimittel-Forschung. 48(8):870-80, 1998 Aug.). Другим примером является глутаматсингтетазная экспрессирующая система (Lonza Biologics). Подходящим геном селекции для применения у дрожжей является ген trp1 (см. Stinchcomb et al. Nature, 282, 38, 1979).

Компоненты таких векторов, например, репликоны, гены селекции, энхансеры, промоторы, сигнальные последовательности и т.п., могут быть получены из коммерческих или природных источников или синтезированы известными методами для применения в управлении экспрессией и/или секрецией продукта рекомбинантной ДНК в выбранном хозяине. Другие подходящие экспрессирующие векторы, множество типов которых известно в уровне техники для экспрессии у млекопитающих, бактерий, насекомых, дрожжей и грибов, также могут быть выбраны для этой цели.

Настоящее изобретение также охватывает клеточную линию, трансформированную рекомбинантной плазмидой, содержащей кодирующие последовательности антител или эквивалентов по настоящему изобретению. Клетки-хозяева, используемые для клонирования и других манипуляций с этими векторами клонирования, также являются стандартными. Однако наиболее желательно, чтобы для репликации векторов клонирования и других стадий конструирования измененных антител по данному изобретению использовали клетки из различных штаммов E.coli.

Подходящие клетки-хозяева или клеточные линии-хозяева для экспрессии антитела по изобретению предпочтительно представляют собой клетки млекопитающих, такие как NS0, Sp2/0, CHO (например, DG44), COS, фибробlastы (например, 3T3) и миеломные клетки и более предпочтительно CHO или миеломные клетки. Можно использовать человеческие клетки, тем самым позволяя молекуле модифицироваться в соответствии с типами гликозилирования у человека. Альтернативно, можно использовать другие эукариотические клеточные линии. Выбор подходящих клеток-хозяев млекопитающих и способов трансформации, культивирования, амплификации, скрининга и продукции и очистки продукта известны в уровне техники (см., например, Sambrook et al., процитированный выше).

В качестве клеток-хозяев, подходящих для экспрессии антител или их фрагментов (таких как рекомбинантные Fab или ScFv) по настоящему изобретению, могут оказаться полезными бактериальные клетки (см., например, Plückthun, A., Immunol. Rev., 130:151-188 (1992)). Однако вследствие тенденции белков, экспрессирующихся в бактериальных клетках, находиться в развернутой или неправильно свернутой форме или в негликозилированной форме, любой рекомбинантный фрагмент, продуцируемый в бактериальной клетке, следует подвергать скринингу относительно сохранения антигенсвязывающей способности. Если молекула, экспрессирующаяся в бактериальной клетке, продуцировалась в правильно свернутой форме, то такая бактериальная клетка может быть желательным хозяином. Например, в области биотехнологии в качестве клеток-хозяев хорошо известны различные штаммы *E.coli*, используемые для экспрессии. Различные штаммы *B.subtilis*, *Streptomyces*, другие палочки и т.п. также могут быть использованы согласно этому способу.

При желании, штаммы дрожжевых клеток, известные специалистам в данной области, также пригодны в качестве клеток-хозяев, а также клетки насекомых, например *Drosophila* и *Lepidoptera*, и вирусные экспрессирующие системы (см., например, Miller et al., Genetic Engineering, 8:277-298, Plenum Press (1986) и ссылки, процитированные там).

Все общие способы, с помощью которых можно конструировать векторы, способы трансфекции, необходимые для получения клеток-хозяев по изобретению, и способы культивирования, необходимые для продукции антитела по изобретению из такой клетки-хозяина, являются стандартными методиками. Типично способ культивирования по настоящему изобретению представляет собой бессывороточный способ культивирования, обычно путем культивирования клеток без сыворотки в суспензии. Аналогично, после продукции антитела по изобретению можно очистить от содержимого клеточной культуры согласно стандартным методикам из уровня техники, включая осаждение сульфатом аммония, колонки для аффинной хроматографии, колоночную хроматографию, гель-электрофорез и т.п. Такие методики известны специалисту в данной области и не ограничивают данное изобретение. Например, получение антител описано в WO 99/58679 и WO 96/16990.

Согласно еще одному способу экспрессии антител можно использовать экспрессию в трансгенном животном, такую, как описано в патенте США № 4873316. Этот способ относится к системой экспрессии с использованием животного казеинового промотора, который при трансгенном включении в организм млекопитающего позволяет самке продуцировать желательный рекомбинантный белок в ее молоке.

Согласно другому аспекту изобретения предложен способ продукции антитела по изобретению, включающий стадию культивирования клетки-хозяина, трансформированной или трансфицированной вектором, кодирующим легкую и/или тяжелую цепь антитела по изобретению, и выделение продуцируемого при этом антитела.

Подходящие клетки-хозяева для клонирования или экспрессии векторов, кодирующих антитела по изобретению, представляют собой прокариотические клетки, клетки дрожжей или высших эукариот. Подходящие прокариотические клетки включают в себя эубактерии, например, представители семейства Enterobacteriaceae, такие как *Escherichia*, например *E.coli* (например, ATCC 31446; 31537; 27325), *Enterobacter*, *Erwinia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella*, например *Salmonella typhimurium*, *Serratia*, например, *Serratia marcescans*, и *Shigella*; а также *Bacilli*, такие как *B.subtilis* и *B.licheniformis* (см. DD 266710), *Pseudomonas*, такие как *P.aeruginosa*, и *Streptomyces*. Из дрожжевых клеток-хозяев рассматриваются такие хозяева, как *Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Kluyveromyces* (например, ATCC 16045; 12424; 24178; 56500), *Yarrowia* (EP 402226), *Pichia Pastoris* (EP 183070, см. также Peng et al. J. Biotechnol. 108 (2004), 185-192), *Candida*, *Trichoderma reesiae* (EP244234), *Penicillin*, *Tolypocladium* и *Aspergillus*, такие как *A.nidulans* и *A.niger*.

Несмотря на то что конкретные прокариотические и дрожжевые клетки-хозяева рассматриваются в данном изобретении, однако типично клетки-хозяева по настоящему изобретению представляют собой клетки позвоночных. Подходящие клетки-хозяева позвоночных включают в себя клетки млекопитающих, такие как COS-1 (ATCC № CRL 1650), COS-7 (ATCC № CRL 1651), линия эмбриональных клеток почки человека 293, клетки почки новорожденного хомячка (BHK) (ATCC CRL № 1632), BHK 570 (ATCC № CRL 10314), 293 (ATCC № CRL 1573), клетки яичника китайского хомячка CHO (например, CHO-K1, ATCC № CCL 61, клеточная линия DHFR-CHO, такая как DG44 (см. Urlaub et al. (1986), Somatic Cell Mol. Genet. 12, 555-556)), особенно клеточные линии CHO, адаптированные для суспензионной культуры, мышиные клетки Сертоли, клетки почки обезьяны, клетки почки африканской зеленой обезьяны (ATCC № CRL 1587), клетки HELA, клетки почки собаки (ATCC № CCL 34), клетки легкого

человека (ATCC CCL 75), клетки Нер G2 и миеломы или лимфомы, например NS0 (см. US 5807715), Sp2/0, Y0.

Таким образом согласно одному воплощению данного изобретения предложена стабильно трансформированная клетка-хозяин, содержащая вектор, кодирующий тяжелую цепь и/или легкую цепь терапевтического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, как описано в данном изобретении. Типично такие клетки-хозяева содержат первый вектор, кодирующий легкую цепь, и второй вектор, кодирующий указанную тяжелую цепь.

Клетки-хозяева, трансформированные векторами, кодирующими терапевтические антитела по изобретению или их антигенсвязывающие фрагменты, можно культивировать любым способом, известным специалистам в данной области. Клетки-хозяева можно культивировать во вращающихся флаконах, роллерных флаконах или системах полых волокон, но для крупномасштабного производства предпочтительно использовать реакторы с мешалкой, в частности, для супензионных культур. Типично реакторы с мешалкой адаптированы для аэрации с использованием, например, распределителей, перегородок или лопастных мешалок с низкой скоростью сдвига. Для барботажных колонок и реакторов с подачей воздуха можно использовать прямую аэрацию пузырьками воздуха или кислорода. В тех случаях, когда клетки-хозяева культивируют в бессывороточных средах, предпочтительно, чтобы данные среды были дополнены агентом, защищающим клетки, таким как Pluronic F-68, для облегчения предотвращения клеточного повреждения в результате процесса аэрации. В зависимости от характеристик клетки-хозяина можно использовать либо микроносители в качестве ростовых субстратов для якорь-зависимых клеточных линий, либо клетки можно адаптировать к супензионной культуре (что является типичным). При культивировании клеток-хозяев, особенно клеток-хозяев позвоночных, можно использовать различные режимы работы, такие как культивирование с подпиткой, циклическая периодическая обработка (см. Drapeau et al. (1994), Cytotechnology, 15: 103-109), продленная периодическая обработка или перфузируемая культура. Несмотря на то что рекомбинантно трансформированные клетки-хозяева млекопитающих можно культивировать в среде с сывороткой, такой как среда, содержащая фетальную телячьую сыворотку (FCS), предпочтительно, чтобы такие клетки-хозяева культивировались в синтетических бессывороточных средах, таких как раскрыто в Keen et al. (1995), Cytotechnology, 17: 153-163, или в коммерчески доступных средах, таких как ProCHO-CDM или UltraCHO™ (Cambrex NJ, USA), дополненных, при необходимости, источником энергии, таким как глюкоза, и синтетическими факторами роста, такими как рекомбинантный инсулин. Бессывороточное культивирование клеток-хозяев может потребовать адаптации этих клеток к росту в бессывороточных условиях. Один подход адаптации состоит в культивировании таких клеток-хозяев в среде, содержащей сыворотку, и повторной замене 80% культуральной среды на бессывороточную среду для того, чтобы клетки-хозяева научились адаптироваться к бессывороточным условиям (см. Scharfenberg K. et al. (1995) в Animal Cell Technology: Developments towards the 21<sup>st</sup> century (Beuvery E.C. et al. eds), p. 619-623, Kluwer Academic publishers).

Антитела по изобретению, секретируемые в среду, могут быть выделены и очищены из среды с использованием различных методик для обеспечения степени очистки, подходящей для предполагаемого применения. Например, применение терапевтических антител по изобретению для лечения пациентов-людей типично требует по меньшей мере 95%-ной очистки, более типично 98- или 99%-ной очистки по сравнению с культуральными средами, содержащими терапевтические антитела. В первом случае клеточный дебрис из культуральных сред типично удаляют с использованием центрифugирования, затем стадии очистки супернатанта с использованием, например, микрофильтрации, ультрафильтрации и/или глубокой фильтрации. Доступны и многие другие методики, такие как диализ и гель-электрофорез, и хроматографические методики, такие как аффинная хроматография с гидроксиапатитом (НА) (возможно включающая систему аффинного мечения, такую как полигистидин) и/или хроматография с гидрофобным взаимодействием (НС, см. US 5429746). В одном воплощении изобретения антитела по изобретению после различных стадий очистки иммобилизируют с использованием аффинной хроматографии с белком А или Г, с последующими дополнительными хроматографическими стадиями, такими как ионообменная и/или НА-хроматография, анионо- или катионообменная хроматография, гель-фильтрация и осаждение сульфатом аммония. Типично также используют стадии удаления различных вирусов (например, нанофильтрация с использованием, например, фильтра DV-20). После этих различных стадий получают очищенный (типично моноклональный) препарат, содержащий по меньшей мере 75 мг/мл или более, например 100 мг/мл или более антитела по изобретению или его антигенсвязывающего фрагмента, который, таким образом, образует воплощение изобретения. Соответственно, такие препараты, по существу, не содержат агрегированных форм антител по изобретению.

Согласно настоящему изобретению предложен способ получения антитела против NOGO по настоящему изобретению, которое специфически связывается с активностью человеческого NOGO-A и нейтрализует активность человеческого NOGO-A, включающий стадии:

- (а) обеспечение первого вектора, кодирующего тяжелую цепь антитела;
- (б) обеспечение второго вектора, кодирующего легкую цепь антитела;
- (в) трансформирование клетки-хозяина млекопитающего (например, СНО) указанными первым и вторым векторами;

(г) культивирование клетки-хозяина, полученной на стадии (в), в условиях, способствующих секреции антитела из указанной клетки-хозяина в указанные культуральные среды;

(д) выделение секретируемого антитела со стадии (г).

После экспрессии с помощью желательного способа антитело затем исследуют в отношении активности *in vitro* с использованием подходящего анализа. В настоящее время для оценки качественного и количественного связывания антитела с NOGO используют стандартные форматы ELISA анализа. Кроме того, можно использовать другие анализы *in vitro* для подтверждения нейтрализующей активности перед последующими клиническими исследованиями на людях, проводимыми для оценки персистенции антитела в организме, несмотря на обычные механизмы клиренса.

Другие модификации антител по настоящему изобретению включают гликозилированные варианты антител по изобретению. Как известно, гликозилирование антител по консервативным положениям в их константных областях оказывает сильный эффект на функцию антител, особенно на эффекторные функции, такие как описано выше (см., например, Boyd et al. (1996), Mol. Immunol. 32, 1311-1318). Рассматриваются гликозилированные варианты терапевтических антител или их антигенсвязывающих фрагментов по настоящему изобретению, где добавлена, замещена, делетирована или модифицирована одна или более чем одна углеводная группировка. Введение мотива аспарагин-Х-серин или аспарагин-Х- треонин создает потенциальный сайт для ферментативного присоединения углеводных группировок и, следовательно, может быть использовано для управления гликозилированием антитела. В Raju et al. (2001), Biochemistry, 40, 8868-8876 концевое сиалирование иммуноадгезина TNFR-IgG усиливали с помощью процесса регалактозилирования и/или ресиалирования с использованием бета-1,4-галактозилтрансферазы и/или альфа-2,3-сиалилтрансферазы. Считают, что увеличение концевого сиалирования увеличивает период полувыведения иммуноглобулина. В природе антитела вместе с большинством гликопротеинов типично продуцируются в виде смеси гликоформ. Наличие этой смеси особенно очевидно при продукции антител в эукариотических клетках, особенно в клетках млекопитающих. Для изготовления описанных гликоформ был разработан ряд способов (см. Zhang et al. Science (2004), 303, 371, Sears et al., Science (2001), 291, 2344, Wacker et al. (2002), Science, 298, 1790, Davis et al. (2002), Chem. Rev., 102, 579, Hang et al. (2001), Acc. Chem. Res., 34, 727). Таким образом, данное изобретение относится к множеству терапевтических (типично моноклональных) антител (которые могут представлять собой изотип IgG, например IgG1), как описано в данном изобретении, включающих определенное число (например, 7 или менее, например, 5 или менее, такое как две или одна) гликоформ указанных антител или их антигенсвязывающих фрагментов.

Терапевтические агенты по данному изобретению можно вводить в качестве профилактики или после появления клинических симптомов события/начала инсульта или при другой необходимости. Доза и продолжительность лечения связаны с относительным пребыванием молекул по настоящему изобретению в кровотоке человека и могут быть установлены специалистом в данной области в зависимости от состояния, которое лечат, и общего состояния здоровья пациента. Предполагают, что может потребоваться повторное введение доз (например, один раз в неделю или один раз в две недели) в течение продолжительного периода времени (например, от четырех до шести месяцев) для достижения максимальной терапевтической эффективности.

Способ введения терапевтического агента по изобретению может представлять собой любой подходящий путь, обеспечивающий доставку агента хозяину. Антитела и фармацевтические композиции по изобретению особенно применимы для парентерального введения, т.е. подкожно (п/к), интратекально, внутрибрюшинно (в/б), внутримышечно (в/м), внутривенно (в/в) или интраназально (и/н).

Терапевтические агенты по изобретению могут быть изготовлены в виде фармацевтических композиций, содержащих эффективное количество антитела по изобретению в качестве активного ингредиента в фармацевтически приемлемом носителе. В профилактическом агенте по изобретению предпочтительным является водная суспензия или раствор, содержащие сконструированное антитело, предпочтительно забуференные при физиологическом pH, в форме, готовой для инъекции. Композиции для парентерального введения обычно будут содержать раствор антитела по изобретению или коктейль из него, растворенный в фармацевтически приемлемом носителе, предпочтительно в носителе на водной основе. Можно использовать ряд водных носителей, например 0,9% физиологический раствор, 0,3% глицин и т.п. Эти растворы являются стерильными и обычно не содержат твердых частиц. Эти растворы можно стерилизовать стандартными, хорошо известными методами стерилизации (например, фильтрация). Композиции могут содержать фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества, необходимые для приближения к физиологическим условиям, такие как агенты, регулирующие pH, и буферные агенты и т.д. Концентрация антитела по изобретению в такой фармацевтической композиции может широко варьировать, т.е. от менее чем примерно 0,5, обычно 1 или по меньшей мере 1, до 15 или 20 мас.%, и будет выбираться преимущественно на основе объемов, вязкости и т.п. жидких сред в соответствии с конкретным выбранным способом введения.

Таким образом, можно приготовить фармацевтическую композицию по изобретению для внутримышечной инъекции, содержащую 1 мл стерильной забуференной воды и от примерно 1 нг до примерно 100 мг, например от примерно 50 нг до примерно 30 мг или более предпочтительно от примерно 5 до примерно 25 мг антитела по изобретению. Аналогично, можно приготовить фармацевтическую композицию по изобретению для внутривенной инфузии, содержащую примерно 250 мл стерильного раствора Рингера и от примерно 1 до примерно 30 мг, и предпочтительно от примерно 5 до примерно 25 мг сконструированного антитела по изобретению на 1 мл раствора Рингера. Существующие способы приготовления композиций для парентерального введения хорошо известны и будут очевидны специалистам в данной области и описаны более подробно, например, в Remington's Pharmaceutical Science, 15<sup>th</sup> ed., Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania. Для приготовления композиций с антителом по изобретению для внутривенного введения см. Lasmar U. и Parkins D. "The formulation of Biopharmaceutical products", Pharma. Sci. Tech. today, p. 129-137, Vol. 3 (3<sup>rd</sup> April 2000), Wang, W. "Instability, stabilization and formulation of liquid protein Pharmaceuticals", Int. J. Pharm. 185 (1999), 129-188, Stability of Protein Pharmaceuticals Part A and B ed Ahern T.J., Manning M.C., New York, NY: Plenum Press (1992), Akers, M.J. "Excipient-Drug interactions in Parenteral Formulations", J. Pharm. Sci. 91 (2002), 2283-2300, Imamura, K. et al. "Effects of types of sugar on stabilization of Protein in the dried state", J. Pharm. Sci. 92 (2003), 266-274, Izutsu, Kojima, S. "Excipient crystallinity and its protein-structure-stabilizing effect during freeze-drying", J. Pharm. Pharmacol., 54 (2002), 1033-1039, Johnson, R. "Mannitol-sucrose mixtures-versatile formulations for protein lyophilization", J. Pharm. Sci., 91 (2002), 914-922, Ha, E Wang W, Wang Y.j. "Peroxide formation in polysorbate 80 and protein stability", J. Pharm. Sci., 91, 2252-2264 (2002), полное содержание которых включено в данное описание посредством ссылки и к которым специально отсылают читателя.

Предпочтительно, чтобы терапевтический агент по изобретению в виде фармацевтической композиции был представлен в стандартных лекарственных формах. Подходящая терапевтически эффективная доза будет легко определена специалистами в данной области. Для эффективного лечения инсульта или других неврологических заболеваний у человека предусмотрена одна доза антитела по данному изобретению в диапазоне от 700 до 3500 мг на 70 кг массы тела для парентерального введения, предпочтительно п/к, в/в или в/м (внутримышечно). При необходимости введение такой дозы можно повторять через подходящие временные интервалы, выбранные в качестве поддающихся врачом.

Антитела, описанные в данном изобретении, можно лиофилизировать для хранения и растворения в подходящем носителе перед применением. Как показано, эта методика эффективна для стандартных иммуноглобулинов, и можно использовать известные в данной области методики лиофилизации и растворения.

Согласно другому аспекту изобретения предложена фармацевтическая композиция, содержащая антитело против NOGO по настоящему изобретению или его функциональный фрагмент и фармацевтически приемлемый носитель, для лечения или профилактики инсульта и других неврологических заболеваний.

Согласно еще одному аспекту изобретения предложена фармацевтическая композиция, содержащая антитело против NOGO по настоящему изобретению или его функциональный фрагмент и фармацевтически приемлемый носитель, для ингибирования нейродегенерации и/или стимулирования функционального восстановления у пациента-человека, страдающего от развития инсульта или другого неврологического заболевания или имеющего риск развития инсульта или другого неврологического заболевания.

Согласно изобретению дополнительно предложен способ лечения или профилактики инсульта (особенно ишемического инсульта) и других неврологических заболеваний/расстройств, в частности болезни Альцгеймера, у человека, включающий введение указанному человеку, нуждающемуся в этом, эффективного количества антитела против NOGO по настоящему изобретению или его функционального фрагмента. Антитела по изобретению можно применять в способах лечения для замедления или прекращения развития и/или начала болезни Альцгеймера в дополнение к (или в качестве альтернативы) лечению установленного заболевания у пациента-человека.

Кроме того, согласно изобретению предложено применение антитела против NOGO по настоящему изобретению или его функционального фрагмента в изготовлении лекарственного средства для лечения или профилактики инсульта и других неврологических заболеваний/расстройств, в частности болезни Альцгеймера.

Согласно изобретению также предложен способ ингибирования нейродегенерации и/или стимулирования функционального восстановления у пациента-человека, страдающего от инсульта или другого неврологического заболевания/расстройства или имеющего риск развития инсульта или другого неврологического заболевания/расстройства, в частности болезни Альцгеймера, включающий введение указанному человеку, нуждающемуся в этом, эффективного количества антитела против NOGO по настоящему изобретению или его функционального фрагмента.

Кроме того, согласно изобретению предложено применение антитела против NOGO по настоящему изобретению или его функционального фрагмента в изготовлении лекарственного средства для ингибирования нейродегенерации и/или стимулирования функционального восстановления у пациента-

человека, страдающего от инсульта и другого неврологического заболевания/расстройства или имеющего риск развития инсульта и другого неврологического заболевания/расстройства, в частности болезни Альцгеймера.

Согласно изобретению дополнительно предложен способ лечения или профилактики инсульта или другого неврологического заболевания/расстройства, в частности болезни Альцгеймера, у человека, включающий стадию парентерального введения терапевтически эффективного количества антитела против NOGO по настоящему изобретению. Предпочтительно указанное антитело против NOGO вводят внутривенно.

Неврологические заболевания или расстройства для применения в данном описании включают, но не ограничиваются этим, травматическое повреждение головного мозга, повреждение спинного мозга, лобно-височные деменции (тауопатии), периферическую невропатию, болезнь Паркинсона, болезнь Гентингтона и особенно болезнь Альцгеймера, рассеянный склероз или боковой амиотрофический склероз (ALS).

Согласно изобретению также предложен способ стимулирования прорастания аксонов, включающий стадию приведения в контакт человеческого аксона с антителом против NOGO по настоящему изобретению. Данный способ можно осуществлять *in vitro* или *in vivo*, предпочтительно способ осуществляют *in vivo*.

Поэтому согласно еще одному аспекту предложен способ лечения инсульта (особенно ишемического инсульта), повреждения головного мозга, повреждения спинного мозга, лобно-височных деменций (тауопатий), периферической невропатии, болезни Паркинсона, болезни Гентингтона, рассеянного склероза и особенно болезни Альцгеймера у пациента-человека, включающий внутривенное введение терапевтически эффективного количества антитела против NOGO по изобретению.

Согласно еще одному аспекту настоящего изобретения предложен способ стимулирования прорастания аксонов нейронов в центральной нервной системе субъекта-человека (например, пациента), включающий введение (например, внутривенное введение) терапевтически эффективного количества антитела против NOGO по настоящему изобретению.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения предложено применение антитела против NOGO по настоящему изобретению (например, антитела против NOGO, содержащего изложенные в данном описании CDR) в изготовлении лекарственного средства для внутривенного введения для лечения инсульта (особенно ишемического инсульта), повреждения головного мозга, повреждения спинного мозга, лобно-височных деменций (тауопатий), периферической невропатии, болезни Паркинсона, болезни Гентингтона и особенно болезни Альцгеймера, рассеянного склероза или бокового амиотрофического склероза (ALS) у пациента-человека.

Согласно еще одному аспекту изобретения предложен способ регенерации аксональных процессов в нейронах центральной нервной системы у пациента-человека, страдающего от (или подверженного возникновению) инсульта (особенно ишемического инсульта), повреждения головного мозга, повреждения спинного мозга, лобно-височных деменций (тауопатий), периферической невропатии, болезни Паркинсона, болезни Гентингтона, рассеянного склероза и особенно болезни Альцгеймера, включающий стадию введения (например, внутривенно) терапевтически эффективного количества антитела против NOGO по настоящему изобретению.

Согласно другому аспекту изобретения предложено применение антитела против NOGO по настоящему изобретению в изготовлении фармацевтической композиции для внутривенного введения для регенерации аксональных процессов в нейронах центральной нервной системы у пациента-человека, страдающего от (или подверженного возникновению) инсульта (особенно ишемического инсульта), повреждения головного мозга, повреждения спинного мозга, лобно-височных деменций (тауопатий), периферической невропатии, болезни Паркинсона, болезни Гентингтона, рассеянного склероза и особенно болезни Альцгеймера.

Согласно еще одному аспекту изобретения предложен способ модулирования продукции амилоидогенного пептида, включающий приведение клетки, экспрессирующей предшественник, производным которого является амилоидогенный пептид, и полипептида NOGO (например, человеческого NOGO-A) в контакт с антителом против NOGO по настоящему изобретению. В типичных воплощениях предшественником является APP. В других типичных воплощениях амилоидогенный пептид представляет собой А $\beta$ , наиболее предпочтительно А $\beta$ 40, А $\beta$ 42 или комбинацию обоих.

Как использовано в данном описании, термин "функциональное восстановление" относится к моторному, и/или сенсорному, и/или поведенческому улучшению у субъекта после, например, ишемического события, или повреждения, или появления клинических симптомов. Функциональное восстановление у людей можно оценивать с помощью инструментов, предназначенных для измерения элементарных неврологических функций, таких как двигательная сила, восприятие и координация; когнитивных функций, таких как память, речь и способность следовать указаниям; и функциональных возможностей, таких как основные виды деятельности в повседневной жизни или виды инструментальной деятельности. Восстановление элементарных неврологических функций можно измерить с помощью инструментов, таких как шкала инсульта Национального института здоровья (NIH Stroke Scale, NIHSS), восстановление ког-

нитивных функций можно измерить с помощью нейропсихологических тестов, таких как Бостонский тест наименований (Boston Naming Test), тесты слежения (Trail-making Tests) и Калифорнийский тест вербального обучения (California Verbal Learning Test), а виды деятельности в повседневной жизни можно измерить с помощью инструментов, таких как шкала ADCS/ADL (клинические исследования болезни Альцгеймера/виды деятельности в повседневной жизни), или Бристольской шкалы видов деятельности в повседневной жизни; все тесты и шкалы известны в данной области.

Следующие примеры иллюстрируют, но не ограничивают изобретение.

Пример 1. Конструирование и экспрессия гуманизированных антител против NOGO.

Гуманизированные конструкции  $V_H$  и  $V_L$  получали de novo с помощью создания перекрывающихся олигонуклеотидов, включающих сайты рестрикции для клонирования в  $RId$  и  $RIn$  экспрессирующие векторы млекопитающих (или любой другой подходящий экспрессирующий вектор для экспрессии белков в клетках млекопитающих), а также человеческую сигнальную последовательность. Сайты рестрикции для Hind III и Spe I вводили в рамку домена  $V_H$ , содержащего сигнальную последовательность CAMPATH-1H для клонирования в  $RId$ , содержащую человеческую  $\gamma 1$ -мутантную константную область для предотвращения активности ADCC или CDC (L235A и G237A - система нумерации EU Index). Сайты рестрикции для Hind III и BsiWI вводили в рамку домена  $V_L$ , содержащего сигнальную последовательность CAMPATH-1H, для клонирования в  $RIn$ , содержащую человеческую каппа-константную область.

Сигнальная последовательность CAMPATH-1H:MGWSCNLFVATATGVHS (SEQ ID NO:31).

Получали плазмиды, кодирующие аминокислотные последовательности тяжелой цепи человеческого IgG, где CDR были такими, как описано в табл. 2. Плазмиды, кодирующие аминокислотные последовательности тяжелой цепи человеческого IgG, где CDR были такими, как описано в табл. 3, получали из уже существовавших ранее плазмид путем введения точечных мутаций, G95M (нумерация по Kabat), с использованием набора Quickchange (Stratagene).

В следующей таблице раскрыто, какие полноразмерные белковые последовательности тяжелой цепи созданы в плазмидных векторах и какие из последовательностей спарены, в том смысле, что единственным отличием в аминокислотных последовательностях спаренных полноразмерных (FL) аминокислотных последовательностей была замена в G95M (нумерация по Kabat) в пределах CDR H3 вариабельной области.

Таблица 8

CDR, как определено в Табл.2	Замена G95M (для получения CDR H3 из Табл.3)
H1 FL (SEQ ID NO:35)	Не проводили
H6 FL (SEQ ID NO:15)	H26 FL (SEQ ID NO:53)
H16 FL (SEQ ID NO:16)	H27 FL (SEQ ID NO:54)
H20 FL (SEQ ID NO:42)	H28 FL (SEQ ID NO:55)

Плазмиды, кодирующие тяжелые цепи, затем котрансфицировали в клетки СНО (для деталей см. пример 2) с одной из следующих полноразмерных последовательностей легкой цепи:

L11 FL (SEQ ID NO:36);

L13 FL (SEQ ID NO:17) или

L16 FL (SEQ ID NO:18).

Параллельно получали химеру, названную HcLc (представляющую собой химеру 2A10 (SEQ ID NO:9 и 10 - полноразмерные легкие цепи, содержащие  $V_H$  (SEQ ID NO:7) и  $V_L$  (SEQ ID NO:8) мышиного 2A10 и константные области человеческого IgG)).

Пример 2. Экспрессия антитела в клетках СНО.

Плазмиды  $RId$  или  $RIn$  (или другие векторы, подходящие для применения в клетках млекопитающих), кодирующие тяжелую и легкую цепи соответственно, временно котрансфицировали в клетки СНО и экспрессировали в малом или крупном масштабе для продукции антитела. Альтернативно, те же плазмиды котрансфицировали в клетки DHFR-CHO путем электропорации и стабильную поликлональную популяцию клеток, экспрессирующих подходящее антитело, отбирали с использованием среды без нуклеозидов ( $RId$  содержит ген DHFR,  $RIn$  содержит неомициновый селективный маркер). В некоторых анализах антитела оценивали непосредственно в супернатанте тканевой культуры. В некоторых других анализа рекомбинантное антитело выделяли и очищали с помощью аффинной хроматографии на протеин-А-сефарозе.

Пример 3. Гуманизированное антитело против NOGO, связывающееся с NOGO.

GST-человеческий NOGO-A56 (см. пример 5) в концентрации 0,05-1 мкг/мл PBS (забуференный фосфатами солевой раствор) наносили на планшеты Nunc Immunosorp (100 мкл на лунку) при 4°C в течение ночи. Лунки промывали один раз TBS+0,05% Tween (TBST), затем инкубировали с 2% BCA в TBST для блокирования сайтов неспецифического связывания при комнатной температуре в течение 1 ч. Антитела разбавляли в TBST+2% BCA до 10 мкг/мл и из этого получали разведения 1/2. Антитела добавляли в лунки в двух повторностях и инкубировали при комнатной температуре в течение 1 ч. Лунки про-

мывали три раза TBST, затем инкубировали с конъюгатом пероксидазы с антителами против человеческих каппа (1:2000) в течение 1 ч. Лунки промывали три раза TBST, затем инкубировали с 100 мкл субстрата для пероксидазы OPD (Sigma) на лунку в течение 10 мин. Цветную реакцию останавливали путем добавления 25 мкл концентрированной H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Оптическую плотность при 490 нм измеряли с использованием планшет-ридера. Фоновые значения, полученные для лунок без антитела, вычитали.

На фиг. 1-4 проиллюстрировано дозозависимое связывание гуманизированных антител в сравнении с GST-человеческим NOGO-A56 (для деталей см. пример 5) в сравнении с химерой (названной HcLc, представляющей собой химеру 2A10 (содержащую V<sub>H</sub> (SEQ ID NO:7) и V<sub>L</sub> (SEQ ID NO:8) мышного 2A10 и константные области человеческого IgG)) в ELISA анализе. По оси Y показана измеренная оптическая плотность (OD) при 490 нм - количественный показатель антитела, иммобилизованного в лунках. По оси X показана концентрация (мкг/мл) используемого антитела в лунке в каждой точке на графике.

Вещество антитело, используемое на фиг. 1-4, представляет собой антитело, полученное либо с помощью поликлональной экспрессирующей системы, либо с помощью крупномасштабных временных трансфекций. В этих случаях уровни IgG количественно определяли с помощью ELISA или оптической плотности.

Результаты экспериментов, показанные на фиг. 1-4, демонстрируют, что введение мутации G95M улучшает эффективность антитела. Единственным исключением является H27L16, показанный на фиг. 3 и 4, с очень низкой эффективностью. Авторы считают, что эти данные являются следствием неидентифицированной технической проблемы при проведении анализа с H27L16, поскольку при проведении других анализов (в ELISA, показанном на фиг. 1 и 2, и в Biacore анализах (табл. 9 и 10)) эффективность H27L16 была, напротив, всякий раз хорошей. Также было показано, что H27L16 работает очень хорошо в последующих экспериментах (см. фиг. 11 и 12).

Пример 4. Протокол количественного определения антитела.

Планшеты Nunc Immunosorp покрывали иммобилизованным козьим антителом против человеческих IgG цепей (Sigma #13382) в концентрации 2 мкг/мл в бикарбонатном буфере (Sigma #C3041) и инкубировали при 4°C в течение ночи. Планшеты дважды промывали TBS, содержащим 0,05% Tween20 (TBST), и блокировали 200 мкл TBST, содержащего 2% (или от 1 до 3%) БСА (блок-буфер), в течение 1 ч при комнатной температуре. Планшеты дважды промывали TBST. Тканевые культуральные супернатанты, содержащие антитело, титровали поперек планшета на стадиях 2-кратного разведения в блок-буфере и инкубировали при комнатной температуре в течение 1 ч. Планшеты трижды промывали TBST. HRP-конъюгированное антитело H23 (козье антитело против человеческих каппа-цепей, Sigma #A7164) добавляли 1:2000 в TBST и добавляли по 100 мкл в каждую лунку. Планшеты инкубировали при комнатной температуре в течение 1 ч. Планшеты трижды промывали TBST и добавляли 100 мкл субстрата Fast-OPD (Sigma #P9187). Окрашиванию позволяли развиваться в течение 5-10 мин, после чего ELISA останавливали с помощью 25 мкл 3 М H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Регистрировали поглощение в планшете при 490 нм и определяли концентрацию антитела путем ссылки на стандартную кривую.

Пример 5. Продукция фрагмента NOGO-A (NOGO-A56, SEQ ID NO:32).

Последовательность кДНК, кодирующую полипептид, содержащий аминокислоты 586-785 и GST-метку (SEQ ID NO:32) человеческого NOGO-A, создавали путем клонирования кДНК, кодирующей аминокислоты NOGO-A 586-785, в BamHI-Xhol сайты pGEX-6P1 для получения GST-меченого слитого белка, обозначенного как GST-человеческий NOGO-A56. Плазмиду экспрессировали в клетках BL21 в среде 2XYT с 100 мкг/мл ампициллина после индукции с помощью IPTG до 0,5 мМ при температуре 37°C в течение 3 ч. Клеточные осадки лизировали путем обработки ультразвуком и слитый белок очищали с использованием глутатион-сепарозы (Amersham Pharmacia) согласно инструкциям производителя. Очищенный белок элюировали с использованием восстановленного глутатиона и подвергали интенсивному диализу против PBS, определяли количество с использованием БСА стандартов и анализа белков на основе BioRad coomassie и затем хранили в аликовтах при -80°C.

Пример 6. Biacore анализ гуманизированных моноклональных антител против NOGO.

Кинетику связывания моноклонального антитела (mAb) против NOGO с рекомбинантно экспрессирующимся GST-человеческим NOGO-A анализировали с использованием биосенсора Biacore 3000 или Biacore T100. Чип hNOGO-A изготавливали, как описано ниже.

Способ.

GST-человеческий NOGO-A56 подвергали иммобилизации на чипе CM5 путем сочетания с первичным амином с использованием программы Biacore Wizard, предназначеннной для направленных уровней иммобилизации. Сенсорную поверхность CM5 активировали путем пропускания раствора 50 мМ N-гидроксисукцинида (NHS) и 200 мМ N-этил-N'-диметиламинопропилкарбоната (EDC). Затем GST-человеческий NOGO-A56 в натрий-ацетатном буфере пропускали через чип и иммобилизовали. После завершения иммобилизации все еще активированные сложные эфиры блокировали путем инъекции 1 М этаноламин-гидрохлорида, pH 8,5.

mAb против NOGO разбавляли в HBS-EP (10 мМ HEPES, pH 7,4, 150 мМ NaCl, 3 мМ ЭДТА и 0,005% поверхностно-активного вещества P-20) для Biacore 3000 или в HBS-EP+ (10 мМ HEPES, pH 7,4, 150 мМ NaCl, 3 мМ ЭДТА и 0,05% поверхностно-активного вещества P-20) в случае T100 и осуществляли

ли исследования связывания в диапазоне определенных концентраций антитела. Все опыты сравнивали с контрольной сенсорной поверхностью (которую активировали и блокировали, как описано ранее, но не добавляли лиганд). Анализ связывания осуществляли с использованием программного обеспечения для BIA-оценочного кинетического анализа, версия 4.1, для Biacore 3000 и программного обеспечения для кинетического анализа, версия 1.0, для T100. Biacore-анализ других антител по изобретению, по существу, осуществляли в соответствии с тем же протоколом, описанным в данном изобретении. Если не указано иначе, то Biacore эксперименты осуществляли при 25°C.

В следующем разделе "Результаты" в каждой таблице данных представлены результаты, полученные в отдельных экспериментах.

#### Результаты.

Таблица 9

Антитело	ka (1/Mc)	kd (1/c)	KD (нМ)
HcLc	3.19E6	2.49E-3	779
H27L13	6.2E6	1.8E-3	291
H26L13	3.23E6	3.11E-3	963
H28L13	7.26E6	3.3E-3	454
H27L16	6.24E6	1.21E-3	194
H28L16	7.25E6	2.14E-3	296

Таблица 10

Антитело	ka (1/Mc)	kd (1/c)	KD (нМ)
HcLc (25°C)	2.66E6	3.13E-3	1.18
HcLc (37°C)	5.08E6	7.74E-3	1.46
H16L16 (25°C)	3.43E6	3.72E-3	1.08
H16L16 (37°C)	5.31E6	6.16E-3	1.16
H20L16 (25°C)	4.69E6	5.42E-3	1.16
H20L16 (37°C)	7.17E6	1.08E-3	1.51
H27L16 (25°C)	3.94E6	1.50E-3	0.380
H27L16 (37°C)	7.18E6	3.06E-3	0.426
H27L13 (25°C)	3.50E6	2.13E-3	0.606
H27L13 (37°C)	6.58E6	4.22E-3	0.641
H28L16 (25°C)	4.33E6	2.64E-3	0.610
H28L16 (37°C)	7.73E6	5.24E-3	0.678
H28L13 (25°C)	4.16E6	3.89E-3	0.936
H28L13 (37°C)	7.43E6	7.59E-3	1.02

Таблица 11

Антитело	ka (1/Mc)	kd (1/c)	KD (нМ)
HcLc	3.17E6	2.33E-3	0.74
H26L13	3.456	2.88E-3	0.87
H27L13	6.58E6	1.83E-3	0.28
H28L13	6.97E6	3.17E-3	0.45
H27L16	6.89E6	1.95E-3	0.28

Пример 7. Biacore анализ гуманизированных моноклональных антител против NOGO с использованием ранжирования скорости диссоциации.

Чип с GST-человеческим NOGO-A56 приготавливали, как для кинетического анализа. Клеточные супернатанты брали непосредственно от временно трансфицированных клеток CHO-K1. Их пропускали непосредственно через сенсорную поверхность и измеряли взаимодействие. Супернатант от ложно трансфицированных клеток использовали для двойного сравнения для устранения любых артефактов, обусловленных средой для тканевых культур. Все опыты сравнивали с контрольной сенсорной поверхностью (которую активировали и блокировали, как описано ранее, но не добавляли лиганд). Анализ связывания осуществляли с использованием программного обеспечения для BIA-оценочного кинетического анализа, версия 4.1.

Пример 8. Картирование пептидов.

Получали (из Mimotope<sup>TM</sup>) 47 перекрывающихся пептидов, охватывающих участок NOGO-A56 домена GST-человеческий NOGO-A56 (SEQ ID NO:32). Пептиды имеют длину 16 аминокислот с двенадцатью аминокислотами, перекрывающимися со смежным пептидом (кроме того, каждый пептид содержит на N-конце последовательность биотин-SGSG), за исключением первого пептида, который имеет на C-конце метку GSG-биоцитин. Пептиды использовали для картирования эпитопа сайта связывания 2A10 и H28L16.

#### Способ картирования эпитопов.

На планшеты Nunc Immunosorp наносили стрептавидин в концентрации 5 мкг/мл в стерильной воде (100 мкл на лунку) при температуре 37°C в течение ночи. Планшеты трижды промывали PBS, содержащим 0,05% Tween (PBST), затем блокировали 3% БСА в PBST при 4°C в течение ночи. Планшеты трижды промывали PBST. Затем в лунки добавляли пептиды в концентрации приблизительно 10 мкг/мл (разведенные в 3% БСА в PBST) и инкубировали при комнатной температуре в течение 1 ч. Планшеты трижды промывали PBST, затем инкубировали в течение 1 ч с антителами против NOGO, разведенными до концентрации 5 мкг/мл в 3% БСА в PBST. Планшеты трижды промывали PBST, затем инкубировали в течение 1 ч с коньюгатом пероксидазы с антителами против человеческих или мышиных каппа-цепей (1:1000, разведенный в 3% БСА в PBST). Планшеты трижды промывали PBST и затем инкубировали с 100 мкл субстрата для пероксидазы OPD (Sigma) на лунку в течение 10 мин. Цветную реакцию останавливали путем добавления 50 мкл 3 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Поглощение при 490 нм измеряли, используя планшет-ридер.

Результаты представлены на фиг. 5 (картирование эпитопов с использованием H28L16) и на фиг. 6 (картирование эпитопов с использованием 2A10). На Фиг. 5 и 6 представлены результаты картирования эпитопов 2A10 и H28L16 соответственно. Представленные данные показывают, что 2A10 и H28L16 связываются с пептидами 6 и 7, NOGO-специфический участок которых представлен в SEQ ID NO:73 и SEQ ID NO:74 соответственно, которые обе содержат последовательность VLPDIVMEAPLN. Эти результаты показывают, что VLPDIVMEAPLN (SEQ ID NO:60) содержит связывающий эпитоп 2A10 и H28L16.

#### Пример 9. Сравнение HcLc и HcLc, содержащих мутацию G95M в CDR H3.

Модифицированный вариант HcLc конструировали из существующих экспрессирующихся плазмид путем введения точечной мутации G95M (нумерация по Kabat) с использованием набора Quikchange (Stratagene). Белковая последовательность белка вариабельного домена тяжелой цепи Hc(G95M) представлена в SEQ ID NO:59.

Hc(G95M)Lc экспрессировали в клетках CHO, как описано ранее. Количественное определение антитела осуществляли, как описано в примере 4. На фиг. 7 и 8 показано сравнение связывающей активности Hc(G95M)Lc и HcLc, как определено с использованием ELISA со связыванием человеческого NOGO-A, когда NOGO наносили на планшеты Nunc Immunosorp в концентрации 0,05 (фиг. 7) и 1 мкг/мл (фиг. 8). В таблицах показано сравнение аффинностей связывания Hc(G95M)Lc и HcLc.

Таблица 12

Скорость диссоциации, измеренная с помощью Biacore ранжирования на основании одного эксперимента

Антитело	Последовательность ID вариабельной области тяжелой цепи	Скорость диссоциации kd (1/c)
H6L13	11	1.38E-2
H6(G95M)L13	47	4.31E-3
HcLc	7	2.66E-3
Hc(G95M)Lc	59	6.14E-4

Данные показывают, что замена G95M в пределах CDR H3 повышает связывающую активность не только гуманизированных антител (H6L13), но также и мышьенного донорного антитела 2A10 (HcLc).

Пример 10. Конструирование и тестирование антител против NOGO, содержащих замены в CDR H3.

С помощью точечных мутаций в остатках, содержащихся в CDR H3, или в предшествующем лейцине создали панель из 90 вариабельных областей тяжелой цепи. Конкретно, векторы, кодирующие тяжелую цепь (на основе H6FL, SEQ ID NO:15), конструировали таким образом, чтобы они кодировали вариабельные области тяжелой цепи, где каждый аминокислотный остаток в CDR H3 и предшествующем лейцине замещали (с использованием набора Quikchange (Stratagene)) на все другие встречающиеся в природе аминокислоты, исключая цистеин, и экспрессировали вместе с легкой цепью (L13FL, SEQ ID NO:17) с получением 90 различных антител. Эти антитела анализировали в отношении связывания с NOGO в ELISA и Biacore экспериментах.

На фиг. 9 и 10 показано сравнение связывающей активности вариантов H6FL в сравнении с H6FL L13FL. В табл. 14 и 15 показано сравнение кинетически скорости диссоциации, как измерено с помощью Biacore - показаны результаты только для тех антител, которые имели измеряемую скорость диссоциации в Biacore анализе и имели сравнимую активность связывания с H6L13 в ELISA.

Таблица 14

Родительское антитело	VH CDR3	kd (1/c)
H6L13	MQGY	4.85E-03
HcLc	GQGY	5.58E-03
H6L13	GQNY	9.66E-03
H6L13	GQLY	1.32E-02
H6L13	IQGY	1.72E-02
H6L13	RQGY	1.75E-02
H6L13	GQSY	1.86E-02
H6L13	GQGY	1.98E-02
H6L13	GSGY	2.07E-02
H6L13	GDGY	2.12E-02
H6L13	GQGW	2.16E-02
H6L13	GIGY	2.57E-02
H6L13	GQYY	3.28E-02
H6L13	GQFY	3.35E-02
H6L13	WQGY	1.98E-02
H6L13	GAGY	3.15E-02
H6L13	GLGY	1.90E-02
H6L13	GVGY	1.78E-02
H6L13	GQWY	1.77E-02

#### Выводы.

Результаты показывают, что антителами, которые сохраняют связывающие свойства мышевого 2A10 и GQGY-содержащего антитела H6L13, представляют собой антитела, содержащие следующие CDR H3: RQGY, IQGY, MQGY, GDGY, GIGY, GSGY, GQNY, GQYY, GQSY, GQLY, GQFY, GQGW, WQGY, GAGY, GLGY, GVGY, GQWY.

Пример 11. Сравнение mAb (H20L16), содержащего GQGY, с вариантами mAb с G95M (H27L16, и H28L13, и H28L16).

Антитела, перечисленные в табл. 15, получали, как описано выше.

Таблица 15

Гуманизированные антитела 2A10 против NOGO-A с общим числом обратных мутаций для полного антитела (2 тяжелые цепи + 2 легкие цепи)

Антитело	Общее число обратных мутаций на полное антитело/тетramer
H20L16	22
H28L16	22
H28L13	16
H27L16	32

#### Характеристики связывания *in vitro*.

В попытке ранжировать антитела исследовали их связывающие свойства в ряде анализов, включая ELISA, обратный формат ELISA, конкурентный ELISA анализ, Biacore и проточную цитометрию.

#### 11.1. Связывание с рекомбинантным человеческим NOGO-A в ELISA.

Способность антител связываться с рекомбинантным человеческим NOGO-A (GST-человеческий NOGO-A) исследовали с помощью различных схожих анализов ELISA (осуществленных по сходному, но немного отличающемуся протоколу, как тот, который описан в примере 3). В первом анализе рекомбинантный NOGO-A наносили непосредственно на планшет при различных концентрациях антигена. Результаты ELISA с прямым связыванием, когда концентрация антигена составляет 1 мкг/мл или 0,05 мкг/мл, представлены на фиг. 11А и 11Б соответственно. Эти данные подтверждают, что все антитела демонстрируют сравнимую активность связывания с рекомбинантным человеческим NOGO-A, которую сравнивали с химерной формой родительского антитела (HcLc). При повышенных концентрациях

нанесенного антигена все антитела показали похожие значения  $EC_{50}$ . В противоположность этому, при более низкой концентрации нанесенного антигена в анализе можно было определить разницу между антителами. Несмотря на то что кривые насыщения не были получены, анализ тенденции изменения по линиям выявил следующий порядок ранжирования: H27L16>H28L16, H28L13, H20L16.

В параллельном эксперименте и формат анализа изменили на противоположный. В этом формате антитело иммобилизуют на планшете и определяют связывание с рекомбинантным человеческим NOGO-A (GST-человеческим NOGO-A) с использованием GST метки. Результаты обратного формата ELISA представлены на фиг. 12. Эти данные подтверждают, что все антитела демонстрируют сравнимую активность связывания с рекомбинантным человеческим NOGO-A при сравнении с химерной формой родительского антитела (HcLc). Этот формат связывания ELISA не показал различий между антителами.

### 11.2. Конкурентный ELISA.

Способность антител конкурировать непосредственно с родительским антителом за один и тот же эпипот человеческого NOGO-A оценивали с использованием конкурентного ELISA. Рекомбинантный NOGO-A (GST-человеческий NOGO-A) наносили на планшеты. Родительское антитело 2A10 и гуманизированные антитела предварительно смешивали перед добавлением в планшеты. Связывание 2A10 определяли количественно с использованием конъюгата антимышиного IgG с HRP (Dakocytomation, #P0260). Результаты, представленные на фиг. 13, подтверждают, что все антитела могут конкурировать с 2A10. Эти данные дают возможность предположить, что гуманизированные антитела и родительское антитело распознают перекрывающийся эпипот на человеческом NOGO-A. Кроме того, активность гуманизированных антител сравнима или выше активности химеры HcLc. Результаты показывают, что H27L16, H28L16 и H28L13 являются более активными, чем H20L16.

### 11.3. Измерения аффинности с помощью Biacore.

Biacore использовали для определения аффинностей и ранжирования антител с использованием двух различных методологий. Согласно первому подходу рекомбинантный NOGO-A связывали с поверхностью чипа и антитела против NOGO-A пропускали через эту поверхность. Согласно второму подходу использовали белок A для иммобилизации антитела на поверхности чипа, через который пропускали рекомбинантный GST-человеческий NOGO-A56. Результаты, представленные в табл. 16, получали путем связывания антигена с поверхностью и подтверждения, что все четыре антитела продемонстрировали сравнимую/более высокую аффинность, чем родительское антитело (HcLc). На основе среднего шести независимых опытов антитела ранжировали в следующем порядке в контексте общей аффинности: H27L16>H28L16>H28L13>H20L16, что соответствует порядку ранжирования ELISA с прямым связыванием (фиг. 11Б). В случае H27L16 и H28L16 гуманизированные антитела демонстрируют в 2-3 раза более высокую аффинность, чем родительское антитело (HcLc).

Таблица 16. Кинетика связывания гуманизированных антител против NOGO-A с рекомбинантным NOGO-A (GST-человеческий NOGO-A56), как определено с использованием Biacore T100. Антиген связывали с чипом CM5 путем сочетания с первичным амином. Антитела пропускали через чип в различных концентрациях (0,125-8 нМ). Значения показывают среднее значение и стандартное отклонение (в скобках) для шести независимых опытов, осуществленных в двух повторностях. Каждую завершенную группу данных анализировали независимо перед вычислением среднего значения и стандартного отклонения. \*\*Только 11 групп данных, проанализированных для H20L16 в виде одной группы, невозможно было проанализировать.

Таблица 16

Антитело	<i>K<sub>a</sub></i>	<i>k<sub>d</sub></i>	KD (нМ)
H20L16**	5.37E6 (7.65E5)	9.70E-3 (2.65E-3)	1.80 (0.31)
H27L16	3.96E6 (9.93E5)	2.30E-3 (1.11E-3)	0.56 (0.15)
H28L13	8.13E6 (1.35E5)	9.10E-3 (2.65E-3)	1.11 (0.18)
H28L16	6.97E6 (6.62E5)	4.43E-3 (1.18E-3)	0.64 (0.15)
HcLc	3.80E6 (7.11E5)	7.09E-3 (2.22E-3)	1.86 (0.32)

Аналогичным с ELISA образом кинетику связывания антитела с рекомбинантным человеческим NOGO-A (GST-человеческим NOGO-A56) также оценивали в обратном формате (см. пример 11.1). В этом анализе гуманизированные антитела иммобилизовали на чипе CM5 с помощью белка A.

Средние результаты для шести независимых опытов представлены в табл. 17. В соответствии с обратным форматом ELISA все гуманизированные антитела против NOGO-A продемонстрировали похожую с химерой (HcLc) кинетику связывания в обратном формате Biacore.

Таблица 17. Обратный формат кинетики связывания гуманизированных антител против NOGO-A с рекомбинантным NOGO-A (GST NOGO-A 5+6), как определено с использованием Biacore T100. Белок A подвергали иммобилизации приблизительно при 4000 RU (относительные единицы) с помощью первичного амина и использовали для иммобилизации 200-300 RU анализируемых антител. Рекомбинантный человеческий NOGO-A пропускали через данный комплекс в различных концентрациях (0,125-8 нМ).

Значения показывают среднее и стандартное отклонение (в скобках) для трех независимых опытов в двух повторностях. Каждую группу данных анализировали независимо перед вычислением среднего значения и стандартного отклонения.

Таблица 17

<b>Антитело</b>	<b>K<sub>a</sub></b>	<b>k<sub>d</sub></b>	<b>KD (нМ)</b>
H20L16	1.01E6 (1.35E5)	3.13E-4 (2.79E-5)	0.31 (0.036)
H27L16	9.93E5 (2.02E4)	3.04E-4 (1.83E-5)	0.31 (0.019)
H28L13	1.12E6 (1.21E5)	3.84E-4 (3.24E-5)	0.34 (0.015)
H28L16	1.18E6 (8.32E4)	4.01E-4 (2.48E-5)	0.34 (0.032)
HcLc	1.38E6 (3.70E5)	5.69E-4 (1.54E-4)	0.41 (0.062)

#### 11.4. Связывание с нативным человеческим NOGO.

Для демонстрации того факта, что гуманизированные антитела связываются с нативным человеческим NOGO-А с профилем, сравнимым с родительским антителом, осуществляли два анализа на основе проточной цитометрии. В первом анализе получали клеточную линию на основе CHO-K1, экспрессирующую внеклеточный домен человеческого NOGO-А на клеточной поверхности. Связывание гуманизированных антител против NOGO-А оценивали с помощью проточной цитометрии с использованием PE-меченого антитела против человеческого IgG (Sigma #P8047). На фиг. 14 ниже показан типичный профиль для антител против NOGO-А на клеточной линии CHO-NOGO-А. Хотя данный анализ не является достаточно чувствительным для выявления различий между антителами, результаты подтверждают, что все четыре антитела могут распознавать экспрессирующийся на клеточной поверхности человеческий NOGO-А на уровнях, сравнимых с таковыми для химеры. Ни одно из антител не распознавало родительскую клеточную линию (CHO-K1 - данные не представлены).

Во втором анализе оценивали способность гуманизированных антител связываться с нативным NOGO-А с использованием клеточной линии нейробластомы человека IMR32. Эта клеточная линия характеризуется высокими внутриклеточными/низкими на клеточной поверхности уровнями белка NOGO-А. В попытке увеличить сигнал связывания проводили анализ для определения внутриклеточного NOGO-А (ER-резидент). Клетки IMR32 пермеабилизовали и фиксировали перед окрашиванием с гуманизированными антителами против NOGO-А. Связывание антител с NOGO-А определяли с использованием вторично меченого PE антитела против человеческого IgG (Sigma #P8047). Результаты, представленные на фиг. 15 ниже, подтверждают, что все антитела связываются с внутриклеточным NOGO-А на сравнимых или более высоких уровнях, чем родительское антитело HcLc. Эти данные, в соответствии с результатами для клеточной линии CHO-NOGO-А, подтверждают, что гуманизированные антитела могут распознавать более нативную форму белка NOGO-А на сравнимых или более высоких уровнях, чем химера HcLc. Анализы не достаточно чувствительны для ранжирования панели антител.

#### 11.5. Анализы роста нейритов.

Гуманизированные антитела против NOGO-А исследовали на их способность нейтрализовать ингибирующую активность NOGO-А на рост нейритов (NO, neurite-outgrowth) в анализе, который основан на количественном определении NO, как описано ранее. Тестируемые в анализе антитела отбирали на основе кинетики их связывания с NOGO-А. Высокоаффинные гуманизированные антитела, а именно H28L16, H27L16, H20L16, и для сравнения их родительские антитела 2A10 (мышиное моноклональное) и HcLc (химера мышьего и человеческого) тестировали в отношении нейтрализации NOGO-А. Для сравнения в данном анализе также тестировали антитело 11C7 (см. пример 13).

Для тестирования нейтрализующей активности отобранных гуманизированных антител лунки покрывали рекомбинантным человеческим GST-человеческим NOGO-A56 и обрабатывали различными концентрациями антител при 37°C за 1 ч перед добавлением нейронов зернистого слоя коры мозжечка (CGN). Контрольные лунки обрабатывали HBSS. Для каждой лунки измеряли среднюю длину нейритов на один нейрит. На фиг. 16 представлены результаты для гуманизированных антител, тестируемых в данном анализе. Для подтверждения специфичности активности использовали панель контрольных антител (контрольный IgG, очищенный мышиный IgG, Campath и другие неродственные гуманизированные антитела). В качестве дополнительного контроля те же гуманизированные антитела титровали на планшетах, покрытых GST. Результаты подтверждают, что H28L16, H27L16 и H20L16 обращают опосредованное NOGO-А ингибирование роста нейритов с аналогичной степенью, наблюдаемой для родительских антител (2A10 и HcLc). Эффекты, по-видимому, являются сильными и стабильными и наблюдаются с H28L16 в восьми из одиннадцати независимых экспериментов с ростом нейритов. В противоположность этому, гуманизированные антитела не увеличивают рост нейритов на планшетах, покрытых GST, а панель контрольных антител не демонстрирует какого-либо дозозависимого обращения ингибирования, подтверждая, что эффект гуманизированных антител является специфическим для ингибирования, опосредованного NOGO-А. Данные, представленные для роста нейритов, отобраны из ряда повторных экспериментов. Хотя число повторов, которые не представлены, по-видимому варьирует в природе, полагают, что представленные данные отражают подлинную активность антител по настоящему изобретению.

тению в снижении ингибирующего эффекта NOGO в анализе роста нейритов.

Пример 12. Дополнительная характеристика H28L16.

### 12.1. Связывание с полноразмерным рекомбинантным NOGO-A.

Способность антител связываться с полноразмерным внеклеточным доменом рекомбинантного человеческого NOGO-A (GST-человеческий NOGO-A-ECD) исследовали с помощью ELISA анализа с прямым связыванием. В этом случае ECD представлял собой сплайс-вариант, попадающий в пределы области из приблизительно 186-1004 положения человеческого NOGO-A (участок, начинающийся с DETFAL (SEQ ID NO:95) и заканчивающийся ELSKTS (SEQ ID NO:96)).

Рекомбинантный GST-человеческий NOGO-A-ECD наносили непосредственно на планшет в концентрации 1 мкг/мл. Данные, представленные на фиг. 17, подтверждают, что H28L16 может распознавать GST-человеческий NOGO-A-ECD на сравнимых или более высоких уровнях, чем родительское антитело (HcLc) или H20L16.

### 12.2. Ингибиование Fc функциональности.

Для улучшения профиля безопасности кандидата остатки L235 и G237 в CH2-домене константной области тяжелой цепи (система EU Index) подвергали мутации до остатков аланина, снижая, таким образом, вероятность запуска антителоопосредованных иммунологических эффекторных функций. Понижение связывания с человеческим C1q использовали в качестве имитации ингибиования Fc функциональности. На фиг. 18 ниже показано, что H28L16 демонстрирует значительно сниженную активность связывания с C1q по сравнению с Campath-IgG1 (дикий тип) и сравнимо с конструкцией Campath IgG1, несущей те же мутации (Fc-мутантное антитело (Fc-)), и Campath IgG4. Эти данные позволяют предположить, что мутации в CH2-домене, представленные в H28L16, будут значительно снижать вероятность запуска Fc-опосредованных эффекторных функций.

### 12.3. Связывание ортологов.

Для подтверждения того факта, что H28L16 демонстрирует активность связывания в отношении различных ортологов NOGO-A, сравнимую с активностью родительского антитела (HcLc), провели серию анализов связывания. На фиг. 19А-Г представлены результаты ELISA с прямым связыванием с рекомбинантным NOGO (GST-человеческим NOGO-A56) для крысы (SEQ ID NO:94), макака (SEQ ID NO:92), мартышки (SEQ ID NO:93) и белочьей обезьяны (SEQ ID NO:91) соответственно. Во всех случаях H28L16 показал сравнимую или более высокую активность, чем химерное антитело (HcLc). Вычисленные значения EC<sub>50</sub> очень похожи на вычисленные значения для связывания с человеческим рекомбинантным NOGO-A.

Кинетику связывания H28L16 с различными ортологами NOGO-A в сравнении с HcLc и 11C7 определяли с использованием Biacore. В табл. 18 и 19 представлена кинетика связывания в двух различных форматах данного анализа. В тех случаях, когда рекомбинантный NOGO-A связывали непосредственно с чипом CM5 (табл. 18), кинетика связывания для крысы, макака, белочьей обезьяны и мартышки очень похожа на кинетику связывания для человека (диапазон = 0,33-0,67 нМ). В тех случаях, когда формат анализа меняли на противоположный и антитела подвергали иммобилизации на чипе с использованием белка A (табл. 19), аффинность связывания H28L16 с крысиным NOGO-A была приблизительно в 4 раза ниже, чем для человеческого NOGO-A. Похожую тенденцию наблюдают для NOGO-A макака (аффинность в 8,5 раз ниже, чем для человеческого) и для ортологов других приматов (аффинность в 12-17 раз ниже, чем для человеческого). Химерное антитело HcLc демонстрирует похожий профиль связывания для ортологов NOGO-A в обеих ориентациях анализа. Поскольку неясно, какой из двух форматов лучше отражает ситуацию *in vivo*, предварительные выводы, которые можно сделать на основании этого исследования, состоят в следующем: 1) H28L16 сохранял профиль перекрестного взаимодействия с ортологами, ассоциированный с химерным антителом HcLc; и 2) аффинность HcLc для NOGO-A крысы и макака составляет от 4- до 8,5-кратной аффинности для человеческого NOGO-A и в определенных условиях может быть очень похожей.

Таблица 18. Кинетика связывания H28L16, 11C7 и HcLc с рекомбинантными ортологами человеческого NOGO-A, как определено с использованием Biacore T100. Приблизительно 140-180 RU различных ортологов NOGO-A подвергали иммобилизации на чипе CM5 с помощью связывания с первичным амином. Антитела пропускали через данный комплекс в различных концентрациях (0,125-8 нМ). Значения показывают среднее и стандартное отклонение (в скобках) для 1-2 независимых опытов, осуществленных в двух повторностях, с независимым анализом каждой группы данных перед вычислением среднего и стандартного отклонения. \*Одну группу кривых отбросили вследствие невозможности интерпретировать кривые для антитела 11C7.

Таблица 18

	H28L16			11C7			HcLc		
Ортолог	Ka	Kd	KD (нМ)	Ka	Kd	KD (нМ)	Ka	Kd	KD (нМ)
Макак (2 опыта)*	4.65E6 (7.47E5)	3.07E-3 (2.37E-4)	0.67 (0.06)	1.47E6 (1.67E5)	3.40E-4 (4.45E-5)	0.23 (0.01)	2.94E6 (7.13E5)	4.78E-3 (6.34E-4)	1.68 (0.35)
Крыса (2 опыта)	4.64E6 (2.34E5)	1.54E-3 (3.06E-5)	0.33 (0.01)	8.36E5 (5.58E5)	1.20E-4 (2.14E-5)	0.11 (0.03)	2.53E6 (5.32E4)	2.83E-3 (2.30E-5)	1.12 (0.03)
Мартышка (1 опыт)	4.2E6 (2.47E4)	3.02E-3 (5.09E-5)	0.626 (0.000)	1.16E6 (5.37E4)	2.80E-4 (6.15E-6)	0.24 (0.006)	3.13E6 (2.76E4)	4.44E-3 (1.41E-4)	1.419 (0.03)
Беличья обезьяна (1 опыт)	4.46E6 (6.08E4)	2.73E-3 (4.95E-6)	0.61 (0.000)	1.10E6 (3.25E4)	2.86E-4 (1.87E-5)	0.26 (0.010)	3.04E6 (1.64E5)	4.68E-3 (2.11E-4)	1.54 (0.15)
Человек	6.97E6 (6.62E5)	4.43E-3 (1.18E-3)	0.64 (0.15)	1.58E6 (6.42E5)	2.64E-4 (5.57E-5)	0.19 (7.96E-2)	3.80E6 (7.11E5)	7.09E-3 (2.22E-3)	1.86 (0.32)

Таблица 19. Кинетика связывания H28L16, 11C7 и HcLc с рекомбинантными ортологами человеческого NOGO-A, как определено с использованием Biacore TWO, в обратном формате. Белок А подвергали иммобилизации на поверхности приблизительно при 4000 RU и антитела против NOGO-A связывали приблизительно при 300-400 RU. Рекомбинантные белки (CST-NOGO-A56) пропускали через данный комплекс в различных концентрациях (0,125-64 нМ) в зависимости от конструкции. Все опыты проводили в двух повторностях. Значения показывают среднее и стандартное отклонение (в скобках) для 1-3 независимых опытов, где каждый опыт осуществлен в двух повторностях и каждую группу данных анализировали независимо перед вычислением среднего и стандартного отклонения.

Таблица 19

	H28L16			11C7			HcLc		
Ортолог	Ka	Kd	KD (нМ)	Ka	Kd	KD (нМ)	Ka	Kd	KD (нМ)
Макак (3 опыта)	3.26E5 (4.06E3)	1.11E-3 (2.23E-5)	3.41 (0.05)	4.02E5 (6.85E4)	2.97E-4 (1.11E-5)	0.76 (0.12)	3.03E5 (4.58E3)	1.41E-3 (2.84E-5)	4.66 (0.08)
Крыса (3 опыта)	3.80E5 (5.68E3)	6.69E-4 (1.24E-5)	1.76 (0.03)	2.83E5 (4.66E4)	1.77E-4 (1.34E-5)	0.64 (0.09)	5.47E5 (1.20E4)	1.10E-3 (2.86E-5)	2.01 (0.07)
Мартышка (1 опыт)	2.22E5 (3.61E3)	1.09E-3 (7.35E-5)	4.89 (0.25)	1.91E5 (2.90E3)	2.54E-4 (3.46E-6)	1.33 (0.00)	3.02E5 (9.90E2)	1.36E-3 (7.92E-5)	4.51 (0.28)
Беличья обезьяна (1 опыт)	1.57E5 (2.69E3)	1.08E-3 (5.02E-5)	6.86 (0.20)	1.03E5 (2.12E3)	2.78E-4 (3.61E-6)	2.69 (0.02)	1.74E5 (2.19E3)	1.29E-3 (7.64E-5)	7.45 (0.34)
Человек (1 опыт)	1.20E6 (8.49E4)	4.75E-4 (9.97E-6)	0.40 (0.02)	2.64E5 (3.32E3)	1.49E-4 (1.61E-5)	0.57 (0.07)	1.32E6 (2.71E5)	7.00E-4 (3.18E-5)	0.54 (0.09)

#### 12.4. Физические свойства.

Физикохимические свойства H28L16 и H20L16 оценивали с помощью SEC-HPLC (гель-фильтрация - жидкостная хроматография высокого разрешения) и SDS-PAGE (электрофорез в полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия). SEC-HPLC проводили при скорости 1,0 мл/мин с использованием 100 мМ фосфата натрия, 400 мМ хлорида натрия, pH 6,8 и колонки из нержавеющей стали TSK G3000 SW×30 см×7,8 мм с детекцией при 214 и 280 нм. SDS-PAGE осуществляли на 4-20%-ном геле Novex Tris-HCL, нагруженном 10 мкг продукта и окрашиваемом Sypro Ruby. C-IEF осуществляли на Beckman MDQ с использованием амфолинов с pH 3,5-10.

Были получены следующие результаты.

Таблица 20  
SEC-HPLC-анализ антител против NOGO-A

Антитело	Агрегат %	Мономер %	Фрагмент %
H28L16	0,50	99,50	0,00
H20L16	14,21	85,75	0,05

Показанные в табл. 20 значения представляют собой процент антител, отнесенных к одному из трех различных видов.

Таблица 21  
SDS-PAGE-анализ антител против NOGO-A

Антитело	Не восстановленное	Восстановленное
H28L16	82,4%	HC:67,2% LC:27,7% H+L:94,9%
H20L16	84,6%	HC:69,3% LC:26,4% H+L:95,7%

Показанные в табл. 21 значения представляют собой процент антител, обнаруженных в мажорных полосах.

Данные SEC-HPLC позволяют предположить, что H20L16 более чувствительно к агрегации, чем H28L16 (H28L16). Если бы возникла необходимость повторить представленные здесь данные в крупном масштабе, то это могло бы повлиять на способность способа производства продуцировать материал приемлемого качества для клинического применения (>95% мономеров). Данные SDS-PAGE показывают, что оба кандидата приемлемы и демонстрируют типичный профиль.

Пример 13. Сравнение H28L16 с 11C7.

Мышиное антитело против NOGO-A, обозначенное как 11C7, описано в WO 2004052932, которое получали к пептидному эпитопу. Химерное 11C7 было получено на основе информации о последовательности, представленной в WO 2004052932. Для сравнения эпитопов связывания 2A10 и 11C7 осуществляли конкурентный ELISA для определения, распознают ли 11C7 и 2A10 перекрывающийся эпитоп на NOGO-A. Как показано на фиг. 20, HcLc (химерная форма 2A10) оказалась способной конкурировать с 2A10 за связывание с человеческим рекомбинантным NOGO-A, тогда как 11C7 не продемонстрировало конкуренции с 2A10, даже в концентрациях вплоть до 100 мкг/мл.

Пример 14. Конкурентный ELISA для демонстрации способности пептидов конкурировать непосредственно с человеческим NOGO-5+6 за связывание с NOGO H28L16.

Способ осуществления конкурентного ELISA.

Способность пептидов конкурировать непосредственно с NOGO-A (CST-человеческий NOGO-A56) за связывание с NOGO H28L16 оценивали с использованием конкурентного ELISA. Кроличье антитело против человеческого IgG (Sigma, #I-9764) в концентрации 5 г/мл в бикарбонатном буфере наносили на планшеты Nunc Immunosorp (100 мкл на лунку) при 4°C в течение ночи. Планшеты трижды промывали TBS, содержащим 0,05% Tween (TBST), затем блокировали 1% БСА в TBST при комнатной температуре в течение 1 ч. Затем на планшете иммунизировали H28L16 (1 мкг/мл, разведенный в 1% БСА в TBST, 50 мкл на лунку) при комнатной температуре в течение 1 ч. Планшеты трижды промывали TBST. Пептиды (от 0 до 100 г/мл) и CST-человеческий NOGO-A56 в концентрации 1 мкг/мл (разведенный в 1% БСА в TBST) предварительно смешивали перед добавлением в лунки и инкубировали при комнатной температуре в течение 1 ч. Планшеты трижды промывали TBST и затем инкубировали в течение 1 ч с коньюгатом для кроличьих анти-GST и пероксидазы (Sigma #A7340, 1:2000, разведенный в 1% БСА в TBST). Планшеты трижды промывали TBST и затем инкубировали с 50 мкл субстрата для пероксидазы OPD (Sigma) на лунку в течение 10 мин. Цветную реакцию останавливали путем добавления 25 мкл концен-трированной H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Поглощение при 490 нм измеряли, используя планшет-ридер.

Результаты, представленные на фиг. 21, подтверждают, что пептиды 6 и 7, положительные при картировании эпитопов с помощью ELISA (пример 8), могут конкурировать с CST-человеческим NOGO-A56 за связывание с H28L16. Эти данные позволяют предположить, что пептиды, положительные при исследовании картирования эпитопов, содержат эпитоп для связывания H28L16. Пептиды 16 и 17 (которые содержат пептиды NOGO, но не перекрываются с пептидами 6 и 7), которые не содержат предполагаемого эпитопа, не конкурируют с NOGO-5+6.

Пример 15. Анализ ELISA гуманизированного моноклонального антитела против NOGO на основе варианта G101S/Q37R антитела против NOGO.

G101S (также известный как H100 (SEQ ID NO:63)), модифицированный вариант вариабельной области тяжелой цепи H6 (SEQ ID NO:11) получали путем введения одиночной замены, G101S (нумерация по Kabat), в CDR H3, как описано выше. Аналогично, получали модифицированный вариант (Q37R) вариабельной области легкой цепи L13 (SEQ ID NO:13) путем введения одиночной замены (нумерация по Kabat Q37R) в рамочную область (с образованием L100). Белковая последовательность вариабельного домена легкой цепи Q37R представлена в SEQ ID NO:67.

Гены, кодирующие полноразмерные версии тяжелой и легкой цепей, содержащих замены G101S/Q37R, экспрессировали в клетках CHO, как описано ранее, и анализировали в ELISA с прямым связыванием, как описано ранее.

Результаты ELISA с прямым связыванием, когда антиген наносят в концентрации 0,05 мкг/мл, представлены на фиг. 22. Данные подтверждают, что антитело H100L100 демонстрирует сравнимую с H27L16 активность связывания с рекомбинантным CST-человеческим NOGO-A56 и что H100L100 обладает улучшенным профилем связывания при сравнении с H6L13. Соответствующие значения EC<sub>50</sub> представлены в табл. 22.

Таблица 22

Измерения EC<sub>50</sub> для варианта G101S/Q37R в сравнении с H6L13 и H27L16

Антитело	Значение EC <sub>50</sub>
H6L13	0,086
H27L16	0,052
H100/L100	0,048

Пример 16. Biacore-анализ гуманизированных моноклональных антител против NOGO на основе G101S варианта CDR H3.

H100 - модифицированный вариант вариабельной области тяжелой цепи H6 (SEQ ID NO:11) получали путем введения одиночной замены G101S (нумерация по Kabat) в CDR H3. Белковая последовательность вариабельного домена тяжелой цепи белка H100 представлена в SEQ ID NO:63. Аналогично, L100 и L101, модифицированные варианты вариабельной области легкой цепи L13 (SEQ ID NO:13), получали путем введения одиночной замены (Q37R и Q45R соответственно, нумерация по Kabat) в рамочную область. Белковые последовательности вариабельных доменов легких цепей белков L100 и L101 представлены в SEQ ID NO:67 и SEQ ID NO:68 соответственно.

Полноразмерные версии H100L100 и H100L101 экспрессировали в клетках CHO, как описано ранее. В табл. 23 представлено сравнение аффинности связывания H6L13 с H100L100 и H100L101 и показано, что H100L100 и H100L101 обладают улучшенной аффинностью связывания по сравнению с H6L13. В этом примере, по существу, использовали способ, описанный в примере 6, где чип CM5 активировали путем пропускания растворов NHS и EDC над чипом в концентрации 5 мкл/мл в течение 7 мин и перед пропусканием над чипом суспендировали NOGO в 10 нМ натрий-ацетатном буфере (pH 4,5).

Таблица 23

Измерения Biacore для вариантов G101S вариабельной области тяжелой цепи H6 в комбинации с вариантами вариабельной области легкой цепи L13 в сравнении с H6L13

Антитело	Скорость ассоциации ka (1/Mc)	Скорость диссоциации kd (1/c)	Аффинность (KD, нМ)
H6L13	1,04E+06	7,22E-03	6,97
H100L100	1,28E+07	5,07E-03	0,396
H100L101	1,30E+07	4,29E-03	0,329

Таблица 24

Краткое изложение последовательностей антител против NOGO

Описание	Идентификатор последовательности (SEQ ID NO)	
	Аминокислотная последовательность	Полинуклеотидная последовательность
2A10, CDR-H1	1	-
2A10, CDR-H2	2	-
2A10, CDR-H3	3	-
2A10, CDR-L1	4	-
2A10, CDR-L2	5	-
2A10, CDR-L3	6	-
2A10, VH (мышиное)	7	19
2A10, VL (мышиное)	8	20
Химерная тяжелая цепь Hс	9	21
Химерная легкая цепь Lс	10	22
2A10 VH гуманизированная конструкция H6	11	23
2A10 VH гуманизированная конструкция H16	12	24
2A10 VL гуманизированная конструкция L13	13	25
2A10 VL гуманизированная конструкция L16	14	26
2A10 гуманизированная конструкция H6 тяжелой цепи	15	27
2A10 гуманизированная конструкция H16 тяжелой цепи	16	28
2A10 гуманизированная конструкция L13 легкой цепи	17	29
2A10 гуманизированная конструкция L16 легкой цепи	18	30
Лидерная последовательность Campath	31	-
Аминокислоты 586-785 человеческого NOGO-A (NOGO-A56), слитые с GST	32	-
2A10 VH гуманизированная конструкция H1	33	37
2A10 VL гуманизированная конструкция L11	34	38
2A10 гуманизированная конструкция H1 тяжелой цепи	35	39
2A10 гуманизированная конструкция L1 легкой цепи	36	40
2A10 VH гуманизированная конструкция H20	41	43
2A10 гуманизированная конструкция H20 тяжелой цепи	42	44
2A10, CDR-H3 (G95M)	45	
Последовательность фрагмента NOGO-A мартышки	46	
VH гуманизированная конструкция H26	47	50
VH гуманизированная конструкция H27	48	51
VH гуманизированная конструкция H28	49	52
Гуманизированная конструкция H26 тяжелой цепи	53	56
Гуманизированная конструкция H27 тяжелой цепи	54	57
Гуманизированная конструкция H28 тяжелой цепи	55	58
Химерная тяжелая цепь Hс (G95M)	59	
Элитоп	60	
2A10 VH гуманизированная конструкция H99	61	
CDR (G101S)	62	
VH гуманизированная конструкция H100	63	
VH гуманизированная конструкция H101	64	

VH гуманизированная конструкция H102	65	
VH гуманизированная конструкция H98	66	
L100 (L13+Q37R)	67	
L101 (L13+Q45R)	68	
L102 (L13+Q37R/Q45R)	69	
L103 (L16+Q37R)	70	
L104 (L16+Q45R)	71	
L105 (L16+Q37R/Q45R)	72	
Пептид	73	
Пептид	74	
Аналог CDR H3	75	
Аналог CDR H3	76	
Аналог CDR H3	77	
Аналог CDR H3	78	
Аналог CDR H3	79	
Аналог CDR H3	80	
Аналог CDR H3	81	
Аналог CDR H3	82	
Аналог CDR H3	83	
Аналог CDR H3	84	
Пептид NOGO	86	
Аналог CDR H3	87	
Аналог CDR H3	88	
Аналог CDR H3	89	
Аналог CDR H3	90	
NOGO (A56) белочьей обезьяны плюс GST-метка	91	
NOGO (A56) макака плюс GST-метка	92	
NOGO (A56) мартышки плюс GST-метка	93	
NOGO (A56) крысы плюс GST-метка	94	
Человеческий пептид NOGO	95	
Человеческий пептид NOGO	96	

## Последовательности

SEQ ID NO. 1: 2A10 CDR-H1  
SYWMH

SEQ ID NO. 2: 2A10 CDR-H2  
NINPSNGGTNYNEKFKS

SEQ ID NO. 3: 2A10 CDR-H3  
GQGY

SEQ ID NO. 4: 2A10 CDR-L1  
RSSKSLLYKDGGTYLN

SEQ ID NO. 5: 2A10 CDR-L2  
LMSTRAS

SEQ ID NO. 6: 2A10 CDR-L3  
QQLVEYPLT

SEQ ID NO. 7: 2A10, VH (мышиное)  
QVQLQQPGTELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPGQGLEWIGNINPSNGGTNYNEKFKSATLTV  
DKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCELQGYWGQGTTLTVSS

SEQ ID NO. 8: 2A10, VL (мышиное)  
DIVITQDELSNPVTSGESVISCRSSKSLLYKDGGTYLNWFLQRPGQSPQLIYLMSTRASGVSDRFSGSGS  
GTDFTLEISRVKAEDVGVYYCQQLVEYPLTFGAGTKLELK

SEQ ID NO. 9: Химерная тяжелая цепь Нс  
MGWSCIILFLVAAATGVHSQVQLQQPGTELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPGQGLEWIGNINP  
SNGGTNYNEKFKSATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCELQGYWGQGTLTVSSASTKGPSVFPLA  
PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPVALQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN  
VNHKPSNTKVDDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELAGAPSFLFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEP  
KPNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISAKGQPRE  
PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW  
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO. 10: Химерная легкая цепь Lc  
 MRCQLQFLGVLMFWISGVSGDIVITQDELSNPVTSGESVISCRSSKSLLYKDGKTYLNWFLQRPGQSPQLL  
 IYLMSTRASGVSDRFSGSGSTDFPLEISRVKAEDVGVYYCQQLVEYPLTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFP  
 PSDEQLKSGTASVVCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTTLSKADYEHKV  
 YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID 11: 2A10 VH гуманизированная конструкция H6  
 QVOLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPRGQGLEWIGNINPSNGGTNYNEKFKSATMTR  
 DTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCELGQGYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 12 2A10 VH гуманизированная конструкция H16  
 QVQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPGQGLEWIGNINPSNGGTNYNEKFKSATLTV  
 DKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCELGQGYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 13: 2A10 VL гуманизированная конструкция L13  
 DIVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSKSLLYKDGKTYLNWFLQRPGQSPQLIYLMSTRASGVPDRESGGGS  
 GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQQLVEYPLTFGQGTLKLEIK

SEQ ID NO. 14: 2A10 VL гуманизированная конструкция L16  
 DIVMTQSPLSLPVTLGQPVSISCRSSKSLLYKDGKTYLNWFLQRPGQSPQLIYLMSTRASGVPDRESGGGS  
 GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQQLVEYPLTFGQGTLKLEIK

SEQ ID NO. 15: 2A10 гуманизированная конструкция H6 тяжелой цепи  
 MGWSIIILFLVATATGVHSQVQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPRGQGLEWIGNINP  
 SNGGTNYNEKFKSATMTRDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCELGQGYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLA  
 PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWNNSGALTSGVHTFPVALQSSGLYLSSSVTPSSSLGTQTYICN  
 VNHHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELAGAPSFLFPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDEPEV  
 KFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE  
 PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQOPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW  
 QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO. 16: 2A10 гуманизированная конструкция H16 тяжелой цепи  
 MGWSIIILFLVATATGVHSQVQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPGQGLEWIGNINP  
 SNGGTNYNEKFKSATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCELGQGYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLA  
 PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWNNSGALTSGVHTFPVALQSSGLYLSSSVTPSSSLGTQTYICN  
 VNHHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELAGAPSFLFPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDEPEV  
 KFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE  
 PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQOPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW  
 QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO. 17: 2A10 гуманизированная конструкция L13 легкой цепи  
 MGWSIIILFLVATATGVHSIDIVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSKSLLYKDGKTYLNWFLQRPGQSPQLI  
 YLMSTRASGVPDRESGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQQLVEYPLTFGQGTLKLEIKRTVAAPSVFIFPP  
 SDEQLKSGTASVVCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTTLSKADYEHKV  
 ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO. 18: 2A10 гуманизированная конструкция L16 легкой цепи  
 MGWSIIILFLVATATGVHSIDIVMTQSPLSLPVTLGQPVSISCRSSKSLLYKDGKTYLNWFLQRPGQSPQLI  
 YLMSTRASGVPDRESGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQQLVEYPLTFGQGTLKLEIKRTVAAPSVFIFPP  
 SDEQLKSGTASVVCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTTLSKADYEHKV  
 ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO. 19: PN, кодирующий 2A10 VH (мышьюное) SEQ ID: 7  
 CAGGTCCAACGTGAGCAGCTGGACTGAACTGGTGAAGCCTGGGCTTCAGTGAAGCTGCTTGCAAGGCT  
 TCTGGCTACACCTTCACCAGCTACTGGATGCACTGGGTGAAGCAGAGGCCCTGACAAGGCCCTGAGTGGATT  
 GGAAATATTAATCCTAGCAATGGTGGTACTAACTACAATGAGAAGTTCAAGAGCAAGGCCACACTGACTGTA  
 GACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGGGTCTATTATTGT  
 GAACTGGGACAGGGCTACTGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA

SEQ ID NO. 20: PN, кодирующий 2A10 VL (мышьиное) SEQ ID: 8  
 GATATTGTGATAACCCAGGATGAACCTCCAATCCTGTCACCTCTGGAGAATCAGTTCCATCTCCTGCAGG  
 TCTAGTAAGAGTCTCCTATATAAGGATGGGAAGACATACTTGAAATTGGTTCTGCAGAGACCAGGACAATCT  
 CCTCAGCTCCTGATCTATTGATGTCACCCGTGCATCAGGAGTCTCAGACCGGTTAGTGGCAGTGGTCA  
 GGAACAGATTCACCCCTGGAAATCAGTAGAGTGAAGGCTGAGGATGTGGGTGTATTACTGTCAACAACCTT  
 GTAGAGTATCGCCTCACGTCGGTCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAA

SEQ ID NO. 21: PN, кодирующий химерную тяжелую цепь Hc SEQ ID: 9  
 ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTTGGTAGCAGCAGTACAGGTGTCACCCAGGTCCAAC TGCA  
 CAGCCTGGGACTGAACCTGGTCAAGCCTGGGCTTCAGTGAAGCTGTCCTGCAGGCTTCTGGCTACACCTTC  
 ACCAGCTACTGGATGCACTGGGTGAAGCAGAGGCCCTGGACAAGGCTTGAAGTGGATTGGAAATATTAATCCT  
 AGCAATGGTGGTACTAATCACAATGACAAGTTCAAGAGCAAGGCCACACTGACTGTAGACAAATCTCCAGC  
 ACAGCCTACATGCAGCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTATTGTGAACGGGACAGGGC  
 TACTGGGCAAGGCACACTAGTCACAGTCTCCTCAGCCTCAGGCAAGGGCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA  
 CCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCG  
 GTGACGGTCTGGAACTCAGCGGCCCTGACCGAGGGTGTGACACCTTCCCCTGCTGCTACAGTCCCTA  
 GGACTCTACTCCTCAGCGCGTGTGACCGTGCCTCAGCAGCTGGGACCCAGACCTACATGCAAC  
 GTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAAGTTGAGGCAAATCTTGTGACAAAACAC  
 TGCCCACCGTGGCCAGCACCTGAACCTCGGGGGCACCGTCAGTCTCTTCTTCCCCAAAACCCAAGGAC  
 ACCCTCATGATCTCCCGAACCCCTGAGGTACATCGTGGTGTGGACGTGAGGCAAGACCCCTGAGGTC  
 AAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCTAAATGCCAACAAAGCCGGGGAGGAGCAGTACAAC  
 AGCACGTAACGGTGTGGTACCGTCTCACCGTCTGACCCAGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGC  
 AAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCGAGAA  
 CCACAGGTGTACACCCCTGCCCTGAGGAACTCTGCTGCTGCTGCTGAATAACTCTATCCCAGAGAG  
 AAAGGCTTCTATCCCAGCAGCATCGCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGAGCCGGAGAACAACTACAAGACC  
 ACGCCCTCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGG  
 CAGCAGGGAAACGTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAACTACACGCAGAACGCCTC  
 TCCCTGTCTCCGGTAAATGA

SEQ ID NO. 22: PN, кодирующий химерную легкую цепь Lc SEQ ID: 10  
 ATGAGGTGCTCTTCAGTTCTGGGGTCTTATGTTCTGGATCTCTGGAGTCAGTGGGGATATTGTGATA  
 ACCCAGGATGAACCTCCAATCCTGTCACCTCTGGAGAATCAGTTCCATCTCCTGCAGGCTAGTAAGAGT  
 CTCCATATAAGGATGGGAAGACATACTTGAAATTGGTTCTGCAGAGACCAGGACAATCTCCTCAGCTCCTG  
 ATCTATTGATGTCACCCGTGCATCAGGAGTCTCAGACCGGTTAGTGGCAGTGGTCAGGAACAGATTTC  
 ACCCTGGAAATCAGTAGAGTGAAGGCTGAGGATGTGGGTGTGATTACTGTCAACAAACTTGTAGAGTATCCG  
 CTCACGTTGGTCTGGACCAAGCTGGAGCTGAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGCTTCTATCTCCCG  
 CCATCTGATGAGCAGTTGAATCTGGAACCTGCTCTGTTGTGCTGCTGAATAACTCTATCCCAGAGAG  
 GCCAAAGTACAGTGGAGGTGGACAACGCCCTCCAACTGGGTAACCTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGAC  
 AGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTC  
 TACGCCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTGCCCGTCACAAAGAGCTCAACAGGGGAGAGTGTAG

SEQ ID NO. 23: PN, кодирующий 2A10 VH гуманизированную конструкцию H6 SEQ ID: 11  
 CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGCCTCAGTGAAGGTTCTGCAAGGCA  
 TCTGGATACACCTTCACCAAGCTACTGGATGCACTGGTGCAGGCCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATC  
 GGAAATATTAATCCTAGCAATGGTGTACTAATCACAATGAGAAGTTCAAGAGCAGAGGCCACCATGACCGAG  
 GACACGTCCACCGAGCACGCCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCGTGTATTACTGT  
 GAACCTGGGACAGGGCTACTGGGCCAGGGAAACTAGTCACAGTCTCCTCA

SEQ ID NO. 24: PN, кодирующий 2A10 VH гуманизированную конструкцию H16 SEQ ID: 12  
 CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGCCTCAGTGAAGGTTCTGCAAGGCA  
 TCTGGATACACCTTCACCAAGCTACTGGATGCACTGGTGAACACAGCGACCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATC  
 GGAAATATTAATCCTAGCAATGGTGTACTAATCACAATGAGAAGTTCAAGAGCAGAGGCCACCATGACCGAG  
 GACAAATCCACGAGCACGCCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCGTGTATTACTGT  
 GAACCTGGGACAGGGCTACTGGGCCAGGGAAACTAGTCACAGTCTCCTCA

SEQ ID NO. 25: PN, кодирующий 2A10 VL гуманизированную конструкцию L13 SEQ ID: 13  
 GATATTGTGATGACCCAGTCCTCACTCTCCCTGCCGTACCCCTGGACAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGG  
 TCTAGTAAGAGTCTCCTATATAAGGATGGGAAGACATACTTGAAATTGGTTCTCAGCAGAGGCCAGGCCAATCT  
 CCACAGCTCCTAATTATTGATGTCACCCGTGCATCTGGGTCCCAGACAGATTCAAGCAGCGGGCGTGGTCA

GGCACTGAIITTCACACTGAAAATCAGCAGGGTGGAGGCTGAGGATGTGGGTTTATTACTGCCAACAACTT  
GTAGAGTATCCGCTCACGTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA

SEQ ID NO. 26:PN, кодирующий 2A10 VL гуманизированную конструкцию L16 SEQ ID: 14  
GATATTGTGATGACCCAGTCTCCACTCTCCAACCCCGTCACCCCTGGACAGCCGGCTCCATCTCCCTGCAGG  
TCTAGTAAGAGCTCTCTATAAGGATGGGAAGACATACTTQATTGGTTCTCCAGAGGCCAGGCCAATCT  
CCACAGCTCCTAAATTATTTGATGTCCACCCGTGCATCTGGGCTCCAGACAGATTCAGCGGGGGTGGGTCA  
GGCACTGAIITTCACACTGAAAATCAGCAGGGTGGAGGCTGAGGATGTGGGCTTATTACTGCCAACAACTT  
GTAGAGTATCCGCTCACGTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA

SEQ ID NO. 27:PN, кодирующий 2A10 гуманизированную конструкцию H6 тяжелой цепи  
SEQ ID: 15

ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCACCTCCCAGGTGCAGCTGGTG  
CAGTCTGGGCTGAGGTGAAAGAACGCTGGGCTCAGTGAAGGTTCTGCAGGCATCTGGATAACACCTTC  
ACCAGCTACTGGATGCACTGGGTGCGACAGGCCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATCGGAAATATTAACTCT  
AGCAATGGTGGACTAATACAATGAGAAGTTCAAGAGCAGAGGCCACCATGAGCAGGGACACGTCACGAGC  
ACAGCCTACATGGACCTGAGCAGCTGAGATCTGGAGGACAGGGCCCTGGTATTACTGTGAACCTGGGACAGGGC  
TACTGGGCCAGGGAACACTAGTACAGTCTCTCAGCCTCCAGCCTCCACCAAGGGCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA  
CCCTCCTCAAGAGCACCTCTGGGCGACAGGGCCCTGGGCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGACACCG  
GTGACGGTGTGGAACTCAGGGGCCCTGAGCAGGGGCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGACACCG  
GGACTCTACTCCCTCAGCAGCTGGTGGTGAACGGTGCCTCCAGCAGCAGTGGGACACGCTACATCTGCAAC  
GTGAATCACAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAGAAGTTGAGCCAAATCTGTGACAAAACACTCACACA  
TGCCCACCGTGGCCACGCACTGAACCTGGGGGACCGTCACTGTCTCTCTTCCCCCCTTCCCCCAAGGGAC  
ACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACTGGGTGAGCCACGGCCACGGTCACTGGGTCAGGACCCCTGAGGTG  
AAGTTCAACTGGTACGGTGGACGGCGTGGAGGCTGAGGAAACAGGACTACAGGACCTACAGTGC  
AGCACGTACCGTGTGGTCACTGGGACGGCTCTGAGGACCTGGGACAGGACTACAGTGC  
AAGGTCTCAACAAAGCCCTCCAGGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGGCAAGGAGGAA  
CCACAGGTGTACCCCTGCCCCATCCGGGATGAGGCTGACCAAGAACCCAGGTGAGGCTGACCTGGGTC  
AAGGGCTCTATCCAGCGACATGGGTGGAGGAGCAATGGGAGCCGGAGAACAAACTACAGGAC  
ACGGCTCOCTGGACTCCGAGGGCTCCCTCTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGGACAGAGCAGGTGG  
CAGCAGGGGAACGGTCTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAAACCAACTACACGCAAGAGGCC  
TCCCTGTCTCCGGTAAATGA

SEQ ID NO. 28:PN, кодирующий 2A10 гуманизированную конструкцию H16 тяжелой цепи  
SEQ ID: 16

ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCACCTCCCAGGTGCAGCTGGTG  
CAGTCTGGGCTGAGGTGAAAGAACGCTGGGACAGGCTTGAGTGGATCGGAAATATTAACTCT  
AGCAATGGTGGACTAATACAATGAGAAGTTCAAGAGCAGAGCAACCCCTCACCGTCGACAATCCACGAGC  
ACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGGCTGAGATCTGGAGGACACGGCCCTGGTATTACTGTGAACCTGGGACAGGGC  
TACTGGGCCAGGGAACACTAGTACAGTCTCTCAGCCTCCACCAAGGGCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA  
CCCTCCTCAAGAGCACCTCTGGGCGACAGGGCCCTGGGCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGACACCG  
GTGACGGTGTGGAACTCAGGGGCCCTGAGCAGGGGCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGCTGGTCAAGTCTCA  
GGACTCTACTCCCTCAGCAGCTGGTGGTGAACGGTGCCTCCAGCAGTGGGACACGACTACATCTGCAAC  
GTGAATCACAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAGAAGTTGAGCCAAATCTGTGACAAAACACTCACACA  
TGCCCACCGTGGCCACGCACTGAACCTGGGGGACCCCTGAGGTCACTGGGTGGAGGCTGAGCCACGAAGAACCCCTGAGGTG  
AAGTTCAACTGGTACGGTGGACGGCGTGGAGGTGATAATGCCAACAGAACCCGGGGAGGAGGAGTACAAGTGC  
AGCACGTACCGTGTGGTCACTGGGACGGCTCTCACCGTCTCTCACCGGACTGGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGC  
AAGGTCTCAACAAAGCCCTCCAGGCCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGGCAAGGCAAGGAGGAGGAGAA  
CCACAGGTGTACCCCTGCCCCATCCGGGATGAGGCTGACCAAGAACCCAGGTGAGGCTGACCTGGGTC  
AAGGGCTCTATCCAGCGACATGGGTGGAGGAGCAATGGGAGCCGGAGAACAAACTACAGGAC  
ACGGCTCCCGTGTGGACTCCGAGGGCTCTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGGACAGAGCAGGTGG  
CAGCAGGGGAACGGTCTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAAACCAACTACACGCAAGAGGCC  
TCCCTGTCTCCGGTAAATGA

SEQ ID NO. 29:PN, кодирующий 2A10 гуманизированную конструкцию L13 легкой цепи  
SEQ ID: 17

ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCACCTCCGATATTGTGATGACC  
CAGTCTCCACTCTCCCTGCCCCATCACCTGGACAGGGCCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTAAGAGTCTC

CTATATAAGGATGGGAAGACATACTTGAATTGGTTTCAGCAGAGGCCAGGCCAATCTCACAGCTCTAATT  
TATTTGATGTCACCCGTCACTGGGGTCCCAGACAGATTCAAGCGGCGGGTCAGGCACGTGATTTCAACA  
CTGAAAATCAGCAGGGTGAGGCTGAGGATGTTGGGTTTATTACTGCCAACAACTTGAGAGTATCCGCTC  
ACGTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGTACGGCTGCACCACATCTGCTTCACTCTTCCGCCA  
TCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACACTGCCCTGTCGCTGAATAACTCTATCCCAGAGAGGCC  
AAAGTACAGTGGAAAGGTGACAACGCCCTCAAATCGGTAACCTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGCC  
AAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCGTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTAC  
GCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTGCCGTACAAAGAGCTCAACAGGGAGAGTGTAG

SEQ ID NO. 30 : PN, кодирующий 2A10 гуманизированную конструкцию L16 легкой цепи  
SEQ ID: 18

ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCCACTCCGATATTGTGATGACC  
CAGTCTCCACTCTCCAACCCGTACCCCTGGACAGGCCGGTCCATCTCCTGCAAGGTCTAGTAAGAGTCTC  
CTATATAAGGATGGGAAAGACATACTTGAATTGGTTCTCCAGAGGCCAGGCCAATCTCACAGCTCTAATT  
TATTTGATGTCACCCGTCACTGGGGTCCCAGACAGATTCAAGCGGCGGGTCAGGCACGTGATTTCAACA  
CTGAAAATCAGCAGGGTGAGGCTGAGGATGTTGGGTTTATTACTGCCAACAACTTGAGAGTATCCGCTC  
ACGTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGTACGGCTGTCACCACATCTGCTTCACTCTTCCGCCA  
TCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACACTGCCCTGTCGCTGAATAACTCTATCCCAGAGAGGCC  
AAAGTACAGTGGAAAGGTGACAACGCCCTCAAATCGGTAACCTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGCC  
AAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCGTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTAC  
GCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTGCCGTACAAAGAGCTCAACAGGGAGAGTGTAG

SEQ ID NO. 31: Лидерная последовательность Campath  
MGWSCIILFLVATATGVHS

SEQ ID NO. 32: Аминокислоты 586-785 человеческого NOGO-A (NOGO-A56), слитые с GST

MSPILGYWKIKGLVOPTRLLELEYKEEHLYERDEGDKWRNKKFELGLEFPNLPPYYIDGDVKLTQSMAII  
RYIADKHNMLGGCPKERAESMLEGAVIDIRYGVSRIAYSKDFBTLKVDLSKLPEMLKMFEDRLCHKTYLN  
GDHVTHPDFMLYDALDVVLMPDMCLDAFPKLVCFKKRIBEAIPQIDKYLKSSKYIAWPLQGWQATFGGGDHP  
PKSDLLEVLFQGPLGSMQESLYPAAQLCPSFESEATPSPVLPDVMRPLNSAVPSAGASVIQPSSSPLEAS  
SVNYESIKHEPENPPPYEEAMSVSILKKVSGIKEEIKEPENINAALQETBAPYISIACDLIKETKLSAEPA  
FSDYSEMAKVEQPVPDHSELVEDSSPDSEPVLDLFSDDSIIPDVPQKQDETVMVLKESLTETSFESMIEYENKE  
LERPHRD

SEQ ID NO. 33: 2A10 VH гуманизированная конструкция H1  
QVQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYTFPTSYWMHWVRQAPGQGLEWMGNINPSNGGTNYNEKFKSRTVTMTR  
DTSTSTVYMESSLRSEDTAVYYCELGQGYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 34: 2A10 VL гуманизированная конструкция L11  
DIVITQSPSLPVTLGQPASISCRSSKSLLYKDGTLYNWFQQRPGQSPQLLIYLMSTRASGVPDFRGSGGS  
GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQQLVEYPLTFGQGTKEIK

SEQ ID NO. 35: 2A10 гуманизированная конструкция тяжелой цепи H1  
MGWSCIILFLVATATGVHSQVQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYTFPTSYWMHWVRQAPGQGLEWMGNINP  
SNGGTNYNEKFKSRTVTMRTDTSTVYMESSLRSEDTAVYYCELGQGYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLA  
PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWNNSGALTSGVHTFPVLQSSGLYSLSSVVTPSSSLGTQTYICN  
VNHKPSNTKVDDKVEPKSCDKTHTCPGCPAPELAGAPSFLFPPPKDTLMSIRTPEVTCVVVDVSHEDPEV  
KFWYVDGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE  
POVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESENQOPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW  
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO. 36: 2A10 гуманизированная конструкция легкой цепи L11  
MGWSCIILFLVATATGVHS DIVITQSPSLPVTLGQPASISCRSSKSLLYKDGTLYNWFQQRPGQSPQLLI  
YLMSTRASGVPDFRGSGGS GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQQLVEYPLTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPP  
SDEQLSGTASVVCLNNFPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTSKADYEKHKVY  
ACEVTHQGLSSPVTKSFNRC

SEQ ID NO. 37:PN, кодирующий 2A10 VH гуманизированную конструкцию H1 SEQ ID: 33  
 CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGCCTCAGTGAAGGTTCTGCAAGGCA  
 TCTCGATACACCTTCACCAAGCTACTGGATGCACTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGCCCTGAGTGATG  
 GGAAATATTAATCCTAGCAATGGTGGTACTAACTACAATGAGAAGTCAAGGACAGACTGACCAGG  
 GACACGTCCACGAGCACAGTCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGACACGCCGTATTACTGT  
 GAAGTGGGACAGGGCTACTGGGCCAGGAACACTAGTCACAGTCTCCTCA

SEQ ID NO. 38:PN, кодирующий 2A10 VL гуманизированную конструкцию L11 SEQ ID: 34  
 CATATTGTGATAACCCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCCTGGACAGGCCCTCCATCTCCTGCAGG  
 TCTAGTAAGAGTCTCCTATATAAGGATGGGAAGACATACTTGAATTGGTTTCAGCAGAGGCCAGGCCAATCT  
 CCACAGCTCTAATTATTTGATGTCCACCCGTGCATCTGGGCTCCAGACAGATTAGCAGGGCGGTGGGTCA  
 GGCACGTGATTTCACACTGAAAATCAGCAGGGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGTTATTACTGCCAACAACCTT  
 GTAGAGTATCCGTCACGTTGGCCAGGGACCAAGCTGGAGATCAAA

SEQ ID NO. 39:PN, кодирующий 2A10 гуманизированную тяжелую цепь H1 SEQ ID: 34  
 ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCCACTCCCAGGTGAGCTGGTG  
 CAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCTCAGTGAAGGTTCTGCAAGGCATCTGGATACACCTC  
 ACCAGCTACTGGATGCACTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGAAATATTAATCCT  
 AGCAATGGTGGTACTAACTACAATGAGAAGTCAAGAGCAGACTCACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGC  
 ACAGTCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGCCGTGTATTACTGTGAACACTGGACAGGGC  
 TACTGGGCCAGGAACACTAGTCACAGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA  
 CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGCGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCG  
 GTGACGGTGTGCGTGGAACTCAGGCCCTGACCAGCGCGTGCACACCTCCGGCTGTCTACAGTCTCA  
 GGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTGGGACCCAGACCTACATCTGCAAC  
 GTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGACAAGAAAGTGGACCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACA  
 TGCCCACCGTGGCCAGCACCTGAGGTCACATGCGTGGTGGAGCTGAGGACAGAACGACCTGAGGTC  
 ACCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGAGCTGAGGACAGAACGACCTGAGGTC  
 AAGTCAACTGGTACGTGAGCGGCTGGAGGTGCAATAATGCCAACACAAGCCGGGAGGAGCAGTACAAC  
 AGCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCCTCAGCCTGAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGC  
 AAGGTCTCAAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACATCTCAAAGGCAAGGGCAGCCCCGAGAA  
 CCACAGGTGTACACCCCTGCCCATCCGGGATGAGCTGACCAAGAACAGGTCAAGCTGACCTGACCTGCGTGGC  
 AAAGGCTTCTATCCCAGGACATGCCGTGGAGTGGAGAGCAATGGGAGCCGGAGAACAAACTACAAGACC  
 ACGCCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGG  
 CAGCAGGGAAAGCTCTCATGCTCCGTGATGCACTGAGGCTCTGACAAACCAACTACAGCAGAACAGCCTC  
 TCCCTGTCCTCCGGTAAATGA

SEQ ID NO. 40:PN, кодирующий 2A10 гуманизированную легкую цепь L11  
 SEQ ID: 36

ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCCACTCCGATATTGTGATAACC  
 CAGTCTCCACTCTCCCTGCCGTACCCCTGGACAGCCGGCTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTAAGACTCTC  
 CTATATAAGGATGGGAAGACATACTTGAATTGGTTCTAGCAGAGGCCAGGCCATCTCCACAGCTCTAATT  
 TATTTGATGTCACCCCGTCATCTGGGGTCCCAGACAGATTAGCAGGGCGTGGGTCAAGGACTGATTTCACA  
 CTGAAAATCAGCAGGGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGTTATTACTGCCAACACTTGTAGAGTATCCGCTC  
 ACAGTTGGGCAAGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGTAACGGTGGCTGACCACATGTCCTCATCTCCGCC  
 TCTGATGAGGAGCTTGAATCTGAAACTGCTCCTGTTGTGCGTGTGAATAACTCTATCCCAGAGAGGCC  
 AAAGTCAAGTGGAAAGGTGGACAACGCCCTCCAATCCGGTAACTCCAGGAGAGTGTCAAGGAGCAGCAGC  
 AAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACAGGAAACACAAAGTCTAC  
 GCCTGCGAAGTCACCCATCAGGCCCTGAGCTGCCGTACAAAGAGCTTCACAGGGAGAGTGTAG

SEQ ID NO. 41:2A10 VH гуманизированная конструкция H20  
 QVQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGNINPSNGTNYNEKFPSKATMTR  
 DTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCELQQGYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 42:2A10 гуманизированная конструкция H20 тяжелой цепи  
 MGWSCLILFLVATATGVHSQVQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGNINP  
 SNGGTNYNEKFPSKATMTRDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCELQQGYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLA  
 PSSKSTSGCTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN  
 VNHPSPNTKVDDKVEPKSCDKTHTCPCTPPCPAPELAGAPSVFLFPPPKPDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV  
 KFNWVVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP  
 PRE

**Перечень последовательностей**

<110> Пол Эндрю Хэмбли  
Джонатан Генри Эллис  
Фолькер Гермашевски  
Рут Макадам  
Рабиндер Кумар Принджха  
Стевани Джейн Клэгг  
Георг Колсидас

<120> Иммуноглобулины, направленные против NOGO

<130> VB61773FF

<160> 96

<170> FastSEQ для Windows версия 4.0

<210> 1  
<211> 5  
<212> ПРТ  
<213> Mus musculus

<400> 1  
Ser Tyr Trp Met His  
1 5

<210> 2  
<211> 17  
<212> ПРТ  
<213> Mus musculus

<400> 2  
Asn Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys  
1 5 10 15  
Ser

<210> 3  
<211> 4  
<212> ПРТ  
<213> Mus musculus

<400> 3  
Gly Gln Gly Tyr  
1

<210> 4  
<211> 16  
<212> ПРТ  
<213> Mus musculus

<400> 4  
Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Tyr Lys Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn  
1 5 10 15

<210> 5  
<211> 7  
<212> ПРТ  
<213> Mus musculus

<400> 5  
 Leu Met Ser Thr Arg Ala Ser  
 1 5

<210> 6  
 <211> 9  
 <212> NPT  
 <213> Mus musculus

<400> 6  
 Gln Gln Leu Val Glu Tyr Pro Leu Thr  
 1 5

<210> 7  
 <211> 113  
 <212> NPT  
 <213> Mus musculus

<400> 7  
 Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Thr Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr  
 20 25 30  
 Trp Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45  
 Gly Asn Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe  
 50 55 60  
 Lys Ser Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80  
 Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Glu Leu Gly Gln Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser  
 100 105 110  
 Ser

<210> 8  
 <211> 112  
 <212> NPT  
 <213> Mus musculus

<400> 8  
 Asp Ile Val Ile Thr Gln Asp Glu Leu Ser Asn Pro Val Thr Ser Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Ser Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Tyr Lys  
 20 25 30  
 Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser  
 35 40 45  
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Met Ser Thr Arg Ala Ser Gly Val Ser  
 50 55 60  
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Glu Ile  
 65 70 75 80  
 Ser Arg Val Lys Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Leu  
 85 90 95  
 Val Glu Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys  
 100 105 110

<210> 9  
 <211> 462

&lt;212&gt; ПРТ

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

<223> Химерное Ab, содержащее последовательности из mus musculus  
и homo sapiens

&lt;400&gt; 9

Met	Gly	Trp	Ser	Cys	Ile	Ile	Leu	Phe	Leu	Val	Ala	Ala	Ala	Thr	Gly
1					5				10					15	
Val	His	Ser	Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Gln	Pro	Gly	Thr	Glu	Leu	Val	Lys
					20				25				30		
Pro	Gly	Ala	Ser	Val	Lys	Leu	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe
					35				40				45		
Thr	Ser	Tyr	Trp	Met	His	Trp	Val	Lys	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu
					50				55				60		
Glu	Trp	Ile	Gly	Asn	Ile	Asn	Pro	Ser	Asn	Gly	Gly	Thr	Asn	Tyr	Asn
65					70				75				80		
Glu	Lys	Phe	Lys	Ser	Lys	Ala	Thr	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Ser	Ser
					85				90				95		
Thr	Ala	Tyr	Met	Gln	Leu	Ser	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Ser	Ala	Val
					100				105				110		
Tyr	Tyr	Cys	Glu	Leu	Gly	Gln	Gly	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val
					115				120				125		
Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala
					130				135				140		
Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu
145					150				155				160		
Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly
					165				170				175		
Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser
					180				185				190		
Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu
					195				200				205		
Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr
					210				215				220		
Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr
225					230				235				240		
Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Ala	Gly	Ala	Pro	Ser	Val	Phe
					245				250				255		
Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro
					260				265				270		
Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val
					275				280				285		
Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr
					290				295				300		
Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val
					305				310				315		320
Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys
					325				330				335		
Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser
					340				345				350		
Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro
					355				360				365		
Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val
					370				375				380		
Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly
					385				390				395		400
Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp
					405				410				415		
Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp
					420				425				430		
Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His
					435				440				445		

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 450                            455                            460

<210> 10

<211> 239

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Химерное Ab, содержащее последовательности из mus musculus  
 и homo sapiens

<400> 10

Met	Arg	Cys	Ser	Leu	Gln	Phe	Leu	Gly	Val	Leu	Met	Phe	Trp	Ile	Ser
1										10				15	
Gly	Val	Ser	Gly	Asp	Ile	Val	Ile	Thr	Gln	Asp	Glu	Leu	Ser	Asn	Pro
										20				30	
Val	Thr	Ser	Gly	Glu	Ser	Val	Ser	Ile	Ser	Cys	Arg	Ser	Ser	Lys	Ser
										35				45	
Leu	Leu	Tyr	Lys	Asp	Gly	Lys	Thr	Tyr	Leu	Asn	Trp	Phe	Leu	Gln	Arg
										50				60	
Pro	Gly	Gln	Ser	Pro	Gln	Leu	Leu	Ile	Tyr	Leu	Met	Ser	Thr	Arg	Ala
65										70				80	
Ser	Gly	Val	Ser	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe
										85				95	
Thr	Leu	Glu	Ile	Ser	Arg	Val	Lys	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Val	Tyr	Tyr
										100				110	
Cys	Gln	Gln	Leu	Val	Glu	Tyr	Pro	Leu	Thr	Phe	Gly	Ala	Gly	Thr	Lys
										115				125	
Leu	Glu	Leu	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro
										130				140	
Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu
										145				155	
Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp
										165				175	
Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp
										180				190	
Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys
										195				205	
Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln
										210				220	
Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys	
										225				235	

<210> 11

<211> 113

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из mus musculus и homo sapiens

<400> 11

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

Lys Ser Arg Ala Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80  
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Glu Leu Gly Gln Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser  
 100 105 110  
 Ser

<210> 12  
<211> 113  
<212> ПРТ  
<213> Искусственная последовательность  
  
<220>  
<223> Конструкция гуманизированного Ab, содержащая последовательности из  
*mus musculus* и *homo sapiens*

<400> 12  
Gin Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15  
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr  
 20 25 30  
Trp Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45  
Gly Asn Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe  
 50 55 60  
Lys Ser Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80  
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
Glu Leu Gly Gln Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser  
 100 105 110  
Ser

<210> 13  
<211> 112  
<212> ПРТ  
<213> Искусственная последовательность  
  
<220>  
<223> Конструкция гуманизированного Ab, содержащая последовательности из  
*mus musculus* и *homo sapiens*

<400> 13  
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly  
 1 5 10 15  
Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Tyr Lys  
 20 25 30  
Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser  
 35 40 45  
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Met Ser Thr Arg Ala Ser Gly Val Pro  
 50 55 60  
Asp Arg Phe Ser Gly Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
 65 70 75 80  
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Leu  
 85 90 95  
Val Glu Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
 100 105 110

<210> 14  
 <211> 112  
 <212> ПРТ  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Конструкция гуманизированного Ab, содержащая последовательности из  
*mus musculus* и *homo sapiens*

<400> 14  
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Asn Pro Val Thr Leu Gly  
   1              5                 10                 15  
 Gln Pro Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Tyr Lys  
   20              25                 30  
 Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser  
   35              40                 45  
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Met Ser Thr Arg Ala Ser Gly Val Pro  
   50              55                 60  
 Asp Arg Phe Ser Gly Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
   65              70                 75                 80  
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Leu  
   85              90                 95  
 Val Glu Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
   100            105                 110

<210> 15  
 <211> 462  
 <212> ПРТ  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из  
*mus musculus* и *homo sapiens*

<400> 15  
 Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly  
   1              5                 10                 15  
 Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys  
   20              25                 30  
 Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe  
   35              40                 45  
 Thr Ser Tyr Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu  
   50              55                 60  
 Glu Trp Ile Gly Asn Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Tyr Asn  
   65              70                 75                 80  
 Glu Lys Phe Lys Ser Arg Ala Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser  
   85              90                 95  
 Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val  
   100            105                 110  
 Tyr Tyr Cys Glu Leu Gly Gln Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
   115            120                 125  
 Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
   130            135                 140  
 Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
   145            150                 155                 160  
 Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
   165            170                 175  
 Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
   180            185                 190  
 Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
   195            200                 205  
 Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr  
   210            215                 220

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr  
 225                   230                   235                   240  
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe  
 245                   250                   255  
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 260                   265                   270  
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
 275                   280                   285  
 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
 290                   295                   300  
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
 305                   310                   315                   320  
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
 325                   330                   335  
 Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
 340                   345                   350  
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
 355                   360                   365  
 Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val  
 370                   375                   380  
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
 385                   390                   395                   400  
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 405                   410                   415  
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 420                   425                   430  
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
 435                   440                   445  
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 450                   455                   460                   .

&lt;210&gt; 16

&lt;211&gt; 462

&lt;212&gt; ПРТ

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

<223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

&lt;400&gt; 16

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly  
 1                   5                   10                   15  
 Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys  
 20                   25                   30  
 Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe  
 35                   40                   45  
 Thr Ser Tyr Trp Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu  
 50                   55                   60  
 Glu Trp Ile Gly Asn Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Tyr Asn  
 65                   70                   75                   80  
 Glu Lys Phe Lys Ser Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser  
 85                   90                   95  
 Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val  
 100                 105                 110  
 Tyr Tyr Cys Glu Leu Gly Gln Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
 115                 120                 125  
 Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
 130                 135                 140  
 Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
 145                 150                 155                 160  
 Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
 165                 170                 175

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
 180 185 190  
 Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
 195 200 205  
 Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr  
 210 215 220  
 Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr  
 225 230 235 240  
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe  
 245 250 255  
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 260 265 270  
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
 275 280 285  
 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
 290 295 300  
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
 305 310 315 320  
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
 325 330 335  
 Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
 340 345 350  
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
 355 360 365  
 Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val  
 370 375 380  
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
 385 390 395 400  
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 405 410 415  
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 420 425 430  
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
 435 440 445  
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 450 455 460

&lt;210&gt; 17

&lt;211&gt; 238

&lt;212&gt; ПРТ

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из mus musculus и homo sapiens

&lt;400&gt; 17

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly  
 1 5 10 15  
 Val His Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val  
 20 25 30  
 Thr Leu Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu  
 35 40 45  
 Leu Tyr Lys Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Gln Gln Arg Pro  
 50 55 60  
 Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Met Ser Thr Arg Ala Ser  
 65 70 75 80  
 Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr  
 85 90 95  
 Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys  
 100 105 110  
 Gln Gln Leu Val Glu Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu  
 115 120 125

Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro  
 130 135 140  
 Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu  
 145 150 155 160  
 Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn  
 165 170 175  
 Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser  
 180 185 190  
 Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala  
 195 200 205  
 Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly  
 210 215 220  
 Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 225 230 235

&lt;210&gt; 18

&lt;211&gt; 238

&lt;212&gt; ПРТ

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

<223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

&lt;400&gt; 18

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly  
 1 5 10 15  
 Val His Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Asn Pro Val  
 20 25 30  
 Thr Leu Gly Gln Pro Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu  
 35 40 45  
 Leu Tyr Lys Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Leu Gln Arg Pro  
 50 55 60  
 Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Met Ser Thr Arg Ala Ser  
 65 70 75 80  
 Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr  
 85 90 95  
 Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys  
 100 105 110  
 Gln Gln Leu Val Glu Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu  
 115 120 125  
 Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro  
 130 135 140  
 Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu  
 145 150 155 160  
 Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn  
 165 170 175  
 Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser  
 180 185 190  
 Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala  
 195 200 205  
 Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly  
 210 215 220  
 Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 225 230 235

&lt;210&gt; 19

&lt;211&gt; 339

&lt;212&gt; ДНК

<213> *Mus musculus*

&lt;400&gt; 19

caggtccaaac tgcagcagcc tgggactgaa ctggtaagc ctggggcttc agtgaagctg 60  
 tcctgcaagg cttctggcta caccttcacc agctactgga tgcactgggt gaagcagagg 120  
 cctggacaag gccttgagt gatggaaat attaatccta gcaatgggtg tactaactac 180  
 aatgagaagt tcaagagcaa ggcacactg actgttagaca aatcctccag cacagcctac 240  
 atgcagctca gcagctgac atctgaggac tctgcggatcattattgtga actgggacag 300  
 ggctactggg gccaaggcac cactctcaca gtctcctca 339

<210> 20  
 <211> 336  
 <212> ДНК  
 <213> *Mus musculus*

<400> 20  
 gatattgtga taacccagga tgaactctcc aatcctgtca cttctggaga atcagttcc 60  
 atctcctgca ggtctagtaa gagtctccta tataaggatg ggaagacata cttgaattgg 120  
 ttctcgca gaccaggaca atctcctcag ctccctgatct atttgatgtc caccctgtca 180  
 tcaggagctc gagacccggt tagtggcgtt gggtagggaa cagatttcac cctggaaatc 240  
 agtagagtgta aggctgagga tgggggtgt tattactgtc aacaacttgt agagtatccg 300  
 ctcacgttcg gtgtgggac caagctggag ctgaaa 336

<210> 21  
 <211> 1389  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Конструкция химерного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

<400> 21  
 atgggatgga gctgttatcat cctcttttg gtagcagcag ctacagggtg ccactccca 60  
 gtccaaactgc agcaggctgg gactgaactg gtgaagcctg gggcttcagt gaagctgtcc 120  
 tgcaaggctt ctggctacac cttcaccagg tactggatgc actgggtgaa gcagaggcct 180  
 ggacaaggcc ttgagtggtt tgaaaatatt aatccttagca atgggtgtac taactacaat 240  
 gagaaggatca agagcaaggc cacactgact gtagacaaat cttccagcac agcctacatg 300  
 cagtcagcga gcctgacate tgaggactc ggggtctatt atttgtaact gggacaggc 360  
 tactggggcc aaggccacact agtcacagtc tccctcagcc cccatcggtc 420  
 ttccccctgg caccctctc caagagcacc tctggggca cagccgcctt gggctgcctg 480  
 gtcaaggact acttccccga accggtgacg gtgtcggtt actcaggcgc cctgaccgc 540  
 ggcgtgcaca cttcccgcc tgcgttacag tccctcaggac tctactccct cagcagcgtg 600  
 gtgaccgtgc cttcccgccat cttgggcacc cagacccata tctgcaacgt gaatcacaag 660  
 cccagcaaca ccaagggtgaa caaaaaatg gggccaaat cttgtgacaa aactcacaca 720  
 tgcccacgtt gcccacgc tgaatcgcg ggggcacgtt cttccccc 780  
 aaaccccaagg acacccatcat gatctcccg accccctgagg tcacatgcgt ggtggggac 840  
 gtgaggccacg aagacccatga ggtcaagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat 900  
 aatgccaaga caaaggcccg ggaggagcag tacaacagca cgtaccgtt ggtcagcgtc 960  
 ctcaccgtcc tgcaccaggat ctggctgaat gcaaggagt acaagtccaa ggtctccaaac 1020  
 aaaggccccc cagcccccattt cggaaaaacc atctccaaatg cccaaaggccaa gccccggagaa 1080  
 ccacagggtt acacccgtcc cccatcccgat gatggatgtt ccaagaacca ggtcagectg 1140  
 acctgcctgg tcaaaaggctt ctatcccacg gacatcccgat tggagttgggaa gagcaatggg 1200  
 cagccggaga acaactacaa gaccacgcct cccgtgttcc actccgcacgg cttcccttc 1260  
 ctctacagca agctcaccgtt ggacaagcgc aggtggcgc agggaaacgtt cttctcatgc 1320  
 tccgtatgc atggggctt gcaacaacc tacacgcaga agagccttc cctgtctcc 1380  
 ggttaatga 1389

<210> 22  
 <211> 720  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Конструкция химерного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

<400> 22  
atgaggtgt ctcttcagtt tctgggggtg cttatgttct ggatctctgg agtcagtggg 60  
gatattgtga taacccaga tgaactctcc aatcctgtca ctctggaga atcagtttc 120  
atctcctgca ggtctagtaa gagtctctta tataaggatg ggaagacata cttgaattgg 180  
tttctgcaga gaccaggaca atctccttag ctctctatctt atttgatgtc caccctgtca 240  
tcaggagtct cagacogggt tagtggcagt gggtcaggaa cagatttcac cctggaaatc 300  
agtagagtgta aggctgagga tgtgggtgt tattactgtc aacaacttgt agagtatccg 360  
ctcacgtcg gtgtggcaca caacgtggag ctgaaaactg cgggtggctgc accatctgtc 420  
ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttaa aatctggaa ctgcctctgt tttgtgcctg 480  
ctgataact tctatccca agggccaaa gtacagtggaa aggtggacaa cgcctccaa 540  
tcgggttaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagectc 600  
agcagcaccc tgacgtgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa 660  
gtcacccatc agggcctgag ctgcggcgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgttag 720

<210> 23  
<211> 339  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

<400> 23  
caggtgcagc tggtgcaagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaagggt 60  
tcctgcagg catctggata caccttcacc agctactgga tgcactgggt ggcacaggcc 120  
cctggacaag ggcttgagtg gatcgaaat attaattctta gcaatgggt tactaactac 180  
aatgagaatg tcaagagcag agccaccatg accaggacca cgtccacgag cacagctac 240  
atggagctga gcggcctgag atctgaggac acggccgtgtt attactgtga actgggacag 300  
ggctactggg gccagggaaac actagtccaca gtctctca 339

<210> 24  
<211> 339  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

<400> 24  
caggtgcagc tggtgcaagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaagggt 60  
tcctgcagg catctggata caccttcacc agctactgga tgcactgggt gaaacagcga 120  
cctggacaag ggcttgagtg gatcgaaat attaattctta gcaatgggt tactaactac 180  
aatgagaatg tcaagagcag agccaccatc accgtcgacca aatccacgag cacagctac 240  
atggagctga gcggcctgag atctgaggac acggccgtgtt attactgtga actgggacag 300  
ggctactggg gccagggaaac actagtccaca gtctctca 339

<210> 25  
<211> 336  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

<400> 25  
gatattgtga tgacccagtc tccactctcc ctgcccgtca cccttggaca gccggcctcc 60  
atctcctgca ggtctagtaa gagtctctta tataaggatg ggaagacata cttgaattgg 120  
tttcagcaga ggccaggcca atctccacag ctcttaattt atttgatgtc caccctgtca 180  
tctgggtcc cagacagatt cagcgcgcgtt gggtcaggca ctgatttcac actgaaaatc 240  
agcagggtgg aggtcgagga tgttgggtt tattactgcc aacaacttgt agagtatccg 300  
ctcacgtttgc cccaggggac caagctggag atcaaa 336

<210> 26  
 <211> 336  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

<400> 26  
 gatattgtga tgacccagtc tccactctcc aaccccgtaa cccttggaca gccgggtctcc 60  
 atctccgtca ggctcttagaa gagttccataataaaggatggaaagacata cttgaattgg 120  
 ttctccaga ggcgcaggcca atctccacag ctcttaattt atttgatgtc caccctgtca 180  
 tctgggttcc cagacagat cagcggcggtt gggctcaggca ctgatattcac actgaaaatc 240  
 agcagggtgg aggctgagga tggtgggtt tattactgcc aacaacttgt agagtatccg 300  
 ctcacgtttg gccaggggac caagttggag atcaaa 336

<210> 27  
 <211> 1389  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

<400> 27  
 atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacagggtt ccactcccaag 60  
 gtgcagctgg tgcagttctgg ggctgagggtt aagaaggctg gggcctcagt gaagggtttcc 120  
 tgcaaggcat ctggatacac ctccaccgcg tactggatgc actgggtgcg acaggcccc 180  
 ggacaaggcc tttagtggat cggaaattttt aatctctagca atgggtgtac taactacaat 240  
 gagaaggatca agagcaagac caccatgacc agggacacqt ccacqacac agcttacatg 300  
 gagctgagca gcctgagatc tgaggacacg gcccgttattt actgtgaact gggacaggc 360  
 tactggggcc agggaaactt actgcacatc tcctcagccctt ccaccaaggcc cccatcggtc 420  
 ttccccctgg cacccttcctt caagagacc tctggggca cagcggccctt gggctgcctt 480  
 gtcaaggact acttccccca accggtgacg gtgtctggat actcaggcgc cttgaccacg 540  
 ggcgtgcaca cttcccccggc tggcttacatc tcctcaggac tctactccctt cagcagctg 600  
 gtgaccgtgc cttccacggc cttggccacc cagacactaca tctgcaacgt gaatcacaag 660  
 cccaccaaca ccaagggtgg caagaaaggat gggccaaat ttgtgacaa aactcacaca 720  
 tgccccccctgg gcccacccat ttggccaccgtt cttttttttt cttccccc 780  
 aaacccaaagg acaccctcat gatctcccg acccttgagg tccatcgctt ggtgggtggac 840  
 gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc aactgttacg tggacggcggtt ggaggtgcac 900  
 aatgccaaga caaaaccccg ggaggagcag tacaacacgca ctgtaccgtt ggtcagegtc 960  
 otcaccgttca tgcacccaggat ctggctgtt ggcaaggatg acaagtgcac ggtctccaa 1020  
 aaaggccctcc cagccccccat cggaaaaacc atctccaaag cccaaaggcc gccccgagaa 1080  
 ccacagggtt acaccctgcg cccatccccgg gatgagctga ccaagaacca ggtcagccgt 1140  
 acctgtctgg tcaaaggctt ctatcccgac gacatcgccg tggagttggaa gacatggg 1200  
 cagccggaga acaactacaa gaccacgtt ccctgtctgg actccgacgg ctcttcttc 1260  
 ctctacagca agctcaccgtt ggacaagacg aggtggcagc aggggaacgtt ctctcatgc 1320  
 tccgtatgtc atgggtctt gcaacaaccac tacacccgaga agggcccttc cttgtctccg 1380  
 ggtttatgtt 1389

<210> 28  
 <211> 1389  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

<400> 28  
 atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacagggtt ccactcccaag 60  
 gtgcagctgg tgcagttctgg ggctgagggtt aagaaggctg gggcctcagt gaagggtttcc 120

tgcaaggcat ctggatacac cttcaccaggc tactggatgc actgggtgaa acagcgacct 180  
 gacaaggc ttgagtggat cgaaaatatt aatcccttagca atgggtgtac taactacaat 240  
 gagaagtca agagcaaacc caccctcacc gtgcacaaaat ccacgagcac agcctacatg 300  
 gagctgagca gcctgagatc tgaggacacg gcccgtgtact actgtgaact gggacaggc 360  
 tactggggcc agggAACACT agtcacagtc tcctcagcct ccaccaaggc cccatcgctg 420  
 ttccccctgg caccctcacc caagagcacc tctggggca cagcggccct gggctgcctg 480  
 gtcaaggact acttccccca accgggtgacg gtgtcggtt actcaggcgc cctgaccacg 540  
 ggcgtgcaca ctttcccgcc tgcctacag tcctcaggac tctactccct cagcagcgctg 600  
 gtgaccgtgc cttccagcag cttggcacc cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag 660  
 cccagcaaca ccaagggtga caagaaaggc aactccaaat ttgtgacaa aactcacaaca 720  
 tgcccacggc gcccagcacc tgaactcgcc gggcaccgt cagtcttcctt cttccccca 780  
 aaacccaagg acaccctcat gatctcccg accctgggg tccatgcgt ggtggtgac 840  
 gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttt aactggtagc tggacggcgt ggaggtgcat 900  
 aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgctc 960  
 ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat ggcaaggagt acaagtgcac ggtctccaac 1020  
 aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc atctccaaag ccaaaggcga gccccgagaa 1080  
 ccacagggtt acaccctgcc cccatcccg gatgagctga ccaagaacca ggtcagcgctg 1140  
 acctgcctgg tcaaagggtt ctatcccgcc gacatcgcc tggatgggg gagaatggg 1200  
 cagccggaga acaactacaa gaccacgcct cccgtgtgg actccgcacgg ctcccttc 1260  
 ctctacagca agtcacccgt ggacaagcgc aggtggcgcg aggggaacgt cttctcatgc 1320  
 tccgtgatgc atgaggctt gcacaaccac tacacgcaga agagcctc cctgtctcc 1380  
 gtaaatga 1389

&lt;210&gt; 29

&lt;211&gt; 717

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из mus musculus и homo sapiens

&lt;400&gt; 29

atgggatgga gctgttatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacagggtgt ccactccgat 60  
 atttgtatga cccagtctcc actctccctg cccgtcaccc ttggacacgc ggcctccatc 120  
 tcctgcagggt cttagtaagag tctcctatat aaggatggga agacataactt gaattggttt 180  
 cagcagggc caggccaaatc tccacagtc ctaatattt ttagtgcaccc ccgtgcacatc 240  
 ggggtcccaag acagattcaag cggcggtggg tcaggcaactg atttcacact gaaaatcagc 300  
 agggtggagg ctgaggatgt tgggtttat tactgcaac aacttgtaga gtatccgc 360  
 acgtttggcc aggggaccaa gctggagatc aaacgtacgg tggctgcacc atctgtcttc 420  
 atcttcccgcc catctgatga gcagttgaaa tctggaaactg cctctgtgt gtgcctgcctg 480  
 aataacttct atcccgaga ggcacaaatc cagtgaaagg tggacaacgc cctccaaatc 540  
 gttaactccc aggagatgtt cacagagcag gacaccaagg acagcaccta cagcctcagc 600  
 agcaccctga cgttgacaa agcagactac gaaaaacaca aagtctacgc ctgcgaagtc 660  
 accccatcagg gcctgagctc gcccgtcaca aagagcttca acaggggaga gtgttag 717

&lt;210&gt; 30

&lt;211&gt; 717

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из mus musculus и homo sapiens

&lt;400&gt; 30

atgggatgga gctgttatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacagggtgt ccactccgat 60  
 atttgtatga cccagtctcc actctccaaac cccgtcaccc ttggacacgc ggtctccatc 120  
 tcctgcagggt cttagtaagag tctcctatat aaggatggga agacataactt gaattggttt 180  
 ctccagggc caggccaaatc tccacagtc ctaatattt ttagtgcaccc ccgtgcacatc 240  
 ggggtcccaag acagattcaag cggcggtggg tcaggcaactg atttcacact gaaaatcagc 300  
 agggtggagg ctgaggatgt tgggtttat tactgcaac aacttgtaga gtatccgc 360  
 acgtttggcc aggggaccaa gctggagatc aaacgtacgg tggctgcacc atctgtcttc 420  
 atcttcccgcc catctgatga gcagttgaaa tctggaaactg cctctgtgt gtgcctgcctg 480

aataacttct atcccagaga ggccaaagta cagtggagg tggacaacgc cctccaatcg 540  
 ggtaactccc aggagagtgt cacagagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc 600  
 agcaccctga cgctgagcaa agcagactac gaaaaacaca aagtctacgc ctgcgaagtc 660  
 acccatcagg gcctgagctc gcccgtcaca aagagctca acaggggaga gtgttag 717

<210> 31  
 <211> 19  
 <212> ПРТ  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*  
 <400> 31  
 Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly  
 1 5 10 15  
 Val His Ser

<210> 32  
 <211> 439  
 <212> ПРТ  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 32  
 Met Ser Pro Ile Leu Gly Tyr Trp Lys Ile Lys Gly Leu Val Gln Pro  
 1 5 10 15  
 Thr Arg Leu Leu Glu Tyr Leu Glu Lys Tyr Glu Glu His Leu  
 20 25 30  
 Tyr Glu Arg Asp Glu Gly Asp Lys Trp Arg Asn Lys Lys Phe Glu Leu  
 35 40 45  
 Gly Leu Glu Phe Pro Asn Leu Pro Tyr Tyr Ile Asp Gly Asp Val Lys  
 50 55 60  
 Leu Thr Gln Ser Met Ala Ile Ile Arg Tyr Ile Ala Asp Lys His Asn  
 65 70 75 80  
 Met Leu Gly Gly Cys Pro Lys Glu Arg Ala Glu Ile Ser Met Leu Glu  
 85 90 95  
 Gly Ala Val Leu Asp Ile Arg Tyr Gly Val Ser Arg Ile Ala Tyr Ser  
 100 105 110  
 Lys Asp Phe Glu Thr Leu Lys Val Asp Phe Leu Ser Lys Leu Pro Glu  
 115 120 125  
 Met Leu Lys Met Phe Glu Asp Arg Leu Cys His Lys Thr Tyr Leu Asn  
 130 135 140  
 Gly Asp His Val Thr His Pro Asp Phe Met Leu Tyr Asp Ala Leu Asp  
 145 150 155 160  
 Val Val Leu Tyr Met Asp Pro Met Cys Leu Asp Ala Phe Pro Lys Leu  
 165 170 175  
 Val Cys Phe Lys Lys Arg Ile Glu Ala Ile Pro Gln Ile Asp Lys Tyr  
 180 185 190  
 Leu Lys Ser Ser Lys Tyr Ile Ala Trp Pro Leu Gln Gly Trp Gln Ala  
 195 200 205  
 Thr Phe Gly Gly Asp His Pro Pro Lys Ser Asp Leu Glu Val Leu  
 210 215 220  
 Phe Gln Gly Pro Leu Gly Ser Met Gln Glu Ser Leu Tyr Pro Ala Ala  
 225 230 235 240  
 Gln Leu Cys Pro Ser Phe Glu Glu Ser Glu Ala Thr Pro Ser Pro Val  
 245 250 255  
 Leu Pro Asp Ile Val Met Glu Ala Pro Leu Asn Ser Ala Val Pro Ser  
 260 265 270  
 Ala Gly Ala Ser Val Ile Gln Pro Ser Ser Ser Pro Leu Glu Ala Ser  
 275 280 285

Ser Val Asn Tyr Glu Ser Ile Lys His Glu Pro Glu Asn Pro Pro Pro  
 290                295                300  
 Tyr Glu Glu Ala Met Ser Val Ser Leu Lys Lys Val Ser Gly Ile Lys  
 305                310                315                320  
 Glu Glu Ile Lys Glu Pro Glu Asn Ile Asn Ala Ala Leu Gln Glu Thr  
 325                330                335  
 Glu Ala Pro Tyr Ile Ser Ile Ala Cys Asp Leu Ile Lys Glu Thr Lys  
 340                345                350  
 Leu Ser Ala Glu Pro Ala Pro Asp Phe Ser Asp Tyr Ser Glu Met Ala  
 355                360                365  
 Lys Val Glu Gln Pro Val Pro Asp His Ser Glu Leu Val Glu Asp Ser  
 370                375                380  
 Ser Pro Asp Ser Glu Pro Val Asp Leu Phe Ser Asp Asp Ser Ile Pro  
 385                390                395                400  
 Asp Val Pro Gln Lys Gln Asp Glu Thr Val Met Leu Val Lys Glu Ser  
 405                410                415  
 Leu Thr Glu Thr Ser Phe Glu Ser Met Ile Glu Tyr Glu Asn Lys Glu  
 420                425                430  
 Leu Glu Arg Pro His Arg Asp  
 435

&lt;210&gt; 33

&lt;211&gt; 113

&lt;212&gt; ПРТ

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

<223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

<400> 33  
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
 1                5                10                15  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr  
 20                25                30  
 Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35                40                45  
 Gly Asn Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe  
 50                55                60  
 Lys Ser Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr  
 65                70                75                80  
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85                90                95  
 Glu Leu Gly Gln Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser  
 100                105                110  
 Ser

&lt;210&gt; 34

&lt;211&gt; 112

&lt;212&gt; ПРТ

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

<223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

<400> 34  
 Asp Ile Val Ile Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly  
 1                5                10                15  
 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Tyr Lys  
 20                25                30

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

&lt;210&gt; 35

&lt;211&gt; 462

&lt;212&gt; ПРТ

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

<223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

&lt;400&gt; 35

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly  
   1                          5                          10                          15  
 Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys  
   20                          25                          30  
 Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe  
   35                          40                          45  
 Thr Ser Tyr Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu  
   50                          55                          60  
 Glu Trp Met Gly Asn Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Tyr Asn  
   65                          70                          75                          80  
 Glu Lys Phe Lys Ser Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser  
   85                          90                          95  
 Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val  
  100                         105                         110  
 Tyr Tyr Cys Glu Leu Gly Gln Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
  115                         120                         125  
 Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
  130                         135                         140  
 Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
  145                         150                         155                         160  
 Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
  165                         170                         175  
 Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
  180                         185                         190  
 Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
  195                         200                         205  
 Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr  
  210                         215                         220  
 Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr  
  225                         230                         235                         240  
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe  
  245                         250                         255  
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
  260                         265                         270  
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
  275                         280                         285  
 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
  290                         295                         300  
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
  305                         310                         315                         320  
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
  325                         330                         335

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
 340 345 350  
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
 355 360 365  
 Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val  
 370 375 380  
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
 385 390 395 400  
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 405 410 415  
 Gly Ser Phe Phe Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 420 425 430  
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
 435 440 445  
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 450 455 460

&lt;210&gt; 36

&lt;211&gt; 238

&lt;212&gt; ПРТ

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из mus musculus и homo sapiens

&lt;400&gt; 36

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly  
 1 5 10 15  
 Val His Ser Asp Ile Val Ile Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val  
 20 25 30  
 Thr Leu Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu  
 35 40 45  
 Leu Tyr Lys Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Gln Gln Arg Pro  
 50 55 60  
 Gly Gln Ser Pro Gln Leu Ile Tyr Leu Met Ser Thr Arg Ala Ser  
 65 70 75 80  
 Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr  
 85 90 95  
 Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys  
 100 105 110  
 Gln Gln Leu Val Glu Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu  
 115 120 125  
 Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro  
 130 135 140  
 Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu  
 145 150 155 160  
 Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn  
 165 170 175  
 Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser  
 180 185 190  
 Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala  
 195 200 205  
 Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly  
 210 215 220  
 Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 225 230 235

&lt;210&gt; 37

&lt;211&gt; 339

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

<223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

&lt;400&gt; 37

```
caggtgcagc tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaagg 60
tcctgcagg catctggata cacccttacc agctactgga tcgactgggt gcgcacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagt gatggaaat attaatccta gcaatgggt tactaactac 180
aatgagaagt tcaagagcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240
atggagctga gcagccgtgatcctgaggac acggccgtgtt attactgtga actggacag 300
gcgtactggg gccaggaaac actagtccaca gtctcctca 339
```

&lt;210&gt; 38

&lt;211&gt; 336

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

<223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

&lt;400&gt; 38

```
gatatttgta taacccagtc tccactctcc ctgcccgtca cccttggaca gccggcctcc 60
atctcctgca ggtcttagtaa gagtctccta tataaggatg ggaagacata cttgaattgg 120
tttcagcaga ggccaggcaca atctccacag ctcctaattt atttgatgtc caccctgtca 180
tctgggttcc cagacagatt cagcggcggt gggtcaggca ctgatttcac actgaaaatc 240
agcagggtgg aggctgagga tggtgggtt tattactgcc aacaacttgt agagtatccg 300
ctcacgtttt gccaggggac caagctggag atcaa 336
```

&lt;210&gt; 39

&lt;211&gt; 1389

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

<223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

&lt;400&gt; 39

```
atgggatgga gctgttatcat cctttcttg gtagcaacag ctacagggtt ccactccca 60
gtcagctgg tgcagtcgg ggctgagggt aagaaggctg gggcctcagt gaaggtttc 120
tgcaaggcat ctggatacac cttcaccaggc tactggatgc actgggtgcg acaggcccc 180
ggacaaggggc ttgagtggat gggaaatattt aatcttagca atgggtgtac taactacaat 240
gagaagggtca agagcagaat caccatgacc agggacacat ccacgacac agtctacatg 300
gagctgagca gcttgagatc tgaggacacg ggcgtgtattt atctgtgaact gggacagggc 360
taactggggcc agggaaacact agtcacatgc tcctcagcct ccaccaaggg cccatcggtc 420
ttccccctgg caccctccctc caagaggacc tctggggca cagcggccct gggctgcctg 480
gtcaaggact acttccccca accggtgacg gtgtcgttgc actcaggcgc cctgaccagg 540
ggcgtgcaca ccttccccgc tgcctacatgc tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg 600
gtgaccgtgc cttccacatgc cttggggacc cagaactaca tctgcaacatg gaatcaaa 660
cccaaggcaaca ccaagggtga caagaaagtt gagcccaaat ctgtgacaa aactcacaca 720
tgccaccgt gcccagcacc tgaactccgc ggggcaccgt cagtcttccctt cttccccca 780
aaaccccaagg acaccctcat gatctcccg acccttgagg tcacatgcgt ggtggggac 840
gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc aactggatcg tgacggcgt ggaggtgtcat 900
aatgccaaga caaaggccgcg ggaggagcag tacacacagc ctatccgtgt ggtcagcgtc 960
ctcaccgtcc tgcaccaggaa ctggctgaat ggcaagggtt acaagtgcac ggtctccaa 1020
aaacccctcc cagccccccat cgaaaaacc atctccaaag ccaaaggggca gccccggagaa 1080
ccacagggtt acaccctgcc cccatcccg gatgagctga ccaagaacca ggtcagccctg 1140
acccgtccctt tcaaaggctt ctatccacgc gacatcgccg tgagtgaaa gagcaatggg 1200
cagccggaga acaactacaa gaccacgcct cccgtgtgg actccgacgg ctcccttcc 1260
cttctacagca agtcacccgt ggacaagagc aggtggcagc agggggacatc cttctcatgc 1320
tccgtgtatgc atgaggctct gcacaaccac tacacgcaga agacgccttc cctgtctcc 1380
ggtaaatga 1389
```

<210> 40  
 <211> 717  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

```

<400> 40
atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacagggtg ccactccgat 60
attgtataaa cccagtctcc actctccctg cccgtcaccc ttggacagcc ggcctccatc 120
tcctgcagggt ctagtaagag tctccttat aaggatggga agacatactt gaattgggtt 180
cagcagagggc caggccaaatc tccacagtc ctaatttt tgatgtccac ccgtgcacatc 240
gggttccccag acagatctcg cgccgggtgg tcaggactg attcacact gaaaatcaggc 300
agggtggagg ctgaggatgt tggggttat tactgccaac aacttgtaga gtatccgctc 360
acgtttggcc aggggaccaa gctggagatc aaacgtacgg tggctgacc atctgttccc 420
atcttccgc catctgtatga gcagttgaaa tctggaactg cctctgttgc gtgcctgctg 480
aataactctt atcccaagaga ggccaaagta cagtggaagg tgacaaccc cctccaaatcg 540
ggtaactccc aggagatgt cacagacgac gacaccaagg acagcaccta cagcctcaggc 600
agcacccctga cgctgagcaa agcagactac gagaaacaca aagtctacgc ctgcgaagtc 660
acccatcagg gcctgagctc gcgcgtcaca aagagcttca acaggggaga gtgttag 717

```

<210> 41  
 <211> 113  
 <212> ПРТ  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

```

<400> 41
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Asn Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Ser Lys Ala Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Glu Leu Gly Gln Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
100 105 110
Ser

```

<210> 42  
 <211> 462  
 <212> ПРТ  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

```

<400> 42
Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

```

Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys  
     20                       25                       30  
 Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe  
     35                       40                       45  
 Thr Ser Tyr Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu  
     50                       55                       60  
 Glu Trp Ile Gly Asn Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Tyr Asn  
     65                       70                       75                       80  
 Glu Lys Phe Lys Ser Lys Ala Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser  
     85                       90                       95  
 Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val  
     100                       105                       110  
 Tyr Tyr Cys Glu Leu Gly Gln Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
     115                       120                       125  
 Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
     130                       135                       140  
 Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
     145                       150                       155                       160  
 Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
     165                       170                       175  
 Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
     180                       185                       190  
 Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
     195                       200                       205  
 Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr  
     210                       215                       220  
 Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr  
     225                       230                       235                       240  
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe  
     245                       250                       255  
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
     260                       265                       270  
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
     275                       280                       285  
 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
     290                       295                       300  
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
     305                       310                       315                       320  
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
     325                       330                       335  
 Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
     340                       345                       350  
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
     355                       360                       365  
 Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val  
     370                       375                       380  
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
     385                       390                       395                       400  
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
     405                       410                       415  
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
     420                       425                       430  
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
     435                       440                       445  
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
     450                       455                       460

<210> 43  
 <211> 339  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность  
 .  
 <220>

<223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

<400> 43  
cagggtgcagtc tggtgcatgc tggtggcttag gtgaagaagc ctggggccctc aqgtgaagggtt 60  
tccctgcaggc catctggata caccttcacc agctactggta tgcactgggt gcgacaggcc 120  
cctggacaag ggcttgatgt gatcgaaat attaatccca gcaatgggtgg tactaactac 180  
aatgagaagt tcaagagcaaa ggccaccatg accaggacca cgtccacgag cacagcctac 240  
atggagctga gcagccttag atctgaggac acggccgtgt attactgtga actgggacag 300  
ggctactggg gccaggaaac actagtccaca gtctccca 339

<210> 44

<211> 1389

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

<400> 44  
atgggatggc gctgttatcat ccttttttg gtagcaacag ctacagggtgt ccactcccaag 60  
gtgcagctgg tgcagtctgg ggctgaggtg aagaaggctg gggccctcagt gaaggtttcc 120  
tgcaaggcat ctggatcac cttcacccgc tactggatgc actgggtgcg acaggcccct 180  
ggacaaggcc ttgagtggat cggaaatatt aatcttagca atgggtgtac taactacaat 240  
gagaagtgc aagcaaggc caccatgacc agggacacgt ccacgagcac agcctacatg 300  
gagctgatca gcctgatca tgaggacacg gccgtgtatt actgtgaact gggacagggc 360  
tactggggcc agggAACACT agtcacagtc tcctcagecct ccaacaaaggg cccatcggtc 420  
ttccccctgg cacccttcac caagacgacc tctggggcga cagcggccct gggctgcctg 480  
gtcaaggact acttcccca gaccgtgcacg gtgtcggtga actcaggcgc cctgaccagc 540  
ggcgtgcaca ctttcccgcc tgccttacag tcctcaggac tctactccct cagcagcggt 600  
gtgaccgtgc cctccagcag cttggggcacc cagacccata tcgtcaacgt gaatcacaag 660  
cccaagcaaca ccaagggtgg caagaaagt gaggccaaat ctttgtacaa aactcacaca 720  
tggccacccgt gcccacccat tgaactcgcc gggcaccgt cagtcttcct ttccccccca 780  
aaaccccaagg acaccctcat gatctcccg accccctgagg tccacatcggt ggtgggtggac 840  
gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc aactgggtacg tggacggcgt ggaggtgcac 900  
aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcggtc 960  
ctcaccgtcc tgcaccaggta ctggctgtat ggcacaggat acaagtgcac ggtctccaaac 1020  
aaagccctcc cagccccat cgagaaaacc atctccaaag ccaaaaggca gccccggagaa 1080  
ccacagggtgt acaccctgc cccatcccg gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg 1140  
acctgcctgg tcaaagggtt ctatcccgac gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg 1200  
cagccggaga acaactacaa gaccacccct cccgtctgg actccgcacgg ctcccttc 1260  
ctctacagca agctcaccgt ggacaagacg aggtggcagc agggggacgt cttctcatgc 1320  
tccgtatgc atggggctct gcacaaccac tacacgcaga agaccccttc cctgtctccg 1380  
ggtaaatgta 1389

<210> 45

<211> 4

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

<400> 45

Met Gin Gly Tyr

1

<210> 46

<211> 200

<212> ПРТ  
<213> Callithrix jacchus

<400> 46  
Val Gln Asp Ser Leu Cys Pro Val Ala Gln Leu Cys Pro Ser Phe Glu  
1 5 10 15  
Glu Ser Glu Ala Thr Pro Ser Pro Val Leu Pro Asp Ile Val Met Glu  
20 25 30  
Ala Pro Leu Asn Ser Ala Val Pro Ser Ala Gly Ala Ser Ala Val Gln  
35 40 45  
Pro Ser Ser Ser Pro Leu Glu Ala Ser Ser Val Asn Phe Glu Ser Val  
50 55 60  
Lys His Glu Pro Glu Asn Pro Pro Pro Tyr Glu Glu Ala Met Asn Val  
65 70 75 80  
Ser Arg Lys Lys Val Ser Gly Ile Lys Glu Glu Ile Lys Glu Pro Glu  
85 90 95  
Ser Ile Asn Ala Ala Val Gln Glu Thr Glu Ala Pro Tyr Ile Ser Ile  
100 105 110  
Ala Cys Asp Leu Ile Lys Glu Thr Lys Leu Ser Ala Glu Pro Thr Pro  
115 120 125  
Asp Phe Ser Ser Tyr Ser Glu Met Ala Lys Val Glu Gln Pro Leu Pro  
130 135 140  
Asp His Ser Glu Leu Val Glu Asp Ser Ser Pro Asp Ser Glu Pro Val  
145 150 155 160  
Asp Leu Phe Ser Asp Asp Ser Ile Pro Asp Val Pro Gln Lys Gln Asp  
165 170 175  
Glu Ala Val Ile Leu Val Lys Glu Thr Leu Thr Glu Thr Ser Phe Glu  
180 185 190  
Ser Met Ile Glu His Glu Asn Lys  
195 200

<210> 47  
<211> 113  
<212> ПРТ  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

<400> 47  
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
1 5 10 15  
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr  
20 25 30  
Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
35 40 45  
Gly Asn Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe  
50 55 60  
Lys Ser Arg Ala Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Ala Tyr  
65 70 75 80  
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95  
Glu Leu Met Gln Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser  
100 105 110  
Ser

<210> 48  
<211> 113  
<212> ПРТ  
<213> Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

<223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

&lt;400&gt; 48

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

&lt;210&gt; 49

&lt;211&gt; 113

&lt;212&gt; ПРТ

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

<223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

&lt;400&gt; 49

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

&lt;210&gt; 50

&lt;211&gt; 339

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

<223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

&lt;400&gt; 50

caggtgcagc tggtgcaagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60  
 tcctgcaagg catctggata cacttcacc agtactgga tgcactgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatcgaaat attaatccta gcaatggtgg tactaactac 180  
 aatgagaagt tcaagagcag agccaccatg accagggaca cgtccacgag cacagcctac 240  
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtga actgatgcag 300  
 ggctactggg gccagggAAC actagtacaca gtctcctca 339

<210> 51  
 <211> 339  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность  
  
 <220>  
 <223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

<400> 51  
 caggtgcagc tgggtcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggTT 60  
 tcctgcaagg catctggata caccctcacc agctactgga tgcactgggt gaaacagcga 120  
 cctggacaag ggcttgagtg gateggaaat attaatccta gcaatggtgg tactaactac 180  
 aatgagaagt tcaagagcaa agccaccctc accgtcgaca aatccacgag cacagcctac 240  
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtga actgatgcag 300  
 ggctactggg gccagggAAC actagtacaca gtctcctca 339

<210> 52  
 <211> 339  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность  
  
 <220>  
 <223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

<400> 52  
 caggtgcagc tgggtcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggTT 60  
 tcctgcaagg catctggata caccctcacc agctactgga tgcactgggt gcgacaggCC 120  
 cctggacaag ggcttgagtg gateggaaat attaatccta gcaatggtgg tactaactac 180  
 aatgagaagt tcaagagcaa ggccaccatg accagggaca cgtccacgag cacagcctac 240  
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtga actgatgcag 300  
 ggctactggg gccagggAAC actagtacaca gtctcctca 339

<210> 53  
 <211> 462  
 <212> ПРТ  
 <213> Искусственная последовательность  
  
 <220>  
 <223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

<400> 53  
 Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly  
 1 5 10 15  
 Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys  
 20 25 30  
 Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe  
 35 40 45  
 Thr Ser Tyr Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu  
 50 55 60  
 Glu Trp Ile Gly Asn Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Tyr Asn  
 65 70 75 80  
 Glu Lys Phe Lys Ser Arg Ala Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser  
 85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val  
 100 105 110  
 Tyr Tyr Cys Glu Leu Met Gln Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
 115 120 125  
 Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
 130 135 140  
 Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
 145 150 155 160  
 Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
 165 170 175  
 Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
 180 185 190  
 Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
 195 200 205  
 Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr  
 210 215 220  
 Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr  
 225 230 235 240  
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe  
 245 250 255  
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 260 265 270  
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
 275 280 285  
 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
 290 295 300  
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
 305 310 315 320  
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
 325 330 335  
 Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
 340 345 350  
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
 355 360 365  
 Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val  
 370 375 380  
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
 385 390 395 400  
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 405 410 415  
 Gly Ser Phe Phe Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 420 425 430  
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
 435 440 445  
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 450 455 460

&lt;210&gt; 54

&lt;211&gt; 462

&lt;212&gt; ПРТ

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из mus musculus и homo sapiens

&lt;400&gt; 54

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly  
 1 5 10 15  
 Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys  
 20 25 30  
 Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe  
 35 40 45

Thr Ser Tyr Trp Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu  
 50 55 60  
 Glu Trp Ile Gly Asn Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Tyr Asn  
 65 70 75 80  
 Glu Lys Phe Lys Ser Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser  
 85 90 95  
 Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val  
 100 105 110  
 Tyr Tyr Cys Glu Leu Met Gln Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
 115 120 125  
 Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
 130 135 140  
 Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
 145 150 155 160  
 Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
 165 170 175  
 Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
 180 185 190  
 Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
 195 200 205  
 Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr  
 210 215 220  
 Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr  
 225 230 235 240  
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe  
 245 250 255  
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 260 265 270  
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
 275 280 285  
 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
 290 295 300  
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
 305 310 315 320  
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
 325 330 335  
 Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
 340 345 350  
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
 355 360 365  
 Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val  
 370 375 380  
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
 385 390 395 400  
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 405 410 415  
 Gly Ser Phe Phe Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 420 425 430  
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
 435 440 445  
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 450 455 460

&lt;210&gt; 55

&lt;211&gt; 462

&lt;212&gt; ПРТ

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

<223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

&lt;400&gt; 55

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly  
 1 5 10 15  
 Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys  
 20 25 30  
 Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe  
 35 40 45  
 Thr Ser Tyr Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu  
 50 55 60  
 Glu Trp Ile Gly Asn Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Tyr Asn  
 65 70 75 80  
 Glu Lys Phe Lys Ser Lys Ala Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser  
 85 90 95  
 Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val  
 100 105 110  
 Tyr Tyr Cys Glu Leu Met Gln Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val  
 115 120 125  
 Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
 130 135 140  
 Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
 145 150 155 160  
 Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
 165 170 175  
 Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
 180 185 190  
 Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
 195 200 205  
 Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr  
 210 215 220  
 Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr  
 225 230 235 240  
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe  
 245 250 255  
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 260 265 270  
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
 275 280 285  
 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
 290 295 300  
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
 305 310 315 320  
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
 325 330 335  
 Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
 340 345 350  
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
 355 360 365  
 Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val  
 370 375 380  
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
 385 390 395 400  
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 405 410 415  
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 420 425 430  
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
 435 440 445  
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 450 455 460

<210> 56  
 <211> 1389  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

<223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

&lt;400&gt; 56

```

atgggatgg gctgtatcat ccttttcttg gtagcaacag ctacagggtg ccactcccg 60
gtcagctgg tgcagtctgg ggctgaggtg aagaagcctg gggcctcagt gaaggttcc 120
tgcaaggcat ctggatacac cttcaccaggc tactggatgc actgggtgcg acaggcccct 180
ggacaaggc ttgagtggat cggaaatatt aatcttagca atgggtgtac taactacaat 240
gagaagttca agagcaagc caccatgacc agggcacgt ccacgagcac agcctacatg 300
gagctgagoa gcctgagatc tgaggacacg gccgtgtatt actgtqaact gatgcagggc 360
tactggggcc agggaaacat agtcacagtc tcctcagcct ccaccaaggg cccatcggtc 420
ttccccctgg caccctccctc caagagcacc tctggggca cagcggccct gggctgcctg 480
gtcaaggact acttccccga accgggtacg gtgtctgtgg actcaggcgc cctgaccaggc 540
ggcgtgcaca cttccccggc tgcctctacag tcctcaggac tctaactccct cagcagcgtg 600
gtgaccgtgc cttccagcag cttgggaccc cagacccata totgcaacgt gaatcacaag 660
cccagcaaca ccaaggtgga caagaaagtt gagccaaat ctgtgacaa aactcacaca 720
tgccccacgt gccccaccc tgaactcgcc ggggacccgt cagtcctctt ctccccccca 780
aaacccaagg acaccctcat gatctcccg accctgggg tcacatgtg ggtgggtggac 840
gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc aactgttacg tggacggcgt ggaggtgcat 900
aatgccaaga caaagcccgcc ggaggagcag tacaacagca cgtaacctgt ggtcagcgtc 960
ctcaccgtcc tgcaccaggc ctggctgtat ggcaaggagt acaagtgc aaatcccaac 1020
aaagccctcc cagcccccat cgagaaaaacc atctccaaag ccaaaggcga gccccgagaa 1080
ccacagggtt acaccctgcc cccatcccg gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg 1140
acctgcctgg tcaaaaggctt ctatcccaacg gacatccggc tggagtggg gagaatggg 1200
cagccggaga acaactacaa gaccacgcct cccgtgtgg actccgacgg ctcttcttc 1260
ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc aggtggcagc agggaaacgt ctctctatgc 1320
tccgtatgc atgaggctct gcacaaccac tacacgcaga agaccccttc cctgtctccg 1380
ggtaatgt

```

&lt;210&gt; 57

&lt;211&gt; 1389

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

<223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

&lt;400&gt; 57

```

atgggatgg gctgtatcat ccttttcttg gtagcaacag ctacagggtg ccactcccg 60
gtcagctgg tgcagtctgg ggctgaggtg aagaagcctg gggcctcagt gaaggttcc 120
tgcaaggcat ctggatacac cttcaccaggc tactggatgc actgggtgaa acacgcaccc 180
ggacaaggc ttgagtggat cggaaatatt aatcttagca atgggtgtac taactacaat 240
gagaagttca agagcaacg caccatgacc gtcgacaaat ccacgagcac agcctacatg 300
gagctgagoa gctgtgatc tgaggacacg gccgtgtatt actgtqaact gatgcagggc 360
tactggggcc agggaaacat agtcacagtc tcctcagcct ccaccaaggg cccatcggtc 420
ttccccctgg caccctccctc caagagcacc tctggggca cagcggccct gggctgcctg 480
gtcaaggact acttccccga accgggtacg gtgtctgtgg actcaggcgc cctgaccaggc 540
ggcgtgcaca cttccccggc tgcctctacag tcctcaggac tctaactccct cagcagcgtg 600
gtgaccgtgc cttccagcag cttgggaccc cagacccata totgcaacgt gaatcacaag 660
cccagcaaca ccaaggtgga caagaaagtt gagccaaat ctgtgacaa aactcacaca 720
tgccccacgt gccccaccc tgaactcgcc ggggacccgt cagtcctctt ctccccccca 780
aaacccaagg acaccctcat gatctcccg accctgggg tcacatgtg ggtgggtggac 840
gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc aactgttacg tggacggcgt ggaggtgcat 900
aatgccaaga caaagcccgcc ggaggagcag tacaacagca cgtaacctgt ggtcagcgtc 960
ctcaccgtcc tgcaccaggc ctggctgtat ggcaaggagt acaagtgc aaatcccaac 1020
aaagccctcc cagcccccat cgagaaaaacc atctccaaag ccaaaggcga gccccgagaa 1080
ccacagggtt acaccctgcc cccatcccg gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg 1140
acctgcctgg tcaaaaggctt ctatcccaacg gacatccggc tggagtggg gagaatggg 1200
cagccggaga acaactacaa gaccacgcct cccgtgtgg actccgacgg ctcttcttc 1260
ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc aggtggcagc agggaaacgt ctctctatgc 1320
tccgtatgc atgaggctct gcacaaccac tacacgcaga agaccccttc cctgtctccg 1380

```

ggtaaatga

1389

<210> 58  
<211> 1389  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

<400> 58

```
atgggatgga gctgtatcat cctttcttg gtagcaacag ctacagggtgt ccactcccaag 60
gtgcagctgg tgcagtctgg ggctgaggat aagaaggctg gggcctcagt gaaggtttcc 120
tgcaaggcat ctggatacac cttcaccagg tactggatgc actgggtgcg acaggccct 180
ggacaagggc ttgagttggat cggaaatatt aatccctagca atgggtgtac taactacaat 240
gagaagtica agagcaaggc caccatgacc agggacacgt ccacgagcac agcctacatg 300
gagctgagca gcctgagatc tgaggacacg gccgtgtatt actgtgaact gatgcaggc 360
tactggggcc agggAACACT agtcacagtc tcctcaggcct ccaccaaggg cccatcggtc 420
ttccccctgg caccctcctc caagacacc tctggggca cagcggccct gggctgcgt 480
gtcaaggact acttccccca accgggtgacg gtgtcggtga actcaggcgc cctgaccagc 540
ggcgtgcaca ccttcccccgt tgccttagac tcctcaggcct tctactccct cagcagcgtg 600
gtgaccgtgc cctccagcag ctggggcacc cagacatcaca tctgcaacgt gaatcacaaag 660
cccagcaaca ccaagggtgga caagaaagtt gagcccaaattt cttgtgacaa aactcacaca 720
tgccccaccgt gcccagcacc tgaactcgcg gggcaccgt cagtcttctt cttcccccca 780
aaaccccaagg acaccctcat gatctcccg acccctgagg tcacatgcgt ggtgggtggac 840
gtgagccacg aagaccctga ggtcaatgtc aactggatcg tggacggcgt ggaggtgcgt 900
aatgccaaga caaaggcccg ggaggaggcgt tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc 960
ctcaccgttc tgacccaggaa ctggctgaat ggcaggaaatc acaagtgc aaatccaaac 1020
aaagccctcc cagcccccattt cgagaaaacc atctccaaag ccaaaggcga gccccgagaa 1080
ccacagggtgt acaccctgtcc cccatccccgg gatgagctga ccaagaacca ggtcagccctg 1140
acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccgac gacatcgccg tggagttggaa gagcaatggg 1200
cagccggaga acaactacaa gaccacgtt cccctgtgtgg actccgacgg ctccttcttc 1260
cttctacacgtt agtcacccgtt ggacaaggcgtt aggtggcagc aggaaaacgtt cttctcatgtc 1320
tccgtgttc atgaggctt ttccatccatc tacacgcaga aggcctctc cctgttccgtt 1380
ggtaaatga 1389
```

<210> 59  
<211> 462  
<212> ПРТ  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Конструкция химерного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

<400> 59

Met	Gly	Trp	Ser	Cys	Ile	Ile	Leu	Phe	Leu	Val	Ala	Ala	Ala	Thr	Gly
1					5				10					15	
Val	His	Ser	Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Gln	Pro	Gly	Thr	Glu	Leu	Val	Lys
									20		25			30	
Pro	Gly	Ala	Ser	Val	Lys	Leu	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe
								35		40		45			
Thr	Ser	Tyr	Trp	Met	His	Trp	Val	Lys	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu
								50		55		60			
Glu	Trp	Ile	Gly	Asn	Ile	Asn	Pro	Ser	Asn	Gly	Gly	Thr	Asn	Tyr	Asn
								65		70		75			80
Glu	Lys	Phe	Lys	Ser	Lys	Ala	Thr	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Ser	Ser
								85		90		95			
Thr	Ala	Tyr	Met	Gln	Leu	Ser	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Ser	Ala	Val
								100		105		110			
Tyr	Tyr	Cys	Glu	Leu	Met	Gln	Gly	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val
								115		120		125			

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
 130 135 140  
 Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
 145 150 155 160  
 Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
 165 170 175  
 Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
 180 185 190  
 Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
 195 200 205  
 Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr  
 210 215 220  
 Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr  
 225 230 235 240  
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe  
 245 250 255  
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 260 265 270  
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
 275 280 285  
 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
 290 295 300  
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
 305 310 315 320  
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
 325 330 335  
 Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
 340 345 350  
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
 355 360 365  
 Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val  
 370 375 380  
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
 385 390 395 400  
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 405 410 415  
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 420 425 430  
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
 435 440 445  
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 450 455 460

<210> 60  
 <211> 12  
 <212> ПРТ  
 <213> Homo sapiens

<400> 60  
 Val Leu Pro Asp Ile Val Met Glu Ala Pro Leu Asn  
 1 5 10

<210> 61  
 <211> 113  
 <212> ПРТ  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из mus musculus и homo sapiens

<400> 61

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

&lt;210&gt; 62

&lt;211&gt; 4

&lt;212&gt; ПРТ

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из mus musculus и homo sapiens

&lt;400&gt; 62

Gly Gln Ser Tyr

1

&lt;210&gt; 63

&lt;211&gt; 113

&lt;212&gt; ПРТ

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из mus musculus и homo sapiens

&lt;400&gt; 63

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

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

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

Gly Asn Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe  
 50 55 60

Lys Ser Arg Ala Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

Glu Leu Gly Gln Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser  
 100 105 110

Ser

&lt;210&gt; 64

&lt;211&gt; 113

&lt;212&gt; ПРТ

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

<223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

&lt;400&gt; 64

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

&lt;210&gt; 65

&lt;211&gt; 113

&lt;212&gt; ПРТ

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

<223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

&lt;400&gt; 65

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

&lt;210&gt; 66

&lt;211&gt; 113

&lt;212&gt; ПРТ

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

<223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

&lt;400&gt; 66

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

<210> 67  
 <211> 112  
 <212> ПРТ  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

<400> 67  
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly  
 1               5               10               15  
 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Tyr Lys  
 20               25               30  
 Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Arg Gln Arg Pro Gly Gln Ser  
 35               40               45  
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Met Ser Thr Arg Ala Ser Gly Val Pro  
 50               55               60  
 Asp Arg Phe Ser Gly Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
 65               70               75               80  
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Leu  
 85               90               95  
 Val Glu Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
 100              105              110

<210> 68  
 <211> 112  
 <212> ПРТ  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

<400> 68  
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly  
 1               5               10               15  
 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Tyr Lys  
 20               25               30  
 Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser  
 35               40               45  
 Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Leu Met Ser Thr Arg Ala Ser Gly Val Pro  
 50               55               60  
 Asp Arg Phe Ser Gly Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
 65               70               75               80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Leu  
           85                   90                   95  
 Val Glu Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
           100               105               110

&lt;210&gt; 69

&lt;211&gt; 112

&lt;212&gt; ПРТ

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

<223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

&lt;400&gt; 69

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

&lt;210&gt; 70

&lt;211&gt; 112

&lt;212&gt; ПРТ

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

<223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

&lt;400&gt; 70

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

&lt;210&gt; 71

&lt;211&gt; 112

&lt;212&gt; ПРТ

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

<223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

&lt;400&gt; 71

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

&lt;210&gt; 72

&lt;211&gt; 112

&lt;212&gt; ПРТ

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

<223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

&lt;400&gt; 72

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

&lt;210&gt; 73

&lt;211&gt; 16

&lt;212&gt; ПРТ

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 73

Thr	Pro	Ser	Pro	Val	Leu	Pro	Asp	Ile	Val	Met	Glu	Ala	Pro	Leu	Asn
1					5				10				15		

&lt;210&gt; 74

&lt;211&gt; 16

&lt;212&gt; ПРТ

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 74

Val Leu Pro Asp Ile Val Met Glu Ala Pro Leu Asn Ser Ala Val Pro  
1 5 10 15

<210> 75

<211> 4

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

<400> 75

Arg Gln Gly Tyr

1

<210> 76

<211> 4

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

<400> 76

Ile Gln Gly Tyr

1

<210> 77

<211> 4

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

<400> 77

Gly Asp Gly Tyr

1

<210> 78

<211> 4

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

<400> 78

Gly Ile Gly Tyr

1

<210> 79

<211> 4

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

<400> 79  
 Gly Ser Gly Tyr  
 1

<210> 80  
 <211> 4  
 <212> ПРТ  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

<400> 80  
 Gly Gln Asn Tyr  
 1

<210> 81  
 <211> 4  
 <212> ПРТ  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

<400> 81  
 Gly Gln Tyr Tyr  
 1

<210> 82  
 <211> 4  
 <212> ПРТ  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

<400> 82  
 Gly Gln Leu Tyr  
 1

<210> 83  
 <211> 4  
 <212> ПРТ  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

<400> 83  
 Gly Gln Phe Tyr  
 1

<210> 84  
 <211> 4  
 <212> ПРТ  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

<400> 84  
 Gly Gln Gly Trp  
 1

<210> 85  
 <211> 16  
 <212> ПРТ  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

<400> 85  
 Tyr Glu Ser Ile Lys His Glu Pro Glu Asn Pro Pro Pro Tyr Glu Glu  
 1 5 10 15

<210> 86  
 <211> 4  
 <212> ПРТ  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

<400> 86  
 Trp Gln Gly Tyr  
 1

<210> 87  
 <211> 4  
 <212> ПРТ  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

<400> 87  
 Gly Ala Gly Tyr  
 1

<210> 88  
 <211> 4  
 <212> ПРТ  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

<400> 88  
 Gly Leu Gly Tyr  
 1

<210> 89  
 <211> 4  
 <212> ПРТ  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

<400> 89  
 Gly Val Gly Tyr  
 1

<210> 90  
 <211> 4  
 <212> ПРТ  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Конструкция гуманизированного антитела, содержащая последовательности из *mus musculus* и *homo sapiens*

<400> 90  
 Gly Gln Trp Tyr  
 1

<210> 91  
 <211> 438  
 <212> ПРТ  
 <213> Saimiri boliviensis

<400> 91  
 Met Ser Pro Ile Leu Gly Tyr Trp Lys Ile Lys Gly Leu Val Gln Pro  
 1 5 10 15  
 Thr Arg Leu Leu Glu Tyr Leu Glu Lys Tyr Glu Glu His Leu  
 20 25 30  
 Tyr Glu Arg Asp Glu Gly Asp Lys Trp Arg Asn Lys Lys Phe Glu Leu  
 35 40 45  
 Gly Leu Glu Phe Pro Asn Leu Pro Tyr Tyr Ile Asp Gly Asp Val Lys  
 50 55 60  
 Leu Thr Gln Ser Met Ala Ile Ile Arg Tyr Ile Ala Asp Lys His Asn  
 65 70 75 80

Met Leu Gly Gly Cys Pro Lys Glu Arg Ala Glu Ile Ser Met Leu Glu  
 85 90 95  
 Gly Ala Val Leu Asp Ile Arg Tyr Gly Val Ser Arg Ile Ala Tyr Ser  
 100 105 110  
 Lys Asp Phe Glu Thr Leu Lys Val Asp Phe Leu Ser Lys Leu Pro Glu  
 115 120 125  
 Met Leu Lys Met Phe Glu Asp Arg Leu Cys His Lys Thr Tyr Leu Asn  
 130 135 140  
 Gly Asp His Val Thr His Pro Asp Phe Met Leu Tyr Asp Ala Leu Asp  
 145 150 155 160  
 Val Val Leu Tyr Met Asp Pro Met Cys Leu Asp Ala Phe Pro Lys Leu  
 165 170 175  
 Val Cys Phe Lys Lys Arg Ile Glu Ala Ile Pro Gln Ile Asp Lys Tyr  
 180 185 190

Leu Lys Ser Ser Lys Tyr Ile Ala Trp Pro Leu Gln Gly Trp Gln Ala  
 195 200 205  
 Thr Phe Gly Gly Asp His Pro Pro Lys Ser Asp Leu Glu Val Leu  
 210 215 220  
 Phe Gln Gly Pro Leu Gly Ser Met Gln Glu Ser Leu Tyr Pro Val Ala  
 225 230 235 240  
 Gln Leu Cys Pro Ser Phe Glu Glu Ser Glu Ala Thr Pro Ser Pro Val  
 245 250 255  
 Leu Pro Asp Ile Val Met Glu Ala Pro Leu Asn Ser Ala Val Pro Ser  
 260 265 270  
 Ala Val Ala Ser Ala Val Gln Pro Ser Leu Ser Pro Leu Glu Ala Ser  
 275 280 285  
 Ser Val Asn Tyr Glu Ser Val Lys His Glu Pro Glu Asn Pro Pro Pro  
 290 295 300  
 Tyr Glu Glu Ala Met Asn Val Ser Leu Lys Lys Val Ser Gly Ile Lys  
 305 310 315 320  
 Glu Glu Ile Lys Glu Pro Glu Ser Ile Lys Ala Ala Val Gln Glu Thr  
 325 330 335  
 Glu Ala Pro Tyr Ile Ser Ile Ala Cys Asp Leu Ile Lys Glu Thr Lys  
 340 345 350  
 Leu Ser Ala Glu Pro Thr Pro Asp Phe Ser Asn Tyr Ser Glu Met Ala  
 355 360 365  
 Lys Val Glu Gln Pro Leu Pro Asp His Ser Glu Ile Val Glu Asp Ser  
 370 375 380  
 Ser Pro Asp Ser Glu Pro Val Asp Leu Phe Ser Asp Asp Ser Ile Pro  
 385 390 395 400  
 Asp Val Pro Gln Lys Gln Asp Glu Ala Val Ile Leu Val Lys Glu Asn  
 405 410 415  
 Leu Thr Glu Thr Ser Phe Glu Ser Met Ile Glu His Glu Asn Lys Leu  
 420 425 430  
 Glu Arg Pro His Arg Asp  
 435

<210> 92  
 <211> 460  
 <212> IIPT  
 <213> Macaca fascicularis

<400> 92  
 Met Ser Pro Ile Leu Gly Tyr Trp Lys Ile Lys Gly Leu Val Gln Pro  
 1 5 10 15  
 Thr Arg Leu Leu Leu Glu Tyr Leu Glu Glu Lys Tyr Glu Glu His Leu  
 20 25 30  
 Tyr Glu Arg Asp Glu Gly Asp Lys Trp Arg Asn Lys Lys Phe Glu Leu  
 35 40 45  
 Gly Leu Glu Phe Pro Asn Leu Pro Tyr Tyr Ile Asp Gly Asp Val Lys  
 50 55 60  
 Leu Thr Gln Ser Met Ala Ile Ile Arg Tyr Ile Ala Asp Lys His Asn  
 65 70 75 80  
 Met Leu Gly Gly Cys Pro Lys Glu Arg Ala Glu Ile Ser Met Leu Glu  
 85 90 95  
 Gly Ala Val Leu Asp Ile Arg Tyr Gly Val Ser Arg Ile Ala Tyr Ser  
 100 105 110  
 Lys Asp Phe Glu Thr Leu Lys Val Asp Phe Leu Ser Lys Leu Pro Glu  
 115 120 125  
 Met Leu Lys Met Phe Glu Asp Arg Leu Cys His Lys Thr Tyr Leu Asn  
 130 135 140  
 Gly Asp His Val Thr His Pro Asp Phe Met Leu Tyr Asp Ala Leu Asp  
 145 150 155 160  
 Val Val Leu Tyr Met Asp Pro Met Cys Leu Asp Ala Phe Pro Lys Leu  
 165 170 175  
 Val Cys Phe Lys Lys Arg Ile Glu Ala Ile Pro Gln Ile Asp Lys Tyr  
 180 185 190

Leu Lys Ser Ser Lys Tyr Ile Ala Trp Pro Leu Gln Gly Trp Gln Ala  
 195 200 205  
 Thr Phe Gly Gly Asp His Pro Pro Lys Ser Asp Leu Glu Val Leu  
 210 215 220  
 Phe Gln Gly Pro Leu Gly Ser Lys Met Asp Leu Val Gln Thr Ser Glu  
 225 230 235 240  
 Val Met Gln Glu Ser Leu Tyr Pro Ala Ala Gln Leu Cys Pro Ser Phe  
 245 250 255  
 Glu Glu Ser Glu Ala Thr Pro Ser Pro Val Leu Pro Asp Ile Val Met  
 260 265 270  
 Glu Ala Pro Leu Asn Ser Ala Val Pro Ser Ala Gly Ala Ser Ala Val  
 275 280 285  
 Gln Pro Ser Ser Ser Pro Leu Glu Ala Ser Ser Val Asn Tyr Glu Ser  
 290 295 300  
 Ile Ile His Glu Pro Glu Asn Pro Pro Pro Tyr Glu Glu Ala Met Ser  
 305 310 315 320  
 Val Ser Leu Lys Lys Val Ser Gly Ile Lys Glu Glu Ile Lys Glu Pro  
 325 330 335  
 Glu Ser Ile Asn Ala Ala Val Gln Glu Thr Glu Ala Pro Tyr Ile Ser  
 340 345 350  
 Ile Ala Cys Asp Leu Ile Lys Glu Thr Lys Leu Ser Ala Glu Pro Thr  
 355 360 365  
 Pro Asp Phe Ser Asp Tyr Ser Glu Met Ala Lys Val Glu Gln Pro Val  
 370 375 380  
 Pro Asp His Ser Glu Leu Val Glu Asp Ser Ser Pro Asp Ser Glu Pro  
 385 390 395 400  
 Val Asp Leu Phe Ser Asp Asp Ser Ile Pro Asp Val Pro Gln Lys Gln  
 405 410 415  
 Asp Glu Ala Val Met Leu Val Lys Glu Asn Leu Pro Glu Thr Ser Phe  
 420 425 430  
 Glu Ser Met Ile Glu His Glu Asn Lys Glu Lys Leu Ser Ala Leu Pro  
 435 440 445  
 Pro Glu Gly Gly Ser Ser Gly Arg Ile Val Thr Asp  
 450 455 460

<210> 93  
 <211> 438  
 <212> ΠΡΤ  
 <213> Callithrix jacchus

<400> 93  
 Met Ser Pro Ile Leu Gly Tyr Trp Lys Ile Lys Gly Leu Val Gln Pro  
 1 5 10 15  
 Thr Arg Leu Leu Leu Glu Tyr Leu Glu Glu Lys Tyr Glu Glu His Leu  
 20 25 30  
 Tyr Glu Arg Asp Glu Gly Asp Lys Trp Arg Asn Lys Lys Phe Glu Leu  
 35 40 45  
 Gly Leu Glu Phe Pro Asn Leu Pro Tyr Tyr Ile Asp Gly Asp Val Lys  
 50 55 60  
 Leu Thr Gln Ser Met Ala Ile Ile Arg Tyr Ile Ala Asp Lys His Asn  
 65 70 75 80  
 Met Leu Gly Gly Cys Pro Lys Glu Arg Ala Glu Ile Ser Met Leu Glu  
 85 90 95  
 Gly Ala Val Leu Asp Ile Arg Tyr Gly Val Ser Arg Ile Ala Tyr Ser  
 100 105 110  
 Lys Asp Phe Glu Thr Leu Lys Val Asp Phe Leu Ser Lys Leu Pro Glu  
 115 120 125  
 Met Leu Lys Met Phe Glu Asp Arg Leu Cys His Lys Thr Tyr Leu Asn  
 130 135 140  
 Gly Asp His Val Thr His Pro Asp Phe Met Leu Tyr Asp Ala Leu Asp  
 145 150 155 160  
 Val Val Leu Tyr Met Asp Pro Met Cys Leu Asp Ala Phe Pro Lys Leu  
 165 170 175

Val Cys Phe Lys Lys Arg Ile Glu Ala Ile Pro Gln Ile Asp Lys Tyr  
 180 185 190  
 Leu Lys Ser Ser Lys Tyr Ile Ala Trp Pro Leu Gln Gly Trp Gln Ala  
 195 200 205  
 Thr Phe Gly Gly Asp His Pro Pro Lys Ser Asp Leu Glu Val Leu  
 210 215 220  
 Phe Gln Gly Pro Leu Gly Ser Val Gln Asp Ser Leu Cys Pro Val Ala  
 225 230 235 240  
 Gln Leu Cys Pro Ser Phe Glu Glu Ser Glu Ala Thr Pro Ser Pro Val  
 245 250 255  
 Leu Pro Asp Ile Val Met Glu Ala Pro Leu Asn Ser Ala Val Pro Ser  
 260 265 270  
 Ala Gly Ala Ser Ala Val Gln Pro Ser Ser Ser Pro Leu Glu Ala Ser  
 275 280 285  
 Ser Val Asn Phe Glu Ser Val Lys His Glu Pro Glu Asn Pro Pro Pro  
 290 295 300  
 Tyr Glu Glu Ala Met Asn Val Ser Arg Lys Lys Val Ser Gly Ile Lys  
 305 310 315 320  
 Glu Glu Ile Lys Glu Pro Glu Ser Ile Asn Ala Ala Val Gln Glu Thr  
 325 330 335  
 Glu Ala Pro Tyr Ile Ser Ile Ala Cys Asp Leu Ile Lys Glu Thr Lys  
 340 345 350  
 Leu Ser Ala Glu Pro Thr Pro Asp Phe Ser Ser Tyr Ser Glu Met Ala  
 355 360 365  
 Lys Val Glu Gln Pro Leu Pro Asp His Ser Glu Leu Val Glu Asp Ser  
 370 375 380  
 Ser Pro Asp Ser Glu Pro Val Asp Leu Phe Ser Asp Asp Ser Ile Pro  
 385 390 395 400  
 Asp Val Pro Gln Lys Gln Asp Glu Ala Val Ile Leu Val Lys Glu Thr  
 405 410 415  
 Leu Thr Glu Thr Ser Phe Glu Ser Met Ile Glu His Glu Asn Lys Leu  
 420 425 430  
 Glu Arg Pro His Arg Asp  
 435

<210> 94  
 <211> 432  
 <212> MPT  
 <213> Rattus rattus

<400> 94  
 Met Ser Pro Ile Leu Gly Tyr Trp Lys Ile Lys Gly Leu Val Gln Pro  
 1 5 10 15  
 Thr Arg Leu Leu Leu Glu Tyr Leu Glu Glu Lys Tyr Glu Glu His Leu  
 20 25 30  
 Tyr Glu Arg Asp Glu Gly Asp Lys Trp Arg Asn Lys Lys Phe Glu Leu  
 35 40 45  
 Gly Leu Glu Phe Pro Asn Leu Pro Tyr Tyr Ile Asp Gly Asp Val Lys  
 50 55 60  
 Leu Thr Gln Ser Met Ala Ile Ile Arg Tyr Ile Ala Asp Lys His Asn  
 65 70 75 80  
 Met Leu Gly Gly Cys Pro Lys Glu Arg Ala Glu Ile Ser Met Leu Glu  
 85 90 95  
 Gly Ala Val Leu Asp Ile Arg Tyr Gly Val Ser Arg Ile Ala Tyr Ser  
 100 105 110  
 Lys Asp Phe Glu Thr Leu Lys Val Asp Phe Leu Ser Lys Leu Pro Glu  
 115 120 125  
 Met Leu Lys Met Phe Glu Asp Arg Leu Cys His Lys Thr Tyr Leu Asn  
 130 135 140  
 Gly Asp His Val Thr His Pro Asp Phe Met Leu Tyr Asp Ala Leu Asp  
 145 150 155 160  
 Val Val Leu Tyr Met Asp Pro Met Cys Leu Asp Ala Phe Pro Lys Leu  
 165 170 175

Val Cys Phe Lys Lys Arg Ile Glu Ala Ile Pro Gln Ile Asp Lys Tyr  
     180                 185                 190  
 Leu Lys Ser Ser Lys Tyr Ile Ala Trp Pro Leu Gln Gly Trp Gln Ala  
     195                 200                 205  
 Thr Phe Gly Gly Gly Asp His Pro Pro Lys Ser Asp Leu Glu Val Leu  
     210                 215                 220  
 Phe Gln Gly Pro Leu Gly Ser Ile Gln Glu Ser Leu Tyr Pro Thr Ala  
     225                 230                 235                 240  
 Gln Leu Cys Pro Ser Phe Glu Glu Ala Glu Ala Thr Pro Ser Pro Val  
     245                 250                 255  
 Leu Pro Asp Ile Val Met Glu Ala Pro Leu Asn Ser Leu Leu Pro Ser  
     260                 265                 270  
 Ala Gly Ala Ser Val Val Gln Pro Ser Val Ser Pro Leu Glu Ala Pro  
     275                 280                 285  
 Pro Pro Val Ser Tyr Asp Ser Ile Lys Leu Glu Pro Glu Asn Pro Pro  
     290                 295                 300  
 Pro Tyr Glu Glu Ala Met Asn Val Ala Leu Lys Ala Leu Gly Thr Lys  
     305                 310                 315                 320  
 Glu Gly Ile Lys Glu Pro Glu Ser Phe Asn Ala Ala Val Gln Glu Thr  
     325                 330                 335  
 Glu Ala Pro Tyr Ile Ser Ile Ala Cys Asp Leu Ile Lys Glu Thr Lys  
     340                 345                 350  
 Leu Ser Thr Glu Pro Ser Pro Asp Phe Ser Asn Tyr Ser Glu Ile Ala  
     355                 360                 365  
 Lys Phe Glu Lys Ser Val Pro Glu His Ala Glu Leu Val Glu Asp Ser  
     370                 375                 380  
 Ser Pro Glu Ser Glu Pro Val Asp Leu Phe Ser Asp Asp Ser Ile Pro  
     385                 390                 395                 400  
 Glu Val Pro Gln Thr Gln Glu Glu Ala Val Met Leu Met Lys Glu Ser  
     405                 410                 415  
 Leu Thr Glu Val Ser Glu Thr Val Ala Gln His Lys Glu Glu Arg Leu  
     420                 425                 430

&lt;210&gt; 95

&lt;211&gt; 6

&lt;212&gt; IPT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 95

Asp Glu Thr Phe Ala Leu

1                 5

&lt;210&gt; 96

&lt;211&gt; 6

&lt;212&gt; IPT

&lt;213&gt; Homo sapiens

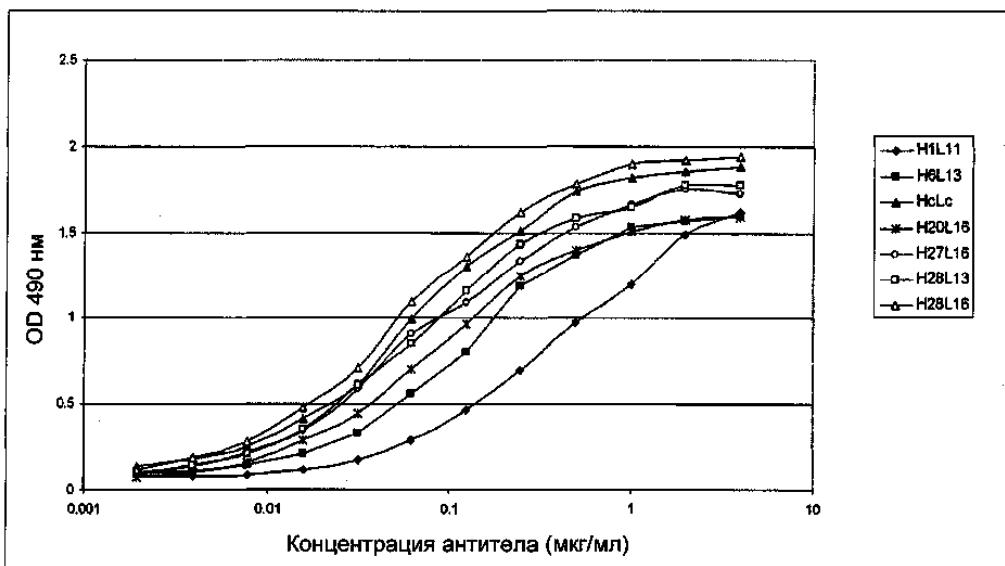
&lt;400&gt; 96

Glu Leu Ser Lys Thr Ser

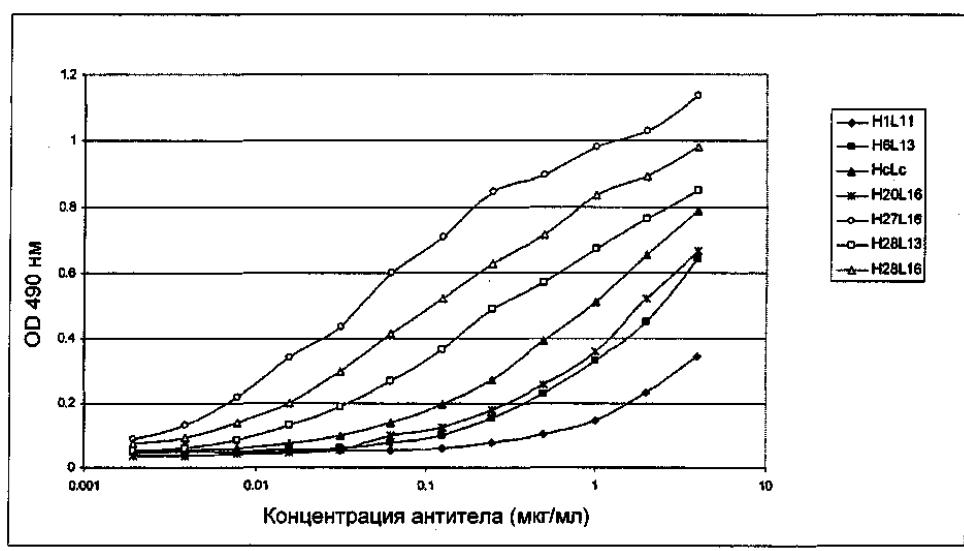
1                 5

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

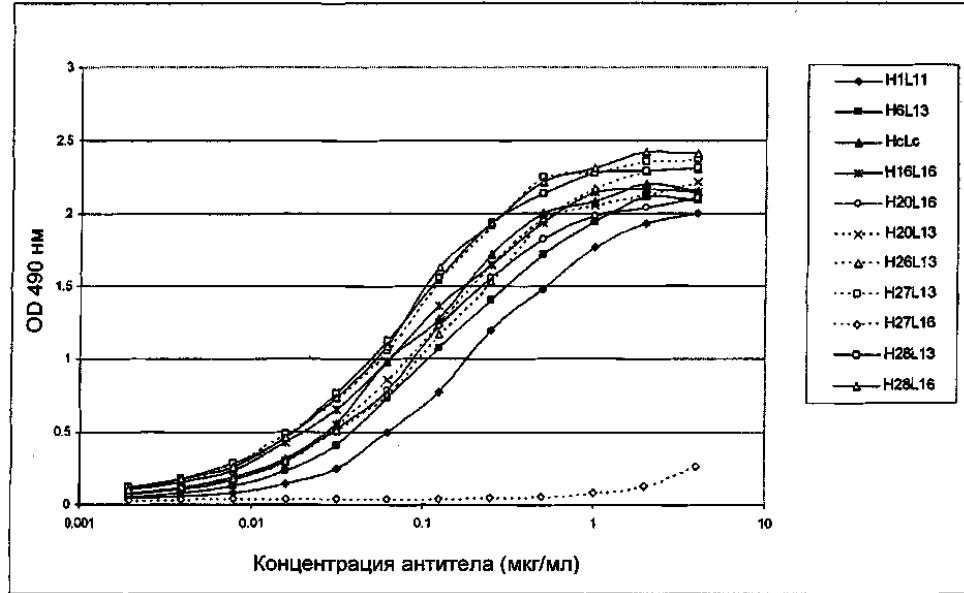
1. Вариабельная область тяжелой цепи антитела, которое связывается с NOGO-A человека, содержащая CDR H3 (область, определяющая комплементарность), состоящую, по существу, из аминокислотных остатков GQGY, где указанная CDR содержит по меньшей мере одну замену в коровой последовательности GQGY, выбранную из следующих замен: где G в первом положении заменен на R, I, W или M; Q во втором положении заменен на D, I, A, L, V или S; G в третьем положении заменен на W, N, Y, S, L или F и Y в четвертом положении заменен на W.
2. Вариабельная область тяжелой цепи по п.1, где присутствует одна замена в последовательности GQGY с получением одной из следующих CDR H3: RQGY (SEQ ID NO:75), IQGY (SEQ ID NO:76), MQGY (SEQ ID NO:45), GDGY (SEQ ID NO:77), GIGY (SEQ ID NO:78), GSGY (SEQ ID NO:79), GQNY (SEQ ID NO:80), GQYY (SEQ ID NO:81), GQSY (SEQ ID NO:62), GQLY (SEQ ID NO:82), GQFY (SEQ ID NO:83), GQGW (SEQ ID NO:84), WQGY (SEQ ID NO:86), GAGY (SEQ ID NO:87), GLGY (SEQ ID NO:88), GVGY (SEQ ID NO:89), GQWY (SEQ ID NO:90).
3. Вариабельная область тяжелой цепи по п.2, где CDR H3 представляет собой MQGY или GQSY.
4. Вариабельная область тяжелой цепи по любому из пп.1-3, содержащая последовательность SYWMH в качестве CDR H1 (SEQ ID NO:1) и NINPSNGGTNYNEKFKS в качестве CDR H2 (SEQ ID NO:2).
5. Вариабельная область тяжелой цепи по любому из пп.1-4, представляющая собой гуманизированную последовательность.
6. Вариабельная область тяжелой цепи по п.5, где последовательность акцепторной вариабельной области тяжелой цепи имеет по меньшей мере 40%-ную идентичность каркасных участков с последовательностью вариабельной области тяжелой цепи донорного антитела 2A10, обозначенной SEQ ID NO:7.
7. Вариабельная область тяжелой цепи по п.6, имеющая аминокислотную последовательность SEQ ID NO:66 (вариабельная область H98) или SEQ ID NO:61 (вариабельная область H99), дополнительно содержащую ряд замен по одному или более аминокислотным положениям 38, 40, 67, 68, 70, 72, 74 и 79, где каждый замещаемый аминокислотный остаток заменен на аминокислотный остаток, находящийся в эквивалентном положении в SEQ ID NO:7.
8. Вариабельная область тяжелой цепи по любому из пп.1-7, имеющая аминокислотную последовательность SEQ ID NO:47 (H26), SEQ ID NO:48 (H27), SEQ ID NO:49 (H28), SEQ ID NO:63 (H100), SEQ ID NO:54 (H101), SEQ ID NO:65 (H102).
9. Выделенное антитело или его фрагмент, способные связываться с человеческим NOGO-A, содержащие вариабельную область тяжелой цепи по любому из пп.1-8 и вариабельную область легкой цепи.
10. Выделенное антитело или его фрагмент по п.7, содержащие следующие пары вариабельных областей тяжелой и легкой цепей: H27L16 (SEQ ID NO:48 + SEQ ID NO:14), H28L13 (SEQ ID NO:49 + SEQ ID NO:13), H28L16 (SEQ ID NO:49 + SEQ ID NO:14).
11. Выделенное антитело, способное связываться с человеческим NOGO-A, содержащее следующие полноразмерные последовательности тяжелой и легкой цепей: H27FL L16FL (SEQ ID NO:54 + SEQ ID NO:18), H28FL L13FL (SEQ ID NO:55 + SEQ ID NO:17), H28FL L16FL (SEQ ID NO:55 + SEQ ID NO:18).
12. Фармацевтическая композиция, содержащая вариабельную область тяжелой цепи антитела по любому из пп.1-8 или антитело или его фрагмент по любому из пп.9-11 вместе с фармацевтически приемлемым разбавителем или носителем.
13. Применение вариабельной области тяжелой цепи антитела по любому из пп.1-8 в изготовлении лекарственного средства для лечения или профилактики инсульта и других неврологических заболеваний/расстройств или для лечения пациента, страдающего от механической травмы центральной или периферической нервной системы.
14. Применение антитела или его фрагмента по любому из пп.9-11 в изготовлении лекарственного средства для лечения или профилактики инсульта и других неврологических заболеваний/расстройств или для лечения пациента, страдающего от механической травмы центральной или периферической нервной системы.
15. Способ лечения или профилактики инсульта или другого неврологического заболевания/расстройства у человека или лечения пациента, страдающего от механической травмы центральной или периферической нервной системы, включающий стадию парентерального введения терапевтически эффективного количества вариабельной области тяжелой цепи антитела по любому из пп.1-8 или антитела или его фрагмента по любому из пп.9-11.
16. Полинуклеотид, который кодирует часть антитела, способного связываться с человеческим NOGO-A и содержащего вариабельную область тяжелой цепи по п.1, где указанная часть имеет последовательность, представленную в SEQ ID NO:47, 48, 49, 53, 54 или 55.



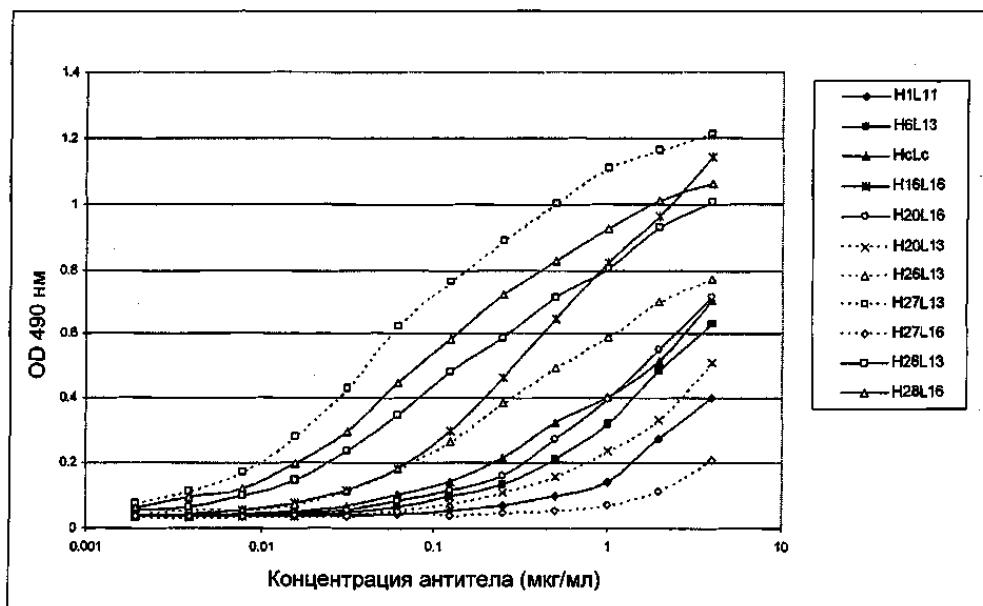
Фиг. 1



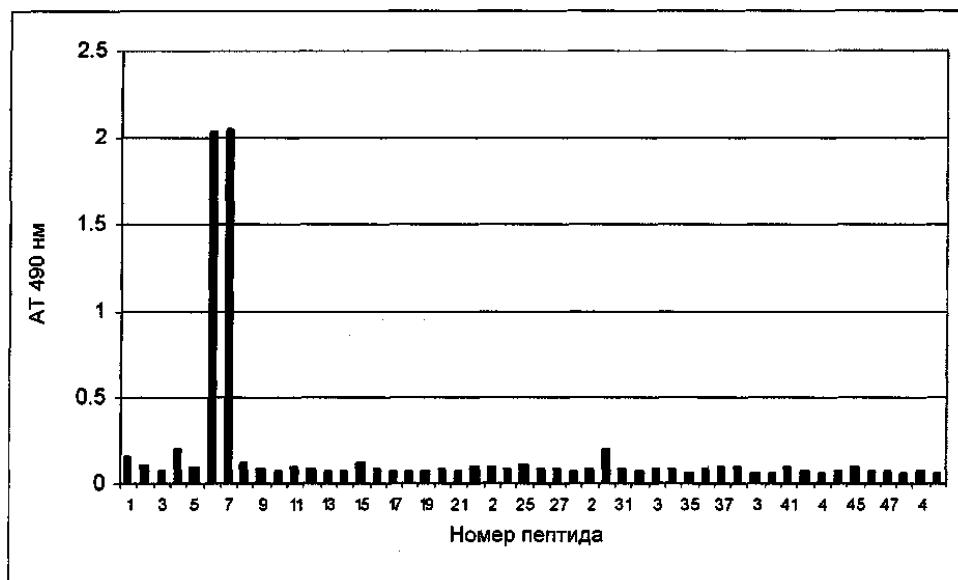
Фиг. 2



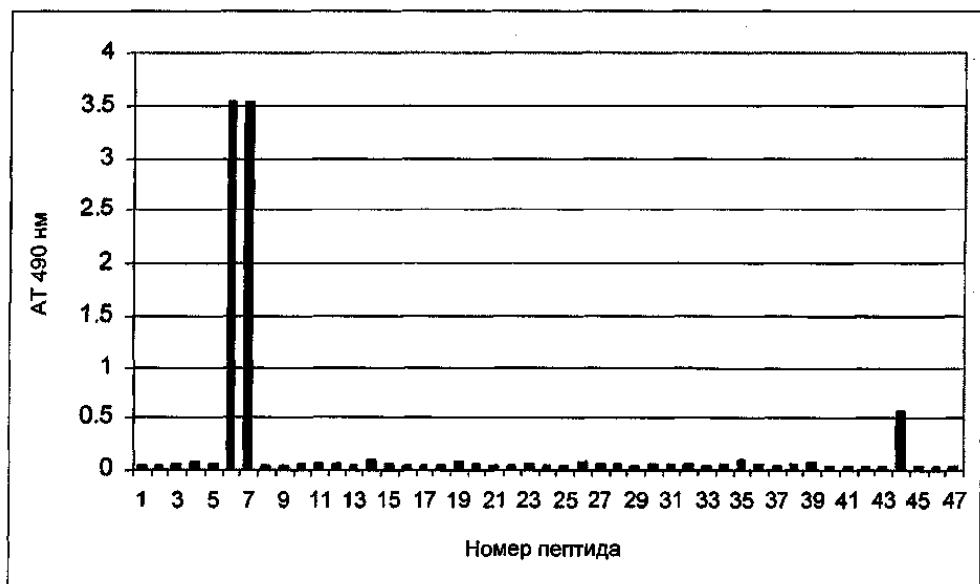
Фиг. 3



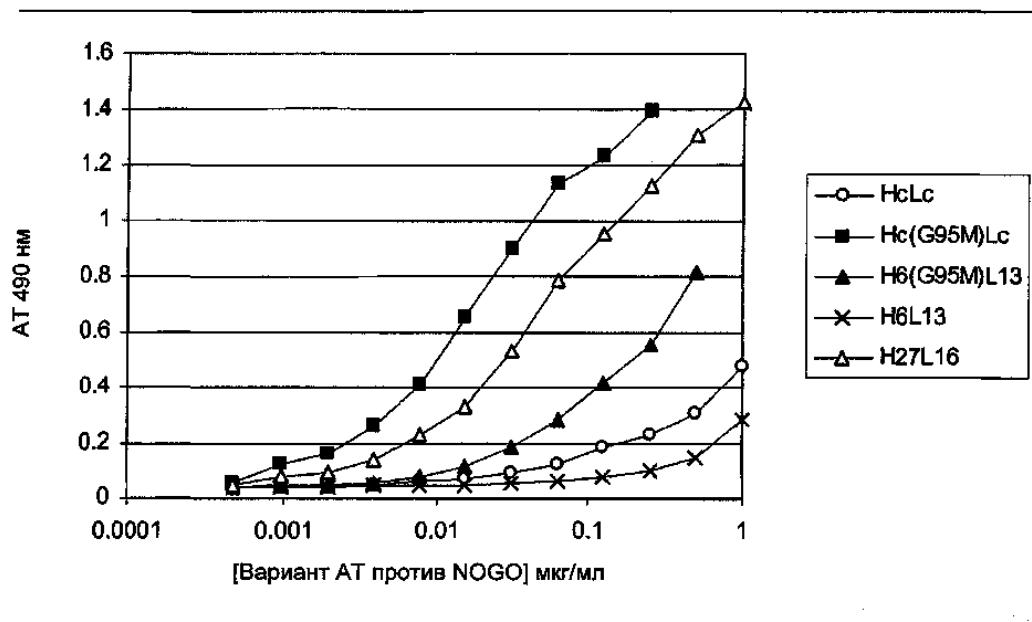
Фиг. 4



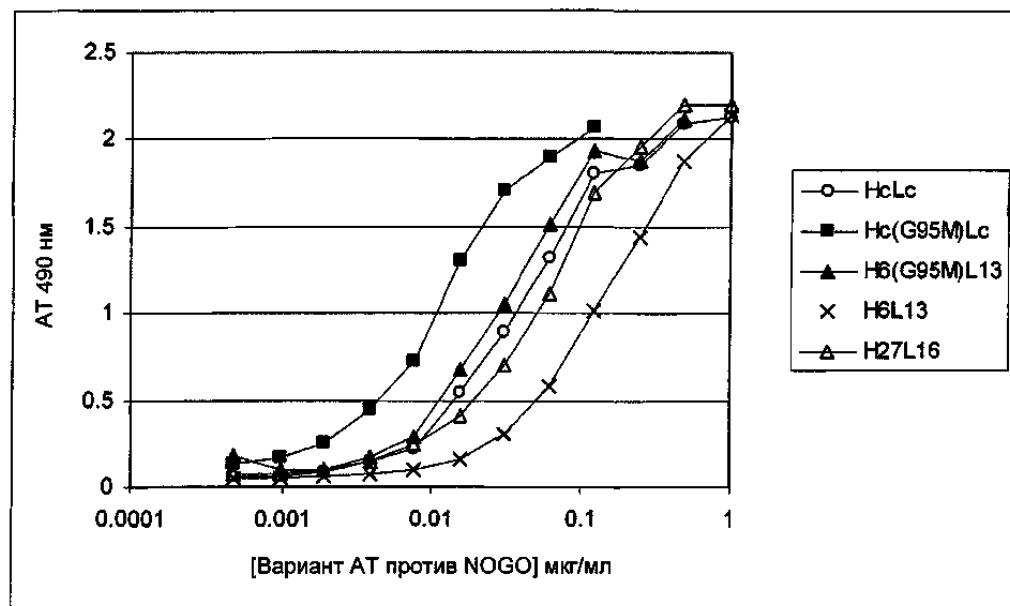
Фиг. 5



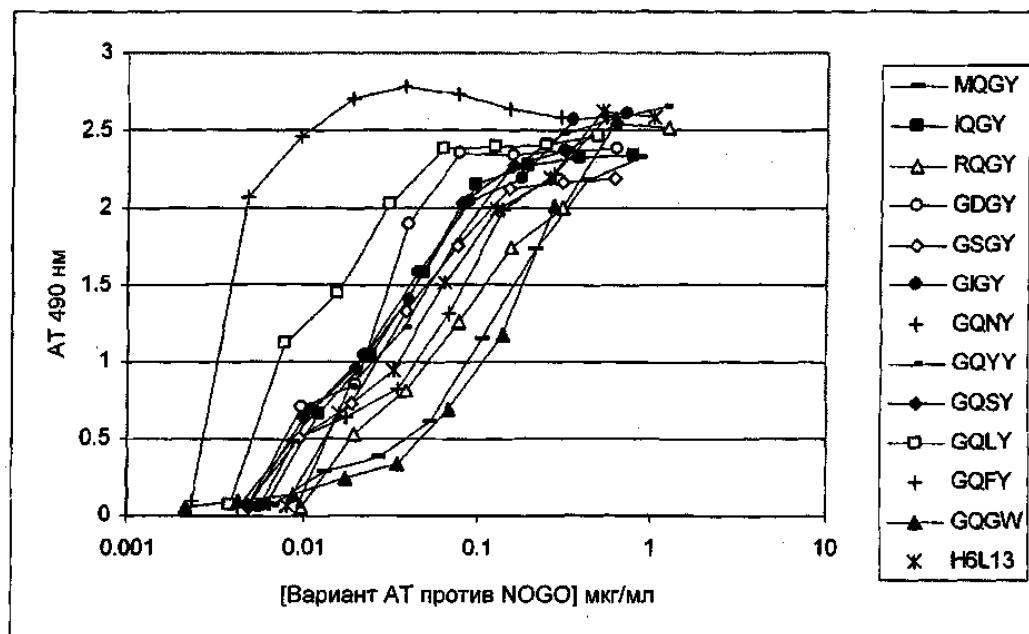
Фиг. 6



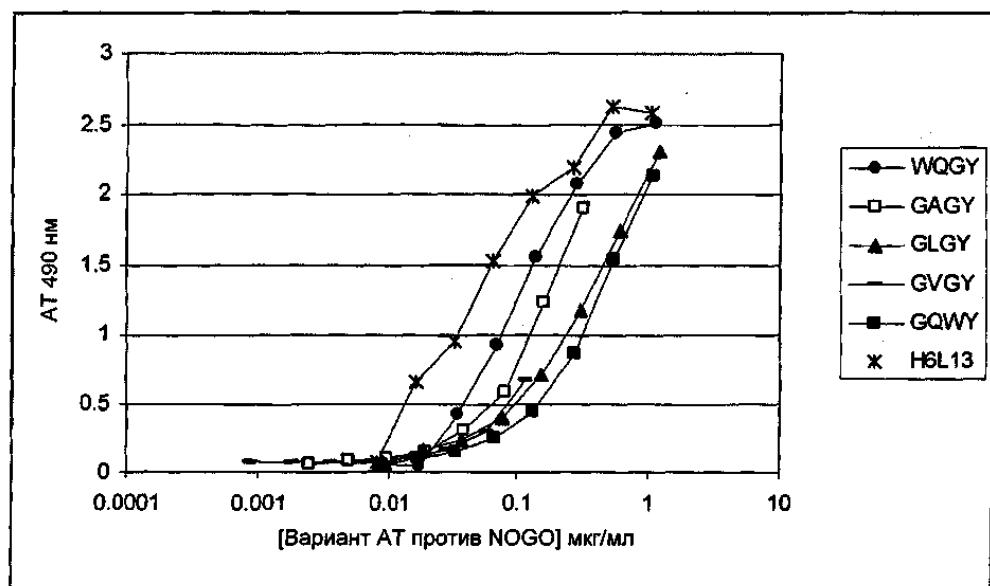
Фиг. 7



Фиг. 8

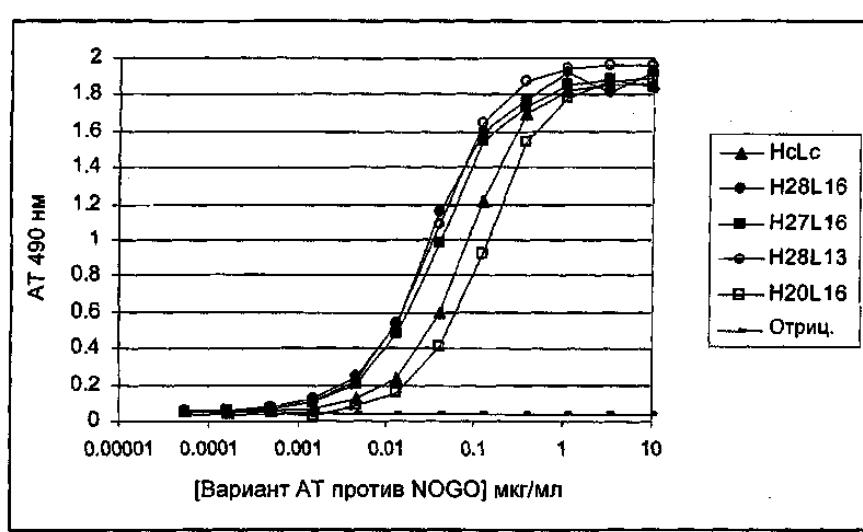


Фиг. 9

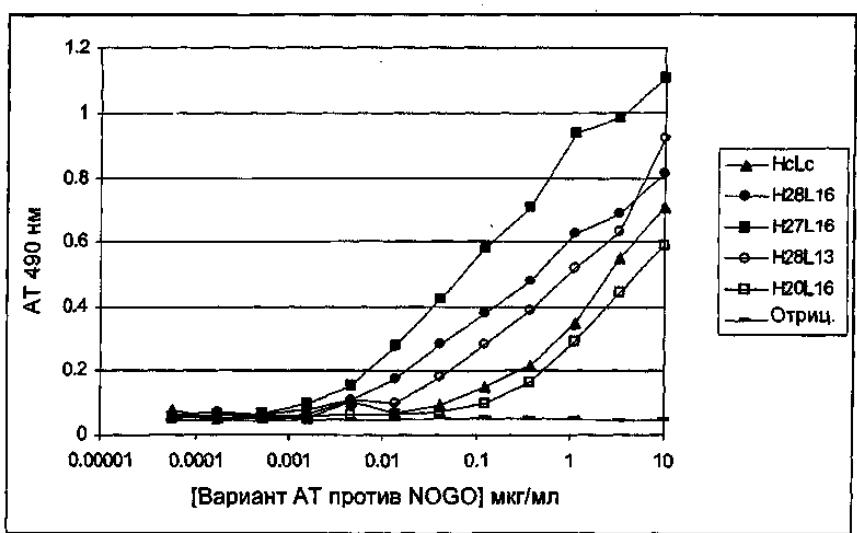


Фиг. 10

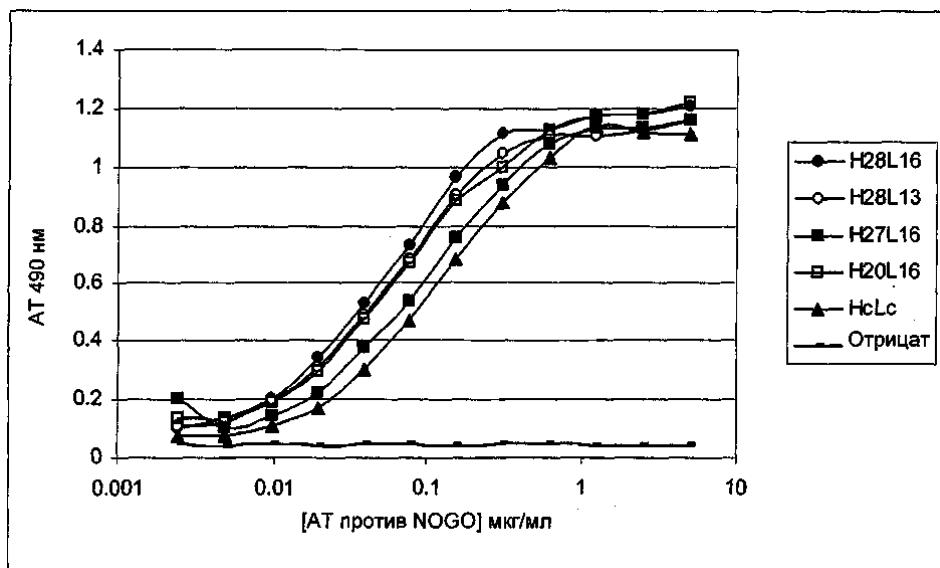
A



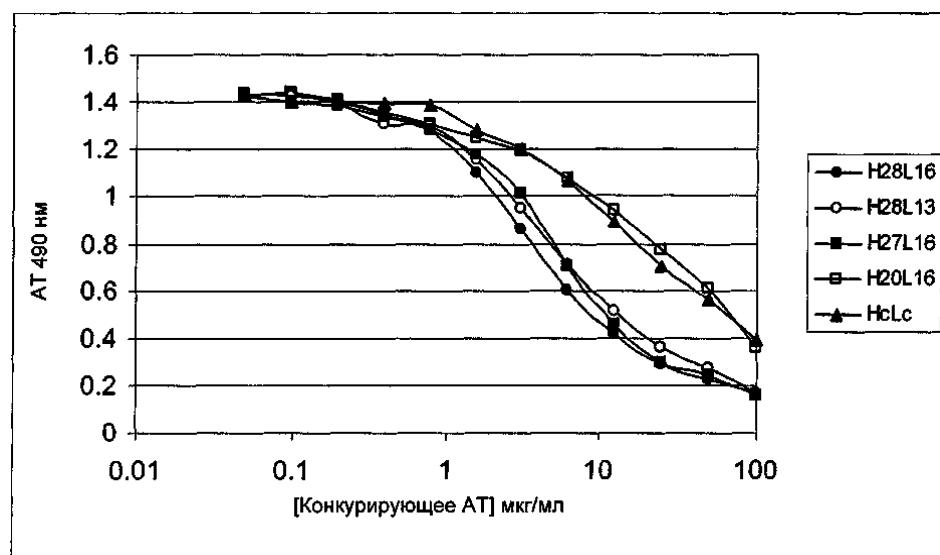
Б



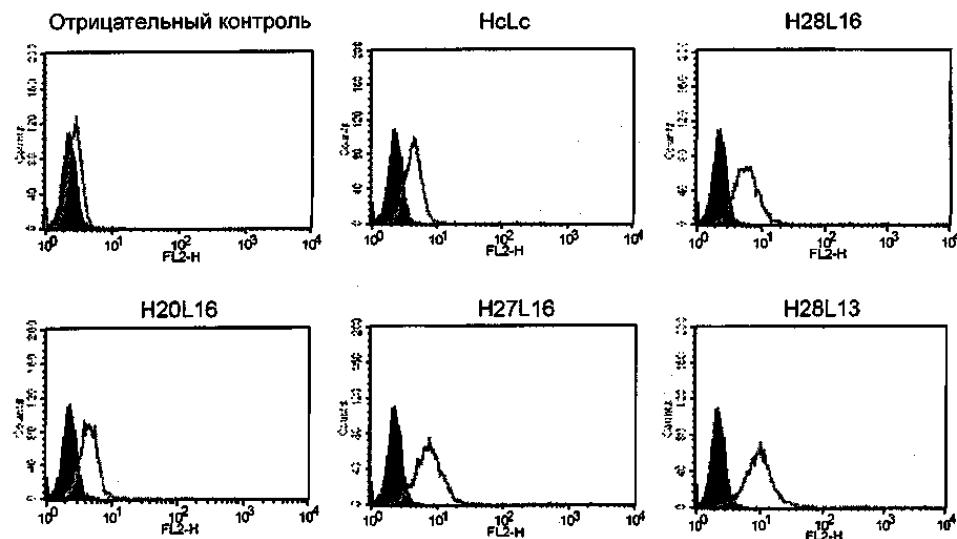
Фиг. 11



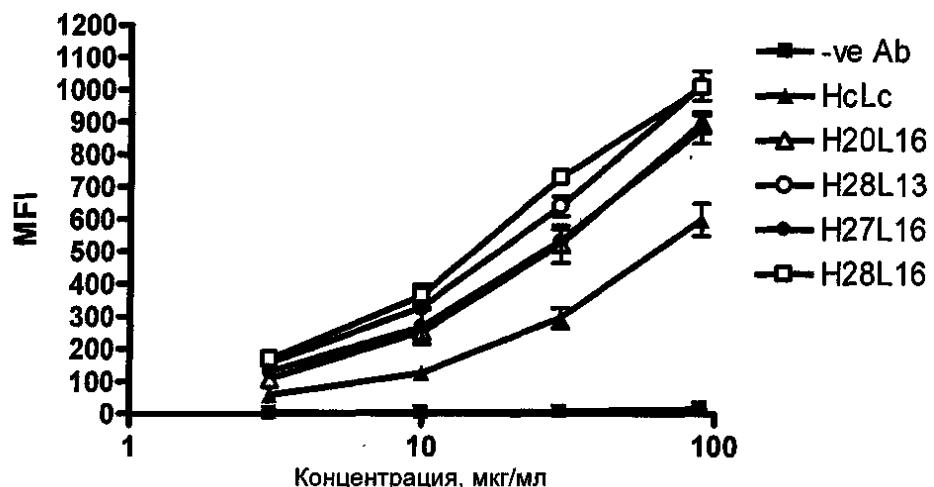
Фиг. 12



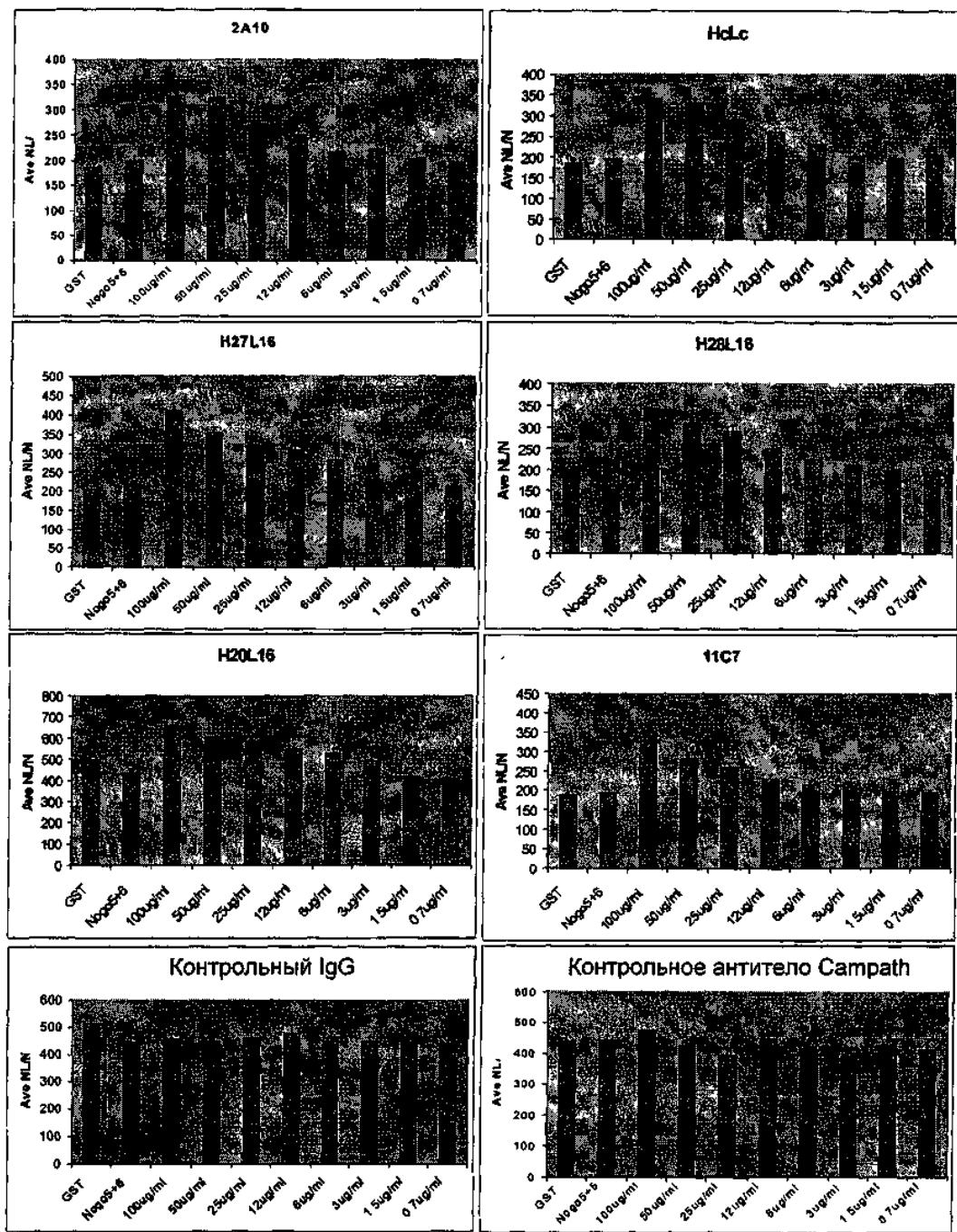
Фиг. 13



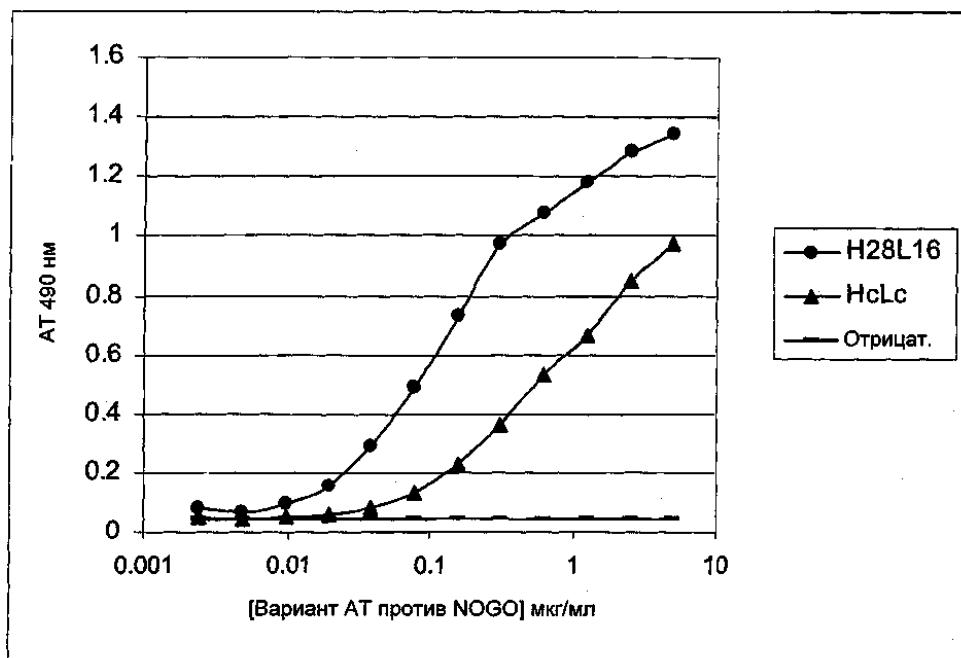
Фиг. 14



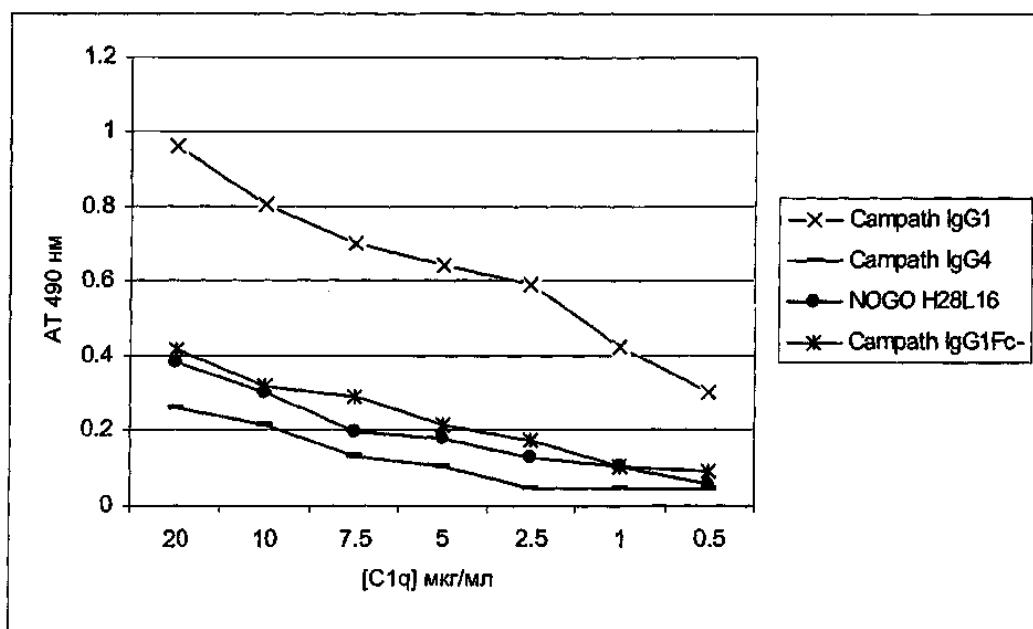
Фиг. 15



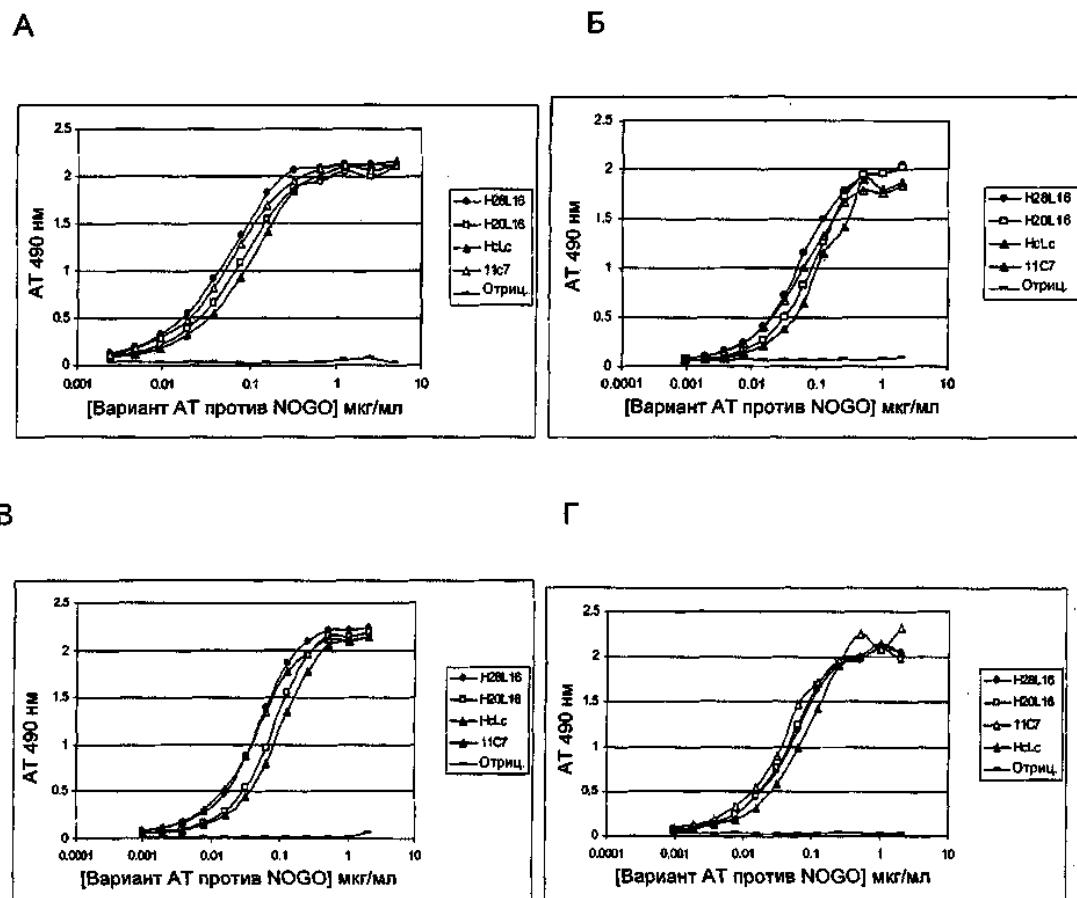
Фиг. 16



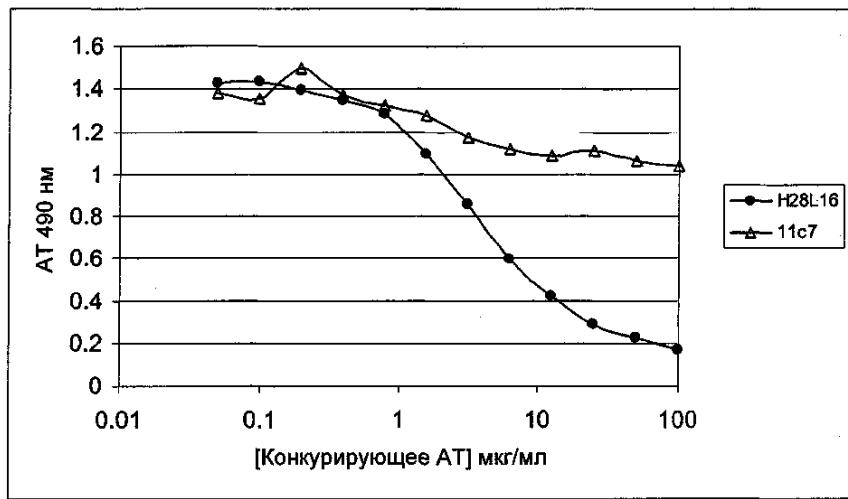
Фиг. 17



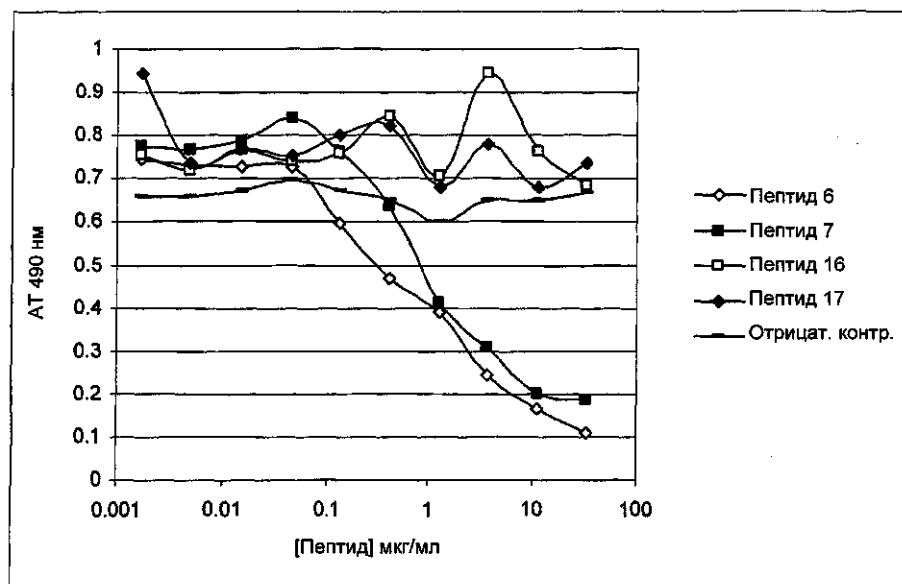
Фиг. 18



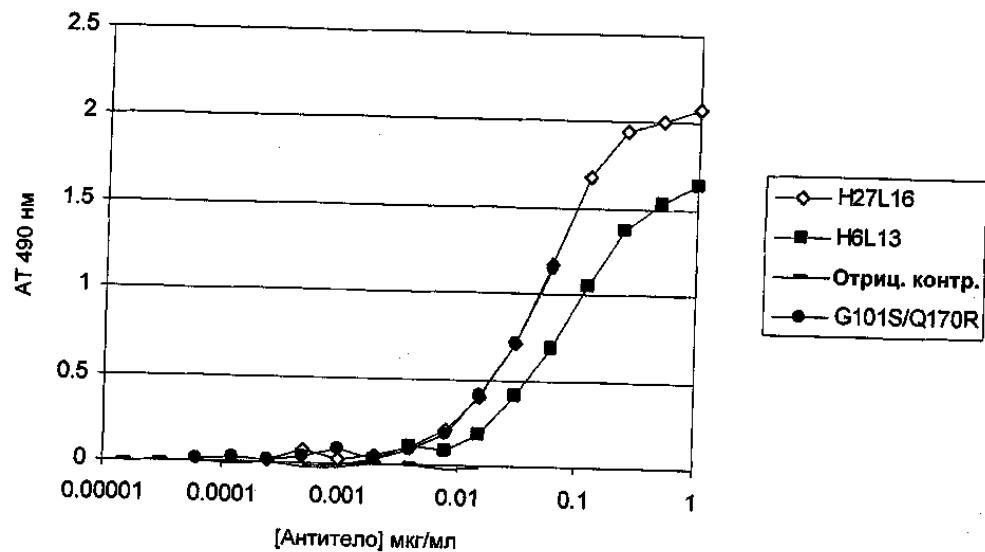
Фиг. 19



Фиг. 20



Фиг. 21



Фиг. 22



Евразийская патентная организация, ЕАПО

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