

(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-A 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:  
**Клегг 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

PAPADOPOULOS C.M. ET AL.: "FUNCTIONAL RECOVERY AND 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

---

(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.

---

**B1****015536****015536 B1**

### Область изобретения

Настоящее изобретение относится к иммуноглобулинам, в частности к антителам, которые связываются с NOGO и нейтрализуют его активность, к кодирующим 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 церебральной 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 нейрофибриллярные клубки, состоящие из агрегировавшего бета-амилоидного пептида (A $\beta$ 40 и A $\beta$ 42) и гиперфосфорилированного 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 A $\beta$ 40 и A $\beta$ 42, включая их соотношение.

Для образования бета-амилоидного пептида необходимо расщепление трансмембранного APP типа I двумя различными протеазами, обозначенными как бета- и гамма-секретазы. 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 никастрина (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).

Ограниченную способность центральной нервной системы (ЦНС) восстанавливаться после повреждения связывают отчасти с молекулами в среде ЦНС, которые обладают ингибирующим эффектом на прорастание аксонов (нейритных отростков). Миелин ЦНС, как полагают, содержит ингибирующие молекулы (Schwab M.E. and Caroni P. (1988), J. Neurosci. 8, 2381-2193). Два миелиновых белка, миелин-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 мышинное моноклональное антитело, IN-1, полученное против NI-220/250, миелинового 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 мышинное 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 мышинное 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  $V_H$  или  $V_L$  последовательности)). Раскрытые 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 Крейтцфельдта-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 эпитопов с использованием 2A10.

Фиг. 6. Картирование эпитопов 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  $\beta$ -амилоида (H2L1). Значения  $EC_{50}$  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 #19764). Связывание рекомбинантного GST-NOGO-A 5+6 определяли с использованием конъюгата анти-CST-HRP (Sigma #A7340). В качестве отрицательного контроля использовали неродственное антитело.

Значения  $EC_{50}$  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 конъюгата антител против мышинового IgG с HRP (Dakocytomation, #P0260). В качестве положительного контроля использовали HcLc. Значения  $IC_{50}$  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 пермеабиллизации, 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 конъюгата антител против человеческого IgG с HRP (Sigma, #A7340X). В качестве отрицательного контроля использовали антитело против  $\beta$ -амилоида. Значения  $EC_{50}$  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 конъюгата 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) белличей 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 конъюгата антител против мышинового IgG с HRP (Dakocytomation, #P0260). Значения  $IC_{50}$  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 переменные области тяжелой цепи и антитела или их фрагменты, содержащие указанные конкретные переменные области тяжелой цепи, и переменную область легкой цепи, которые позволяют, при спаривании с переменными областями тяжелой цепи, Fv-димеру связывать с высокой аффинностью человеческий NOGO-A и, таким образом, нейтрализовать активность человеческого NOGO-A.

Переменные области тяжелой цепи по настоящему изобретению могут быть отформатированы вместе с переменными 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™ и т.д. (краткое описание альтернативных "антительных" форматов см. в Holliger and Hudson, Nature Biotechnology, 2005, Vol. 23, No. 9, 1126-1136)).

Переменная 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 переменные 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 антител, содержащих CDR H3 (GQGY), в контексте их активности, измеренной в ELISA (твердофазный иммуноферментный анализ) и Висоге экспериментах, а в некоторых случаях активность в этих экспериментах повышается.

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

В одном воплощении настоящего изобретения переменные 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	NINPSNGGTNYNEKFS (SEQ ID NO:2)
H3	MQGY (SEQ ID NO:45)

Согласно одному воплощению настоящего изобретения предложена человеческая или гуманизированная переменная область тяжелой цепи, содержащая каждую из CDR, перечисленных в табл. 3. Согласно другому воплощению настоящего изобретения предложена гуманизированная переменная область тяжелой цепи, содержащая CDR, перечисленные в табл. 3, в пределах большей последовательности человеческой переменной области тяжелой цепи. Согласно еще одному воплощению гуманизированная переменная 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 переменной областью тяжелой цепи мышиного донорного антитела 2A10 (SEQ ID NO:7).

В тех случаях, когда используют все CDR из табл. 3, в одном воплощении последовательность переменной 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 переменную область тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:66 (переменная 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 (переменная 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 мышинового 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 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  
 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGNIN  
 PSNGGTNYNEKFKSRATMTRDTSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCELMQGYWG  
 QGTLTVTVSS

SEQ ID 48: гуманизированная конструкция H27 VH  
 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYWMHWVKQRPQGQGLEWIGNIN  
 PSNGGTNYNEKFKSKATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCELMQGYWG  
 QGTLTVTVSS

SEQ ID 49: гуманизированная конструкция H28 VH  
 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGNIN  
 PSNGGTNYNEKFKSKATMTRDTSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCELMQGYWG  
 QGTLTVTVSS

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	NINPSNGGTNYNEKFKS (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 гуманизованная 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 мышиноного 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):

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWMGNI  
NPSNGGTNYNEKFKSRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDTAVYYCELGQSYW  
GGGLTVTVSS (SEQ ID 61: гуманизованная 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 мышиноного 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). Ожидается, 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

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
	H99	R	A	M	R	V	M	R	T	V
H100 (63)		-	-	I	-	A	-	-	-	A
H101 (64)		K	R	I	K	A	L	V	K	A
H102 (65)		-	-	I	K	A	-	-	-	A

Антитела или фрагменты, содержащие человеческие или гуманизованные 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  
 MGWSCIILFLVATATGVHSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYWM  
 HWVVRQAPGQGLEWIGNINPSNGGTNYNEKFKSRATMTRDTSTSTAYMELSSL  
 RSEDTAVYYCELMQGYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL  
 GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT  
 QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELAGAPSVFLFPPKPKD  
 TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV  
 VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD  
 ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKL  
 TVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK.

SEQ ID 54: Гуманизированная конструкция тяжелой цепи H27  
 MGWSCIILFLVATATGVHSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYWM  
 HWVVKQRPQGQGLEWIGNINPSNGGTNYNEKFKSKATLTVDKSTSTAYMELSSLR  
 SEDTAVYYCELMQGYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG  
 CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ  
 TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELAGAPSVFLFPPKPKDT  
 LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV  
 SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE  
 LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLT  
 VDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID 55: Гуманизированная конструкция тяжелой цепи H28  
 MGWSCIILFLVATATGVHSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYWM  
 HWVVRQAPGQGLEWIGNINPSNGGTNYNEKFKSKATMTRDTSTSTAYMELSSLR  
 SEDTAVYYCELMQGYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG  
 CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ  
 TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELAGAPSVFLFPPKPKDT  
 LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV  
 SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE  
 LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLT  
 VDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

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

В одном воплощении настоящего изобретения вариательная область легкой цепи представляет собой легкую цепь 2A10 (см. WO 05/061544), вариательная 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 вариательной области легкой цепи, которые описаны в табл. 1, перенесенные (grafted) на акцепторную рамку человеческой вариательной области легкой цепи. В одном воплощении гуманизированные вариательные области легкой цепи представляют собой L11 (SEQ ID NO:34), L13 (SEQ ID NO:13) или L16 (SEQ ID NO:14). Альтернативные вариательные 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 RPGQSPQLLIYLMSTRASGVPDFSGGGSGTDFTLKISRVEA EDVGVIYCCQLVEYPLTFGQGTKLEIK
L101 (L13+Q45R)	68	DIVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSKSLLYKDGKTYLNWFQQ RPGQSPRLLIYLMSTRASGVPDFSGGGSGTDFTLKISRVEAE DVGVIYCCQLVEYPLTFGQGTKLEIK
L102 (L13+Q37R/Q45R)	69	DIVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSKSLLYKDGKTYLNWFRQ RPGQSPRLLIYLMSTRASGVPDFSGGGSGTDFTLKISRVEAE DVGVIYCCQLVEYPLTFGQGTKLEIK
L103 (L16+Q37R)	70	DIVMTQSPLSNPVTLGQPVISCRSSKSLLYKDGKTYLNWFRQ RPGQSPQLLIYLMSTRASGVPDFSGGGSGTDFTLKISRVEA EDVGVIYCCQLVEYPLTFGQGTKLEIK
L104 (L16+Q45R)	71	DIVMTQSPLSNPVTLGQPVISCRSSKSLLYKDGKTYLNWFLQ RPGQSPRLLIYLMSTRASGVPDFSGGGSGTDFTLKISRVEAE DVGVIYCCQLVEYPLTFGQGTKLEIK
L105 (L16+Q37R/Q45R)	72	DIVMTQSPLSNPVTLGQPVISCRSSKSLLYKDGKTYLNWFRQ RPGQSPRLLIYLMSTRASGVPDFSGGGSGTDFTLKISRVEAE DVGVIYCCQLVEYPLTFGQGTKLEIK

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 переменных областей тяжелой цепи и переменных областей легкой цепи конкретно раскрыты (например, H28L104 и др.).

В конкретных воплощениях антитела, их фрагменты или функциональные эквиваленты содержат следующие пары переменных 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 мышинным 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 переменных 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 переменный 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 переменный 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 ингибирования 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 ингибирования 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  $V_H$ -области по изобретению, форматированные в полноразмерное антитело,  $(Fab)_2$ -фрагмент, Fab-фрагмент или его эквивалент (такой как scFV, би-, три- или тетрамер, Tandabs и т.д.) при спаривании 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 литическая или нелитическая форма антитела по изобретению.

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

Согласно другому аспекту изобретения предложены полинуклеотиды, кодирующие описанные в данном изобретении переменные 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 аминоконцевой 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 ингибированию, либо полному, либо частично, функции NOGO, включая его связывание с нейронами и ингибирование 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 переменную 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 KABAT®, базы данных Los Alamos и базы данных Swiss Protein, посредством определения гомологии с нуклеотидными и аминокислотными последовательностями донорного антитела (в данном случае мышинного 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 переменной 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 переменных 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 переменных 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" (veneering). Статистический анализ уникальных переменных областей тяжелых и легких цепей человеческих и мышинных иммуноглобулинов показал, что определенные паттерны поверхностных остатков различаются в человеческих и мышинных 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 антигенность белка может коррелировать с доступностью поверхности, замена поверхностных остатков может быть достаточной для придания "невидимости" мышинной 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 Н-цепи-Л-цепи, где две Н-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 Н- и Л-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, СН2- и СН3-областей. Предпочтительно наличие по меньшей мере в одном из слияний СН1-области, содержащей участок, необходимый для связывания легкой цепи. ДНК, кодирующую эти слияния, и, при желании, Л-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 Н-цепи с первой специфичностью связывания в одном плече и пары Н-Л-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 Н3 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 глутаматсинтетазную систему (такую как продается фирмой Lonza Biologics), особенно когда клетка-хозяин представляет собой CHO 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-A-сигнальную последовательность, такую как последовательность бычьего гормона роста (BGH) и промоторную последовательность бета-глобина (betaglobin). 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 аутоксτροφный 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 CHO 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 глутаматсинтетазная 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, трансфицированную 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, фибробласты (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 также 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 reesia* (EP244234), *Penicillium*, *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 (ВНК) (ATCC CRL № 1632), ВНК 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, мышечные 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 Hep 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 суспензионных 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 суспензионной 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 телячью 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 центрифугирования, 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 гидроксипатитом (НА) (возможно включающая систему аффинного мечения, такую как полигистидин) и/или хроматография с гидрофобным взаимодействием (HIC, см. US 5429746). В одном воплощении изобретения антитела по изобретению после различных стадий очистки иммобилизируют с использованием аффинной хроматографии с белком А или G, 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, CHO) 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 иммуноадагезина 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 концевой 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 изотоп 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, внутривенно (в/в), 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, Kkojima, 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 подходящих 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 NОGО по настоящему изобретению. Предпочтительно указанное антитело против NОGО 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 NОGО 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 NОGО 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 NОGО по настоящему изобретению.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения предложено применение антитела против NОGО по настоящему изобретению (например, антитела против NОGО, 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 NОGО по настоящему изобретению.

Согласно другому аспекту изобретения предложено применение антитела против NОGО 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 NОGО (например, человеческого NОGО-А) в контакт с антителом против NОGО 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 Rld и Rln 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 Rld, 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 Rln, содержащую человеческую капша-константную область.

Сигнальная последовательность CAMPATH-1H:MGWSCILFLVATATGVHS (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 варибельной 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 CHO (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 CHO.

Плазмиды Rld или Rln (или другие векторы, подходящие для применения в клетках млекопитающих), кодирующие тяжелую и легкую цепи соответственно, временно котрансфицировали в клетки CHO 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 (Rld содержит ген DHFR, Rln содержит неомициновый селективный маркер). В некоторых анализах антитела оценивали непосредственно в супернатанте тканевой культуры. В некоторых других анализах рекомбинантное антитело выделяли и очищали с помощью аффинной хроматографии на протеин-А-сепарозе.

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% БСА в TBST для блокирования сайтов неспецифического связывания при комнатной температуре в течение 1 ч. Антитела разбавляли в TBST+2% БСА 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  $H_2SO_4$ . 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  $V_H$  (SEQ ID NO:7) и  $V_L$  (SEQ ID NO:8) мышиного 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%) BCA (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) разбавляли 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 M  $H_2SO_4$ . 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-XhoI сайты pGEX-6P1 для получения GST-меченого слитого белка, обозначенного как GST-человеческий NOGO-A56. Плазмиду экспрессировали в клетках BL21 в среде 2XTY с 100 мкг/мл ампициллина после индукции с помощью IPTG до 0,5 mM при температуре 37°C в течение 3 ч. Клеточные осадки лизировали путем обработки ультразвуком и слитый белок очищали с использованием глутатион-сефарозы (Amersham Pharmacia) согласно инструкциям производителя. Очищенный белок элюировали с использованием восстановленного глутатиона и подвергали интенсивному диализу против PBS, определяли количество с использованием BCA стандартов и анализа белков на основе BioRad coomassie и затем хранили в аликвотах 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, предназначенной для направленных уровней иммобилизации. Сенсорную поверхность CM5 активировали путем пропускания раствора 50 mM N-гидроксисукцинимид (NHS) и 200 mM 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 M этаноламин-гидрохлорида, pH 8,5.

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

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 ВИА-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/Мс)	kd (1/с)	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/Мс)	kd (1/с)	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/Мс)	kd (1/с)	KD (нМ)
HcLc	3.17E6	2.33E-3	0.74
H26L13	3.45E6	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. ViaCore 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 ВИА-оценочного кинетического анализа, версия 4.1.

Пример 8. Картирование пептидов.

Получали (из Mimotope™) 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-биотин. 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 конъюгатом 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 М 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 экспрессирующих плазмид путем введения точечной мутации G95M (нумерация по Kabat) с использованием набора Quikchange (Stratagene). Белковая последовательность белка варибельного 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 Вiasore ранжирования на основании одного эксперимента

Антитело	Последовательность ID варибельной области тяжелой цепи	Скорость диссоциации kd (1/с)
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 мышиного 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 варибельных областей тяжелой цепи. Конкретно, векторы, кодирующие тяжелую цепь (на основе H6FL, SEQ ID NO:15), конструировали таким образом, чтобы они кодировали варибельные 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 Вiasore 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 мышинового 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/тетрамер
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. 11A 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 эпитоп 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 эпитоп 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 А 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 завершённую 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	$K_a$	$k_d$	$KD$ (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-человеческий NOGO-A56) также оценивали в обратном формате (см. пример 11.1). В этом анализе гуманизированные антитела иммобилизовали на чипе CM5 с помощью белка А.

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 А 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

Антитело	Ka	Kd	KD (нМ)
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-A 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-A на клеточной поверхности. Связывание гуманизированных антител против NOGO-A 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-A на клеточной линии CHO-NOGO-A. 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-A 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-A с использованием клеточной линии нейробластомы человека IMR32. Эта клеточная линия характеризуется высокими внутриклеточными/низкими на клеточной поверхности уровнями белка NOGO-A. В попытке увеличить сигнал связывания проводили анализ для определения внутриклеточного NOGO-A (ER-резидент). Клетки IMR32 пермеабелизовали и фиксировали перед окрашиванием с гуманизированными антителами против NOGO-A. Связывание антител с NOGO-A 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-A на сравнимых или более высоких уровнях, чем родительское антитело HcLc. Эти данные, в соответствии с результатами для клеточной линии CHO-NOGO-A, подтверждают, что гуманизированные антитела могут распознавать более нативную форму белка NOGO-A 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-A исследовали на их способность нейтрализовать ингибирующую активность NOGO-A 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-A. Высокоаффинные гуманизированные антитела, а именно H28L16, H27L16, H20L16, и для сравнения их родительские антитела 2A10 (мышинное моноклональное) и HcLc (химера мышинного и человеческого) тестировали в отношении нейтрализации NOGO-A. 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 мышинный 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-A 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-A. 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 изобре-

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. Ингибирование Fc функциональности.

Для улучшения профиля безопасности кандидата остатки L235 и G237 в CH2-доме константной области тяжелой цепи (система EU Index) подвергали мутации до остатков аланина, снижая, таким образом, вероятность запуска антителоопосредованных иммунологических эффекторных функций. Пониженное связывание с человеческим C1q использовали в качестве имитации ингибирования 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-доме, 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. 19A-G 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 беличьей обезьяны (SEQ ID NO:91) соответственно. Во всех случаях H28L16 показал сравнимую или более высокую активность, чем химерное антитело (HcLc). Вычисленные значения  $EC_{50}$  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, беличьей 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

Ортолог	H28L16			11C7			HcLc		
	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 Biotac 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

Ортолог	H28L16			11C7			HcLc		
	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 иммобилизовали 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 конъюгатом 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 концентрированной 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 варибельной 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) варибельной области легкой цепи L13 (SEQ ID NO:13) путем введения одиночной замены (нумерация по Kabat Q37R) в рамочную область (с образованием L100). Белковая последовательность варибельного 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  $EC_{50}$  представлены в табл. 22.

Таблица 22  
Измерения  $EC_{50}$  для варианта G101S/Q37R в сравнении с H6L13 и H27L16

Антитело	Значение $EC_{50}$
H6L13	0,086
H27L16	0,052
H100/L100	0,048

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

H100 - модифицированный вариант варибельной области тяжелой цепи H6 (SEQ ID NO:11) получали путем введения одиночной замены G101S (нумерация по Kabat) в CDR H3. Белковая последовательность варибельного домена тяжелой цепи белка H100 представлена в SEQ ID NO:63. Аналогично, L100 и L101, модифицированные варианты варибельной 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 варибельных 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 Вiasoge для вариантов G101S варибельной области тяжелой цепи H6 в комбинации с вариантами варибельной области легкой цепи L13 в сравнении с H6L13

Антитело	Скорость ассоциации $k_a$ (1/Мс)	Скорость диссоциации $k_d$ (1/с)	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 (мышинное)	7	19
2A10, VL (мышинное)	8	20
Химерная тяжелая цепь Hc	9	21
Химерная легкая цепь Lc	10	22
2A10 VH гуманизованная конструкция H6	11	23
2A10 VH гуманизованная конструкция H16	12	24
2A10 VL гуманизованная конструкция L13	13	25
2A10 VL гуманизованная конструкция L16	14	26
2A10 гуманизованная конструкция H6 тяжелой цепи	15	27
2A10 гуманизованная конструкция H16 тяжелой цепи	16	28
2A10 гуманизованная конструкция L13 легкой цепи	17	29
2A10 гуманизованная конструкция L16 легкой цепи	18	30
Лидерная последовательность Campath	31	-
Аминокислоты 586-785 человеческого NOGO-A (NOGO-A56), слитые с GST	32	-
2A10 VH гуманизованная конструкция H1	33	37
2A10 VL гуманизованная конструкция L11	34	38
2A10 гуманизованная конструкция H1 тяжелой цепи	35	39
2A10 гуманизованная конструкция L1 легкой цепи	36	40
2A10 VH гуманизованная конструкция H20	41	43
2A10 гуманизованная конструкция H20 тяжелой цепи	42	44
2A10, CDR-H3 (G95M)	45	
Последовательность фрагмента NOGO-A мартышки	46	
VH гуманизованная конструкция H26	47	50
VH гуманизованная конструкция H27	48	51
VH гуманизованная конструкция H28	49	52
Гуманизованная конструкция H26 тяжелой цепи	53	56
Гуманизованная конструкция H27 тяжелой цепи	54	57
Гуманизованная конструкция H28 тяжелой цепи	55	58
Химерная тяжелая цепь Hc (G95M)	59	
Эпитоп	60	
2A10 VH гуманизованная конструкция H99	61	
CDR (G101S)	62	
VH гуманизованная конструкция H100	63	
VH гуманизованная 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) беличьей 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  
RSSKSLLYKDGKTYLN

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

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

SEQ ID NO. 7: 2A10, VH (мышинное)  
QVQLQQPGTELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPGQGLEWIGNINPSNGGTNYNEKFKSKATLTV  
DKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCELGQGYWGQGTTLTVSS

SEQ ID NO. 8: 2A10, VL (мышинное)  
DIVITQDELSNPVTSGESVSISSRSKSLLYKDGKTYLNWFLQRPQSPQLLIYLMSTRASGVSDRFSGSGS  
GTDFTLEISRVKAEDVGVIYCCQLVEYPLTFGAGTKLELK

SEQ ID NO. 9: Химерная тяжелая цепь Hc  
MGWSCIILFLVAAATGVHSQVQLQQPGTELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPGQGLEWIGNINP  
SNGGTNYNEKFKSKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCELGQGYWGQGTTLTVTVSSASTKGPSVFPLA  
PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN  
VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCTPPCPAPELAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV  
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE  
PQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW  
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO.10: Химерная легкая цепь Lc  
 MRCSLQFLGVLMFWISGVSGDIVITQDELSPVTSGESVSISCRSSKSLLYKDGKTYLNWFLQRPQGSPQLL  
 IYLMSTRASGVSDRFSGSGSGTDFTLEISRVAEDVGVIYCCQLVEYPLTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFP  
 PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKV  
 YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID 11: 2A10 VH гуманизированная конструкция H6  
 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGNINPSNGGTNYNEKFKSRATMTR  
 DTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCELGGYWGQGTLLTVTVSS

SEQ ID NO.12 2A10 VH гуманизированная конструкция H16  
 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGNINPSNGGTNYNEKFKSKATLTV  
 DKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCELGGYWGQGTLLTVTVSS

SEQ ID NO. 13: 2A10 VL гуманизированная конструкция L13  
 DIVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSKSLLYKDGKTYLNWFLQRPQGSPQLLIYLMSTRASGVDPDRFSGGGS  
 GTDFTLKISRVEAEDVGVYCCQLVEYPLTFGQGTLEIK

SEQ ID NO. 14: 2A10 VL гуманизированная конструкция L16  
 DIVMTQSPLSNPVTLGQPVISCRSSKSLLYKDGKTYLNWFLQRPQGSPQLLIYLMSTRASGVDPDRFSGGGS  
 GTDFTLKISRVEAEDVGVYCCQLVEYPLTFGQGTLEIK

SEQ ID NO. 15: 2A10 гуманизированная конструкция H6 тяжелой цепи  
 MGWSCIILFLVATATGVHSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGNINP  
 SNGGTNYNEKFKSRATMTRDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCELGGYWGQGTLLTVTVSSASTKGPSVFPLA  
 PSSKSTSGGTAAAGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN  
 VNHKPSNTKVDKVEPKSCDKTHTCPPCPAELAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV  
 KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVHLQDNLNGKEYCKKVSNAKALPAPIEKTISKAKGQPRE  
 PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW  
 QQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO. 16: 2A10 гуманизированная конструкция H16 тяжелой цепи  
 MGWSCIILFLVATATGVHSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGNINP  
 SNGGTNYNEKFKSKATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCELGGYWGQGTLLTVTVSSASTKGPSVFPLA  
 PSSKSTSGGTAAAGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN  
 VNHKPSNTKVDKVEPKSCDKTHTCPPCPAELAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV  
 KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVHLQDNLNGKEYCKKVSNAKALPAPIEKTISKAKGQPRE  
 PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW  
 QQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO. 17: 2A10 гуманизированная конструкция L13 легкой цепи  
 MGWSCIILFLVATATGVHSDIVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSKSLLYKDGKTYLNWFLQRPQGSPQLLI  
 YLMSTRASGVDPDRFSGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYCCQLVEYPLTFGQGTLEIKRTVAAPSVFIFPP  
 SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKV  
 YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO. 18: 2A10 гуманизированная конструкция L16 легкой цепи  
 MGWSCIILFLVATATGVHSDIVMTQSPLSNPVTLGQPVISCRSSKSLLYKDGKTYLNWFLQRPQGSPQLLI  
 YLMSTRASGVDPDRFSGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYCCQLVEYPLTFGQGTLEIKRTVAAPSVFIFPP  
 SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKV  
 YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO. 19: PN, кодирующий 2A10 VH (мышинное) SEQ ID: 7  
 CAGGTCCAAGTGCAGCAGCCTGGGACTGAACTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGCTGTCTGCAAGGCT  
 TCTGGCTACACCTTCACAGCTACTGGATGCACTGGGTGAAGCAGAGGCCTGGACAAGGCCTTGAGTGGATT  
 GGAAATATTAATCCTAGCAATGGTGGTACTAATAACAATGAGAAGTTCAAGAGCAAGGCCACTGACTGTA  
 GACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTATTGT  
 GAACGGGACAGGGCTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA

SEQ ID NO. 20:PN, кодирующий 2A10 VL (мышинное) SEQ ID: 8  
 GATATTGTGATAACCCAGGATGAACTCTCCAATCCTGTCACTTCTGGAGAATCAGTTTCCATCTCCTGCAGG  
 TCTAGTAAGAGTCTCCTATATAAGGATGGGAAGACATACTTGAATTGGTTTCTGCAGAGACCAGGACAATCT  
 CCTCAGCTCCTGATCTATTTGATGTCCACCCGTGCATCAGGAGTCTCAGACCGGTTTAGTGGCAGTGGGTCA  
 GGAACAGATTTACCCCTGGAAATCAGTAGAGTGAAGGCTGAGGATGTGGGTGTATTACTGTCAACAACCTT  
 GTAGAGTATCCGCTCACGTTCCGGTGCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAA

SEQ ID NO. 21:PN, кодирующий химерную тяжелую цепь Hc SEQ ID: 9  
 ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTTTGGTAGCAGCAGCTACAGGTGTCCACTCCCAGGTCCAACCTGCAG  
 CAGCCTGGGACTGAACTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGCTGTCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTC  
 ACCAGCTACTGGATGCACTGGGTGAAGCAGAGGCCTGGACAAGGCCTTGAGTGGATTGGAATATTAATCCT  
 AGCAATGGTGGTACTAATAACAATGAGAAGTTCAAGAGCAAGGCCACACTGACTGTAGACAAATCCTCCAGC  
 ACAGCCTACATGCAGCTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTATTGTGAACTGGGACAGGGC  
 TACTGGGGCCAAGGCACACTAGTCACAGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA  
 CCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCG  
 GTGACGGTGTCTGTGGAATCAGGCGCCTGACCAGCGCGGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCTCA  
 GGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACTACATCTGCAAC  
 GTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAATCTTGTGACAAAACCTCACACA  
 TGCCCCACCGTGGCCAGCACTGAACTCGCGGGGCAACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAAGGAC  
 ACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCAATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTC  
 AAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAAC  
 AGCAGCTACCGTGTGGTCAAGCTCTCACCCTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGC  
 AAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAA  
 CCACAGGTGTACACCTGCCCCCATCCCGGATGAGCTGACCAAGAACAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTC  
 AAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACC  
 ACGCCTCCCGTGGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTCTCTACAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGG  
 CAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTC  
 TCCTGTCTCCGGGTAAATGA

SEQ ID NO. 22:PN, кодирующий химерную легкую цепь Lc SEQ ID: 10  
 ATGAGGTGCTCTCTTCAAGTTTCTGGGGGTGCTTATGTTCTGGATCTCTGGAGTCAGTGGGGATATTGTGATA  
 ACCCAGGATGAACTCTCCAATCCTGTCACTTCTGGAGAATCAGTTTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTAAGAGT  
 CTCCTATATAAGGATGGGAAGACATACTTGAATTGGTTTCTGCAGAGACCAGGACAATCTCCTCAGCTCCTG  
 ATCTATTTGATGTCCACCCGTGCATCAGGAGTCTCAGACCGGTTTAGTGGCAGTGGGTGAGGAACAGATTTT  
 ACCCTGGAATCAGTAGAGTGAAGGCTGAGGATGTGGGTGTGTATTACTGTCAACAACCTGTAGAGTATCCG  
 CTCAGTTTCGGTGTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCG  
 CCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCTGTGAATAACTTCTATCCCAGAGAG  
 GCCAAAGTACAGTGAAGGTGGACAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGAC  
 AGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTC  
 TACGCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTAG

SEQ ID NO. 23:PN, кодирующий 2A10 VH гуманизированную конструкцию H6 SEQ ID: 11  
 CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTTTCTGCAAGGCA  
 TCTGGATACACCTTCAACAGCTACTGGATGCACTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAAGTGGATC  
 GGAAATATTAATCCTAGCAATGGTGGTACTAATAACAATGAGAAGTTCAAGAGCAGAGCCACCATGACCAGG  
 GACAGCTCCAGGACACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGT  
 GAACTGGGACAGGGCTACTGGGGCCAGGGAACACTAGTCACAGTCTCCTCA

SEQ ID NO. 24:PN, кодирующий 2A10 VH гуманизированную конструкцию H16 SEQ ID: 12  
 CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTTTCTGCAAGGCA  
 TCTGGATACACCTTCAACAGCTACTGGATGCACTGGGTGAAACAGCGACCTGGACAAGGGCTTGAAGTGGATC  
 GGAAATATTAATCCTAGCAATGGTGGTACTAATAACAATGAGAAGTTCAAGAGCAAAGCCACCCTCACCGTC  
 GACAAATCCAGGACACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGT  
 GAACTGGGACAGGGCTACTGGGGCCAGGGAACACTAGTCACAGTCTCCTCA

SEQ ID NO. 25:PN, кодирующий 2A10 VL гуманизированную конструкцию L13 SEQ ID: 13  
 GATATTGTGATGACCCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCCTGGACAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGG  
 TCTAGTAAGAGTCTCCTATATAAGGATGGGAAGACATACTTGAATTGGTTTCTCAGCAGAGGCCAGGCCAATCT  
 CCACAGCTCCTAATTTATTTGATGTCCACCCGTGCATCTGGGGTCCCAGACAGATTTCAGCGGCGGTGGGTCA

GGCACTGATTTTCACTGAAAAATCAGCAGGGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCCAACAACTT  
GTAGAGTATCCGCTCACGTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA

SEQ ID NO. 26:PN, кодирующий 2A10 VL гуманизированную конструкцию L16 SEQ ID: 14  
GATATGTGATGACCCAGTCTCCACTCTCCAAACCCCGTCACCCCTGGACAGCCGGTCTCCATCTCTGCAGG  
TCTAGTAAGAGTCTCTATATAAGGATGGGAAGACATACTTGAATTGGTTTCTCCAGAGGCCAGGCCAATCT  
CCACAGCTCTTAATTTATTTGATGTCCACCCCTGCATCTGGGTCCAGACAGATTACAGCGCGGTGGGTCA  
GGCACTGATTTTCACTGAAAAATCAGCAGGGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCCAACAACTT  
GTAGAGTATCCGCTCACGTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA

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

ATGGGATGGAGCTGTATCATCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCCACTCCCAGGTGCAGCTGGTG  
CAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTTTCTTGCAGGCATCTGGATACACCTTC  
ACCAGCTACTGGATGCACTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATCGGAATATTAATCTCT  
AGCAATGGTGGTACTAATAACAATGAGAAGTTCAAGAGCAGAGCCACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGC  
ACAGCTTACATGGAGCTGAGCAGCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGAAGTGGGACAGGGC  
TACTGGGGCCAGGGAACTAGTACAGTCTCTCTCAGCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCTCTGGCA  
CCCTCTCCAAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCGGAACCG  
GTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGCGTGCACACCTTCCCGGTGTCTTACAGTCTCTCA  
GGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGAACCTGCCCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAAC  
GTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACA  
TGCCCAACCGTGGCCAGCACCTGAACTCGCGGGGGCAGCGTCAGTCTTCTCTTCCCTCTCCCGCCAAACCCAAAGGAC  
ACCTTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACCTGAGCCACGAAGACCTTGAGGTG  
AAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATATGTCCAAGACAAGCCCGGGGAGGAGCAATACAAAC  
AGCAGCTACCGTGTGGTCAAGCTCTCACCTCTCTGACCCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGC  
AAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAA  
CCACAGGTGTACACCTGCCCCCATCCCGGATGAGCTGACCAAGAACAGGTGAGCTGAGCTGAGCTGCTGGT  
AAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACACTACAAGACC  
ACGCTCTCCGTGTGGACTCCGACGGCTCTCTCTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGG  
CAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTC  
TCCCTGTCTCCGGTAAATGA

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

ATGGGATGGAGCTGTATCATCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCCACTCCCAGGTGCAGCTGGTG  
CAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTTTCTTGCAGGCATCTGGATACACCTTC  
ACCAGCTACTGGATGCACTGGGTGAAACAGCGACCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATCGGAATATTAATCTCT  
AGCAATGGTGGTACTAATAACAATGAGAAGTTCAAGAGCAAGCCACCCCTCACCGTGCACAAATCCACGAGC  
ACAGCTTACATGGAGCTGAGCAGCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGAAGTGGGACAGGGC  
TACTGGGGCCAGGGAACTAGTACAGTCTCTCTCAGCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCTCTGGCA  
CCCTCTCTCCAAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCGGAACCG  
GTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGCGTGCACACCTTCCCGGTGTCTTACAGTCTCTCA  
GGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGAACCTGCCCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAAC  
GTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACA  
TGCCCAACCGTGGCCAGCACCTGAACTCGCGGGGGCAGCGTCAGTCTTCTCTTCCCGCCAAACCCAAAGGAC  
ACCTTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACCTGAGCCACGAAGACCTTGAGGTG  
AAGTTTCACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATATGTCCAAGACAAGCCCGGGGAGGAGCAGTACAAC  
AGCAGCTACCGTGTGGTCAAGCTCTCACCTCTCTGACCCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGC  
AAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAA  
CCACAGGTGTACACCTGCCCCCATCCCGGATGAGCTGACCAAGAACAGGTGAGCTGAGCTGAGCTGCTGGT  
AAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACACTACAAGACC  
ACGCTCTCCGTGTGGACTCCGACGGCTCTCTCTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGG  
CAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTC  
TCCCTGTCTCCGGTAAATGA

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

ATGGGATGGAGCTGTATCATCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCCACTCCGATATTGTGATGACC  
CAGTCTCCACTCTCCCTGCCGTCAACCTTGGACAGCCCGCTCCATCTCTCTCAGGTCTAGTAAGAGTCTC

CTATATAAGGATGGGAAGACATACTTGAATTGGTTTCAGCAGAGGCCAGGCCAATCTCCACAGCTCCTAATT  
TATTTGATGTCCACCCGTGCATCTGGGGTCCCAGACAGATTTCAGCGCGGGTGGGTGAGGCACTGATTTTACA  
CTGAAAATCAGCAGGGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCCAACAACTTGTAGAGTATCCGCTC  
ACGTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCGCGCA  
TCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCC  
AAAGTACAGTGGGAAGGTGGACAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGC  
AAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTAC  
GCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG

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

ATGGGATGGAGCTGTATCATCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCCACTCCGATATGTGATGACC  
CAGTCTCCACTCTCCAACCCCGTCACCCCTTGGACAGCCGGTCTCCATCTCCTGAGGTCTAGTAAGAGTCTC  
CTATATAAGGATGGGAAGACATACTTGAATTGGTTTCTCCAGAGGCCAGGCCAATCTCCACAGCTCCTAATT  
TATTTGATGTCCACCCGTGCATCTGGGGTCCCAGACAGATTTCAGCGCGGGTGGGTGAGGCACTGATTTTACA  
CTGAAAATCAGCAGGGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCCAACAACTTGTAGAGTATCCGCTC  
ACGTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCGCGCA  
TCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCC  
AAAGTACAGTGGGAAGGTGGACAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGC  
AAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTAC  
GCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG

SEQ ID NO. 31: Лидерная последовательность Campath  
MGWSCIIILFLVATATGVHS

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

MSPILGYWKIKGLVQPTRLLLEYLEEKYEELHYERDEGDKWRNKKFELGLEFPNLPYYIDGDKVLTQSMALII  
RYIADKHNMLGGCPKERAETISMLEGAVLDIRYGVSRVIAYSKDFETLKVDFLSKLPEMLKMFEDRLCHKTYLN  
GDHVTHPDFMLYDALDVLYMDPMCLDAFPKLVCFKKRIEAIPIQIDKYLKSSKYIAWPLQGWQATFGGGDHP  
PKSDLEVLFPQPLGSMQESLYPAAQLCPSPFESEATPSVLPDIVMEAPLNSAVPSAGASVIQPSSSPLEAS  
SVNYESIKHEPENPPPYEEAMSVSLKKVSGIKKEIKEPENINAALQETEPYISIACDLIKETKLSAEPAPD  
FSDYSEMAKVEQVPVDHSELVEDSSPDSEPVLDLSDSIPDVPQKQDETVMVLKESLTETSFESEMIYENKE  
LERPHRD

SEQ ID NO. 33: 2A10 VH гуманизованная конструкция H1  
QVQLVQSGAEVVKPGASVKVSKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWMGNINPSNGGTNYNEKFKSRVTMTR  
DTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCELGQGYWGQGTTLVTVSS

SEQ ID NO. 34: 2A10 VL гуманизованная конструкция L11  
DIVITQSPSLSPVTLGQPASISCRSSKSLLYKDGKTYLNWFQQRPGQSPQLLIYLMSTRASGVPRFSGGGS  
GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQQLVBYPLTFGQGTKLEIK

SEQ ID NO. 35: 2A10 гуманизованная конструкция тяжелой цепи H1  
MGWSCIIILFLVATATGVHSQVQLVQSGAEVVKPGASVKVSKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWMGNINP  
SNGGTNYNEKFKSRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCELGQGYWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFPLA  
PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN  
VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV  
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE  
PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW  
QQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO. 36: 2A10 гуманизованная конструкция легкой цепи L11  
MGWSCIIILFLVATATGVHSDIVITQSPSLSPVTLGQPASISCRSSKSLLYKDGKTYLNWFQQRPGQSPQLLI  
YLMSTRASGVPRFSGGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQQLVBYPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPP  
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTLSSTLTLSKADYEKHKVY  
ACEVTHQQLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO. 37:PN, кодирующий 2A10 VH гуманизированную конструкцию H1 SEQ ID: 33  
 CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTTTCCTGCAAGGCA  
 TCTGGATACACCTTCACCAGCTACTGGATGCACTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATG  
 GGAAATATTAACTTAGCAATGGTGGTACTAACTACAATGAGAAGTTCAAGAGCAGAGTCACCATGACCAGG  
 GACACGTCACAGGACACAGTCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGT  
 GAACTGGGACAGGGCTACTGGGGCCAGGGAACACTAGTCACAGTCTCCTCA

SEQ ID NO. 38:PN, кодирующий 2A10 VL гуманизированную конструкцию L11 SEQ ID: 34  
 GATATTGTGATAACCCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCCTTGACAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGG  
 TCTAGTAAGAGTCTCCTATATAAGGATGGGAAGACATACTTGAATTGGTTTCAGCAGAGGCCAGGCCAATCT  
 CCACAGCTCCTAATTTATTTGATGTCCACCCGTGCATCTGGGGTCCAGACAGATTACAGCGCGGTGGGTCA  
 GGCACGTGATTTACACTGAAAATCAGCAGGGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCCAACAACCTT  
 GTAGAGTATCCGCTACGTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA

SEQ ID NO. 39:PN, кодирующий 2A10 гуманизированную тяжелую цепь H1 SEQ ID: 34  
 ATGGGATGGAGCTGTATCATCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCCACTCCCAGGTGCAGCTGGTG  
 CAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTTTCCTGCAAGGCATCTGGATACACCTTC  
 ACCAGCTACTGGATGCACCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGAAATATTAACTCT  
 AGCAATGGTGGTACTAACTACAATGAGAAGTTCAAGAGCAGAGTCACCATGACCAGGACACGTCACAGAGC  
 ACAGTCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGAACCTGGGACAGGGC  
 TACTGGGGCCAGGGAACACTAGTCACAGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCGCTGGCA  
 CCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGCCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCGGAACCG  
 GTGACGGTGTCTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGCGTGCACACCTTCCCGGTGTCTTACAGTCTCTCA  
 GGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAAC  
 GTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAATCTTGTGACAAACTCACACA  
 TGCCCCACCGTGCACAGCACCTGAATCGCGGGGGCACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGAC  
 ACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTC  
 AAGTTCACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGAGGAGCAGTACAAC  
 AGCAGCTACCGTGGTGGTTCAGCGTCTCACCCTCCTGTCACCAAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGC  
 AAGGTCTCCAACAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAA  
 CCACAGGTGTACACCTGCCCCATCCCGGATGAGGTGACCAAGAACCAGGTGAGCTGACCTGCCTGGTCA  
 AAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGAGAGAACACTACAAGACC  
 ACGCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGG  
 CAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTC  
 TCCCTGTCTCCGGGTAAATGA

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

ATGGGATGGAGCTGTATCATCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCCACTCCGATATTGTGATAACC  
 CAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCCTTGACAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTAAGAGTCTC  
 CTATATAAGGATGGGAAGACATACTTGAATTGGTTTCAGCAGAGGCCAGGCCAATCTCCACAGCTCCTAAT  
 TATTTGATGTCCACCCGTGCATCTGGGGTCCAGACAGATTACAGCGCGGTGGGTGAGGCACTGATTTACA  
 CTGAAAATCAGCAGGGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCCAACAACCTTGTAGAGTATCCGCTC  
 ACGTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCTATCTTCCCGCCA  
 TCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAATGCTCTGTGTGTGCTGCTGAATAACTTCTATCCAGAGAGGGCC  
 AAAGTACAGTGAAGGTGGACAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGC  
 AAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTAC  
 GCCTGCGAAGTCAACCATCAGGGCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTAG

SEQ ID NO. 41:2A10 VH гуманизированная конструкция H20  
 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGNINPSNNGGTNYNEKFKSKATMTR  
 DTSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCELGQGYWGQGLVTVSS

SEQ ID NO. 42:2A10 гуманизированная конструкция H20 тяжелой цепи  
 MGWSCIILFLVATATGVHSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGNINP  
 SNGGTNYNEKFKSKATMTRDTSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCELGQGYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLA  
 PSSKSTSGTAAALGLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICN  
 VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCTPPCPAPELAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEV  
 KFNWYVDGVEVHNAKTKPRREQYNSTYRVVSVLTVHLQDNLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPRE

## Перечень последовательностей

<110> Пол Эндрю Хэмблин  
 Джонатан Генри Эллис  
 Фолькер Гермашевски  
 Рут Макадам  
 Рабиндер Кумар Принджха  
 Стефани Джейн Клегр  
 Георг Копсидас

<120> Иммуноглобулины, направленные против NOGO

<130> VB61773FF

<160> 96

<170> FastSEQ для Windows версия 4.0

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

<400> 1  
 Ser Tyr Trp Met His  
 1 5

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

<400> 3  
 Gly Gln Gly Tyr  
 1

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

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

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

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

<210> 7  
 <211> 113  
 <212> NPPT  
 <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> NPPT  
 <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 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 5 10 15  
 Gly Val Ser Gly Asp Ile Val Ile Thr Gln Asp Glu Leu Ser Asn Pro  
 20 25 30  
 Val Thr Ser Gly Glu Ser Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser  
 35 40 45  
 Leu Leu Tyr Lys Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Leu Gln Arg  
 50 55 60  
 Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Met Ser Thr Arg Ala  
 65 70 75 80  
 Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe  
 85 90 95  
 Thr Leu Glu Ile Ser Arg Val Lys Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr  
 100 105 110  
 Cys Gln Gln Leu Val Glu Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys  
 115 120 125  
 Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro  
 130 135 140  
 Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu  
 145 150 155 160  
 Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp  
 165 170 175  
 Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp  
 180 185 190  
 Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys  
 195 200 205  
 Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln  
 210 215 220  
 Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 225 230 235

<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 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 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> PPT

<213> Искусственная последовательность

<220>

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

<400> 12

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

<210> 13

<211> 112

<212> PPT

<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 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> PPT  
 <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 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> PPT  
 <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

```

<210> 16

<211> 462

<212> NPT

<213> Искусственная последовательность

<220>

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

<400> 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

<210> 17

<211> 238

<212> PPT

<213> Искусственная последовательность

<220>

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

<400> 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 Ile Tyr Leu Met 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

<210> 18

<211> 238

<212> ППТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

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

<400> 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 Ile Tyr Leu Met Ser Thr Arg Ala Ser  
 65 70 75 80  
 Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly 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

<210> 19

<211> 339

<212> ДНК

<213> *Mus musculus*

<400> 19

```

caggtccaac tgcagcagcc tgggactgaa ctggtgaagc ctggggcttc agtgaagctg 60
tctctgcaagg cttctggcta cactctcacc agctactgga tgcactgggt gaagcagagg 120
cctggacaag gccttgagtg gattggaatg attaatccta gcaatgggtg tactaactac 180
aatgagaagt tcaagagcaa ggccacactg actgtagaca aatcctccag cacagcctac 240
atgcagctca gcagcctgac atctgaggac tctgcggtct attattgtga actgggacag 300
ggctactggg gccaaaggcac cactctcaca gtctcctca 339

```

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

```

<400> 20
gatattgtga taaccacagga tgaactctcc aatcctgtca cttctggaga atcagtttcc 60
atctcctgca ggtctagtaa gagtctccta tataaggatg ggaagacata cttgaattgg 120
tttctgcaga gaccaggaca atctcctcag ctctgatctc atttgatgtc caccogtga 180
tcaggagtct cagaccggtt tagtggcagt gggtcaggaa cagatttcac cctggaaatc 240
agtagagtga aggctgagga tgtgggtgtg tattactgtc aacaacttgt agagtatccg 300
ctcacgttcg gtgctgggac 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 gctgtatcat cctctttttg gtagcagcag ctacaggtgt ccactccag 60
gtccaactgc agcagcctgg gactgaactg gtgaagcctg gggcttcagt gaagctgtcc 120
tgcaaggctt ctggctacac cttcaccagc tactggatgc actgggtgaa gcagaggcct 180
ggacaaggcc ttgagtggat tggaaatatt aatcctagca atgggtggtac taactacaat 240
gagaagttca agagcaaggc cacactgact gtagacaaat cctccagcac agcctacatg 300
cagctcagca gcctgacatc tgaggactct gcggtctatt attgtgaact gggacagggc 360
tactggggcc aaggcacact agtcacagtc tctcagcct ccaccaaggg cccatcggtc 420
ttccccctgg caccctctc caagagcacc tctgggggca cagcggccct gggctgcctg 480
gtcaaggact acttccccga accggtgacg gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc 540
ggcgtgcaca ccttccccgc tgtcctacag tctcaggac tctactccct cagcagcgtg 600
gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc cagacctaca tctgcaactg gaatcacaa 660
cccagcaaca ccaagtgga caagaaagt gagcccaat cttgtgacaa aactcacaca 720
tgcccacogt gccacgacc tgaactcgcg ggggcaccgt cagtcttctt cttcccccca 780
aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac 840
gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc aactggtagc tggacggcgt ggaggtgcat 900
aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc 960
ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac 1020
aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc atctccaaag ccaaagggca gccccagaaa 1080
ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg 1140
acctgcctgg tcaaggctt ctatcccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg 1200
cagccggaga acaactacaa gaccacgcct cccgtgctgg actccgacgg ctctctcttc 1260
ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc 1320
tccgtgatgc atgaggtctt gcacaaccac tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg 1380
ggtaaatga 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
atgagggtgct ctcttcagtt tctgggggtg cttatgttct ggatctctgg agtcagtggtg 60
gatattgtga taaccagga tgaactctcc aatctgttca cttctggaga atcagtttcc 120
atctcctgca ggtctagtaa gagtctccta tataaggatg ggaagacata cttgaattgg 180
tttctgcaga gaccaggaca atctcctcag ctctgatctc atttgatgtc caccctgtca 240
tcaggagtct cagaccggtt tagtggcagt gggtcaggaa cagatttcac cctggaaatc 300
agtagagtga aggctgagga tgtgggtgtg tattactgtc aacaacttgt agagtatccg 360
ctcacgttctg gtgctgggac caagctggag ctgaaacgta cgggtggctgc accatctgtc 420
ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgctgc 480
ctgaataact tctatccag agaggccaaa gtacagtggg aggtggacaa cgcctccaa 540
tcgggtaact cccagagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagctc 600
agcagcacc ctagcgtgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa 660
gtcacccatc agggcctgag ctgcctcgtc 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 tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60
tcctgcaagg catctggata caccttcacc agctactgga tgcactgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatcggaatc attaatccta gcaatgggtg tactaactac 180
aatgagaagt tcaagagcag agccaccatg accagggaca cgtccacgag cacagcctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggcctgtg attactgtga actgggacag 300
ggctactggg gccagggaac actagtcaca gtctcctca 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 tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60
tcctgcaagg catctggata caccttcacc agctactgga tgcactgggt gaaacagcga 120
cctggacaag ggcttgagtg gatcggaatc attaatccta gcaatgggtg tactaactac 180
aatgagaagt tcaagagcaa agccaccctc accgtcgaca aatccacgag cacagcctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggcctgtg attactgtga actgggacag 300
ggctactggg gccagggaac actagtcaca gtctcctca 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 tgaccagtc tccactctcc ctgcccgtca cccttggaca gccggcctcc 60
atctcctgca ggtctagtaa gagtctccta tataaggatg ggaagacata cttgaattgg 120
tttcagcaga ggccaggcca atctccacag ctctaatctt atttgatgtc caccctgtca 180
tctgggggtc cagacagatt cagcggcggg gggtcaggca ctgatttcac actgaaaatc 240
agcaggggtg aggctgagga tgttgggtgt tattactgcc aacaacttgt agagtatccg 300
ctcacgtttg gccaggggac caagctggag atcaaaa 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 tgaccagtc tccactctcc aaccccgta cccctggaca gccggtctcc 60  
 atctcctgca ggtctagtaa gagtctccta tataaggatg ggaagacata cttgaattgg 120  
 tttctccaga ggccaggcca atctccacag ctccctaattt atttgatgtc cacccggtga 180  
 tctgggggtcc cagacagatt cagcggcggt gggtcaggca ctgatttcac actgaaaac 240  
 agcagggtgg aggcctgagga tgttgggggt tattactgcc aacaacttgt agagtatccg 300  
 ctacagtttg gccaggggac caagctggag 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 ctacagggtg ccactcccag 60  
 gtgcagctgg tgcagtctgg ggctgaggtg aagaagcctg gggcctcagt gaaggtttcc 120  
 tgcaaggcat ctggatacac cttcaccagc tactggatgc actgggtgcy acaggcccct 180  
 ggacaagggc ttgagtggat cggaaatatt aatcctagca atgggtggtac taactacaat 240  
 gagaagtcca agacagagc caccatgacc agggacacgt ccacgaqcac agcctacatg 300  
 gagctgagca gcctgagatc tgaggacacg gccgtgtatt actgtgaact gggacagggc 360  
 tactggggcc agggaacact agtcacagtc tcctcagcct ccaccaaggg cccatcggtc 420  
 ttccccctgg caccctctc caagagcacc tctgggggca cagcggccct gggctgcctg 480  
 gtcaaggact acttccccga accggtgacg gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc 540  
 ggcgtgcaca ccttccccgc tgtcctacag tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg 600  
 gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag 660  
 cccagcaaca ccaagggtgga caagaaagt gagcccaat cttgtgacaa aactcacaca 720  
 tgccaccgt gccagcacc tgaactcgcg ggggcaccgt cagtcttctt cttcccccca 780  
 aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg acccctgagg tcacatgctg ggtggtggac 840  
 gtgagccacg aagacctga ggtcaagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat 900  
 aatgccaaaga caaagccgcg ggaggagcag tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc 960  
 ctacacgtcc tgcaccagga ctggctgaat ggcaaggagt acaagtgcga ggtctccaac 1020  
 aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc atctocaaaag ccaaggggca gccccgagaa 1080  
 ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg 1140  
 acctgcctgg tcaaaagctt ctatccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg 1200  
 cagccgggaga acaactacaa gaccacgcct cccgtgctgg actccgacgg ctccttcttc 1260  
 ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc aggtggcagc agggggaacgt cttctcatgc 1320  
 tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg 1380  
 ggtaaatga 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 ctacagggtg ccactcccag 60  
 gtgcagctgg tgcagtctgg ggctgaggtg aagaagcctg gggcctcagt gaaggtttcc 120

```

tgcaaggcat ctggatacac cttcaccagc tactggatgc actgggtgaa acagcgacct 180
ggacaagggc ttgagtggat cggaaatatt aatcctagca atgggtggtac taactacaat 240
gagaagttca agagcaaagc caccctcacc gtcgacaaat ccacgagcac agcctacatg 300
gagctgagca gcctgagatc tgaggacacg gccgtgtatt actgtgaact gggacagggc 360
tactggggcc agggaacact agtcacagtc tctcagcct ccaccaaggg cccatcggtc 420
ttccccctgg caccctcctc caagagcacc tctgggggca cagcggccct gggctgcctg 480
gtcaaggact acttccccga accgggtgacg gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc 540
ggcgtgcaca ccttccccgc tgtcctacag tctcaggac tctactccct cagcagcgtg 600
gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaa 660
cccagcaaca ccaaggtgga caagaaagtt gagcccaaat cttgtgacaa aactcacaca 720
tgccccccgt gccccagcacc tgaactcgcg ggggcaccgt cagtcttctt cttcccccca 780
aaaccgaagg acaccctcat gatctcccg accctgagg tcacatgcgt ggtgggtggc 840
gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat 900
aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc 960
ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac 1020
aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa 1080
ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccg gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg 1140
acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg 1200
cagccggaga acaactacaa gaccacgcct cccgtgctgg actccgacgg ctctctctc 1260
ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc 1320
tcogtgatec atgaggctct gcacaaccac tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg 1380
ggtaaatga 1389

```

<210> 29

<211> 717

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

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

<400> 29

```

atgggatgga gctgtatcat cctctctctt gtagcaacag ctacagggtgt ccactccgat 60
attgtgatga cccagtctcc actctccctg cccgtcacc ttggacagcc ggctccatc 120
tctgcagggt ctagtaagag tctctatat aaggatggga agacatactt gaattgggtt 180
cagcagaggc caggccaatc tccacagctc ctaatttatt tgatgtccac ccgtgcatct 240
ggggtcccag acagattcag cggcggtggg tcaggcactg atttcacact gaaaatcagc 300
aggggtgagg ctgaggatgt tggggtttat tactgccaac aacttgtaga gtatccgctc 360
acgtttggcc aggggaccaaa gctggagatc aaacgtacgg tggctgcacc atctgtcttc 420
atcttccctc catctgatga gcagttgaaa tctggaactg cctctgttgt gtgcctgctg 480
aataacttct atcccagaga ggccaaagta cagtggaaag tggacaacgc cctccaatcg 540
ggttaactcc aggagatgtt cacagagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc 600
agcaccctga cgctgagcaa agcagactac gagaacacaa aagtctacgc ctgcgaagtc 660
accatcagg gcctgagctc gcccgtcaca aagagcttca acaggggaga gtgttag 717

```

<210> 30

<211> 717

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

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

<400> 30

```

atgggatgga gctgtatcat cctctctctt gtagcaacag ctacagggtgt ccactccgat 60
attgtgatga cccagtctcc actctccaac cccgtcacc ttggacagcc ggtctccatc 120
tctgcagggt ctagtaagag tctctatat aaggatggga agacatactt gaattgggtt 180
ctccagaggc caggccaatc tccacagctc ctaatttatt tgatgtccac ccgtgcatct 240
ggggtcccag acagattcag cggcggtggg tcaggcactg atttcacact gaaaatcagc 300
aggggtgagg ctgaggatgt tggggtttat tactgccaac aacttgtaga gtatccgctc 360
acgtttggcc aggggaccaaa gctggagatc aaacgtacgg tggctgcacc atctgtcttc 420
atcttccctc catctgatga gcagttgaaa tctggaactg cctctgttgt gtgcctgctg 480

```

aataacttct atcccagaga ggccaaagta cagtgggaagg tggacaacgc cctccaatcg 540  
 ggtaactccc aggagagtgt cacagagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc 600  
 agcaccctga cgctgagcaa agcagactac gagaacaca aagtctacgc ctgcgaagtc 660  
 acccatcagc gcctgagctc gcccgtcaca aagagcttca 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 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 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 Lys 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; PPT

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

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

&lt;400&gt; 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; PPT

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

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

&lt;400&gt; 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; PPT

&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 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> 36

<211> 238

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

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

<400> 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 Leu Ile Tyr Leu Met Ser Thr Arg Ala Ser
      65      70      75      80
Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly 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

```

<210> 37

<211> 339

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

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

&lt;400&gt; 37

```

cagggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60
tcttgcaagg catctggata cacccttcacc agctactgga tgcactgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggaaat attaataccta gcaatgggtg tactaactac 180
aatgagaagt tcaagagcag agtcaccatg accaggggaca cgtccacgag cacagtctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtga actgggacag 300
ggctactggg gccagggaac actagtcaca gtctcctca 339

```

&lt;210&gt; 38

&lt;211&gt; 336

&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; 38

```

gatattgtga taaccacagtc tccactctcc ctgcccgtca ccttggaca gccggcctcc 60
atctcctgca ggtctagtaa gagtctccta tataaggatg ggaagacata cttgaattgg 120
tttcagcaga ggccaggcca atctccacag ctccctaattt atttgatgtc caccctgtga 180
tctgggggtcc cagacagatt cagcggcggt gggtcaggca ctgatttcac actgaaaatc 240
agcagggttg aggctgagga tgttggggtt tattactgcc aacaacttgt agagtatccg 300
ctcacgtttg gccaggggac caagctggag atcaaaa 336

```

&lt;210&gt; 39

&lt;211&gt; 1389

&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; 39

```

atgggatgga gctgtatcat cctctctctg gtagcaacag ctacagggtg ccaactcccag 60
gtgcagctgg tgcagtctgg ggctgaggtg aagaagcctg gggcctcagt gaaggtttcc 120
tgcaaggcat ctggatacac cttcaccagc tactggatgc actgggtgog acaggccccc 180
ggacaagggc ttgagtggat gggaatatatt aatcctagca atgggtgtac taactacaat 240
gagaagttca agagcagagt caccatgacc agggacacgt ccacgagcac agtctacatg 300
gagctgagca gcctgagatc tgaggacacg gccgtgtatt actgtgaact gggacagggg 360
tactggggcc agggaaacact agtcacagtc tctcagcct ccaccaaggg cccatcggtc 420
ttccccctgg caccctcttc caagagcacc tctgggggca cagcggccct gggtgcctg 480
gtcaaggact acttccccga accggtgacg gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc 540
ggcgtgcaca ccttccccgc tgtcctacag tctcaggac tctactccct cagcagcgtg 600
gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag 660
cccagcaaca ccaagggtgga caagaaagt ggagccaaat cttgtgacaa aactcacaca 720
tgcccaccgt gccacgaccc tgaactcgcg ggggcacagt cagtcttctt cttcccccca 780
aaacccaagg acaccctcat gatctcccg acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac 840
gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc aactggtagc tggacggcgt ggaggtgcat 900
aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc 960
ctcaccgtcc tgcaccagga ctggtgaat ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac 1020
aaagccctcc cagcccccct cgagaaaacc atctccaaag ccaaagggca gccccgaga 1080
ccacagggtg acaccctgcc cccatcccg gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg 1140
acctgcctgg tcaaaaggctt ctatcccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg 1200
cagccggaga acaactacaa gaccacgcct cccgtgctgg actccgacgg ctccttcttc 1260
ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc 1320
tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg 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  
 atgggagtgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggtgt ccactccgat 60  
 attgtgataa cccagtctcc actctccctg cccgtcacc ttggacagcc ggcctccatc 120  
 tcctgcaggt ctagtaagag tctctatat aaggatggga agacatactt gaattgggtt 180  
 cagcagagggc caggccaatc tccacagctc ctaatttatt tgatgtccac ccgtgcattc 240  
 ggggtccccc acagattcag cggcgggtgg tcaggcactg atttcacact gaaaatcagc 300  
 aggggtggagg ctgaggatgt tgggggttat tactgccaac aacttgtaga gtatccgctc 360  
 acgtttggcc aggggaccac gctggagatc aaacgtacgg tggctgcacc atctgtcttc 420  
 atcttcccgc catctgatga gcagttgaaa tctggaactg cctctgttgt gtgcctgctg 480  
 aataacttct atcccagaga ggccaaagta cagtggagg tggacaacgc cctccaatcg 540  
 ggtaactccc aggagagtgt cacagagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc 600  
 agcacccctga cgtgagcaa agcagactac gagaacacac aagtctacgc ctgcgaagtc 660  
 acccatcagg gcctgagctc gcccgtcaca 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 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> 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				

&lt;210&gt; 43

&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

<400> 43

```
caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaagggt 60
tcctgcaagg catctggata caccttcacc agctactgga tgcactgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatcggaatc attaatccta gcaatgggtg tactaactac 180
aatgagaagt tcaagagcaa gccaccatg accagggaca cgtccacgag cacagcctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtga actgggacag 300
ggctactggg gccagggaac actagtcaca gtctcctca 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

```
atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacagggtg ccactcccag 60
gtgcagctgg tgcagtctgg ggctgaggtg aagaagcctg gggcctcagt gaagggttcc 120
tgcaaggcat ctggatacac cttcaccagc tactggatgc actgggtgcg acaggcccct 180
ggacaagggc ttgagtggat cggaatatatt aatcctagca atggtggtac taactacaat 240
gagaagttca agagcaaggc caccatgacc agggacacgt ccacgagcac agcctacatg 300
gagctgagca gcctgagatc tgaggacacg gccgtgtatt actgtgaact gggacagggc 360
tactggggcc agggaacact agtcacagtc tcctcagcct ccaccaaggg cccatcggtc 420
ttcccctgg caccctcctc caagagcacc tctgggggca cagcggccct gggctgcctg 480
gtcaaggact acttcccga accggtgacg gtgtogtgga actcaggcgc cctgaccagc 540
ggcgtgcaca ccttcccggc tgtcctacag tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg 600
gtgaccgctg cctccagcag cttgggcacc cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag 660
cccagcaaca ccaagggtga caagaagtt gagcccaat cttgtgacaa aactcacaca 720
tgcccaccgt gccagcacc tgaactcgcg ggggcaccgt cagtcttctc cttcccccca 780
aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac 840
gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc aactggtagc tggacggcgt ggaggtgcat 900
aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc 960
ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat ggcaaggagt acaagtgcac ggtctccaac 1020
aaagccctcc cagcccccac cgagaaaacc atctccaaaag ccaaagggca gccccagaaa 1080
ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg 1140
acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg 1200
cagccggaga acaactacaa gaccacgcct cccgtgctgg actccgacgg ctccttcttc 1260
ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc 1320
tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg 1380
ggtaaatga 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 Gln Gly Tyr

1

<210> 46

<211> 200

&lt;212&gt; PPT

<213> *Callithrix jacchus*

&lt;400&gt; 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

```

&lt;210&gt; 47

&lt;211&gt; 113

&lt;212&gt; PPT

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

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

&lt;400&gt; 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 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; 48

&lt;211&gt; 113

&lt;212&gt; PPT

&lt;213&gt; 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; PPT

&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 tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaagggt 60
tcctgcaagg catctggata caccttcacc agctactgga tgcactgggt gcgacaggcc 120

```

```

cctggacaag ggcttgagt gatcggaat attaataccta gcaatggtgg tactaactac 180
aatgagaagt tcaagagcag agccaccatg accagggaca cgtccacgag cacagcctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtga actgatgcag 300
ggctactggg gccaggaac actagtcaca 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 tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60
tcctgcaagg catctggata caccttcacc agctactgga tgcactgggt gaaacagcga 120
cctggacaag ggcttgagt gatcggaat attaataccta gcaatggtgg tactaactac 180
aatgagaagt tcaagagcaa agccaccctc accgtcgaca aatccacgag cacagcctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtga actgatgcag 300
ggctactggg gccaggaac actagtcaca 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 tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60
tcctgcaagg catctggata caccttcacc agctactgga tgcactgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagt gatcggaat attaataccta gcaatggtgg tactaactac 180
aatgagaagt tcaagagcaa ggccaccatg accagggaca cgtccacgag cacagcctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtga actgatgcag 300
ggctactggg gccaggaac actagtcaca 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 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; 54

&lt;211&gt; 462

&lt;212&gt; PPT

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

<223> 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 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> 55

<211> 462

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

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

<400> 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

```

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggtgt ccactcccag 60
gtgcagctgg tgcagtctgg ggctgaggtg aagaagcctg gggcctcagt gaagggttcc 120
tgcaaggcat ctggatacac cttcaccagc tactggatgc actgggtgag acaggcccct 180
ggacaagggc ttgagtggat cggaaatatt aatcctagca atgggtgtac taactacaat 240
gagaagtcca agagcagagc caccatgacc agggacacgt ccacgagcac agcctacatg 300
gagctgagca gcctgagatc tgaggacacg gccgtgtatt actgtgaact gatgcagggc 360
tactggggcc agggaacact agtcacagtc tctcagcct ccaccaaggg cccatcggtc 420
ttcccctgg caccctcttc caagagcacc tctgggggca cagcggccct gggctgctg 480
gtcaaggact acttcccga accggtgacg gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc 540
ggcgtgcaca ccttcccggc tgtcctacag tctcaggac tctactccct cagcagcgtg 600
gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc cagacctaca tctgcaactg gaatcacaa 660
cccagcaaca ccaagggtgga caagaaagtt gagcccaaat cttgtgacaa aactcacaca 720
tgcccaccgt gccacgaccc tgaactcgcg ggggcaccgt cagtcttctt cttcccccca 780
aaacccaagg acacctctat gatctcccgg acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac 840
gtgagccacg aagacctga ggtcaagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat 900
aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc 960
ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac 1020
aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa 1080
ccacaggtgt acacctgcc cccatcccgg gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg 1140
acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg 1200
cagccggaga acaactacaa gaccacgctt cccgtgctgg actccgacgg ctctctcttc 1260
ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc 1320
tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg 1380
ggtaatga

```

&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

```

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggtgt ccactcccag 60
gtgcagctgg tgcagtctgg ggctgaggtg aagaagcctg gggcctcagt gaagggttcc 120
tgcaaggcat ctggatacac cttcaccagc tactggatgc actgggtgaa acagcgacct 180
ggacaagggc ttgagtggat cggaaatatt aatcctagca atgggtgtac taactacaat 240
gagaagtcca agagcaaaagc caccctcacc gtcgacaaat ccacgagcac agcctacatg 300
gagctgagca gcctgagatc tgaggacacg gccgtgtatt actgtgaact gatgcagggc 360
tactggggcc agggaacact agtcacagtc tctcagcct ccaccaaggg cccatcggtc 420
ttcccctgg caccctcttc caagagcacc tctgggggca cagcggccct gggctgctg 480
gtcaaggact acttcccga accggtgacg gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc 540
ggcgtgcaca ccttcccggc tgtcctacag tctcaggac tctactccct cagcagcgtg 600
gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc cagacctaca tctgcaactg gaatcacaa 660
cccagcaaca ccaagggtgga caagaaagtt gagcccaaat cttgtgacaa aactcacaca 720
tgcccaccgt gccacgaccc tgaactcgcg ggggcaccgt cagtcttctt cttcccccca 780
aaacccaagg acacctctat gatctcccgg acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac 840
gtgagccacg aagacctga ggtcaagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat 900
aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc 960
ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac 1020
aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa 1080
ccacaggtgt acacctgcc cccatcccgg gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg 1140
acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg 1200
cagccggaga acaactacaa gaccacgctt cccgtgctgg actccgacgg ctctctcttc 1260
ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc 1320
tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg 1380

```

ggtaaatga

1389

&lt;210&gt; 58

&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; 58

```

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggtgt ccactcccag 60
gtgcagctgg tgcagtctgg ggctgaggtg aagaagcctg gggcctcagt gaagggtttcc 120
tgcaaggcat ctggatacac cttcaccagc tactggatgc actgggtgcg acaggcccct 180
ggacaagggc ttgagtggat cggaaatatt aatcctagca atggtggtac taactacaat 240
gagaagttca agagcaaggg caccatgacc agggacacgt ccacgagcac agcctacatg 300
gagctgagca goctgagatc tgaggacacg gccgtgtatt actgtgaact gatgcagggc 360
tactggggcc aggaacact agtcacagtc tcctcagcct ccaccaaggg cccatcggtc 420
ttccccctgg caccctctc caagagcacc tctgggggca cagcggccct gggctgctg 480
gtcaaggact acttccccga accggtgacg gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc 540
ggcgtgcaca ccttccccgc tgtcctacag tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg 600
gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaa 660
cccagcaaca ccaagggtgga caagaaagt gagcccaaat cttgtgacaa aactcacaca 720
tgccaccctg gccacgcacc tgaactcgcg ggggcaccgt cagtcttctt cttccccca 780
aaacccaagg acaccctcat gatctcccg acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac 840
gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc aactggtacg tggacggcgt gaggtgcat 900
aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc 960
ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat ggcaaggagt acaagtgcga ggtctccaac 1020
aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa 1080
ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg 1140
acctgcctgg tcaaaggctt ctatccagc gacatcgcg tggagtggga gagcaatggg 1200
cagccggaga acaactacaa gaccacgcct cccgtgctgg actccgacgg ctccttcttc 1260
ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc 1320
tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg 1380
ggtaaatga

```

1389

&lt;210&gt; 59

&lt;211&gt; 462

&lt;212&gt; ПРТ

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

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

&lt;400&gt; 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> PPT  
 <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> PPT  
 <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 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; 62

&lt;211&gt; 4

&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; 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;

<223> 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 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; 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> PPT

<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 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> PPT

<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 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> 69  
 <211> 112  
 <212> PPT  
 <213> Искусственная последовательность

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

<400> 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 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> 70  
 <211> 112  
 <212> PPT  
 <213> Искусственная последовательность

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

<400> 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 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> 71  
 <211> 112  
 <212> PPT  
 <213> 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; PPT

&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; PPT

<213> *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; PPT

<213> *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 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 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> HPT  
 <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 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 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> NP  
 <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 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 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> NPPT  
 <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 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

```

```

<210> 95
<211> 6
<212> IPT
<213> Homo sapiens

```

```

<400> 95
Asp Glu Thr Phe Ala Leu
  1              5

```

```

<210> 96
<211> 6
<212> IPT
<213> Homo sapiens

```

```

<400> 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 гуманизованную 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).

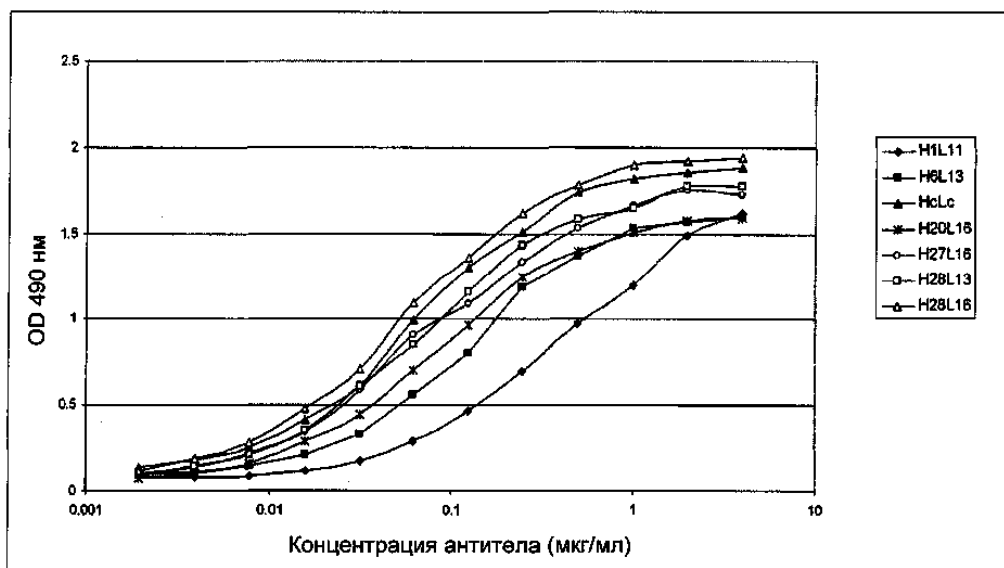
12. Фармацевтическая композиция, содержащая вариабельную область тяжелой цепи антитела по любому из пп.1-8 или антитело или его фрагмент по любому из пп.9-11 вместе с фармацевтически приемлемым разбавителем или носителем.

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.

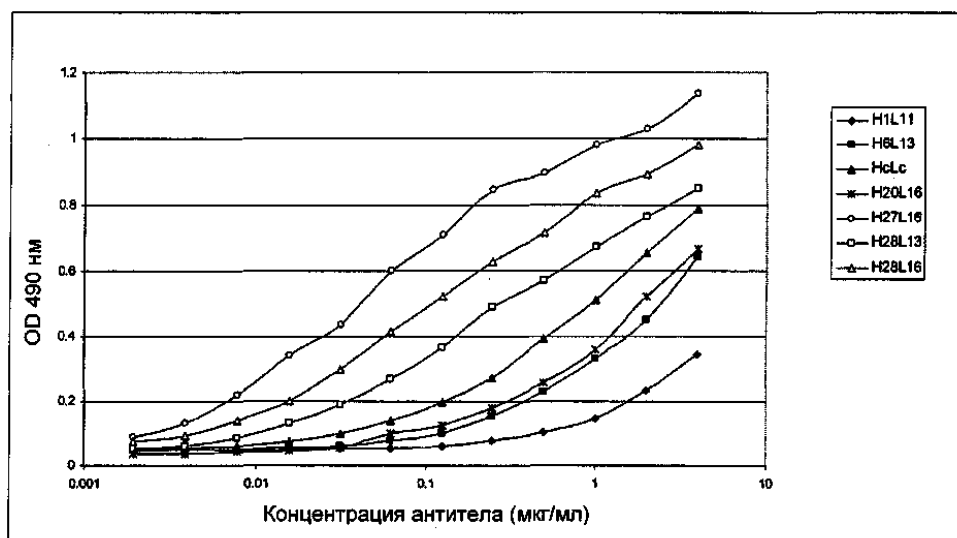
14. Применение антитела или его фрагмента по любому из пп.9-11 в изготовлении лекарственного средства для лечения или профилактики инсульта и других неврологических заболеваний/расстройств или для лечения пациента, страдающего от механической травмы центральной или периферической нервной системы.

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.

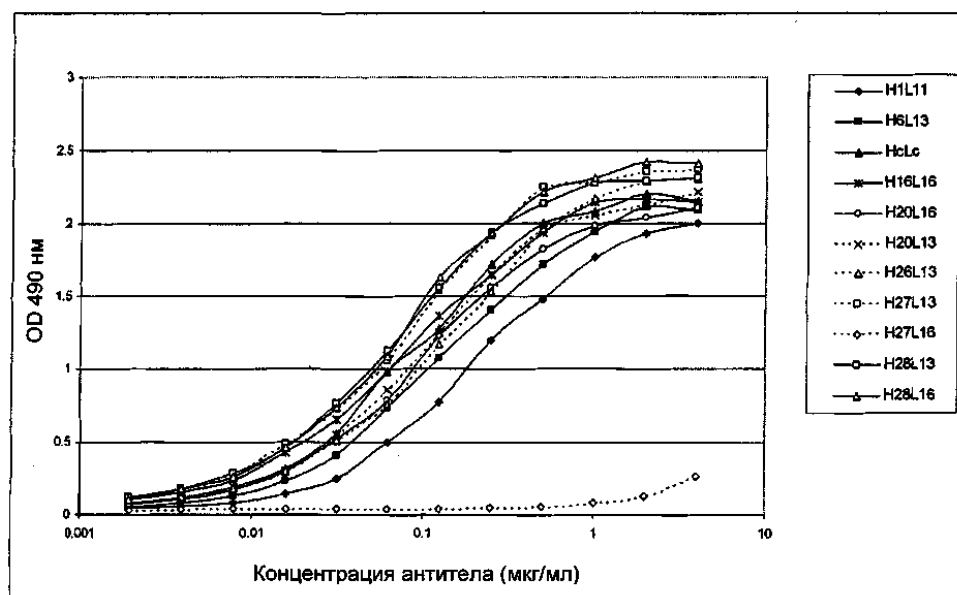
16. Полинуклеотид, который кодирует часть антитела, способного связываться с человеческим NOGO-A и содержащего вариабельную область тяжелой цепи по п.1, где указанная часть имеет последовательность, представленную в SEQ ID NO:47, 48, 49, 53, 54 или 55.



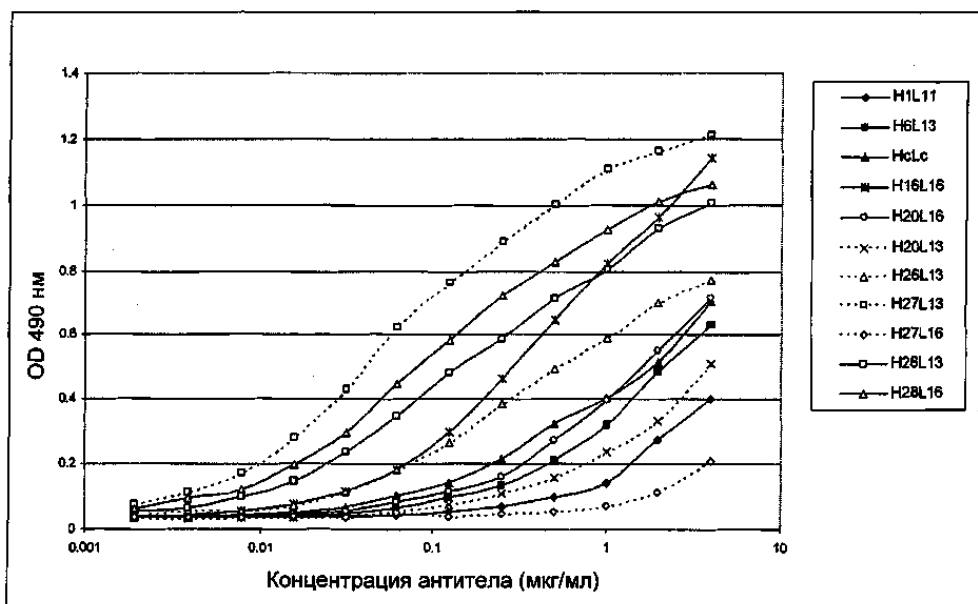
Фиг. 1



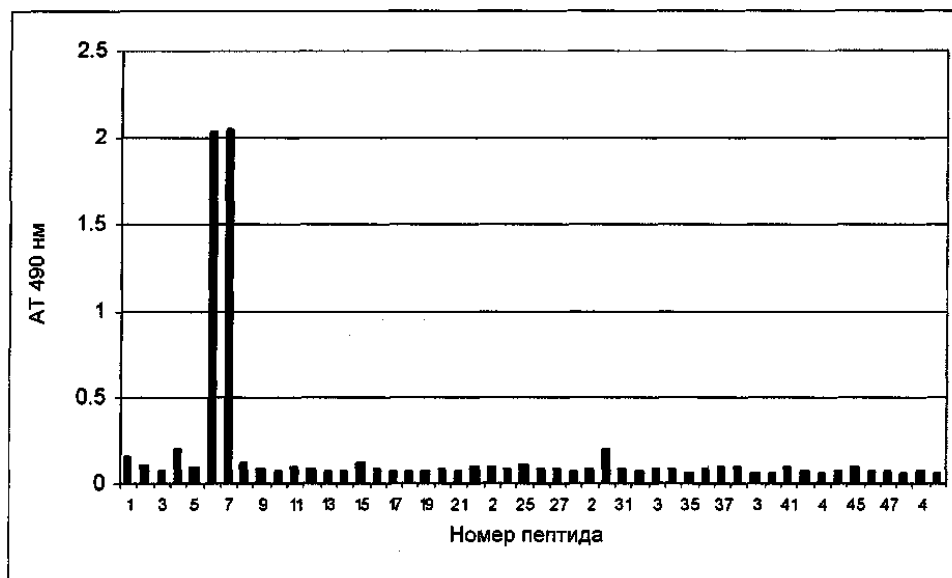
Фиг. 2



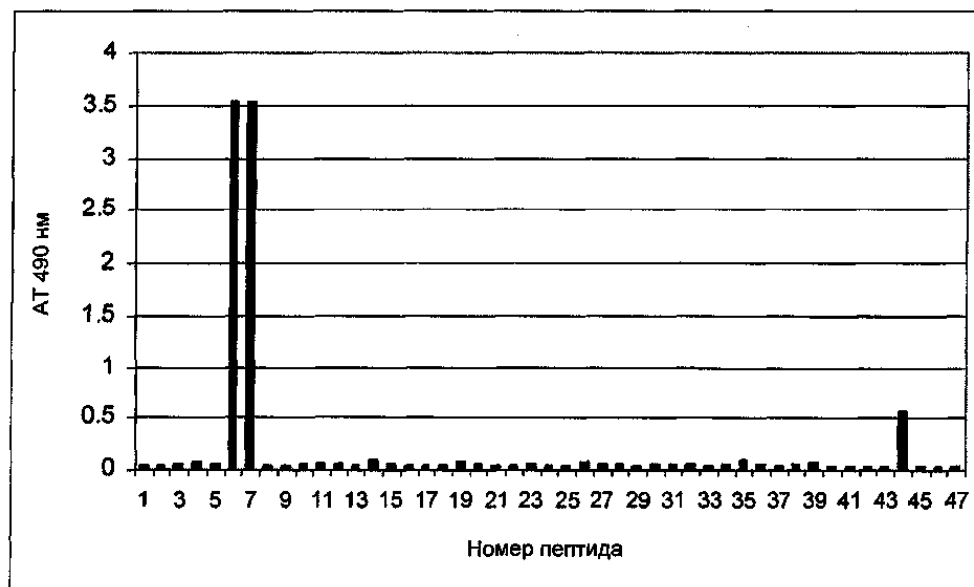
Фиг. 3



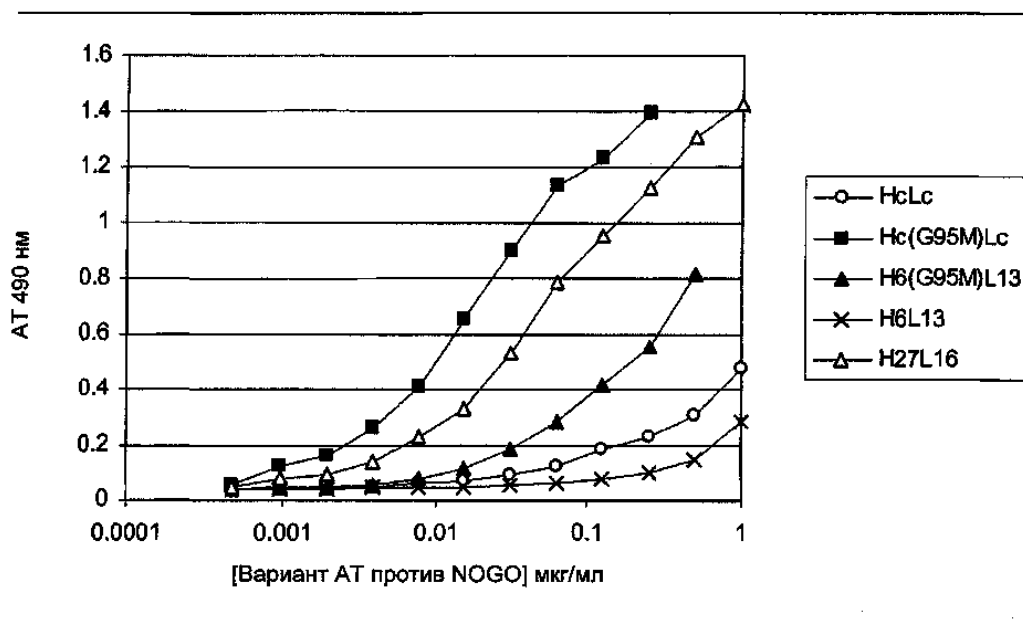
Фиг. 4



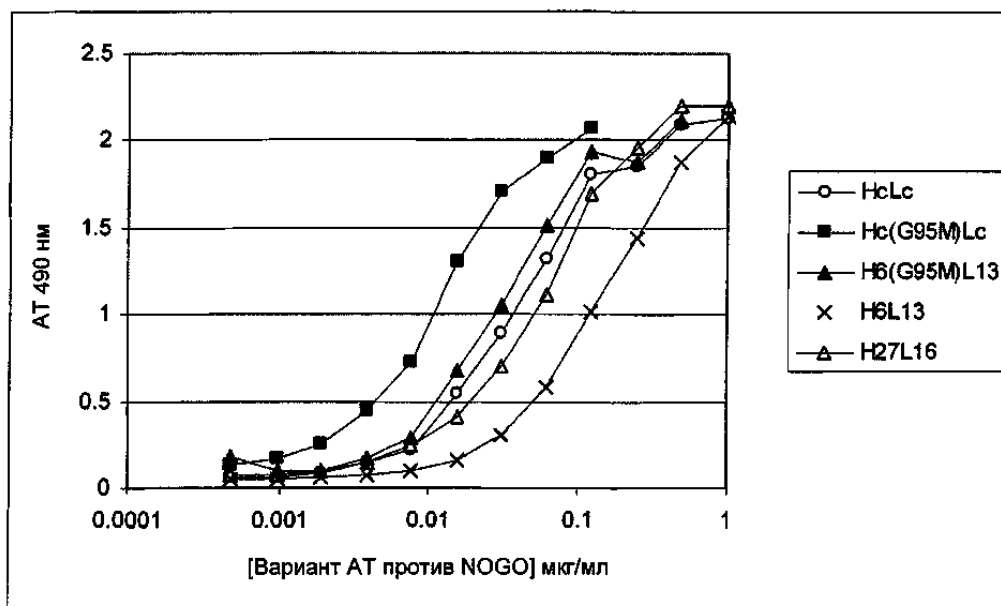
Фиг. 5



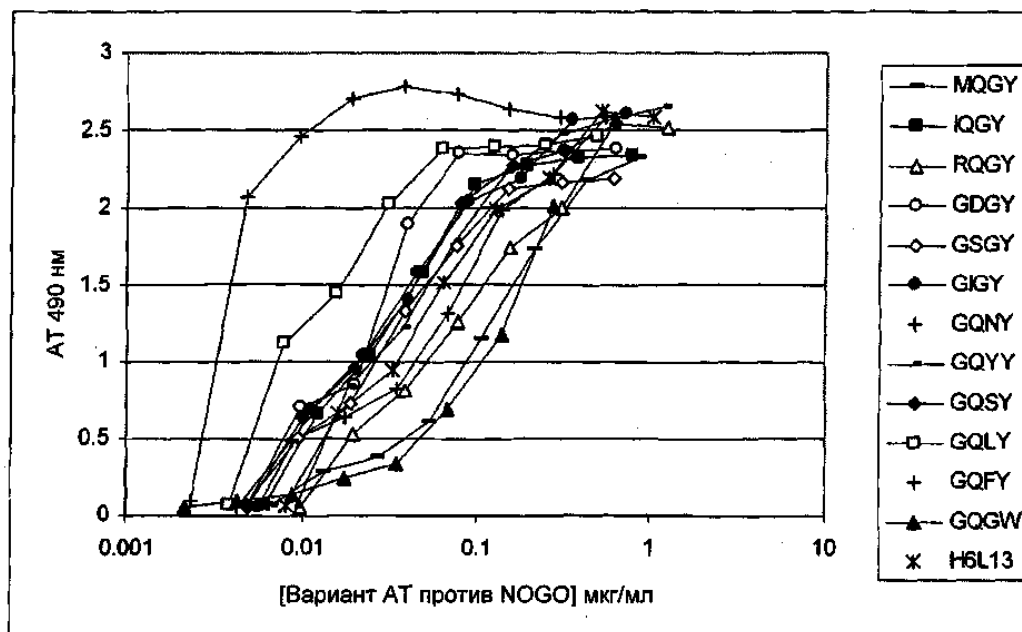
Фиг. 6



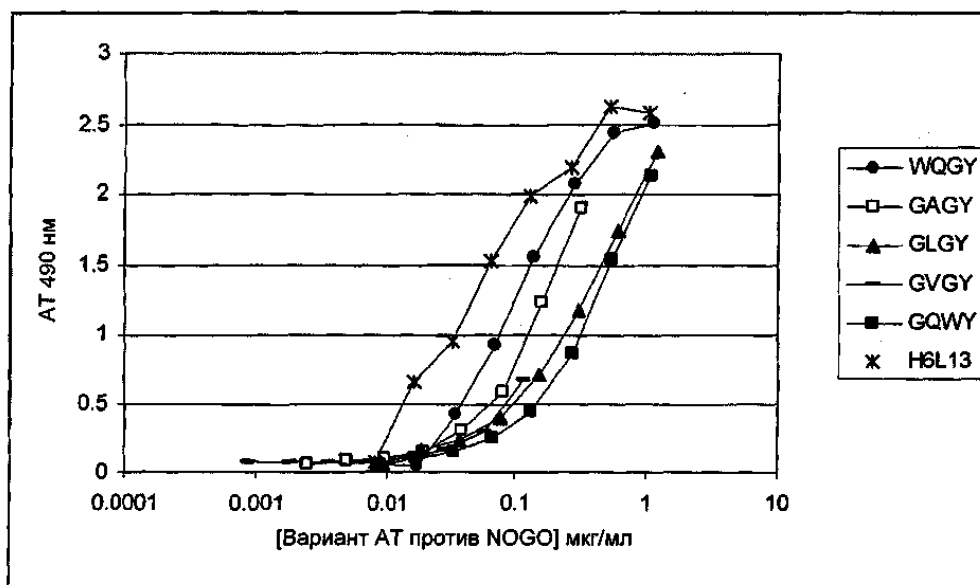
Фиг. 7



Фиг. 8

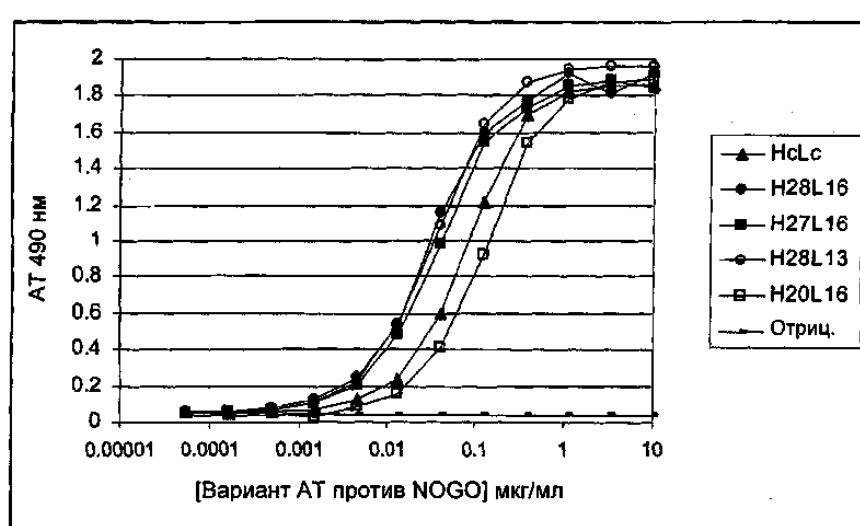


Фиг. 9

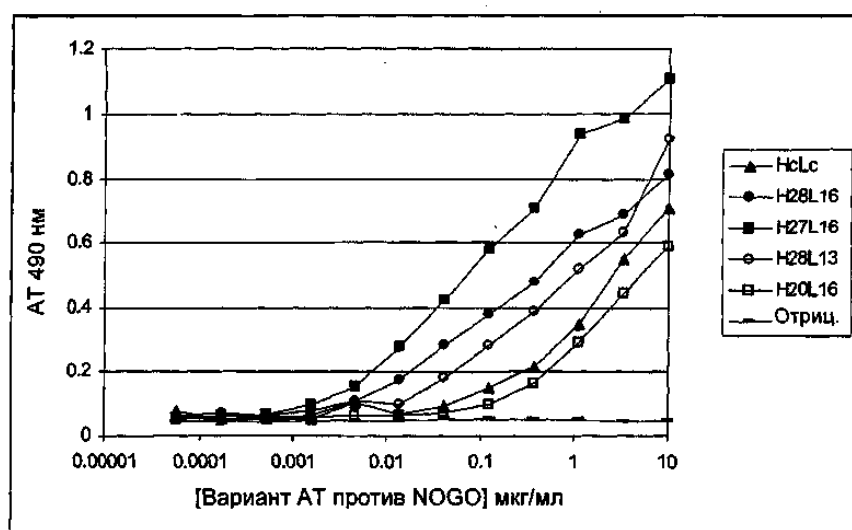


Фиг. 10

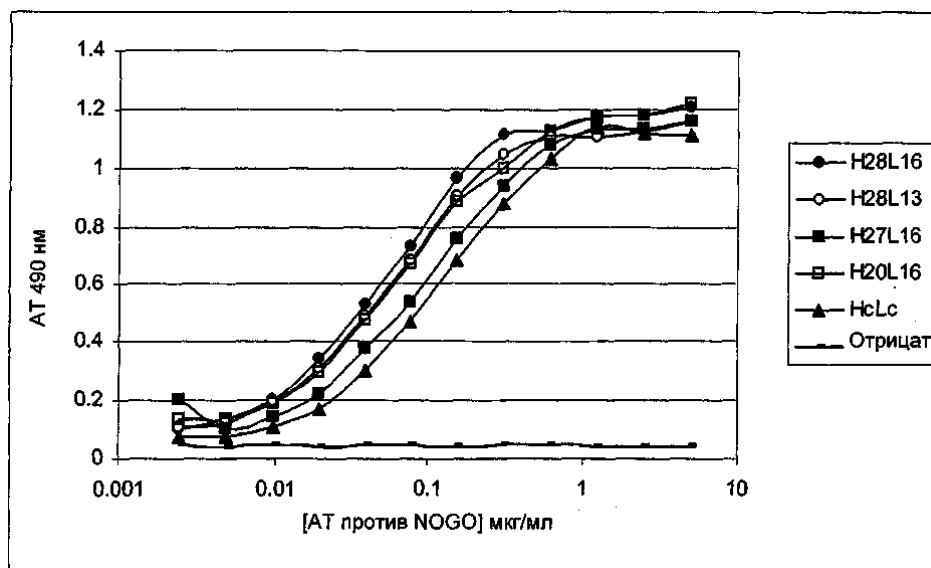
А



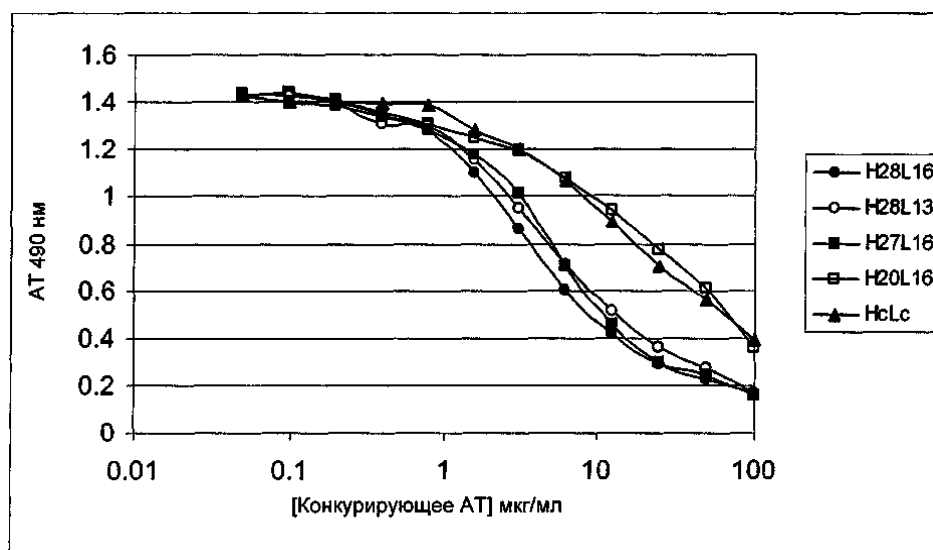
Б



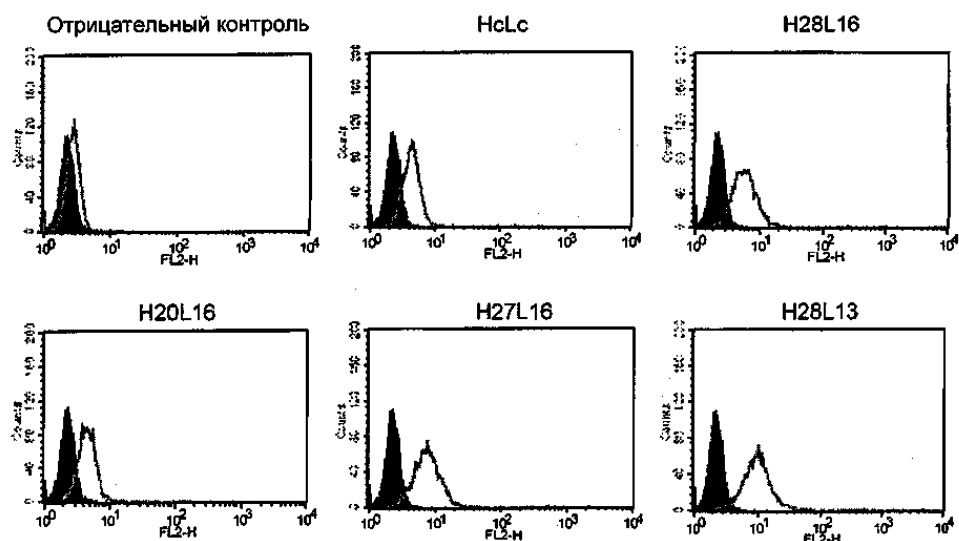
Фиг. 11



Фиг. 12

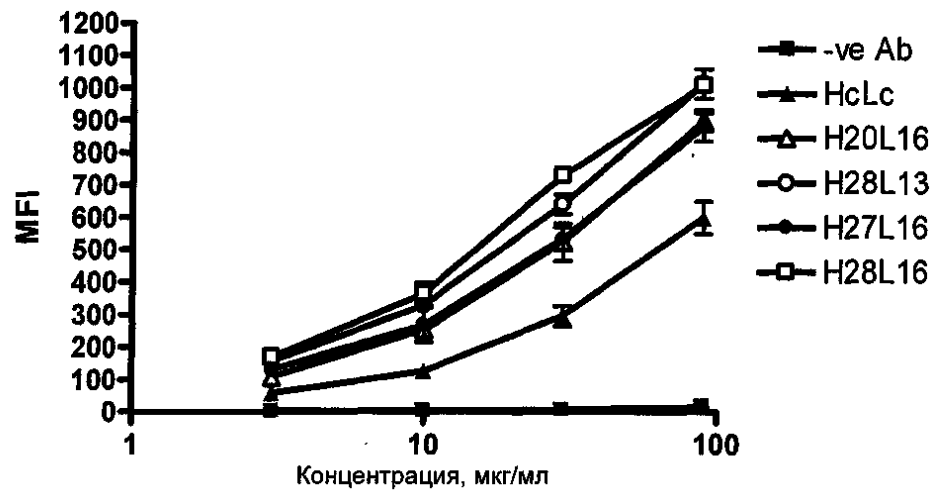


Фиг. 13

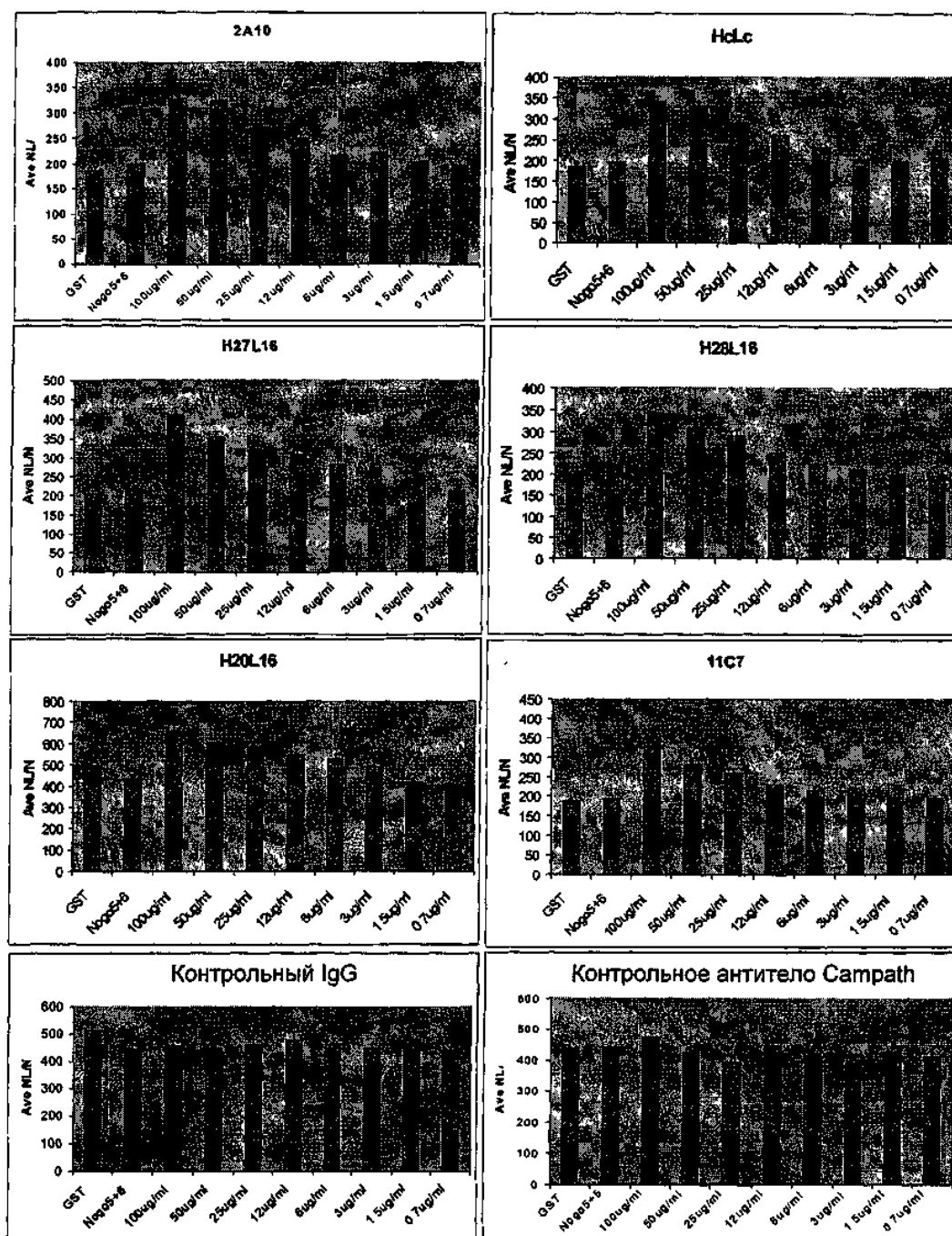


Фиг. 14

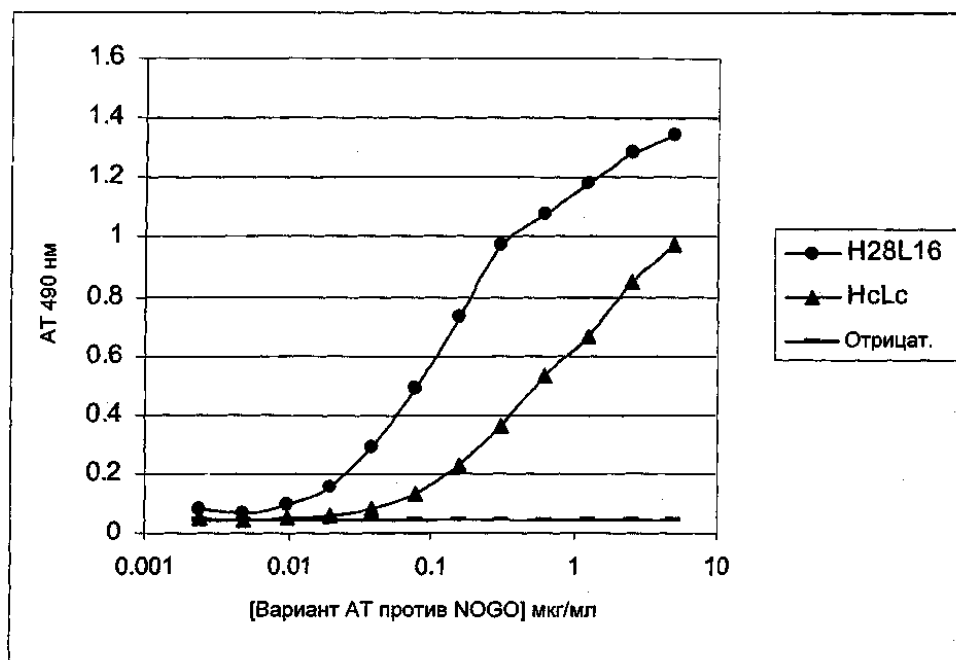




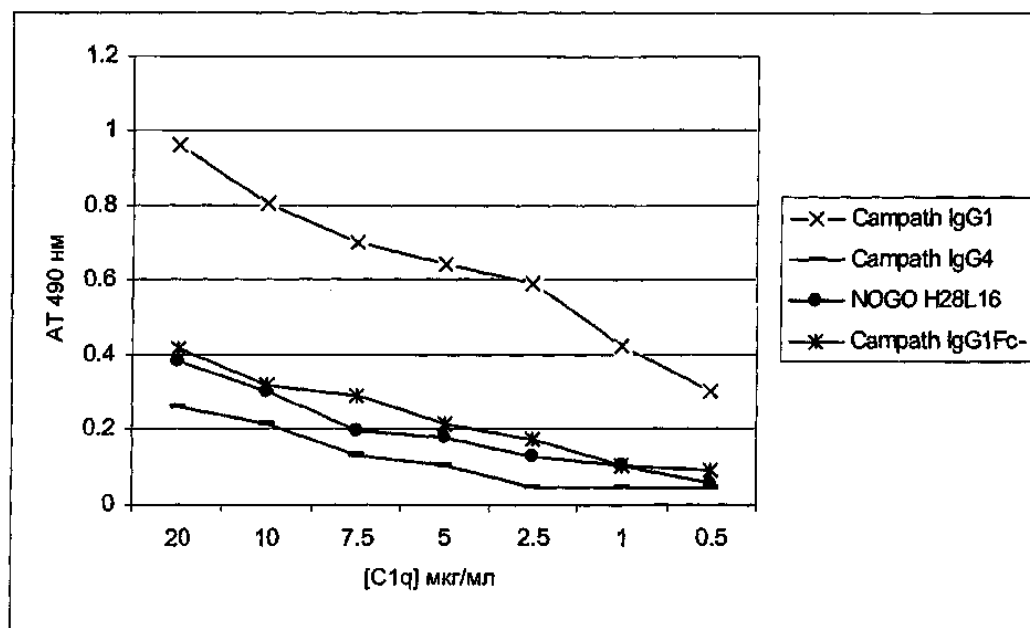
Фиг. 15



Фиг. 16

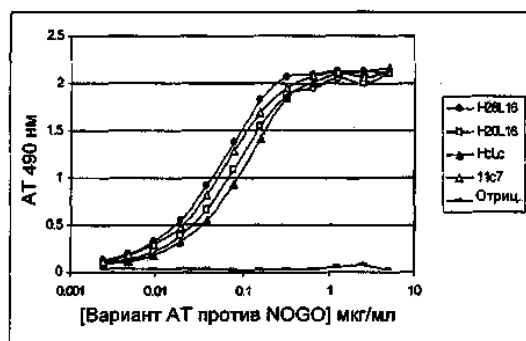


Фиг. 17

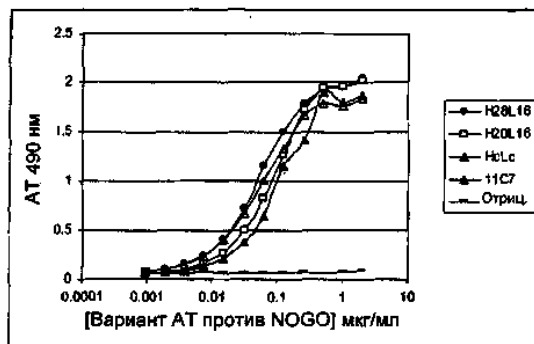


Фиг. 18

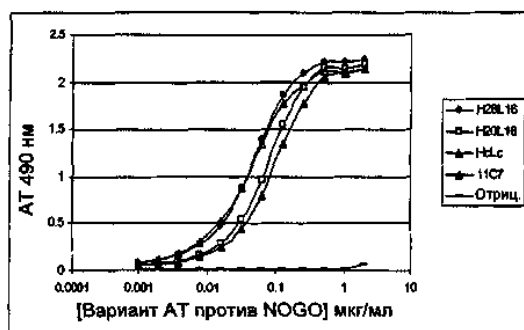
А



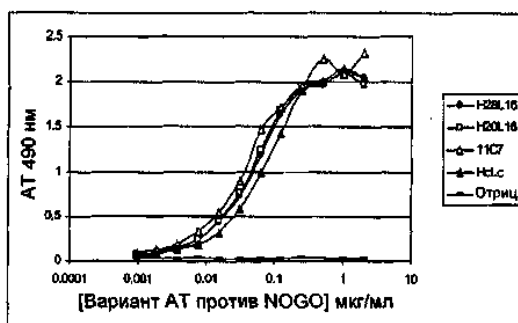
Б



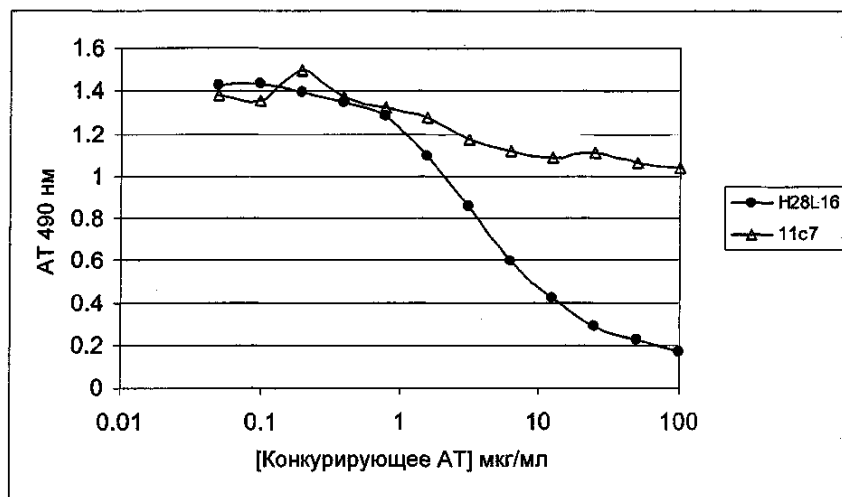
В



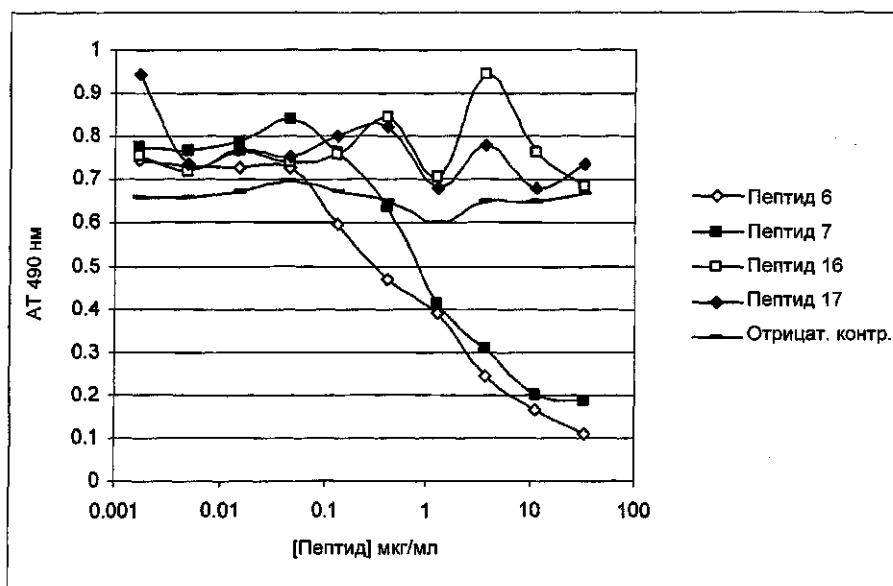
Г



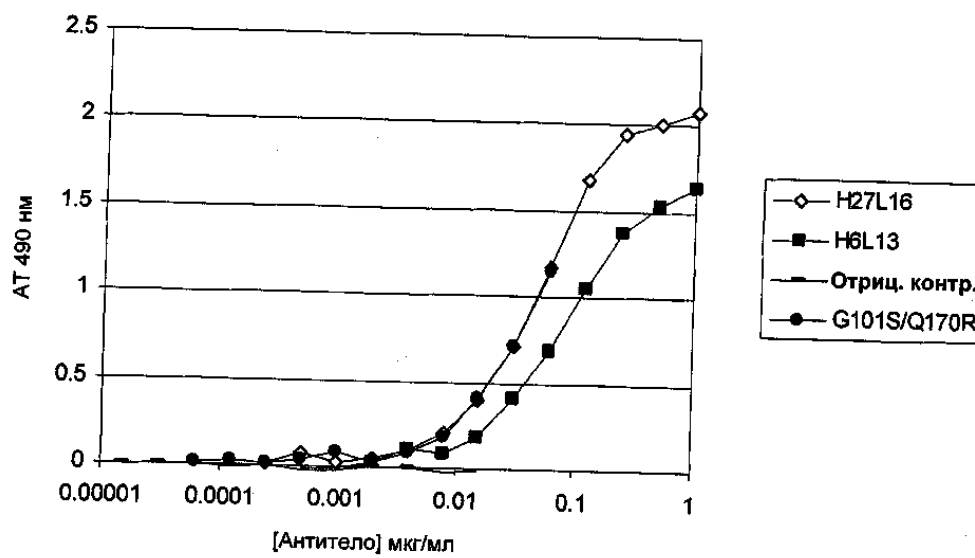
Фиг. 19



Фиг. 20



Фиг. 21



Фиг. 22



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

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