

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **036660**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2020.12.04

(21) Номер заявки
201490693

(22) Дата подачи заявки
2008.01.09

(51) Int. Cl. *A61K 31/70* (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61K 38/16 (2006.01)
C07K 14/00 (2006.01)
C07K 16/00 (2006.01)
C07H 21/00 (2006.01)

(54) АНТИТЕЛО К Sp35 ИЛИ ЕГО АНТИГЕНСВЯЗЫВАЮЩИЙ ФРАГМЕНТ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ НАРУШЕНИЙ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

(31) 60/879,324

(56) US-A1-20060009388

(32) 2007.01.09

(33) US

(43) 2014.10.30

(62) 200900971; 2008.01.09

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
БАЙОДЖЕН ЭМЭЙ ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
**Ми Ша, Пепински Р. Блэйк, Шао
Чжаохуэй, Гарбер Эллен Э., Миклас
Стивен Дю. (US)**

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(57) В рамках настоящего изобретения предложены антитела, специфично связывающиеся с полипептидом Sp35 человека, или антигенсвязывающие фрагменты указанных антител и их применение для лечения нарушений центральной нервной системы, в частности инсульта, неврита оптического нерва, повреждения центральной нервной системы, повреждения спинного мозга, заболевания или нарушения, связанного с демиелинизацией или дисмиелинизацией, рассеянного склероза или острой ишемической невропатии оптического нерва. Также предложены полинуклеотид и вектор, кодирующие заявленные антитела и фрагменты, и выделенная клетка-хозяин для получения указанных антител и фрагментов, и способ получения указанных антител и фрагментов.

B1**036660****036660****B1**

Область техники, к которой относится изобретение

Данное изобретение относится к неврологии, нейробиологии и молекулярной биологии. Более детально данное изобретение относится к способам лечения неврологических заболеваний, нарушений и повреждений, таких как повреждение спинного мозга.

Сведения о предшествующем уровне техники

Аксоны и дендриты тянутся из нейронов. Дистальный конец вытягивающегося аксона или неврита включает специализированный участок, известный как конус роста. Конусы роста воспринимают локальную окружающую среду и направляют роста аксона в направлении клетки-мишени нейрона. Конусы роста отвечают на сигналы окружающей среды, например, адгезионность поверхности, факторы роста, нейромедиаторы и электрические поля. Конусы роста, как правило, продвигаются вперед со скоростью от одного до двух миллиметров в день. Конус роста использует площадь впереди него и с любой из сторон посредством удлинений, классифицируемых как ламеллиподии и филоподии. Когда удлинение контактирует с неблагоприятной поверхностью, оно отодвигается. Когда удлинение контактирует с благоприятной для роста поверхностью, оно продолжает продвигаться и направляет конус роста в данном направлении. Когда конус роста достигает соответствующей клетки-мишени, образуется синаптическая связь.

Влияние на функцию нервных клеток осуществляется посредством контакта между нейронами и другими клетками в их непосредственной окружающей среде (см. статью Rutishauser, et al., 1988, *Physiol. Rev.* 68:819). Данные клетки включают специализированные клетки глии, олигодендроциты в центральной нервной системе (ЦНС) и шванновские клетки в периферической нервной системе (ПНС), которые окружают аксон нейрона миелином (см. раздел Lemke, 1992, монографии *Introduction to Molecular Neurobiology* (Введение в молекулярную нейробиологию) под ред. Z. Hall, стр. 281, Sinauer).

Нейроны ЦНС имеют присущую им потенциальную возможность регенерировать после повреждения, но эту функцию в них подавляют ингибирующие белки, присутствующие в миелине (см. статьи Brittis et al., 2001, *Neuron* 30:11-14; Jones et al., 2002, *J. Neurosci.* 22:2792-2803; Grimpe et al., 2002, *J. Neurosci.* 22:2144-3160).

Охарактеризован ряд миелиновых ингибирующих белков, обнаруженных на олигодендроцитах. Известные примеры миелиновых ингибирующих белков включают NogoA (см. статьи Chen et al., *Nature*, 2000, 403, 434-439; Grandpre et al., *Nature* 2000, 403, 439-444), миелин-ассоциированный гликопротеин (MAG) (см. статьи McKerracher et al., 1994, *Neuron* 13:805-811; Mukhopadhyay et al., 1994, *Neuron* 13:757-767) и гликопротеин олигодендроцитов (OM-gp), (см. статью Mikol et al., 1988, *J. Cell. Biol.*, 106:1273-1219). Отдельно показано, что каждый из данных белков является лигандом рецептора Nogo 1 нейронов (NgR1 (см. статьи Wang et al., *Nature* 2002, 417, 941-944; Grandpre et al., *Nature* 2000, 403, 439-444; Chen et al., *Nature*, 2000, 403, 434-439; Domeniconi et al., *Neuron* 2002, опубликовано в режиме прямого доступа 28 июня 2002).

Рецептор Nogo 1 (NgR1) представляет собой GPI-заякоренный мембранный белок, который включает 8 богатых лейцином повторов (см. статью Fournier et al., 2001, *Nature* 409:341-346). При взаимодействии с ингибирующими белками (например, Nogo A, MAG и OM-gp) комплекс NgR1 трансдуцирует сигналы, которые приводят к разрушению конуса роста и ингибированию отрастания неврита.

Имеется неудовлетворенная потребность в молекулах и способах ингибирования NgR1-опосредованного разрушения конуса роста и происходящего в результате подавления отрастания невритов. Кроме того, существует потребность в молекулах, которые повышают выживаемость нейронов и регенерацию аксонов. В частности, для лечения заболевания, нарушений или повреждений, которые включают повреждение аксонов, гибель клеток нейронов и олигодендроцитов, демиелинизацию или демиелинизацию или в целом относятся к нервной системе.

Данные заболевания, нарушения или повреждения включают, но без ограничения перечисленным, рассеянный склероз (MS), прогрессирующую многоочаговую лейкоэнцефалопатию (PML), энцефаломиелит (EPL), центральный миелиоз варолиева моста (CPM), аденолейкодистрофию, болезнь Александра, болезнь Пелицеуса-Мерцбахера (PMZ), лейкодистрофию глобоидных клеток (болезнь Краббе) и дегенерацию Валлериана, неврит оптического нерва (ретробульбарный неврит), поперечный миелит, боковой амиотрофический склероз (ALS), болезнь Гентингтона, болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, повреждение спинного мозга, травматическое повреждение головного мозга, повреждения после облучения, неврологические осложнения при химиотерапии, инсульт, острую ишемическую ретробульбарную невропатию (острую ишемическую ретробульбарную невропатию), дефицит витамина Е, синдром выделенного дефицита витамина Е, AR, синдром Басен-Корнцвейга, синдром Маркиафавы-Бигнами, метахроматическую лейкодистрофию, невралгию тройничного нерва и паралич Белла. Среди данных заболеваний MS является самой распространенной, поражая приблизительно 2,5 миллиона человек во всем мире.

MS, как правило, начинается с рецидивирующего-временно ослабевающего типа неврологического участия, которое затем развивается в хроническую фазу в возрастающим неврологическим повреждением. MS связан с деструкцией миелина, олигодендроцитов и аксонов, локализованных в областях хронических повреждений. Демиелинизация, наблюдаемая при MS, не всегда постоянна, и на ранних стадиях

болезни документирована ремиелинизация. Для ремиелинизации нейронов необходимы олигодендроциты.

Для MS имеются различные модифицирующие заболевание способы лечения, включая использование кортикостероидов и иммуномодуляторов, таких как интерферон бета и Tysabri®. Кроме того, вследствие центральной роли олигодендроцитов и миелинизации при MS, предприняты попытки разработать лекарственные препараты для повышения количества олигодендроцитов или усиления миелинизации. См., например, статьи Cohen et al., патент США № 5,574,009; Chang et al., N. Engl. J. Med, 346: 165-73 (2002). Однако, остается острая необходимость в изобретении дополнительных лекарственных препаратов для лечения MS и других нарушений демиелинизации и дисмиелинизации.

Сущность изобретения

Настоящее изобретение основано на обнаружении того, что Sp35 (Sp35 в литературе называют также LINGO-I и LRRN6) экспрессируется в олигодендроцитах и клетках нейронов и отрицательно регулирует дифференцировку олигодендроцитов/нейронов, выживаемость и миелинизацию аксонов. Кроме того, некоторые антагонисты Sp35 способствуют выживаемости, пролиферации и дифференцировке олигодендроцитов и клеток нейронов, а также миелинизации нейронов. Основываясь на данных обнаруженных фактах, изобретение относится в основном к антителам, их антигенсвязывающим фрагментам или производным, которые можно использовать в качестве антагониста Sp35. Кроме того, изобретение в основном относится к способам лечения различных заболеваний, нарушений или повреждения, ассоциированных с демиелинизацией, дисмиелинизацией, гибелью олигодендроцитов/клеток нейронов или повреждением аксонов, путем введения антагонистического антитела к Sp35 или антигенсвязывающего фрагмента.

В ряде вариантов осуществления изобретение включает выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который специфически связывается с тем же эпитопом Sp35, что эталонное моноклональное антитело, выбранное из группы, состоящей из 201', 3A3, 3A6, 1A7, 1G7, 2B10, 2C11, 2F3, 3P1D10.2C3, 3P1E11.3B7, 3P2C6.3G10.2H7, 3P2C9.2G4, 3P4A6.1D9, 3P4A1.2B9, 3P4C2.2D2, 3P4C5.1D8, 3P4C8.2G9, 30-C12 (Li01), 38-D01 (Li02), 35-E04 (Li03), 36-C09 (Li04), 30-A1 1 (Li0), 34-F02 (Li06), 29-E07 (Li07), 34-G04 (Li08), 36-A12 (Li09), 28-D02 (Li10), 30-B01 (Li11), 34-B03 (Li12), Li13, Li32, Li33, Li34, 3383 (L1a.1), 3495 (L1a.2), 3563 (L1a.3), 3564 (L1a.4), 3565 (L1a.5), 3566 (L1a.6), 3567 (L1a.7), 3568 (L1a.8), 3569 (L1a.9), 3570 (L1a.10), 3571 (L1a.11), 3582 (L1a.12), 1968 (L1a.13), 7P1D5.1G9, 3B5.2 и Li81.

Некоторые варианты осуществления изобретения включают выделенный полипептид, содержащий варируемую область тяжелой цепи иммуноглобулина (V_H), в которой участки CDR1, CDR2 и CDR3 выбраны из последовательностей полипептидов, показанных в табл. 4 или по меньшей мере на 80, 85, 90 или 95% идентичных последовательностям полипептидов, показанным в табл. 4, или по меньшей мере на 80, 85, 90, 95 или 100% идентичных участкам CDR1, CDR2 и CDR3 V_H тяжелой цепи иммуноглобулина, продуцируемым гибридомой 2.P3B5.2 (ATCC, Номер депозита PTA-8106) или участкам CDR1, CDR2 и CDR3 V_H тяжелой цепи иммуноглобулина, продуцируемым гибридомой 7.P1D5.1.G9 (ATCC Номер депозита PTA-8107).

Некоторые варианты осуществления изобретения включают выделенный полипептид, содержащий варируемую область легкой цепи иммуноглобулина (V_L), в которой участки CDR1, CDR2 и CDR3 выбраны из последовательностей полипептидов, показанных в табл. 5 или по меньшей мере на 80, 85, 90 или 95% идентичны последовательностям полипептидов, показанным в табл. 5 или по меньшей мере на 80, 85, 90, 95 или 100% идентичны участкам CDR1, CDR2 и CDR3 V_L легкой цепи иммуноглобулина, продуцируемым гибридомой 2.P3B5.2 (ATCC Номер депозита PTA-8106) или участкам CDR1, CDR2 и CDR3 V_L легкой цепи иммуноглобулина, продуцируемым гибридомой 7.P1D5.1.G9 (ATCC Номер депозита PTA-8107).

Некоторые варианты осуществления изобретения включают выделенный полипептид, содержащий варируемую область тяжелой цепи иммуноглобулина (V_H), выбранный из группы, состоящей из SEQ ID NO: 158-172, 372, 376, 380, 384 и 416, как показано в табл. 6, или по меньшей мере на 80, 85, 90 или 95% идентичный указанным SEQ ID NO: 158-172, 372, 376, 380, 384 и 416, как показано в табл. 6, или по меньшей мере на 80, 85, 90, 95 или 100% идентичный тяжелой цепи иммуноглобулина, продуцируемой гибридомой 2.P3B5.2 (ATCC Номер депозита PTA-8106) или тяжелой цепи иммуноглобулина, продуцируемой гибридомой 7.P1D5.1.G9 (ATCC Номер депозита PTA-8107).

Некоторые варианты осуществления изобретения включают выделенный полипептид, содержащий варируемую область легкой цепи иммуноглобулина (V_L), выбранный из группы, состоящей из SEQ ID NO: 273-286, 373, 377, 381, 385 и 417, как показано в табл. 8, или по меньшей мере на 80, 85, 90 или 95% идентичный указанным SEQ ID NO: 273-286, 373, 377, 381, 385 и 417, как показано в табл. 8, или по меньшей мере на 80, 85, 90, 95 или 100% идентичный легкой цепи иммуноглобулина, продуцируемой гибридомой 2.P3B5.2 (ATCC Номер депозита PTA-8106), или легкой цепи иммуноглобулина, продуцируемой гибридомой 7.P1D5.1.G9 (ATCC Номер депозита PTA-8107).

В дополнительных вариантах осуществления изобретение включает выделенный полинуклеотид, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую варируемую область тяжелой цепи иммуноглобулина (V_H), в которой участки CDR1, CDR2 и CDR3 выбраны из группы, выбранной из последовательностей

полинуклеотидов, показанных в табл. 4 или по меньшей мере на 80, 85, 90 или 95% идентичных последовательностям полинуклеотидов, показанным в табл. 4.

В других вариантах осуществления изобретение включает выделенный полинуклеотид, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую вариabельную область легкой цепи иммуноглобулина (V_L), в которой участки CDR1, CDR2 и CDR3 выбраны из последовательностей полинуклеотидов, показанных в табл. 5, или по меньшей мере на 80, 85, 90 или 95% идентичных последовательностям полинуклеотидов, показанных в табл. 5.

Другие варианты осуществления изобретения включают выделенный полинуклеотид, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую вариabельную область тяжелой цепи иммуноглобулина (V_H), выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 173-184, 370, 374, 378, 382 и 422, как показано в табл. 7, или по меньшей мере на 80, 85, 90 или 95% идентичную указанным SEQ ID NO: 173-184, 370, 374, 378, 382 и 422, как показано в табл. 7.

Другие варианты осуществления изобретения включают выделенный полинуклеотид, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую вариabельную область легкой цепи иммуноглобулина (V_L), выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 185-194, 371, 375, 379, 383 и 423, как показано в табл. 9, или по меньшей мере на 80, 85, 90 или 95% идентичную указанным SEQ ID NO: 185-194, 371, 375, 379, 383 и 423, как показано в табл. 9.

В ряде вариантов осуществления изобретение включает композиции, содержащие антитела или антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном контексте.

В дополнительных вариантах осуществления изобретение включает способы лечения повреждения ЦНС, ALS, болезнь Гентингтона, болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, диабетическую невропатию и инсульт, предусматривающие введение нуждающемуся в данном лечении животному эффективного количества агента, выбранного из группы, состоящей из выделенного антитела Sp35 или его фрагмента или композиций, содержащих указанное антитело или его фрагмент.

В других вариантах осуществления изобретение включает способы лечения заболевания или нарушений, ассоциированных с ингибированием роста или дифференцировки олигодендроцитов; демиелинизацией или дисмиелинизацией нейронов ЦНС, включающих рассеянный склероз (MS), прогрессирующую многоочаговую лейкоэнцефалопатию (PML), энцефаломиелит (EPL), центральный миелоз варолиева моста (CPM), аденолейкодистрофию, болезнь Александра и болезнь Пелицеуса-Мерцбахера (PMZ), путем введения нуждающемуся в указанном лечении животному эффективного количества агента, выбранного из группы, состоящей из выделенного антитела к Sp35 или его фрагмента, либо композиции, содержащей указанное антитело или его фрагмент.

Другие варианты осуществления настоящего изобретения включают способ ингибирования сигнальной трансдукции посредством рецептора Nogo 1 (NgR1), включающий контактирование NgR1 с эффективным количеством агента, выбранным из группы, состоящей из выделенного антитела к Sp35 или его фрагмента, либо композициями, содержащими указанное антитело или его фрагмент.

Дополнительные варианты осуществления настоящего изобретения включают способ снижения уровня ингибирования роста аксонов нейронов центральной нервной системы (CNS), включающий контактирование нейрона с эффективным количеством агента, выбранного из группы, состоящей из выделенного антитела к Sp35 или его фрагмента, либо композиций, содержащих указанное антитело или его фрагмент.

Другие варианты осуществления настоящего изобретения включают способ ингибирования разрушения конуса роста нейрона ЦНС, предусматривающий контактирование нейрона с эффективным количеством агента, выбранного из группы, состоящей из выделенного антитела к Sp35 или его фрагмента либо композиций, содержащих указанное антитело или его фрагмент.

Перечень фигур, чертежей и иных материалов

Фиг. 1: гель SDS-PAGE (электрофорез в полиакриламидном геле с использованием додецилсульфата натрия), показывающий иммунопреципитацию Sp35 моноклональными антителами 1A7 и 2F3.

Фиг. 2-5: результат FACS (сортировки клеток по возбужденной флуоресценции), показывающий, что MAbs 1A7 и 2F3 связываются с клетками COS-7 или 293, экспрессирующими Sp35, но не с контрольными клетками без экспрессии Sp35.

Фиг. 6: MAbs 1A7 и 2F3 защищают нейроны DRG от миелин-опосредованного ингибирования отращивания нервных отростков.

Фиг. 7-8: иммуногистохимическое окрашивание ("ИГХ") сокультур нейронов DRG и олигодендроцитов, обработанных моноклональными антителами 1A7 и 2F3 или контрольным антителом. Изображения D и E представляют собой увеличения изображений B и C соответственно. Окрашивание антителом к бета-III-тубулину для выявления аксонов или антителом к MBP для выявления олигодендроцитов. Изображение F - количественная оценка MBP+-миелинизирующих клеток при обработке сокультур 1A7 или 2F3. Изображение G - анализ вестерн-блоттинга с целью количественной оценки MBP, продуцируемых в сокультурах нейронов DRG и олигодендроцитов, обработанных моноклональными антителами 1A7 и 2F3.

Фиг. 5: изображение A - окрашивание антителом CC1 мышечных олигодендроцитов на модели с ку-

призоном. Изображение В - окрашивание антителом к белку MBP или луколом быстрым синим мышечных нейронов на модели с купризоном. Изображение С - количественная оценка антител СС1 - положительных олигодендроцитов через четыре недели и 6 недель.

Фиг. 6: выживаемость RGCs. Лечение моноклональным антителом 1A7 к Sp35. Животные, леченные антителом 1A7, показывают существенную выживаемость нейронов (80%) по сравнению с животными, леченными контрольным антителом или PBS, каждый из которых показывает только приблизительно 50% выживаемость нейронов.

Фиг. 7: показатели BBB мышей, получающих антитело к Sp35 1A7 после повреждения спинного мозга, как показано в примере 8.

Фиг. 8: вестерн-блот сокультивируемых олигодендроцитов и DRGs после инкубирования с антителами к Sp35 Li05, Li06 и 3, 10 и 30 мг Sp35-Fc (LINGO-1-Ig), как описано в примере 9.

Фиг. 9: фотографии зрительных нервов А) нормальных крыс; В) крыс с вызванным гликопротеином олигодендроцитов миелина (MOG) экспериментальным аутоиммунным энцефаломиелитом (EAE); и С) крыс с вызванным гликопротеином олигодендроцитов миелина (MOG) экспериментальным аутоиммунным энцефаломиелитом (EAE), леченных антителом к Sp35 1A7. Электронные микрофотографии каждого зрительного нерва показаны ниже каждой фотографии зрительного нерва.

Фиг. 10: график числа регенеративных нервных волокон/срез, подсчитанного у животных, получающих инъекцию в стекловидное тело антитела к Sp35 1A7 после разрушения зрительного нерва.

Фиг. 11: результат FACS, показывающий, что MAbs 3B5.2 (3B5) и 7P1D5.1G9 (1D5) связываются с клетками СНО, стабильно трансфицированными Sp35 (LINGO-I).

Сведения, подтверждающие возможность осуществления изобретения

I. Определения.

Следует заметить, что термин "какой-либо" элемент относится к одному или более данным элементов, например, имеют в виду, что выражение "антитело к Sp35" представляет одно или более антител к Sp35. В таком случае термины "какой-либо", "один или более" и "по меньшей мере один" можно использовать взаимозаменяемо в данном контексте.

Как используют в данном контексте, термин "полипептид" предназначен для того, чтобы охватывать "полипептид" в единственном числе, а также "полипептиды" во множественном числе и относится к молекуле, состоящей из мономеров (аминокислот), линейно связанных амидными связями (известными также как пептидные связи). Термин "полипептид" относится к любой цепи или цепям из двух или более аминокислот и не относится к специфической длине продукта. Таким образом, пептиды, дипептиды, трипептиды, олигопептиды, "белок", "цепь аминокислот" или любой другой термин, используемый в отношении цепи или цепей из двух или более аминокислот, включены в определение "полипептид", и термин "полипептид" можно использовать вместо или взаимозаменяемо с любым из данных терминов. Предусматривают также, что термин "полипептид" относится к продуктам постэкспрессионных модификаций полипептида, включая без ограничения гликозилирование, ацетилирование, фосфорилирование, амидирование, дериватизацию известными защитными/блокирующими группами, протеолитическое расщепление или модификацию неприродными аминокислотами. Полипептид может быть выделен из природного биологического источника или получен рекомбинантным способом, но необязательно, чтобы он транслировался с обозначенной последовательности нуклеиновой кислоты. Его можно генерировать любым путем, включая химический синтез.

Полипептид, соответствующий изобретению, может быть размером приблизительно 3 или более, 5 или более, 10 или более, 20 или более, 25 или более, 50 или более, 75 или более, 100 или более, 200 или более, 500 или более, 1000 или более или 2000 или более аминокислот. Полипептиды могут иметь определенную трехмерную структуру, хотя они необязательно имеют данную структуру. Полипептиды с определенной трехмерной структурой называют складчатыми, а полипептиды, которые не обладают определенной трехмерной структурой, но предпочтительнее могут принимать большое число различных конформаций, называют нескладчатыми. Как используют в данном контексте, термин гликопротеин относится к белку, связанному с по меньшей мере одной углеводной молекулой, которая присоединена к белку через кислородсодержащую или азотсодержащую боковую цепь остатка аминокислоты, например, остатка серина или остатка аспарагина.

Под "выделенным" полипептидом или его фрагментом, вариантом или производным подразумевают полипептид, который не находится в своей естественной среде. Не требуется никакого определенного уровня очистки. Например, выделенный полипептид можно удалить из его нативной или естественной окружающей среды. Рекомбинантно полученные полипептиды и белки, экспрессируемые в клетках-хозяевах, считают выделенными для целей изобретения, как и нативные или рекомбинантные полипептиды, которые выделены, фракционированы или частично либо в существенной степени очищены любым подходящим способом.

В качестве полипептидов, соответствующих настоящему изобретению, включены также фрагменты, производные, аналоги или варианты вышеупомянутых полипептидов и любая их комбинация. Термины "фрагмент", "вариант", "производное" и "аналог" касательно антител к Sp35 или полипептидов антител, соответствующих настоящему изобретению, включают любые полипептиды, которые сохраняют

по меньшей мере некоторые из антигенсвязывающих свойств соответствующего нативного антитела или полипептида. Фрагменты полипептидов, соответствующих настоящему изобретению, включают протеолитические фрагменты, а также делеционные фрагменты в дополнение к специфическим фрагментам антитела, обсуждаемым в других разделах данного материала. Варианты антител к полипептид Sp35ов антител, соответствующих настоящему изобретению, включают фрагменты, как описано выше, а также полипептиды с измененными последовательностями аминокислот вследствие замен, делеций и инсерций аминокислот. Варианты могут существовать в естественных условиях или быть неприродными. Неприродные варианты можно получить при использовании известных в области техники способов мутагенеза. Варианты полипептидов могут включать консервативные или неконсервативные замены аминокислот, делеции или добавления. Производные антител к Sp35 и полипептиды антитела, соответствующие настоящему изобретению, представляют собой полипептиды, которые изменены так, чтобы проявлять дополнительные свойства, не обнаруживаемые у нативного полипептида. Примеры включают слитые белки. Варианты полипептидов могут быть в данном контексте названы "аналогами полипептидов". Как используют в данном контексте, "производное" антитела к Sp35 или полипептида антитела относится к данному полипептиду, имеющему один или более остатков, химически дериватизированных реакций функциональной боковой группы. В качестве "производных" включены также те пептиды, которые содержат одно или более производных природных аминокислот из двадцати стандартных аминокислот. Например, 4-гидроксипролином можно заместить пролин; 5-гидроксилизин можно заместить лизин; 3-метилгистидином можно заместить гистидин; гомосерином можно заместить серин и орнитином можно заместить лизин.

Термин "полинуклеотид" предназначен для того, чтобы охватывать отдельную нуклеиновую кислоту, а также множество нуклеиновых кислот и относится к выделенной молекуле или конструкции нуклеиновой кислоты, например, информационной РНК (мРНК) или плазмидной ДНК (пДНК). Полинуклеотид может включать традиционную фосфодиэфирную связь или нетрадиционную связь (например, амидную связь, такую как обнаружена в пептид-нуклеиновых кислотах (ПНК)). Термин "нуклеиновая кислота" относится к одному или более сегментов нуклеиновой кислоты, например, фрагментам ДНК и РНК, присутствующим в полинуклеотиде. Под "выделенной" нуклеиновой кислотой или полинуклеотидом подразумевают молекулу нуклеиновой кислоты, ДНК или РНК, которая удалена из своей нативной окружающей среды. Например, рекомбинантный полинуклеотид, кодирующий антитело к Sp35, содержащийся в векторе, считают выделенным в целях настоящего изобретения. Дополнительные примеры выделенного полинуклеотида включают рекомбинантные полинуклеотиды, поддерживаемые в гетерологичных клетках-хозяевах или очищенные (частично или в существенной степени) полинуклеотиды в растворе. Выделенные молекулы РНК включают *in vivo* или *in vitro* транскриптов РНК полинуклеотидов, соответствующих настоящему изобретению. Выделенные полинуклеотиды или нуклеиновые кислоты, соответствующие настоящему изобретению, кроме того, включают данные, полученные синтетическим путем. Кроме того, полинуклеотид или нуклеиновая кислота могут представлять собой или могут включать регуляторный элемент, такой как промотор, сайт связывания рибосомы или терминатор транскрипции.

Как используют в данном контексте, "кодирующий участок" представляет собой часть нуклеиновой кислоты, которая состоит из кодонов, транслируемых в аминокислоты. Хотя "стоп-кодон" (TAG, TGA или TAA) не транслируется в аминокислоту, его можно рассматривать как часть кодирующего участка, но никакие фланкирующие последовательности, например промоторы, сайты связывания рибосом, терминаторы транскрипции, интроны и т.п. не являются частью кодирующего участка. Два или более кодирующих участков, соответствующих настоящему изобретению, могут присутствовать в одной полинуклеотидной конструкции, например, на одном векторе, или в отдельных полинуклеотидных конструкциях, например, на отдельных (различных) векторах. Более того, любой вектор может включать один кодирующий участок или может включать два или более кодирующих участка, например, один вектор может отдельно кодировать переменную область тяжелой цепи иммуноглобулина и переменную область легкой цепи иммуноглобулина. Кроме того, вектор, полинуклеотид или нуклеиновая кислота, соответствующие изобретению, могут кодировать гетерологичные кодирующие участки, либо слитые, либо неслитые с нуклеиновой кислотой, кодирующей антитело к Sp35 или его фрагмент, вариант либо производное. Гетерологичные кодирующие участки включают без ограничения перечисленным специализированные элементы или мотивы, такие как секреторный сигнальный пептид или гетерологичный функциональный домен.

В ряде вариантов осуществления полинуклеотид или нуклеиновая кислота представляют собой ДНК. В случае ДНК полинуклеотид, включающий нуклеиновую кислоту, которая кодирует полипептид, в норме может включать промотор и/или другие элементы контроля транскрипции или трансляции, функционально связанные с одним или более кодирующих участков. Функциональная связь осуществляется, когда кодирующий участок продукта гена, например, полипептида, связан в одной или более регуляторных последовательностей таким образом, чтобы поместить экспрессию продукта гена под влияние или контроль регуляторной последовательности(ей). Два фрагмента ДНК (такие как участок, кодирующий полипептид, и связанный с ним промотор) являются "функционально связанными", если индукция

функции промотора приводит в результате к транскрипции мРНК, кодирующей требуемый продукт гена и если природа связи между двумя фрагментами ДНК не нарушает способности экспрессионных регуляторных последовательностей направлять экспрессию продукта гена или не нарушает способность к транскрипции ДНК-матрицы. Таким образом участок промотора будет функционально связан с нуклеиновой кислотой, кодирующей полипептид, если промотор способен осуществлять транскрипцию данной нуклеиновой кислоты. Промотор может представлять собой специфический в отношении клетки промотор, который направляет существенную транскрипцию ДНК только в заданных клетках. Другие элементы контроля транскрипции, кроме промотора, например, энхансеры, операторы, репрессоры и сигналы терминирования транскрипции, могут быть функционально связаны с полинуклеотид, чтобы направлять специфическую в отношении клеток транскрипцию. Подходящие промоторы и другие участки контроля транскрипции описаны в данном контексте.

Компетентным специалистам в области техники известен ряд участков контроля транскрипции. Они включают без ограничения перечисленным участки контроля транскрипции, которые работают в клетках позвоночных, например, но без ограничения перечисленным, промоторные и энхансерные сегменты из цитомегаловирусов (средне-ранний промотор в сочетании с интроном А), обезьяний вирус 40 (ранний промотор) и ретровирусы (такие как вирус саркомы Роуса). Другие участки контроля транскрипции включают выделенные из генов позвоночных, таких как актин, белок теплового шока, гормон роста крупного рогатого скота и бета-глобин кроликов, а также другие последовательности, способные контролировать экспрессию гена в эукариотических клетках. Дополнительные подходящие участки контроля транскрипции включают тканеспецифические промоторы и энхансер, а также лимфокин-индуцируемые промоторы (например, промоторы, индуцируемые интерферонами или интерлейкинами).

Аналогично специалистам в области техники известно множество элементов контроля трансляции. Они включают, но без ограничения перечисленным, сайты связывания рибосом, кодоны инициации и терминирования трансляции и элементы, выделенные из пикорнавирусов (в частности, внутренний сайт входа в рибосому или IRES, обозначаемый также как последовательность CITE).

В других вариантах осуществления полинуклеотид, соответствующий настоящему изобретению, представляет собой РНК, например, в форме информационной РНК (m-РНК).

Полинуклеотид и нуклеиновая кислота, кодирующие участки, соответствующие настоящему изобретению, могут быть связаны с дополнительными кодирующими участками, которые кодируют секреторные или сигнальные пептиды, которые направляют секрецию полипептида, кодируемого полинуклеотидом, соответствующим настоящему изобретению. Согласно гипотезе сигнала белки, секретируемые клетками млекопитающих, имеют сигнальный пептид или секреторную лидерную последовательность, которая отщепляется от зрелого белка после инициации экспорта растущего белка через шероховатый эндоплазматический ретикулум. Обычные специалисты в области техники знают, что полипептиды, секретируемые клетками позвоночных, как правило, имеют сигнальный пептид, слитый с N-концом полипептида, который отщепляется от полного или "полной длины" полипептида с образованием секретрируемой или "зрелой" формы полипептида. В ряде вариантов осуществления используют нативный сигнальный пептид, например, сигнальный пептид тяжелой цепи или легкой цепи иммуноглобулина или функциональное производное данной последовательности, которая сохраняет способность направлять секрецию полипептида, который функционально связан с ней. Альтернативно можно использовать гетерологичный сигнальный пептид млекопитающих или его функциональное производное. Например, лидерную последовательность дикого типа можно заменить лидерной последовательностью человеческого тканевого активатора плазминогена (ТРА) или мышинной бета-глюкуронидазы.

Настоящее изобретение направлено на некоторые антитела к Sp35 или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты или производные. До тех пор, пока специально не ссылаются на антитела полного размера, такие как природные антитела, термин "антитела к Sp35" охватывает антитела полного размера, а также антигенсвязывающие фрагменты, варианты, аналоги или производные данных антител, например, молекулы природного антитела или иммуноглобулина или молекулы инженерного антитела или фрагменты, которые связывают антиген аналогично молекулам антитела.

Термины "антитело" и "иммуноглобулин" в данном контексте используют взаимозаменяемо. Антитело или иммуноглобулин включает по меньшей мере вариабельный домен тяжелой цепи и в норме включает, по меньшей мере, вариабельные домены тяжелой цепи и легкой цепи. Базовые структуры иммуноглобулина в системах позвоночных относительно хорошо изучены. См., например, монографию Harlow et al., Антитела: A Laboratory Manual (Антитела: лабораторное руководство) (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2 изд. 1988).

Как будет подробно обсуждаться ниже, термин "иммуноглобулин" включает различные широкие классы полипептидов, которые можно различить биохимически.

Компетентные специалисты в области техники будут иметь в виду, что тяжелые цепи классифицируют как гамма, мю, альфа, дельта и эпсилон (γ , μ , α , δ , ϵ) с рядом подклассов в них (например, $\gamma 1$ - $\gamma 4$). Природа данной цепи является тем, что определяет "класс" антитела как IgG, IgM, IgA IgG или IgE соответственно. Подклассы (изотипы) иммуноглобулинов, например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и т.п. хорошо охарактеризованы и, как известно, обуславливают функциональную специализацию. Модифициро-

ванные варианты каждого из данных подклассов и изотипов легко отличимы для компетентного специалиста в свете данного описания и, соответственно, входят в объем данного изобретения. Хотя все классы иммуноглобулина несомненно входят в объем настоящего изобретения, последующее обсуждение будет в основном направлено на класс IgG молекул иммуноглобулина. Что касается IgG, то стандартная молекула иммуноглобулина включает два идентичных полипептида легкой цепи молекулярной массы приблизительно 23000 Д и два идентичных полипептида тяжелой цепи молекулярной массы 53000-70000. Четыре цепи, как правило, связаны дисульфидными связями в "Y"-конфигурации, в которой легкие цепи окружают как скобками тяжелые цепи, начиная от "входа" в "Y" и продолжаясь через вариабельный участок.

Легкие цепи классифицируют как либо каппа, либо лямбда (κ , λ). Каждый класс тяжелых цепей может быть связан либо с каппа-, либо с лямбда-легкой цепью. Как правило, легкие и тяжелые цепи ковалентно связаны друг с другом и "хвостовые" части двух тяжелых цепей связаны друг с другом ковалентными дисульфидными связями или нековалентными связями, когда иммуноглобулины генерируются либо гибридами, В-клетками, либо генно-инженерными клетками-хозяевами. В тяжелой цепи последовательности аминокислот выходят из N-конца и в раздвоенных концах Y-конфигурации к С-концу в нижней части каждой цепи.

Как легкие, так и тяжелые цепи делятся на участки структурной и функциональной гомологии. Термины "константный" и "вариабельный" используют функционально. В этом плане следует иметь в виду, что вариабельные домены частей как легкой (V_L), так и тяжелой (V_H) цепи определяют распознавание антигеном и специфичность. Напротив, константные домены легкой цепи (C_L) и тяжелой цепи (C_{H1} , C_{H2} или C_{H3}) обуславливают важные биологические свойства, такие как секреция, трансплацентарная подвижность, связывание Fc-рецептора, связывание комплемента и т.п. По договоренности нумерация доменов константной области возрастает по мере удаления от антигенсвязывающего центра или аминоконца антитела. N-концевая часть представляет собой вариабельную область и С-концевая часть представляет собой константную область, C_{H3} - и C_L -домены фактически включают карбокси-конец тяжелой и легкой цепи соответственно.

Как указано выше, вариабельная область позволяет антителу избирательно распознавать и специфически связывать эпитопы на антигенах. Это значит, что домен V_L и домен V_H или подгруппа участков, определяющих комплементарность (CDRs) антитела комбинируются с формированием вариабельной области, которая определяет трехмерный центр связывания антигена. Данная четвертичная структура антитела образует центр связывания антигена, присутствующий на конце каждого плеча Y. Более детально центр связывания антигена определен тремя CDRs на каждой из V_H и V_L цепей. В ряде случаев, например, в случае некоторых молекул иммуноглобулина, выделенных у видов верблюжьих или сконструированных на основе иммуноглобулинов верблюжьих, полная молекула иммуноглобулина может состоять только из тяжелых цепей при отсутствии легких цепей. См., например, статью Hamers-Casterman et al., *Nature* 363:446-448 (1993).

В природных антителах шесть "участков, определяющих комплементарность" или "CDRs", присутствующие в каждом антигенсвязывающем домене, представляют собой короткие не прилегающие друг к другу последовательности аминокислот, которые специфически расположены с образованием антигенсвязывающего домена, когда антитело принимает свою трехмерную конфигурацию в водной среде. Остальные аминокислоты в антигенсвязывающих доменах, называемых "скелетными" участками, демонстрируют меньшую межмолекулярную вариабельность. Скелетные участки в большой степени принимают конформацию бета-складки и CDRs образуют петли, которые связаны и в ряде случаев образуют часть структуры бета-складки. Таким образом скелетные участки действуют с образованием основы, которая обеспечивает расположение CDRs в правильной ориентации посредством межцепочечных нековалентных взаимодействий. Антигенсвязывающий домен, сформированный расположенными в определенных положениях CDRs определяет поверхность, комплементарную эпитопу на иммунореактивном антигене. Данная комплементарная поверхность способствует нековалентному связыванию антитела с его родственным эпитопом. Обычный специалист в области техники может легко идентифицировать аминокислоты, включающие CDRs и скелетные участки, соответственно, для заданной вариабельной области тяжелой или легкой цепи, поскольку они точно определены (см. работы "Sequences of Proteins of Immunological Interest" (Последовательности белков, представляющих иммунологический интерес) Kabat, E., et al., U.S. Department of Health and Человеческий Services, (1983) и Chothia and Lesk, *J. Mol. Biol.*, 796:901-917 (1987), которые включены в данном контексте в виде ссылки во всей своей полноте).

В случае, когда имеется два или более определений термина, который используют и/или принимают в области техники, определение термина, как используют в данном контексте, предусматривает включение всех данных значений, пока специально не установлено обратное. Специальным примером является использование термина "участок, определяющий комплементарность" ("CDR") для описания неродственных центров комбинирования антигена, обнаруженных в вариабельной области полипептидов обеих, тяжелой и легкой цепи. Данный конкретный участок описан в работе Kabat et al., U.S. Dept. of Health and Человеческий Services, "Sequences of Proteins of Immunological Interest" (Последовательности белков, представляющих иммунологический интерес) (1983) и Chothia et al., *J. Mol. Biol.* 196:901-917

(1987), которые включены в данном контексте в виде ссылки, где определения включают перекрытия подгрупп остатков аминокислот при сравнении друг с другом. Тем не менее, предусматривают, что применение каждого из определений для обозначения CDR антитела или его вариантов входит в объем термина, как определяют и используют в данном контексте. Соответствующие остатки аминокислот, которые охватывают CDRs, как определено каждой из вышеприведенных ссылок, представлены ниже в табл. I для сравнения. Точные номера остатков, которые охватывают определенный CDR, будут варьировать в зависимости от последовательности и размера CDR. Компетентные специалисты в области техники могут рутинно определить, какие остатки включают конкретный CDR заданной последовательности аминокислот варибельной области антитела.

Таблица 1

Определения CDR		
	Kabat	Chothia
V _H CDR1	31-35	26-32
V _H CDR2	50-65	52-58
V _H CDR3	95-102	95-102
V _L CDR1	24-34	26-32
V _L CDR2	50-56	50-52
V _L CDR3	89-97	91-96

¹Нумерация всех определений CDR в табл. 1 дана в соответствии с условиями нумерации, приведенными в работе Kabat et al. (см. ниже).

Kabat et al. определили также систему нумерации последовательностей варибельного домена, которая применима для любого антитела. Обычный специалист в области техники может однозначно применить данную систему "нумерации по Kabat" в отношении последовательности любого варибельного домена вне зависимости от экспериментальных данных, не относящихся к самой последовательности. Как используют в данном контексте, термин "нумерация по Kabat" относится к системе нумерации, предложенной в работе Kabat et al., U.S. Dept. of Health and Человеческий Services, "Sequences of Proteins of Immunological Interest" (Последовательности белков, представляющих иммунологический интерес) (1983). Пока не указано иначе, ссылки на нумерацию специфических положений остатков аминокислот в антителе к Sp35 или его антигенсвязывающем фрагменте, варианте или производном, соответствующим настоящему изобретению, соответствуют системе нумерации, предложенной Kabat.

У видов верблюжьих варибельная область тяжелой цепи, обозначаемая V_HH, формирует полный антигенсвязывающий домен. Главные отличия между варибельными областями V_HH верблюжьих и теми, которые выделены из традиционных антител (V_H) включают (a) более гидрофобные аминокислоты в поверхности контакта легкой цепи V_H по сравнению с соответствующим участком V_HH, (b) более длинный CDR3 в V_HH, и (c) частое присутствие дисульфидной связи между CDR1 и CDR3 в V_HH.

Антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты или производные, соответствующие изобретению, включают, но без ограничения перечисленным, поликлональные, моноклональные, мультиспецифические, человеческие, гуманизированные, приматизированные или химерные антитела, одноцепочечные антитела, эпитопсвязывающие фрагменты, например, Fab, Fab' и F(ab')₂, Fd, Fvs, одноцепочечные Fvs (scFv), одноцепочечные антитела, дисульфид-связанные Fvs (sdFv), фрагменты, включающие либо V_L-, либо V_H-домен, фрагменты, продуцируемые библиотекой, экспрессирующей Fab и антиидиотипические (анти-Id) антитела (включая, например, анти-Id антитела к антителам к Sp35, описанным в данном контексте). Молекулы ScFv известны в области техники и описаны, например, в патенте США 5892019. Молекулы иммуноглобулина или антитела, соответствующие изобретению, могут быть любого типа (например, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA и IgY), класса (например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2) или подкласса молекулы иммуноглобулина.

Фрагменты антитела, в том числе одноцепочечные антитела, могут включать варибельную область(и) одну или в сочетании с полным набором или частью следующих элементов: шарнирная область, домены C_H1, C_H2 и C_H3. Кроме того, в изобретение включены антигенсвязывающие фрагменты, также включающие любую комбинацию варибельной области(ей) с шарнирной областью, доменами C_H1, C_H2 и C_H3. Антитела или их иммуноспецифические фрагменты, предназначенные для использования в диагностических и терапевтических способах, описанных в данном контексте, могут быть любого животного происхождения, включая птиц и млекопитающих. Предпочтительно, когда антитела представляют собой человеческие, мышинные, ослиные, кроличьи, козьи, морской свинки, верблюжьих, ламы, лошадиные или куриные антитела. В другом варианте осуществления варибельная область может происходить из хрящевых рыб (например, из акул). Как используют в данном контексте, "человеческие" антитела включают антитела, имеющие последовательность аминокислот человеческого иммуноглобулина, и включают антитела, выделенные из библиотек человеческого иммуноглобулина или у животных, трансгенных по од-

ному или более человеческим иммуноглобулинам и не экспрессирующим эндогенные иммуноглобулины, как описано ниже и, например, в патенте США № 5939598, выданном Kucherlapati et al.

Как используют в данном контексте, термин "часть тяжелой цепи" включает последовательности аминокислот, выделенные из тяжелой цепи иммуноглобулина. Полипептид, содержащий часть тяжелой цепи, включает по меньшей мере один элемент из: домена C_{H1} , шарнирного (например, верхнего, среднего и/или нижнего шарнирного участка) домена, домена C_{H2} , домена C_{H3} или его варианта либо фрагмента. Например, связывающий полипептид, предназначенный для применения в изобретении, может включать полипептидную цепь, содержащую домен C_{H1} ; полипептидную цепь, содержащую домен C_{H1} , по меньшей мере часть шарнирного домена и домен C_{H2} domain; полипептидную цепь, содержащую домен C_{H1} и домен C_{H3} ; полипептидную цепь, содержащую домен C_{H1} , по меньшей мере часть шарнирного домена и домен C_{H3} или полипептидную цепь, содержащую домен C_{H1} , по меньшей мере часть шарнирного домена, домен C_{H2} и домен C_{H3} . В другом варианте осуществления полипептид, соответствующий изобретению, включает полипептидную цепь, содержащую домен C_{H3} . Кроме того, в связывающем полипептиде, предназначенном для использования в изобретении, может отсутствовать по меньшей мере часть домена C_{H2} (например, весь или часть домена C_{H2}). Как представлено выше, обычный специалист в области техники будет иметь в виду, что данные домены (например, части тяжелой цепи) могут быть модифицированы так, что они отличаются по последовательности аминокислот от природной молекулы иммуноглобулина.

У ряда антитела к Sp35 или их антигенсвязывающих фрагментов, вариантов или производных, описанных в данном контексте, части тяжелых цепей полипептидной цепи мультимера идентичны данным частям на второй полипептидной цепи мультимера. Альтернативно мономер, содержащий часть тяжелой цепи, соответствующую изобретению, неидентичны. Например, каждый мономер может включать иной центр связывания мишени, образуя, например, биспецифическое антитело.

Части тяжелой цепи связывающего полипептида, предназначенного для использования в способах диагностики и лечения, описанных в данном контексте, могут быть выделены из различных молекул иммуноглобулина. Например, часть тяжелой цепи полипептида может включать домен C_{H1} , выделенный из молекулы IgG1, и шарнирную область, выделенную из молекулы IgG3. В другом примере часть тяжелой цепи может включать шарнирную область, выделенную частично из молекулы IgG1, и частично из молекулы IgG3. В другом примере часть тяжелой цепи может включать химерный шарнир, выделенный частично из молекулы IgG1, и частично из молекулы IgG4.

Как используют в данном контексте, термин "часть легкой цепи" включает последовательности аминокислот, выделенные из легкой цепи иммуноглобулина.

Предпочтительно, когда часть легкой цепи включает по меньшей мере один из доменов V_L или C_L .

Антитела к Sp35 или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты или производные, представленные в данном контексте, можно описать или определить в терминах эпитопа(ов) или части(ей) антигена, например, полипептида-мишени (Sp35), который они распознают или специфически связывают. Часть полипептида-мишени, которая специфически взаимодействует с антигенсвязывающим доменом антитела, представляет собой "эпитоп" или "антигенную детерминанту". Полипептид-мишень может включать один эпитоп, но, как правило, включает по меньшей мере два эпитопа и может включать любое число эпитопов в зависимости от размера, конформации и типа антигена. Более того, следует отметить, что "эпитоп" на полипептиде-мишени может представлять собой или включать непептидные элементы, например, эпитоп может включать углеводную боковую цепь.

Минимальный размер пептидного или полипептидного эпитопа для антитела, как считают, составляет приблизительно от четырех до пяти аминокислот. Предпочтительно, когда пептидный или полипептидный эпитопы содержат по меньшей мере семь, более предпочтительно по меньшей мере девять и наиболее предпочтительно от по меньшей мере приблизительно 15 до приблизительно 30 аминокислот. Поскольку CDR может распознавать антигенный пептид или полипептид в его третичной форме, аминокислоты, включающие эпитоп, не обязательно должны следовать друг за другом, и в ряде случаев могут даже не располагаться на одной и той же пептидной цепи. В настоящем изобретении пептидный или полипептидный эпитоп, распознаваемый антителами к Sp35, соответствующими настоящему изобретению, включает последовательность из по меньшей мере 4, по меньшей мере 5, по меньшей мере 6, по меньшей мере 7, более предпочтительно из по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10, по меньшей мере 15, по меньшей мере 20, по меньшей мере 25 или от приблизительно 15 до приблизительно 30 следующих друг за другом или не следующих друг за другом аминокислот Sp35.

Под выражением "специфически связывает" обычно подразумевают, что антитело связывается в эпитопом посредством своего антигенсвязывающего домена и что связывание обуславливает некоторую комплементарность между антигенсвязывающим доменом и эпитопом. Согласно данному определению, говорят, что антитело "специфически связывается" с эпитопом, когда оно связывается с данным эпитопом посредством своего антигенсвязывающего домена легче. Чем оно связывалось бы со случайным неродственным эпитопом. Термин "специфичность" используют в данном контексте для определения относительной аффинности, с которой некоторое антитело связывается с некоторым эпитопом. Например, можно считать, что антитело "А" имеет более высокую специфичность в отношении заданного эпитопа,

чем антитело "В" или можно сказать, что антитело "А" связывается с эпитопом "С" с более высокой специфичностью, чем с оно имеет в отношении родственного эпитопа "D".

Выражение "предпочтительно связывает" означает, что антитело специфически связывается с эпитопом легче, чем оно связывалось бы с родственным, подобным, гомологичным или аналогичным эпитопом. Таким образом антитело, которое "предпочтительно связывается" с данным эпитопом, с большей вероятностью связывалось бы с данным эпитопом, чем с родственным эпитопом, даже если данное антитело может перекрестно реагировать с родственным эпитопом.

В качестве неограничивающего примера можно считать, что антитело связывает первый эпитоп предпочтительно, если оно связывает указанный первый эпитоп с константой диссоциации (K_D), которая меньше, чем K_D антитела в отношении второго эпитопа. В другом неограничивающем примере можно считать, что антитело связывает первый антиген предпочтительно, если оно связывает первый эпитоп с аффинностью, которая по меньшей мере на один порядок величины меньше, чем K_D антитела в отношении второго эпитопа. В другом неограничивающем примере можно считать, что антитело связывает первый эпитоп предпочтительно, если оно связывает первый эпитоп с аффинностью, которая по меньшей мере на два порядка величины меньше, чем K_D антитела K_D в отношении второго эпитопа.

В другом неограничивающем примере можно считать, что антитело связывает первый эпитоп предпочтительно, если оно связывает первый эпитоп со скоростью диссоциации ($k(\text{off})$), которая ниже, чем $k(\text{off})$ антитела в отношении второго эпитопа, в другом неограничивающем примере можно считать, что антитело связывает первый эпитоп предпочтительно, если оно связывает первый эпитоп с аффинностью, которая по меньшей мере на один порядок величины меньше, чем $k(\text{off})$ антитела в отношении второго эпитопа. В другом неограничивающем примере можно считать, что антитело связывает первый эпитоп предпочтительно, если оно связывает первый эпитоп с аффинностью, которая по меньшей мере на два порядка величины меньше, чем $k(\text{off})$ антитела в отношении второго эпитопа.

Можно говорить, что антитело или антигенсвязывающий фрагмент, вариант или производное, описанные в данном контексте, связывают полипептид-мишень, описанный в данном контексте, либо его фрагмент или вариант со скоростью диссоциации ($k(\text{off})$) меньше чем или равной $5 \times 10^{-2} \text{ c}^{-1}$, 10^{-2} c^{-1} , $5 \times 10^{-3} \text{ c}^{-1}$ или 10^{-3} c^{-1} . Более предпочтительно, когда можно считать, что антитело, соответствующее изобретению, связывает полипептид-мишень, описанный в данном контексте, или его фрагмент либо вариант со скоростью диссоциации ($k(\text{off})$) меньше чем или равной $5 \times 10^{-4} \text{ c}^{-1}$, 10^{-4} c^{-1} , $5 \times 10^{-5} \text{ c}^{-1}$ или 10^{-5} c^{-1} , $5 \times 10^{-6} \text{ c}^{-1}$, 10^{-6} c^{-1} , $5 \times 10^{-7} \text{ c}^{-1}$ или 10^{-7} c^{-1} .

Можно говорить, что антитело или антигенсвязывающий фрагмент, вариант или производное, описанные в данном контексте, связывают полипептид-мишень, описанный в данном контексте, либо его фрагмент или вариант со скоростью ассоциации ($k(\text{on})$) больше чем или равной $10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{c}^{-1}$, $5 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{c}^{-1}$, $10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{c}^{-1}$ или $5 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{c}^{-1}$.

Более предпочтительно, когда можно считать, что антитело, соответствующее изобретению, связывает полипептид-мишень, описанный в данном контексте, или его фрагмент либо вариант со скоростью ассоциации ($k(\text{on})$) больше чем или равной $10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{c}^{-1}$, $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{c}^{-1}$, $10^6 \text{ M}^{-1} \cdot \text{c}^{-1}$, $5 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \cdot \text{c}^{-1}$ или $10^7 \text{ M}^{-1} \cdot \text{c}^{-1}$.

Говорят, что антитело конкурентно ингибирует связывание эталонного антитела с заданным эпитопом, если оно предпочтительно связывается с эпитопом в той степени, что оно блокирует до некоторой степени связывание эталонного антитела с эпитопом. Конкурентное ингибирование можно определить способом, известным в области техники, например, конкурентными анализами ELISA. Можно сказать, что антитело конкурентно ингибирует связывание эталонного антитела с заданным эпитопом по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 60%, или по меньшей мере на 50%.

Как используют в данном контексте, термин "аффинность" относится к мере силы связывания отдельного эпитопа с CDR молекулы иммуноглобулина. См., например, монографию Harlow et al., *Antibodies: A Laboratory Manual* (Лабораторное руководство по антителам), (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2 изд. 1988), стр. 27-28. Как используют в данном контексте, термин "авидность" относится к общей стабильности комплекса между популяцией иммуноглобулинов и антигеном, т.е. силе функционального комбинирования смеси иммуноглобулинов с антигеном. См., например, монографию Harlow, стр. 29-34. Авидность связана с обеими, аффинностью молекул отдельных иммуноглобулинов в популяции со специфическими эпитопами, а также с валентностями иммуноглобулинов и антигена. Например, взаимодействие между бивалентным моноклональным антителом и антигеном со структурой эпитопа с высокой частотой повторов, такой как полимер, была бы высокоавидной.

Антитела к Sp35 или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты или производные, соответствующие изобретению, можно также описать или определить в терминах их перекрестной реактивности. Как используют в данном контексте, термин "перекрестная реактивность" относится к способности антитела, специфического в отношении одного антигена, реагировать со вторым антигеном; мере родства двух различных антигенных субстанций. Таким образом, антитело является перекрестно реактивным, если оно связывается в эпитопом, отличным от того, который индуцировал его образование. Перекрестно

реактивный эпитоп, как правило, включает много одинаковых комплементарных структурных признаков с индуцирующим эпитопом и в ряде случаев может действительно подходить больше, чем исходный.

Например, некоторые антитела имеют некоторую степень перекрестной реактивности в том, что они связывают родственные, но неидентичные эпитопы, например, эпитопы с по меньшей мере 95%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 55% и по меньшей мере 50% идентичностью (как рассчитано с использованием способов, известных в области техники и описанных в данном контексте) с эталонным эпитопом. Можно сказать, что антитело имеет низкую или не имеет перекрестной реактивности, если он не связывает эпитопы с меньше чем 95%, меньше чем 90%, меньше чем 85%, меньше чем 80%, меньше чем 75%, меньше чем 70%, меньше чем 65%, меньше чем 60%, меньше чем 55% и меньше чем 50% идентичностью (как рассчитано с использованием способов, известных в области техники и описанных в данном контексте) с эталонным эпитопом. Можно считать, что антитело "высокоспецифично" в отношении определенного эпитопа, если оно не связывает никакой другой аналог, ортолог или гомолог данного эпитопа.

Антитела к Sp35 или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты или производные, соответствующие изобретению, можно также описать или определить в терминах из аффинности связывания с полипептидом, соответствующим изобретению. Предпочтительные аффинности связывания включают имеющие константу диссоциации или K_d меньше чем 5×10^{-2} M, 10^{-2} M, 5×10^{-3} M, 10^{-3} M, 5×10^{-4} M, 10^{-4} M, 5×10^{-5} M, 10^{-5} M, 5×10^{-6} M, 10^{-6} M, 5×10^{-7} M, 10^{-7} M, 5×10^{-8} M, 10^{-8} M, 5×10^{-9} M, 10^{-9} M, 5×10^{-10} M, 10^{-10} M, 5×10^{-11} M, 10^{-11} M, 5×10^{-12} M, 10^{-12} M, 5×10^{-13} M, 10^{-13} M, 5×10^{-14} M, 10^{-14} M, 5×10^{-15} M или 10^{-15} M.

Антитела к Sp35 или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты или производные соответствующие изобретению, могут быть "мультиспецифическими" например, биспецифическими, триспецифическими или большей мультиспецифичности, означающей, что они распознают и связываются с двумя или более различными эпитопами, присутствующими на одном или более антигенах (например, белков) в одно и то же время. Таким образом, вопрос, является ли антитело к Sp35 "моноспецифическим" или "мультиспецифическим", например, "биспецифическим", относится к числу различных эпитопов, с которыми реагирует связывающий полипептид. Мультиспецифические антитела могут быть специфическими в отношении различных эпитопов полипептида-мишени, описанного в данном контексте, или может быть специфическим в отношении полипептида-мишени, а также в отношении гетерологичного эпитопа, такого как гетерологичный полипептид или материал твердой основы.

Как используют в данном контексте термин "валентность" относится к числу потенциальных связывающих доменов, например, антигенсвязывающих доменов, присутствующих в антителе к Sp35, связывающем полипептиде или антителе. Каждый связывающий домен специфически связывает один эпитоп. Когда антитело к Sp35, связывающий полипептид или антитело включает больше чем один связывающий домен, то каждый связывающий домен может специфически связывать один и тот же эпитоп у антитела с двумя связывающими доменами, называемого "двухвалентным моноспецифическим" или различные эпитопы у антитела с двумя связывающими доменами, называемого "двухвалентным биспецифическим". Антитело может быть также биспецифическим и двухвалентным для каждой специфичности (называют "биспецифическими тетравалентными антителами"). В другом варианте осуществления могут быть получены тетравалентные мини-боди или антитела с делецией доменов.

Биспецифические бивалентные антитела и способы их получения описаны, например в патентах США № 5731168, 5807706, 5821333 и публикациях заявок США № 2003/020734 и 2002/0155537, описание всех из которых включено в данном контексте в виде ссылки. Биспецифические тетравалентные антитела и способы их получения описаны, например в WO 02/096948 и WO 00/44788, описания обоих из них включено в данном контексте в виде ссылки. См. в основном публикации PCT WO 93/17715, WO 92/08802, WO 91/00360, WO 92/05793, статью Tutt et al., J. Immunol., 147:60-69 (1991), патенты США № 4474893, 4714681, 4925648, 5573920, 5601819, статью Kostelny et al., J. Immunol., 745:1547-1553 (1992).

Как указано ранее, структуры субъединиц и трехмерная конфигурация константных областей иммуноглобулинов различных классов хорошо известны. Как используют в данном контексте, термин "V_H-домен" включает аминоконцевой вариабельный домен тяжелой цепи иммуноглобулина и термин "C_H1-домен" включает первый (наиболее близкий к аминоконцу) домен константной области тяжелой цепи иммуноглобулина. C_H1-домен прилегает к V_H-домену и является аминоконцом шарнирной области молекулы тяжелой цепи иммуноглобулина.

Как используют в данном контексте, термин "C_H2-домен" включает часть молекулы тяжелой цепи, которая располагается, например, от приблизительно остатка 244 до остатка 360 антитела при использовании принятых схем нумерации (остатки 244-360, Система нумерации Kabat и остатки 231-340, система нумерации EU; см. работу Kabat EA et al. выше. Домен C_H2 уникален, поскольку он не является тесно спаренным с другим доменом. Точнее две N-связанных разветвленных углеводных цепи находятся между двумя доменами C_H2 интактной нативной молекулы IgG. Кроме того, хорошо документировано, что домен C_H3 располагается от домена C_H2 к C-концу молекулы IgG и включает приблизительно 108 остатков.

Как используют в данном контексте, термин "шарнирная область" включает часть молекулы тяжелой цепи, которая связывает домен C_H1 с доменом C_H2. Данный шарнирный участок включает приблизительно 25 остатков и является гибким, позволяя, таким образом двум N-концевым антигенсвязывающим участкам двигаться независимо. Шарнирные области можно подразделить на три отдельных домена: верхний, средний и нижний шарнирные домены (см. статью Roux et al., J. Immunol. 767:4083 (1998)).

Как используют в данном контексте, термин "дисульфидная связь" включает ковалентную связь, образованную между двумя атомами серы. Аминокислота цистеин включает тиоловую группу, которая может формировать дисульфидную связь или мостик со второй тиоловой группой. В большинстве природных молекул IgG участки C_H1 и C_L связаны дисульфидной связью, и две тяжелые цепи связаны двумя дисульфидными связями в положениях, соответствующих 239 и 242, используя систему нумерации Kabat (положение 226 или 229, система нумерации EU).

Как используют в данном контексте, термин "химерное антитело" будут вводить для обозначения любого антитела, в котором иммунореактивный участок или центр получают или выделяют из первого вида и константную область (которая может быть интактной, частичной или модифицированной в соответствии с изобретением) получают из второго вида. В предпочтительных вариантах осуществления целевой связывающий участок или центр будут из нечеловеческого источника (например, мыши или примата) и константная область - человеческая.

Как используют в данном контексте, термин "инженерное антитело" относится к антителу, в котором переменный домен либо в тяжелой, либо в легкой цепи, либо в обеих изменен путем по меньшей мере частичной замены одного или более CDRs из антитела известной специфичности и, при необходимости, путем частичной замены скелетной области и изменения последовательности. Хотя CDRs можно выделить из антитела того же класса или даже подкласса, что антитело, из которого получают скелетные области, предусматривают, что CDRs будут выделены из антитела другого класса и предпочтительно из антитела, полученного из другого вида. Инженерное антитело, в котором один или более "донорных" CDRs из нечеловеческого антитела известной специфичности привиты в человеческую скелетную область тяжелой или легкой цепи, называют в данном контексте "гуманизированным антителом". Может быть необязательной замена всех CDRs полными CDRs из переменной области донора с целью переноса антигенсвязывающей способности одного переменного домена на другой. Напротив, может быть необходимым только перенести те остатки, которые требуются для поддержания активности связывающего центра-мишени. При наличии объяснений, приведенных, например, в патентах США № 5585089, 5693761, 5693762 и 6180370, вполне в компетенции специалистов в области техники будет либо осуществление рутинных экспериментов, либо тестирование методов проб и ошибок с целью получения функционального инженерного или гуманизированного антитела.

Как используют в данном контексте, термин "правильно уложенный полипептид" включает полипептиды (например, антитела к Sp35), в которых все из функциональных доменов, содержащих полипептид, являются несомненно активными. Как используют в данном контексте, термин "неправильно уложенный полипептид" включает полипептиды, в которых по меньшей мере один из функциональных доменов полипептида неактивен, в одном варианте осуществления правильно уложенный полипептид содержит полипептидные цепи, связанные по меньшей мере одним дисульфидным мостиком и, напротив, неправильно уложенный полипептид содержит полипептидные цепи, не связанные по меньшей мере одним дисульфидным мостиком.

Как используют в данном контексте термин "инженерный" включает манипуляцию с молекулами нуклеиновой кислоты или полипептида синтетическими средствами (например, рекомбинантными технологиями, синтезом пептидов *in vitro*, ферментным или химическим связыванием пептидов или какой-либо комбинацией данных способов).

Как используют в данном контексте, термины "связанный", "слитый" или "слияние" используют взаимозаменяемо. Данные термины относятся к соединению двух или более элементов или компонентов какими-либо средствами, включая химическое конъюгирование или рекомбинантные средства. "Слияние в рамке считывания" относится к соединению двух или более открытых рамок считывания (ORFs) полинуклеотидов с образованием непрерывной более длинной ORF таким образом, что поддерживается правильная трансляционная рамка считывания исходной ORFs. Таким образом, рекомбинантный слитый белок представляет собой один белок, содержащий два или более сегментов, которые соответствуют полипептидам, кодируемым исходными ORFs (данные сегменты в норме не связаны в естественных условиях). Хотя рамка считывания, таким образом, становится непрерывной на протяжении слитых сегментов, сегменты могут быть физически или пространственно разделены, например, находящейся в рамке считывания линкерной последовательностью. Например, полинуклеотиды, кодирующие CDRs переменной области иммуноглобулина, могут быть слиты в рамке считывания, но разделены полинуклеотидом, кодирующим по меньшей мере одну скелетную область иммуноглобулина или дополнительные области CDR так долго, как "слитые" CDRs сотранслируются как часть непрерывного полипептида.

К контексте полипептидов "линейная последовательность" или "последовательность" представляет собой порядок аминокислот в полипептиде в направлении от амино- до карбоксильного конца, где остатки, которые прилегают друг к другу в последовательности, следуют друг за другом в первичной структу-

ре полипептида.

Термин "экспрессия", как используют в данном контексте, относится к процессу, посредством которого ген образует биохимический продукт, например, РНК или полипептид. Процесс включает любое проявление функционального присутствия гена в клетке, включая без ограничения перечисленным, выключение гена, а также как временную экспрессию, так и стабильную экспрессию. Он включает без ограничения перечисленным транскрипцию гена в информационную РНК (m-РНК), транспортную РНК (t-РНК), маленькую шпильчатую РНК (shРНК), маленькую интерферирующую РНК (si-РНК) или любой другой продукт РНК, и трансляцию данной m-РНК в полипептид(ы). Если конечный требуемый продукт является биохимическим, экспрессия включает создание данного биохимического продукта и любых предшественников. Экспрессия гена дает "продукт гена". Как используют в данном контексте, продукт гена может представлять собой либо нуклеиновую кислоту, например, информационную РНК, продуцируемую путем транскрипции гена, либо полипептид, который транслируется с транскрипта. Продукты гена, описанные в данном контексте, далее включают нуклеиновые кислоты с пост-транскрипционными модификациями, например, полиаденилированием, или полипептиды с посттрансляционными модификациями, например, метилированием, гликозилированием, введением липидов, связыванием с другими белковыми субъединицами, протеолитическим расщеплением и т.п.

Как используют в данном контексте, термины "лечить" или "лечение" относятся как к терапевтическому лечению, так и к профилактическим и предупредительным мерам, в которых целью является предупредить или замедлить (уменьшить) нежелательное физиологическое изменение или нарушение, такое как развитие рассеянного склероза. Благоприятные или желательные клинические результаты включают, но без ограничения перечисленным, облегчение симптомов, снижение уровня заболевания, стабилизированное (т.е. не ухудшающееся) состояние болезни, задержку или замедление развития болезни, улучшение или временное облегчение болезненного состояния и ремиссию (либо частичную либо полную), либо определяемую, либо неопределяемую. "Лечение" может также означать увеличение периода жизни по сравнению с ожидаемым периодом жизни без получения лечения. Нуждающиеся в лечении включают тех, кто уже имеет состояние или нарушение, а также тех, кто предрасположен к тому, чтобы иметь состояние или нарушение, или тех, которым необходимо предупреждение развития состояния или нарушения.

Под "субъектом", или "лицом", или "животным", или "пациентом", или "млекопитающим" подразумевают любого субъекта, особенно субъекта-млекопитающего, которому требуется диагноз, прогноз или лечение. Субъекты-млекопитающие включают человека, домашних животных, сельскохозяйственных животных, животных из зоопарка, спортивных или животных-компаньонов, таких как собаки, кошки, морские свинки, кролики, крысы, мыши, лошади, крупный рогатый скот, коровы и т.п.

Как используют в данном контексте, такие выражения, как "субъект, на которого оказало бы благоприятное воздействие введение антитела к Sp35" и "животное, нуждающееся в лечении" включают таких субъектов, как субъекты-млекопитающие, на которых оказало бы благоприятное воздействие введение антитела к Sp35, используемого, например, для детекции полипептида Sp35 (например, для способа диагностики) и/или лечение, т.е. временное облегчение или предупреждение заболевания, такого как MS, с помощью антитела к Sp35. Как описано более детально в данном контексте, антитело к Sp35 можно использовать в неконъюгированной форме или оно может быть конъюгированным, например, с лекарственным препаратом, пролекарственной формой или изотопом.

II. Sp35.

Природный человеческий Sp35 (Sp35) представляет собой гликозилированный специфический для центральной нервной системы белок, который, как предсказывают имеет 614 аминокислот (SEQ ID NO: 2), включая 33 аминокислоты сигнальной последовательности. Sp 35 также известен в области техники под названиями LINGO-I, LRRN6, LRRN6A, FU14594, LERN1, MGC17422 и UNQ201. Человеческий полипептид Sp35 полной длины дикого типа содержит домен LRR, состоящий из 14 богатых лейцином повторов (включая N- и C-концевые кэпы), домен Ig, трансмембранный домен и цитоплазматический домен. Цитоплазматический домен содержит канонический тирозиновый центр фосфорилирования. Кроме того, природный белок Sp35 содержит сигнальную последовательность, короткий основной участок между LRRCT и доменом Ig и трансмембранный участок между доменом Ig и цитоплазматическим доменом. Человеческий ген Sp35 gene (SEQ ID NO: 1) содержит альтернативные кодоны инициации трансляции, поэтому шесть дополнительных аминокислот, т.е. MQVSKR (SEQ ID NO: 3) могут присутствовать или не присутствовать на N-конце сигнальной последовательности Sp35. В табл. 2 перечисляют домены и другие участки Sp35 согласно номерам аминокислотных остатков на основе последовательности аминокислот Sp35, присутствующей в данном контексте как SEQ ID NO: 2. Полипептид Sp35 характеризуют более детально в публикации PCT № WO 2004/085648, которая включена в данном контексте в виде ссылки во всей своей полноте.

Таблица 2

Домены Sp35

Домен или участок	Начальный остаток	Конечный остаток
Сигнальная последовательность	1	33 или 35
LRRNT	34 или 36	64
LRR	66	89
LRR	90	113
LRR	114	137
LRR	138	161
LRR	162	185
LRR	186	209
LRR	210	233
LRR	234	257
Домен или участок	Начальный остаток	Конечный остаток
LRR	258	281
LRR	282	305
LRR	306	329
LRR	330	353
LRRCT	363	414 или 416
Основной	415 или 417	424
Ig	419	493
Соединяющая последовательность	494	551
Трансмембранный	552	576
Цитоплазматический	577	614

Распределение в ткани и связанную с развитием экспрессию Sp35 изучают на человеке и крысах. Биология Sp35 изучена на экспериментальной модели на животных (крысах). Экспрессия крысиного Sp35 локализована в нейронах и олигодендроцитах, как определено нозерн-блотом и иммуногистохимическим окрашиванием. Уровень экспрессии мРНК крысиного Sp35 регулируется стадией развития, имея максимальное значение после рождения, т.е. примерно в первый день после рождения. На модели повреждения в поперечном сечении спинного мозга крысы Sp35 регулируется повышающим образом в области повреждения, как определено с помощью ОТ-ПЦР (полимеразной цепной реакции с участием обратной транскриптазы). См. статью Mi et al. *Nature Neurosci.* 7:221-228 (2004).

В контексте аминокислот, содержащих различные структурные и функциональные домены полипептида полипептид Sp35, термин "приблизительно" включает, в частности, представленное значение и значения, которые больше или меньше на несколько (например, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1) аминокислот. Хотя положение данных доменов, как перечислено в табл. 1, предсказано с помощью компьютерной графики, обычный специалист должен иметь в виду, что остатки аминокислот, составляющие домены, могут немного отличаться (например, приблизительно на 1-15 остатков) в зависимости от критерия, используемого для определения домена.

Авторы обнаружили, что Sp35 полной длины дикого типа связывается с NgR1. См. публикацию PCT № WO 2004/085648. Авторы обнаружили также, что Sp35 экспрессируется в олигодендроцитах и что белок Sp35 включен в регуляцию олигодендроцит-опосредованной миелинизации аксонов. См. патентную публикацию США № 2006/0009388 A1, которая включена в данном контексте в виде ссылки во всей своей полноте.

Нуклеотидная последовательность для молекулы Sp35 полной длины представляет собой следующую:

ATGCTGGCGGGGGCGTGAGGAGCATGCCCAGCCCCCTCTGGCCTGCTGGCAGCCCATCTCC
TGCTGGTGCTGGGCTCAGTGCTGTCAAGGCTCGGCCACGGGCTGCCCGCCCCGCTGCGAGTGCTC
CGCCCAGGACCGCGCTGTGCTGTGCCACCGCAAGCGCTTTGTGGCAGTCCCCGAGGGCATCCCC
ACCGAGACGCGCCTGCTGGACCTAGGCAAGAACCGCATCAAAACGCTCAACCAGGACGAGTTTCG
CCAGCTTCCCGCACCTGGAGGAGCTGGAGCTCAACGAGAACATCGTGAGCGCCGTGGAGCCCGG
CGCCTTCAACAACCTCTTCAACCTCCGGACGCTGGGTCTCCGAGCAACCGCCTGAAGCTCATC
CCGCTAGGCGTCTTCACTGGCCTCAGCAACCTGACCAAGCTGGACATCAGCGAGAACAAGATTG
TTATCCTGCTGGACTACATGTTTCAGGACCTGTACAACCTCAAGTCACTGGAGGTTGGCGACAA
TGACCTCGTCTACATCTCTACCGCGCCTTCAGCGGCTCAACAGCCTGGAGCAGCTGACGCTG
GAGAAATGCAACCTGACCTCCATCCCCACCGAGGCGCTGTCCACCTGCACGGCCTCATCGTCC
TGAGGCTCCGGCACCTCAACATCAATGCCATCCGGGACTACTCCTTCAAGAGGCTCTACCGACT
CAAGGTCTTGAGATCTCCACTGGCCCTACTTGGACACCATGACACCCAACCTGCCTCTACGGC
CTCAACCTGACGTCCCTGTCCATCACACACTGCAATCTGACCGCTGTGCCCTACCTGGCCGTCC
GCCACCTAGTCTATCTCCGCTTCTCAACCTCTCCTACAACCCCATCAGCACCATTTAGGGGCTC
CATGTTGCATGAGCTGTCCGGCTGCAGGAGATCCAGCTGGTGGGCGGGCAGCTGGCCGTGGTG
GAGCCCTATGCCTTCCGCGGCCCTCAACTACCTGCGCGTGCTCAATGTCTCTGGCAACCAGCTGA
CCACACTGGAGGAATCAGTCTTCCACTCGGTGGGCAACCTGGAGACACTCATCCTGGACTCCAA
CCCGCTGGCCTGCGACTGTCCGCTCTGTGGGTGTTCCGGCGCCGCTGGCGGCTCAACTCAAC
CGGCAGCAGCCCACGTGCGCCACGCCCAGTTTGTCCAGGGCAAGGAGTTCAAGGACTTCCCTG
ATGTGCTACTGCCCAACTACTTCACTGCGCGCGCCGCATCCGGGACCGCAAGGCCAGCA
GGTGTTTGTGGACGAGGGCCACACGGTGCAGTTTGTGTGCCGGCCGATGGCGACCGCGGCC
GCCATCCTCTGGCTCTACCCCGAAAGCACCTGGTCTCAGCCAAGAGCAATGGGCGGCTCACAG
TCTTCCCTGATGGCAGCTGGAGGTGCGCTACGCCCAGGTACAGGACAACGGCACGTACCTGTG
CATCGCGGCCAACGCGGGCGGCAACGACTCCATGCCCGCCACCTGCATGTGCGCAGCTACTCG
CCCGACTGGCCCCATCAGCCCAACAAGACCTTCGCTTTTCATCTCCAACCAGCCGGGCGAGGGAG
AGGCCAACAGCACCCGCGCCACTGTGCCTTTCCCTTCGACATCAAGACCCTCATCATGCCAC
CACCATGGGCTTCATCTCTTCTGGGCGTCTCCTCTCTGCTGGTGCTGCTGTTTCTCTGG
AGCCGGGGCAAGGGCAACACAAAGCACAAATCGAGATCGAGTATGTGCCCCGAAAGTCGGACG
CAGGCATCAGTCCGCGACGCGCCCGCAAGTTCAACATGAAGATGATATGA (SEQ ID
NO:1).

Полипептидная последовательность для полипептида Sp35 полной длины представляет собой сле-
дующую:

MLAGGVSRMSPSLLACWQPILLVLGSLSGSATGCPPRCECSAQDRAVLCHRKRFAVPEGIP
TETRLDLGKNRIKTLNQDEFASFPHELELNENIVSAVEPGAFNNLFNLRiLGLRSNRLKLI
PLGVFTGLSNLTKLDISENKIVILLDYMFDLYNLKSLEVGDNLDVYISHRAFSGLSLEQLTL
EKCNLTISIPTALSHLHGLIVLRRLNINAIIRDYSFKRLYRLKVLEISHWPYLDTMPNCLYG
LNLTSLSITHCNLTAVPYLAVRHLVYLRFLNLSYNPISTIEGSMHELLRLQEIQLVGGQLAW
EPYAFRGLNYLRVLNVSGNQLTTLEESVFHSGVGNLETLILDSNPLACDCRLLWVFRRRWRLNFN
RQOPTCATPEFVQGKEFKDFPDVLLPNYFTCRRARIRDRKAQQVFVDEGHTVQFVCRADGDP
AILWLSPRKHLVSAKSNGRITVFPDGTLEVRYAQVQDNGTYLCIAANAGGNDSPAHLHVRYSY
PDWPHQPNKTFAFISNQPGEGEANSTRATVPFPDIKTLIIATTMGFISFLGWLFCLVLLFLW
SRKGNTKHNIEIYVPRKSDAGISSADAPRKFNMKMI (SEQ ID NO:2).

III. Антитела к Sp35.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение направлено на антитела к Sp35 либо их
антигенсвязывающие фрагменты, варианты или производные. Например, настоящее изобретение вклю-
чает, по меньшей мере, антигенсвязывающие домены ряда моноклональных антител и их фрагменты,

варианты и производные, показанные в табл. 3А-3Е.

В табл. 3А описывают участки полипептида Sp35, которые связываются рядом антител полной длины, выделенных из библиотеки на фагах. Данные антитела имеют те же самые вариабельные области, что фрагменты Fab, выделенные из библиотеки представления на фагах 1, как указано в табл. 3В (например, D05 в табл. 3А имеет такую же вариабельную область, как Li05 в табл. 3В, D06 в табл. 3А имеет такую же вариабельную область, как Li06 в табл. 3В и т.д.). Антитела тестируют на связывание фрагментов Sp35, как определено в табл. 3А, используя способы, хорошо известные в области техники.

В табл. 3В-3Е описывают способность указанных моноклональных антител или фрагментов Fab выявлять Sp35 в различных анализах, таких как: сортинг клеток по активации флуоресценции (FACS), иммунопреципитация (IP), анализ вестерн-блоттинг, иммуногистохимия (ИГХ) и твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA). Детальные протоколы проведения данных анализов описаны в данном контексте или хорошо известны обычным специалистам в области техники. Полученные из гибридомы моноклональные антитела, перечисленные в табл. 3В и 3С, получают путем инъекции растворимого Sp35 мышам с последующим выделением с использованием гибридомного способа, который хорошо известен в области техники и описан в данном контексте. Моноклональные антитела и фрагменты Fab антител, перечисленные в табл. 3В, выделяют из двух различных библиотек представления на фагах с использованием способов, известных в уровне техники.

Таблица 3А

Фрагмент Sp35	D03 (Li03 вариабель- ная область	D05 (Li05 вариабель- ная область	D06 (Li06 вариабель- ная область	D08 (Li08 вариабель- ная область	D011 (Li03 вариабель- ная область	D13 (Li13 вариабель- ная область	D33 (Li33 вариабель- ная область
1-432 крысиный Fc	+	+	+	-	+	-	-
417-493 крысиный Fc	-	+/-	+/-	-	-	-	-
AP-Sp35 (1-419)	НО*	+	-/+	-/+	НО	НО	НО
AP-Sp35 (418-498)	НО	-	-	-	НО	НО	НО
417-498 Человеческий Fc	-	-	-	-	-	-	-
Фрагмент Sp35	D03 (Li03 вариабель- ная область	D05 (Li05 вариабель- ная область	D06 (Li06 вариабель- ная область	D08 (Li08 вариабель- ная область	D011 (Li03 вариабель- ная область	D13 (Li13 вариабель- ная область	D33 (Li33 вариабель- ная область
417-503 Человеческий Fc	-	-	-	-	-	-	-
363-498 Человеческий Fc	-	-	-	-	-	-	-
244-498 Человеческий Fc	-	-	-	-	-	-	-

* - не определяют.

Моноклональные антитела к Sp35
Моноклональные антитела, выделенные из гибридомы

	FACs		Иммунопреципитация			Вестерн	
	huSp35	mSp35	sp35Fc	huSp35	mSp35	huSp35	Мышиный/крыс иный sp35
201'				Да		Да	Нет (мышинный или крысинный)
3A3	-	-	+	-	-	Нет	Нет (мышинный или крысинный)
3A6	++	+/-	++	+++	-/+	Нет	Нет (мышинный или крысинный)
1A7	++	-	++	+++	-/+	Нет	Нет (мышинный или крысинный)
1G7	++	+/-	++	+++	+	Нет	Нет (мышинный или крысинный)

Моноклональные антитела, выделенные из гибридомы

	FACs		Иммунопреципитация			Вестерн	
	huSp35	mSp35	sp35Fc	huSp35	mSp35	huSp35	Мышиный/крыс иный sp35
2B10	++	+/-	+	+++	-/+	Нет	Нет (мышинный или крысинный)
2C11	-	-	-	-	-	Нет	Нет (мышинный или крысинный)
2F3	+/-	+/-		+++	+++	Да	Да со сверхэкспрессией mSp35
3P1B1.1F9				+++	-		
3P1D10.2C3				+++	-		
3P1E11.3B7				+++	-		
3P2C6. 3G10.2H7				+++	-		

Моноклональные антитела, выделенные из гибридомы

	FACs		Иммунопреципитация			Вестерн	
	huSp35	mSp35	sp35Fc	huSp35	mSp35	huSp35	Мышиный/крыс ный sp35
3P2C9.2G4				+++	-		
3P4A6.1D9				+++	-		
3P4A1.2B9				+++	-		
3P4C2.2D2				+++	+++		
3P4C5.1D8				+++	-		
3P4C8.2G9				+++	+++	да	Да (мышинный)
7P1D5.1G9 (ATCC: PTA- 8107)	+	+		+++	+++	Нет	Нет (мышинный)
1B6.4	+++	+++		+++ (верхняя полоса)	+++ (нижняя полоса)	Нет	Нет (мышинный)

Моноклональные антитела, выделенные из гибридомы

	FACs		Иммунопреципитация			Вестерн	
	huSp35	mSp35	sp35Fc	huSp35	mSp35	huSp35	Мышиный/крыс ный sp35
2C7.2	+++	+++		+++ (верхняя полоса)	+++ (нижняя полоса)	Нет	Нет (мышинный)
2D6.I	++ (связывается с клетками 293)	++ (связывается с клетками 293)		-	-	Нет	Нет (мышинный)
2F7.3	++	++		+++ (нижняя полоса)	+++ (нижняя полоса)	Да	Да (мышинный)
2H3.2	++	++		+++ (нижняя полоса)	+++ (нижняя полоса)	Да	Да (мышинный)
3C11.1	++	++		+++ (нижняя полоса)	+++ (нижняя полоса)	Да	Да (мышинный)

Моноклональные антитела, выделенные из гибридомы

	FACs		Иммунопреципитация			Вестерн	
	huSp35	mSp35	sp35Fc	huSp35	mSp35	huSp35	Мышиный/крыс ный sp35
3E3.1	+++	+++		+++ (верхняя полоса)	+++ (нижняя полоса)	Нет	Нет (мышинный)
3H11.2	++	++		+++ (нижняя полоса)	+++ (нижняя полоса)	Да	Да (мышинный)
3G8.1	+	+		+++ (верхняя полоса)	+++	Нет	Нет (мышинный)
2B8.1	++	++		+++ (верхняя полоса)	+++ (нижняя полоса)	Нет	Нет (мышинный)
3B5.2 (ATCC: PTA- 8106)	+++	+++		+++ (верхняя полоса)	+++	Нет	Нет (мышинный)

Моноклональные антитела, выделенные из гибридомы

	Иммуногистохимия на трансфицированных клетках		Иммуногистохимия на тканях		ELISA				
	huSp35	mSp35	ДТ (парафин)	КО (парафин)	34-417	417-493	419-495	1-532	34- 532
201'	НО	НО	Да	Да					
3A3	нет	нет			Да			Да	
3A6	Да w Фон	нет							
1A7	Да w Фон	нет					+/-	Да	Да
1G7	Да w Фон	нет							
2B10	Да w Фон	нет			Да			Да	
2C11	нет	нет							
2F3	Да	Да	Да	Да	Да			Да	

Моноклональные антитела, выделенные из гибридомы

	Иммуногистохимия на трансфицированных клетках		Иммуногистохимия на тканях		ELISA				
	huSp35	mSp 35	ДТ (парафин)	КО (парафин)	34-417	417-493	419-495	1-532	34- 532
3P1B1.1F9									
3P1D10.2C3							+/-	Да	Да
3F1E11.3B7							+/-	Да	Да
3P2C6. 3G10.2H7							+/-	Да	Да
3P2C9.2G4							+/-	Да	Да
3P4A6.1D9							+/-	Да	Да
3P4A1.2B9									
3P4C2.2D2					Да			Да	

Моноклональные антитела, выделенные из гибридомы

	Иммуногистохимия на трансфицированных клетках		Иммуногистохимия на тканях		ELISA				
	huSp35	mSp 35	ДТ (парафин)	КО (парафин)	34-417	417-493	419-495	1-532	34- 532
3P4C5.1D8							+/-	Да	Да
3P4C8.2G9					Да			Да	
7P1D5.1G9									
(ATCC: PTA- 8107)									
1B6.4									
2C7.2									
2D6.1									
2F7.3									

Моноклональные антитела, выделенные из гибридомы

	Иммуногистохимия на трансфицированных клетках		Иммуногистохимия на тканях		ELISA				
	huSp35	mSp 35	ДТ (парафин)	КО (парафин)	34-417	417-493	419-495	1-532	34- 532
2H3.2									
3C11.1									
3E3.1									
3H11.2									
3G8.1									
2B8.1									
3B5.2 (ATCC PTA- 8106)									

Моноклональные фрагменты Fab, выделенные из библиотеки представления на фагах 1

	FACS		Иммунопреципитация			Вестерн	
	huSp35	mSp35	sp35Fc	huSp35	mSp35	huSp35	Мышинный/к рысинный sp35
30-C12(Li01)				++	++		
38-DO1 (Li02)				-/+	-/+		
3S-E04(Li03)				++	+++		
36-C09(Li04)				-/+	-/+		
30-A11 (Li05)	+		++	++	++		
34-F02(Li06)				++	++		
29-E07(Li07)				++	++		
34-G04(Li08)	+/-		+	++	++		
36-A12(Li09)				-	-		
28-D02 (Li10)				-/+	+/-		

Моноклональные фрагменты Fab, выделенные из библиотеки представления на фагах 1

	FACS		Иммунопреципитация			Вестерн	
	huSp35	mSp35	sp35Fc	huSp35	mSp35	huSp35	Мышинный/к рысинный sp35
30-B01 (Li11)	++			++	++		
34-B03 (Li12)				+	+		

Моноклональные фрагменты Fab, выделенные из библиотеки представления на фагах 1

	Иммуногистохимия на трансфицированных клетках		Иммуногистохимия на тканях		ELISA				
	huSp35	mSp35	ДТ (парафин)	КО (парафин)	34-417	417-493	419-495	1-532	34-532
30-C12(Li01)									
38-DO1 (LiO2)									
3S-EO4(LiO3)									
36-C09(LiO4)									
30-A11 (LiO5)									
34-FO2(LiO6)									
29-E07(LiO7)									
34-G04(LiO8)									

Моноклональные фрагменты Fab, выделенные из библиотеки представления на фагах 1

	Иммуногистохимия на трансфицированных клетках		Иммуногистохимия на тканях		ELISA				
	huSp35	mSp35	ДТ (парафин)	КО (парафин)	34-417	417-493	419-495	1-532	34-532
36-A12(LiO9)									
28-D02 (LiO)									
30-B01 (Lil1)									
34-B03 (Lil2)									

Моноклональные фрагменты Fab, выделенные из библиотеки представления на фагах 1

	FACs		Иммунопреципитация			Вестерн	
	huSp35	mSp35	sp35Fc	huSp35	mSp35	huSp35	Мышиный/крысиный sp35
3383 (1)	+	-				Да	Нет
3495 (2)	+	-					
3563 (3)	+						
3564 (4)	+						
3565 (5)	+						
3566 (6)	+						
3567 (7)	+						
3568 (8)	+						
3569 (9)	+						
3570 (10)	+						
3571 (11)	+						
3582 (12)	+						

Моноклональные фрагменты Fab, выделенные из библиотеки представления на фагах 1

	FACs		Иммунопреципитация			Вестерн	
	huSp35	mSp35	sp35Fc	huSp35	mSp35	huSp35	Мышиный/крысиный sp35
1968 (13)	+/-	-		++		слабое	Нет
3011	-			+/-			
3012	-			-			
3013	Прилипающий			+			
3418	Прилипающий						
3422	-						
3562	Прилипающий						

Моноклональные фрагменты Fab, выделенные из библиотеки представления на фагах 1

	Иммуногистохимия на трансфицированных клетках		Иммуногистохимия на тканях		ELISA				
	huSp35	mSp35	ДТ (парафин)	КО (парафин)	34-417	417-493	419-495	1-532	34-532
3383 (1)	НО	НО	Да	Да	Да			Да	
3495 (2)	слабое	НО	Да	Да				Да	Да
3563 (3)	Нет	Нет			Да			Да	
3564 (4)	Нет	Нет			Да			Да	
3565 (5)	Нет	Нет			Да			Да	
3566 (6)	Да	Очень слабое	Да	Да			+/-	Да	Да
3567 (7)	Да	Нет	Да	Да			+/-	Да	Да
3568 (8)	Нет	Нет			Да			Да	

Моноклональные фрагменты Fab, выделенные из библиотеки представления на фагах 1

	Иммуногистохимия на трансфицированных клетках		Иммуногистохимия на тканях		ELISA				
	huSp35	mSp35	ДТ (парафин)	КО (парафин)	34-417	417-493	419-495	1-532	34-532
3569 (9)	Нет	Нет			Да			Да	
3570 (10)	Нет	Нет							
3571 (11)	Нет	Нет							
3582 (12)	Нет	Нет							
1968 (13)	Очень слабое	Да с высоким bg	Да	Да			+/-	Да	Да
3011	Окрашивает только очень немногие клетки	слабое							
3012	Нет	Нет							

Моноклональные фрагменты Fab, выделенные из библиотеки представления на фагах 1

	Иммуногистохимия на трансфицированных клетках		Иммуногистохимия на тканях		ELISA				
	huSp35	mSp35	ДТ (парафин)	КО (парафин)	34-417	417-493	419-495	1-532	34-532
3013	Да с высоким bg	Да							
3418	Да с высоким bg								
3422	Очень слабое	Да с высоким bg							
3562	Нет	Нет							

Моноклональные фрагменты Fab, выделенные из библиотеки представления на фагах 1

	FACs		Иммунопреципитация			Вестерн	
	huSp35	mSp35	sp35Fc	huSp35	mSp35	huSp35	Мышиный/к рысиный sp35
D05	++						
D07	+++						
D08	++						
D10	+++						
D11	+++						

Моноклональные фрагменты Fab, выделенные из библиотеки представления на фагах 1

	Иммуногистохимия на трансфицированных клетках		Иммуногистохимия на тканях		ELISA				
	huSp35	mSp35	ДТ (парафин)	КО (парафин)	34-417	417-493	419-495	1-532	34-532
D05									
D07									
D08									
D10									
D11									

Пояснение:

huSp35 = человеческий белок Sp35,

mSp35 = мышиный белок Sp35,

ДТ = дикого типа,

КО = выбитый,

ИГХ = иммуногистохимия,

FACS = сортировка клеток по активации флуоресценции.

Таблица 3С

Моноклональные антитела SP35, выделенные из гибридомы

Антитело	Вид	Подтип		ELISA						FACS			Внутрибрюшинно
				hLING O-1	LRR	Ig	mLING O1	mLING O2	mLIN GO1	mLIN GO1	mLIN GO1	mLIN GO1	
3B5.2 (ATCC: PTA-8106)	Мышиное		mAb	+++	+	-	+++	-	+++	+++	+++	+++	
7P1D5.1G9 (ATCC: PTA-8107)	Мышиное	IgG/ каппа	Fab	+			+		+		+++	+++	
			mAb	++	+	-	+++	-	+++		+++	+++	Да

Таблица 3D

Антитело	Вид	Подтип		ELISA				
				hLINGO-1	LRR	Ig	mLINGO1	hLINGO-2
1A7	мышинное	IgG 1 /kappa	Fab	+			+/-	
			mAb	+++	-	-	+/-	-
2F3	мышинное	IqG2a	Fab					
			mAb	++	++	-	++	+/-
3P1D10.2C3	мышинное	IqG1	mAb	+++	-	-	-	
3P1E11.3B7	мышинное	IqG1	mAb	+++	-	-	-	
6P4F4.1D3	мышинное	IgG 1 /kappa	mAb	+++	+++	-	+++	-
6P4F4.1F9	мышинное	IgG 1 /kappa	mAb	+++	+++	-	+++	-
7P1D5.1G9 (ATCC PTA-8107)	мышинное	IgG 1 /kappa	Fab	+			+	
			mAb	++	+	-	+++	-
1B6.4	мышинное	IgG 1 /kappa	mAb	+++	++	-	+++	-
2C7.2	мышинное	IgG 1 /kappa	mAb	+++	++	-	+++	+
Антитело	Вид	Подтип		ELISA				
				hLINGO-1	LRR	Ig	mLINGO1	hLINGO-2
2D6.1	мышинное	IgG 2a /kappa	mAb	-	-	-	-	-
2F7.3	мышинное	IgG 1 /kappa	mAb	+++	-	-	+++	-
2H3.2	мышинное	IgG 1 /kappa	mAb	+++	-	-	+++	-
3C11.1	мышинное	IgG 1 /kappa	mAb	+++	-	-	+++	-
3E3.1	мышинное	IgG 1 /kappa	mAb	+++	++	-	+++	-
3H11.2	мышинное	IgG 1 /kappa	mAb	+++	-	-	+++	-
3G8.1	мышинное		mAb	+++	++	-	+++	-
2B8.1	мышинное		mAb	+++	++	-	+++	-
3B5.2 (ATCC:PTA-8106)	мышинное	IgG 1 /kappa	mAb	+++	+	-	+++	-
3P3C10.2	мышинное		mAb	+++	+	-	+++	-
3P4F4.6	мышинное		mAb	+++	+	-	+++	-

Антитело	Вид	Подтип		FACS на клетках 293		FACS на стабильных СНО	
1A7	мышинное	IgG 1 /каппа	Fab			1 нМ	-
			mAb	+++	-	0,7 нМ	-
2F3	мышинное	IqG2a	Fab				
			mAb	+/-	+/-		
3P1D10.2C3	мышинное	IqG1	mAb				
3P1E11.3B7	мышинное	IqG1	mAb				
6P4F4.1D3	мышинное	IgG 1 /каппа	mAb				
6P4F4.1F9	мышинное	IgG 1 /каппа	mAb				
7P1D5.1G9 (ATCC PTA-8107)	мышинное	IgG 1 /каппа	Fab	+		(10,4) нМ	3,7 нМ
			mAb	+++		2,7 нМ	1 нМ
1B6.4	мышинное	IgG 1 /каппа	mAb	+++	+++		
2C7.2	мышинное	IgG 1 /каппа	mAb	+++	+++		
Антитело	Вид	Подтип		FACS на клетках 293		FACS на стабильных СНО	
2D6.1	мышинное	IgG 2a /каппа	mAb	++(*)	++(*)	-	-
2F7.3	мышинное	IgG 1 /каппа	mAb	++	++		
2H3.2	мышинное	IgG 1 /каппа	mAb	++	++		
3C11.1	мышинное	IgG 1 /каппа	mAb	++	++		
3E3.1	мышинное	IgG 1 /каппа	mAb	+++	+++		
3H11.2	мышинное	IgG 1 /каппа	mAb	++	++		
3G8.1	мышинное		mAb	+	+		
2B8.1	мышинное		mAb	++	++	5,4 нМ	
3B5.2 (ATCC:PTA-8106)	мышинное	IgG 1 /каппа	mAb	+++	+++	< 0,4 нМ	0,4 нМ
3P3C10.2	мышинное		mAb			5,1 нМ	4,4 нМ
3P4F4.6	мышинное		mAb			4,6 нМ	6 нМ

Антитело	Вид	Подтип		ELISA			
				hLINGO-1	LRR	Ig	hLINGO-1
30-C12 (Dfi01)	человеческое	каппа	Fab	++	+	-	
38-D01 (Dfi02)	человеческое	lambda	Fab	+	-	-	
35-E04 (Dfi03)	человеческое	каппа	Fab	+++	+	-	+++
			Ab				
36-C09 (Dfi04)	человеческое		Fab	+	-	-	
30-A11 (Dfi05)	человеческое	lambda	Fab	+++	+(CG), ++(ZS)	-	+++
			Ab				
Антитело	Вид	Подтип		ELISA			
				hLINGO-1	LRR	Ig	hLINGO-1
34-F02 (Dfi06)	человеческое	каппа	Fab	++	+(CG), +/- (ZS)	-	++
			Ab				
29-E07 (Dfi07)	человеческое	lambda	Fab	++	+	+/-	
34-G04 (Dfi08)	человеческое	каппа	Fab	+(CG), ++(ZS)	-(CG), +/- (ZS)		
			Ab				
36-A12 (Dfi09)	человеческое	каппа	Fab	-	-	-	
28-D02 (Dfi10)	человеческое	каппа	Fab	++	-	-	
			Ab				

Антитело	Вид	Подтип		ELISA			
				hLINGO-1	LRR	Ig	hLINGO-1
30-B01 (Dfi11)	человеческое	каппа	Fab	+++	+	-	
			Ab				
34-B03 (Dfi12)	человеческое		Fab	++	+/-	-	
72-D03 (Dfi13)	человеческое		Fab	++++	-	-	++++
			Ab				
73-C08 (Dfi17)	человеческое		Fab	+++	-	-	+++
74-E08 (Dfi21)	человеческое		Fab	+++	+	-	+++
75-H04 (Dfi24)	человеческое		Fab	++++	-	-	++++
Антитело	Вид	Подтип		ELISA			
				hLINGO-1	LRR	Ig	hLINGO-1
76-F10 (Dfi28)	человеческое		Fab	++++	+	-	++++
79-G02 (Dfi32)	человеческое		Fab	++++	+	-	++++
80-A08 (Dfi33)	человеческое		Fab	++++	++	-	++++
			Ab				
80-D02 (Dfi34)	человеческое		Fab	+++++	++	-	+++++
			Ab	++++	++	-	++++
81-C01 (Dfi36)	человеческое		Fab	++++	++	-	++++
74-D05 (Dfi39)	человеческое		Fab	++++			++++

Антитело	Вид	Подтип		ELISA			
				hLINGO-1	LRR	Ig	hLINGO-1
74-F02 (Dli40)	человеческое		Fab	++++			++++
75-B09 (Dli42)	человеческое		Fab	++++			++++
94-E07 (Dli54)	человеческое		Fab	++++			++++
98-B10 (Dli55)	человеческое		Fab	++++			+++
544L- M0054-E03 (Dli62)	человеческое		Fab	++++			
		IgG1Agly	Ab				
544L- M0059-G09 (Dli63)	человеческое		Fab	++++			
Антитело	Вид	Подтип		ELISA			
				hLINGO-1	LRR	Ig	hLINGO-1
544L- M0063-G06 (Dli64)	человеческое		Fab	++++			
544L- M0069-D12 (Dli65)	человеческое		Fab	++++			
544L- M0070-H12 (Dli67)	человеческое		Fab	++++			
544L- M0090-E09 (Dli73)	человеческое		Fab	++++			
		IgG1Agly	Ab				
544L- M0090-E12 (Dli74)	человеческое		Fab	++++			
544L- M0090-F08 (Dli75)	человеческое		Fab	++++			
Антитело	Вид	Подтип		ELISA			
				hLINGO-1	LRR	Ig	hLINGO-1
544L- M0104-B01 (Dli77)	человеческое		Fab	++++			
544L- M0120-E08 (Dli81)	человеческое		Fab	++++			
		IgG1Agly	Ab	0,25 нМ			0,27 нМ

Антитело	Вид	Подтип		FACS на клетках 293		FACS на стабильных CHO	
				hLINGO-1	mLINGO1	hLINGO-1	mLINGO1
30-C12 (Dli01)	человеческое	каппа	Fab				
38-D01 (Dli02)	человеческое	lambda	Fab				
35-E04 (Dli03)	человеческое	каппа	Fab				
			Ab				
36-C09 (Dli04)	человеческое		Fab				
30-A11 (Dli05)	человеческое	lambda	Fab	+		22,8 нМ	-
			Ab	no fit			5,5 нМ
Антитело	Вид	Подтип		FACS на клетках 293		FACS на стабильных CHO	
				hLINGO-1	mLINGO1	hLINGO-1	mLINGO1
34-F02 (Dli06)	человеческое	каппа	Fab			21 нМ	> 200 нМ
			Ab			2,32 нМ	26,6 нМ
29-E07 (Dli07)	человеческое	lambda	Fab				
34-G04 (Dli08)	человеческое	каппа	Fab	+/-		206 нМ	190 нМ
			Ab	++		3,3 нМ	18,6 нМ
36-A12 (Dli09)	человеческое	каппа	Fab				
28-D02 (Dli10)	человеческое	каппа	Fab				
			Ab	+++		0,49 нМ	> 400 нМ

Антитело	Вид	Подтип		FACS на клетках 293		FACS на стабильных CHO	
				hLINGO-1	mLINGO1	hLINGO-1	mLINGO1
30-B01 (Dli11)	человеческое	каппа	Fab				
			Ab	+++			
34-B03 (Dli12)	человеческое		Fab				
72-D03 (Dli13)	человеческое		Fab			0,74 нМ, 3,2 (CG)	24,7 нМ
			Ab				
73-C08 (Dli17)	человеческое		Fab				
74-E08 (Dli21)	человеческое		Fab				
75-H04 (Dli24)	человеческое		Fab				
Антитело	Вид	Подтип		FACS на клетках 293		FACS на стабильных CHO	
				hLINGO-1	mLINGO1	hLINGO-1	mLINGO1
76-F10 (Dli28)	человеческое		Fab				
79-G02 (Dli32)	человеческое		Fab				
80-A08 (Dli33)	человеческое		Fab			1,39 нМ, 4 (CG)	no fit
			Ab			0,208 нМ, for IgG2	
80-D02 (Dli34)	человеческое		Fab				
			Ab				
81-C01 (Dli36)	человеческое		Fab				

Антитело	Вид	Подтип		FACS на клетках 293		FACS на стабильных CHO	
				hLINGO-1	mLINGO1	hLINGO-1	mLINGO1
74-D05 (DIi39)	человеческое		Fab			7,6 нМ (CG)	
74-F02 (DIi40)	человеческое		Fab			11 нМ (CG)	
75-B09 (DIi42)	человеческое		Fab			28 нМ (CG)	
94-E07 (DIi54)	человеческое		Fab			33 нМ (CG)	
98-B10 (DIi55)	человеческое		Fab			50 нМ (CG)	
544L- M0054-E03 (DIi62)	человеческое		Fab				
		IgG1Agly	Ab			0,261 нМ	
Антитело	Вид	Подтип		FACS на клетках 293		FACS на стабильных CHO	
				hLINGO-1	mLINGO1	hLINGO-1	mLINGO1
544L- M0059-G09 (DIi63)	человеческое		Fab				
544L- M0063-G06 (DIi64)	человеческое		Fab				
544L- M0069-D12 (DIi65)	человеческое		Fab				
544L- M0070-H12 (DIi67)	человеческое		Fab				
544L- M0090-E09 (DIi73)	человеческое		Fab				

Антитело	Вид	Подтип		FACS на клетках 293		FACS на стабильных CHO	
				hLINGO-1	mLINGO1	hLINGO-1	mLINGO1
		IgG1Agly	Ab			0,12 нМ	
544L-M0090-E12 (Dli74)	человеческое		Fab				
544L-M0090-F08 (Dli75)	человеческое		Fab				
544L-M0104-B01 (Dli77)	человеческое		Fab				
544L-M0120-E08 (Dli81)	человеческое		Fab				
		IgG1Agly	Ab			0,156 нМ	

Таблица 3Е

Антитело	Вид	Подтип		Внутрибрюшинно				ИГХ	
				hLINGO-1	mLINGO1	Эндо-генное грызунов	Блоки- рующее	заморо- женный	пара- фин
1A7	Мышиное	IgG1/kap ра	Fab	+++ (U)	+/-				
			mAb	+++ (U)	+/-				
2F3	Мышиное	IgG2a	Fab						
			mAb	+++ (L)	+++ (L)	Нет	Нет	Да (слабая)	+++
3P1D10.2C3	Мышиное	IgG1	mAb						
3P1E11.3B7	Мышиное	IgG1	mAb						
6P4E4.1D3	Мышиное	IgG1/kap ра	mAb	+++ (U)	+++				
6P4E4.1F9	Мышиное	IgG1/kap ра	mAb	+++ (U)	+++				

Антитело	Вид	Подтип		Внутрибрюшинно				ИГХ	
				hLINGO-1	mLINGO1	Эндо-генное грызунов	Блоки- рующее	заморо- женный	пара- фин
7P1D5.1G9 (ATCC PTA-8107)	Мышиное	IgG1/кар ра	Fab	+++ (U)	+++				
			mAb	+++ (U)	+++ (L)	Да	Да		
1B6.4	Мышиное	IgG1/кар ра	mAb	+++ (U)	+++ (L)	Да			
2C7.2	Мышиное	IgG1/кар ра	mAb	+++ (U)	+++ (L)		Да		
2D6.1	Мышиное	IgG2a/кар ра	mAb	-	-			Нет	
2F7.3	Мышиное	IgG1/кар ра	mAb	+++ (L)	+++ (L)		Нет		
2H3.2	Мышиное	IgG1/кар ра	mAb	+++ (L)	+++ (L)		Нет	Нет	
Антитело	Вид	Подтип		Внутрибрюшинно				ИГХ	
				hLINGO-1	mLINGO1	Эндо-генное грызунов	Блоки- рующее	заморо- женный	пара- фин
3C11.1	Мышиное	IgG1/кар ра	mAb	+++ (L)	+++ (L)	Да (слабая)	Нет		
3E3.1	Мышиное	IgG1/кар ра	mAb	+++ (U)	+++ (L)	Да	Да	Нет	
3H11.2	Мышиное	IgG1/кар ра	mAb	+++ (L)	+++ (L)		Нет		
3G8.1	Мышиное		mAb	+++ (U)	+++		Да		
2B8.1	Мышиное		mAb	+++ (U)	+(L)		Да		
3B5.2 (ATCC PTA/8106)	Мышиное	IgG1/кар ра	mAb	+++ (U)	+++	Да	Да		
3P3C10.2	Мышиное		mAb						
3P4F4.6	Мышиное		mAb						

Антитело	Вид	Подтип		Внутрибрюшинно				ИГХ	
				hLINGO-1	mLINGO1	Эндо-генное грызунов	Блоки- рующее	заморо- женный	пара- фин
30-C12 (Dli01)	Человеческое	kappa	Fab	++	++				
38-D01 (Dli02)	Человеческое	lambda	Fab	-/+	-/+				
35-E04 (Dli03)	Человеческое	kappa	Fab	++	+++	Нет		Нет	
			Ab						
36-C09 (Dli04)	Человеческое		Fab	-/+	-/+				
30-A11 (Dli05)	Человеческое	lambda	Fab	++	++				
			Ab	++(U)	++(L)	Да			
34-A02	Человеческое		Fab	++	++				
Антитело	Вид	Подтип		Внутрибрюшинно				ИГХ	
				hLINGO-1	mLINGO1	Эндо-генное грызунов	Блоки- рующее	заморо- женный	пара- фин
(Dli06)		kappa	Ab						
29-E07 (Dli07)	Человеческое	lambda	Fab	++	++				
34-G04 (Dli08)	Человеческое	kappa	Fab	++	++				
			Ab	++(U)	++(L)				
36-A12 (Dli09)	Человеческое	kappa	Fab	-	-				
28-D02 (Dli10)	Человеческое	kappa	Fab	+/-	+/-				
			Ab						
30-B01 (Dli11)	Человеческое	kappa	Fab	++(U)	++(L)				
			Ab			Да		Нет	+
34-B03 (Dli12)	Человеческое		Fab	+	+				

Антитело	Вид	Подтип		Внутрибрюшинно				ИГХ	
				hLINGO-1	mLINGO1	Эндо-генное грызунов	Блоки- рующее	заморо- женный	пара- фин
72-D03 (Dli13)	Человеческое		Fab	++(U)	++(L)	Нет			
			Ab						++
73-C08 (Dli17)	Человеческое		Fab						
74-E08 (Dli21)	Человеческое		Fab						
75-H04 (Dli24)	Человеческое		Fab						
75-F10 (Dli28)	Человеческое		Fab						
79-G02 (Dli32)	Человеческое		Fab						
Антитело	Вид	Подтип		Внутрибрюшинно				ИГХ	
				hLINGO-1	mLINGO1	Эндо-генное грызунов	Блоки- рующее	заморо- женный	пара- фин
80-A08 (Dli33)	Человеческое		Fab	++ (верхняя полоса)	++(L)	Да (слабая)			
			Ab					+++	+
80-D02 (Dli34)	Человеческое		Fab	++(U)	++(L)				
			Ab					+++	+++
81-C01 (Dli36)	Человеческое		Fab						
74-D05 (Dli39)	Человеческое		Fab						
74-D02 (Dli40)	Человеческое		Fab						
75-B09 (Dli42)	Человеческое		Fab						

Антитело	Вид	Подтип		Внутрибрюшинно				ИГХ	
				hLINGO-1	mLINGO1	Эндо-генное грызунов	Блоки- рующее	заморо- женный	пара- фин
94-E07 (Dli54)	Человеческое		Fab						
98-B10 (Dli55)	Человеческое		Fab						
544L- M0054-E03 (Dli62)	Человеческое	IgG1Agly	Fab						
			Ab						
544L- M0059-G09 (Dli63)	Человеческое		Fab						
544L- M0063-G06 (Dli64)	Человеческое		Fab						
Антитело	Вид	Подтип		Внутрибрюшинно				ИГХ	
				hLINGO-1	mLINGO1	Эндо-генное грызунов	Блоки- рующее	заморо- женный	пара- фин
544L- M0069-D12 (Dli65)	Человеческое		Fab						
544L- M0070-H12 (Dli67)	Человеческое		Fab						
544L- M0090-E09 (Dli73)	Человеческое	IgG1Agly	Fab						
			Ab						
544L- M0090-E12 (Dli74)	Человеческое		Fab						

Антитело	Вид	Подтип		Внутрибрюшинно				ИГХ	
				hLINGO-1	mLINGO1	Эндо-генное грызунов	Блоки- рующее	заморо- женный	пара- фин
544L- M0090-F08 (Dli75)	Человеческое		Fab						
544L- M0104-B01 (Dli77)	Человеческое		Fab						
544L- M0120-E08 (Dli81)	Человеческое	IgG1Agly	Fab						
			Ab	Да	Да	Да			
Антитело	Вид	Подтип		Миелиниза- ция в сокультуре	Отраста- ние неври- тов	SCI	Разруше- ние зритель- ного нерва	Купри- зон	Лизо- лецитин
1A7	Мышиное	IgG1/kappa	Fab						
			mAb	Да	Да	Да ?	Да	Да	Да
2F3	Мышиное	IgG2a	Fab						
			mAb	Да	Да	Нет			
3P1D10.2C3	Мышиное	IgG1	mAb	Да/Нет					
3P1E11.3B7	Мышиное	IgG1	mAb	Да/Нет					

Антитело	Вид	Подтип		Миелиниза- ция в сокультуре	Отраста- ние неври- тов	SCI	Разруше- ние зритель- ного нерва	Купри- зон	Лизо- леци- тин
6P4E4.1D3	Мышиное	IgG1/кар ра	mAb	Да					
6P4E4.1F9	Мышиное	IgG1/кар ра	mAb						
7P1D5.1G9 (ATCC PTA-8107)	Мышиное	IgG1/кар ра	Fab	Да					Да
			mAb	Да					Нет?
Антитело	Вид	Подтип		Миелиниза- ция в сокультуре	Отраста- ние неври- тов	SCI	Разруше- ние зритель- ного нерва	Купри- зон	Лизо- леци- тин
1B6.4	Мышиное	IgG1/кар ра	mAb	Нет					
2C7.2	Мышиное	IgG1/кар ра	mAb	Нет					
2D6.1	Мышиное	IgG2a/кар ра	mAb	Да					
2F7.3	Мышиное	IgG1/кар ра	mAb	Да					

Антитело	Вид	Подтип		Миелинизация в сокультуре	Отрастание нервных отростков	SCI	Разрушение зрительного нерва	Купризон	Лизолецитин
2H3.2	Мышиное	IgG1/каппа	mAb	Нет					
3C11.1	Мышиное	IgG1/каппа	mAb	Да					
3E3.1	Мышиное	IgG1/каппа	mAb	Нет					
3H11.2	Мышиное	IgG1/каппа	mAb	Нет					
3G8.1	Мышиное		mAb	Нет					
Антитело	Вид	Подтип		Миелинизация в сокультуре	Отрастание нервных отростков	SCI	Разрушение зрительного нерва	Купризон	Лизолецитин
2B8.1	Мышиное		mAb	Да					
3B5.2 (ATCC PTA/8106)	Мышиное	IgG1/каппа	mAb	Да	Да	Да			
3P3C10.2	Мышиное		mAb						
3P4F4.6	Мышиное		mAb						
30-C12 (Dli01)	Человеческое	каппа	Fab						

Антитело	Вид	Подтип		Миелинизация в сокультуре	Отрастание нервных отростков	SCI	Разрушение зрительного нерва	Купризон	Лизолеситин
38-D01 (Dli02) 35-E04 (Dli03)									
	Человеческое	lambda	Fab						
	Человеческое	каппа	Fab						
			Ab						
36-C09 (Dli04)	Человеческое		Fab						
30-A11	Человеческое		Fab	Да					Да
Антитело	Вид	Подтип		Миелинизация в сокультуре	Отрастание нервных отростков	SCI	Разрушение зрительного нерва	Купризон	Лизолеситин
(Dli05)									
		lambda	Ab	Да					Да
34-A02 (Dli06)	Человеческое	каппа	Fab	Да					
			Ab	Да					
29-E07 (Dli07)	Человеческое	lambda	Fab						
34-G04 (Dli08)	Человеческое	каппа	Fab	Да					Да
			Ab	Да					Да/Нет
36-A12 (Dli09)	Человеческое	каппа	Fab						

Антитело	Вид	Подтип		Миелинизация в сокультуре	Отрастание нервных отростков	SCI	Разрушение зрительного нерва	Купризон	Лизолецитин
28-D02 (Dli10)	Человеческое	каппа	Fab						
			Ab						
30-B01 (Dli11)	Человеческое	каппа	Fab						
			Ab	Нет					
34-B03 (Dli12)	Человеческое		Fab						
72-D03 (Dli13)	Человеческое		Fab	Да					Да
			Ab						
Антитело	Вид	Подтип		Миелинизация в сокультуре	Отрастание нервных отростков	SCI	Разрушение зрительного нерва	Купризон	Лизолецитин
73-C08 (Dli17)	Человеческое		Fab						
74-E08 (Dli21)	Человеческое		Fab						
75-H04 (Dli24)	Человеческое		Fab	Нет					
75-F10 (Dli28)	Человеческое		Fab	Да					

Антитело	Вид	Подтип		Миелиниза- ция в сокультуре	Отраста- ние неври- тов	SCI	Разруше- ние зритель- ного нерва	Купри- зон	Лизо- лещи- тин
79-G02 (Dli32)									
	Человеческое		Fab						
80-A08 (Dli33)	Человеческое		Fab	Да					Да
			Ab						Да
80-D02 (Dli34)	Человеческое		Fab	Нет					
			Ab						
81-C01 (Dli36)	Человеческое		Fab	Нет					
Антитело	Вид	Подтип		Миелиниза- ция в сокультуре	Отраста- ние неври- тов	SCI	Разруше- ние зритель- ного нерва	Купри- зон	Лизо- лещи- тин
74-D05 (Dli39) 74-D02 (Dli40) 75-B09 (Dli42) 94-E07 (Dli54)									
	Человеческое		Fab						
	Человеческое		Fab						
	Человеческое		Fab						
	Человеческое		Fab						

Антитело	Вид	Подтип		Миелиниза- ция в сокультуре	Отраста- ние неври- тов	SCI	Разруше- ние зритель- ного нерва	Купри- зон	Лизо- лецин- тин
98-B10 (Dli55)									
	Человеческое		Fab						
544L- M0054-E03 (Dli62)	Человеческое	IgG1Agly	Fab	Да					
			Ab	Да					
544L- M0059-G09 (Dli63)	Человеческое		Fab	Нет					
Антитело	Вид	Подтип		Миелиниза- ция в сокультуре	Отраста- ние неври- тов	SCI	Разруше- ние зритель- ного нерва	Купри- зон	Лизо- лецин- тин
544L- M0063-G06 (Dli64)									
	Человеческое		Fab	Нет					
544L- M0069-D12 (Dli65)	Человеческое		Fab	Да					
544L- M0070-H12 (Dli67)	Человеческое		Fab	Да					

Антитело	Вид	Подтип		Миелинизация в сокультуре	Отрастание нервных отростков	SCI	Разрушение зрительного нерва	Купризон	Лизолещитин
544L-M0090-E09 (Dli73)	Человеческое	IgG1Agly	Fab	Да					
			Ab	Да					
544L-M0090-E12 (Dli74)	Человеческое		Fab	Нет					
544L-M0090-F08 (Dli75)	Человеческое		Fab	Нет					
Антитело	Вид	Подтип		Миелинизация в сокультуре	Отрастание нервных отростков	SCI	Разрушение зрительного нерва	Купризон	Лизолещитин
544L-M0104-B01 (Dli77)	Человеческое		Fab	Да					
544L-M0120-E08 (Dli81)	Человеческое	IgG1Agly	Fab	Да					
			Ab	Да					Да

Как используют в данном контексте, термин "антигенсвязывающий домен" включает центр, который специфически связывает эпитоп на антигене (например, эпитоп Sp35). Антигенсвязывающий домен антитела, как правило, включает по меньшей мере часть варибельной области тяжелой цепи иммуноглобулина и по меньшей мере часть варибельной области легкой цепи иммуноглобулина. Связывающий центр, образованный данными варибельными областями, определяет специфичность антитела.

Настоящее изобретение более специально направлено на антитело к Sp35, или его антигенсвязывающий фрагмент, вариант или производные, причем антитело к Sp35 связывается с тем же эпитопом, что моноклональное антитело, выбранное из группы, состоящей из 201', 3A3, 3A6, 1A7, 1G7, 2B10, 2C11, 2F3, 3P1D10.2C3, 3P1E11.3B7, 3P2C6.3G10.2H7, 3P2C9.2G4, 3P4A6.1D9, 3P4A1.2B9, 3P4C2.2D2, 3P4C5.1D8, 3P4C8.2G9, 30-C12 (Li01), 38-D01 (Li02), 35-E04 (Li03), 36-C09 (Li04), 30-A11 (Li05), 34-F02 (Li06), 29-E07 (Li07), 34-G04 (Li08), 36-A12 (Li09), 28-D02 (Li10), 30-B01 (Li11), 34-B03 (Li12), Li13, Li32, Li33, Li34, 3383 (L1a.1), 3495(L1a.2), 3563 (L1a.3), 3564 (L1a.4), 3565 (L1a.5), 3566 (L1a.6), 3567 (L1a.7), 3568 (L1a.8), 3569 (L1a.9), 3570 (L1a.10), 3571 (L1a.11), 3582 (L1a.12), 1968 (L1a.13), 7P1D5.1G9, 3B5.2 и Li81.

Изобретение, кроме того, направлено на антитело к Sp35 или его антигенсвязывающий фрагмент, вариант либо производные, причем антитело к Sp35 конкурентно ингибирует моноклональное антитело, выбранное из группы, состоящей из 201', 3A3, 3A6, 1A7, 1G7, 2B10, 2C11, 2F3, 3P1D10.2C3, 3P1E11.3B7,

3P2C6.3G10.2H7, 3P2C9.2G4, 3P4A6.1D9, 3P4A1.2B9, 3P4C2.2D2, 3P4C5.1D8, 3P4C8.2G9, 30-C12 (Li01), 38-D01 (Li02), 35-E04 (Li03), 36-C09 (Li04), 30-A11 (Li05), 34-F02 (Li06), 29-E07 (Li07), 34-G04 (Li08), 36-A12 (Li09), 28-D02 (Li10), 30-B01 (Li11), 34-B03 (Li12), Li13, Li32, Li33, Li34, 3383 (L1a.1), 3495(L1a.2), 3563 (L1a.3), 3564 (L1a.4), 3565 (L1a.5), 3566 (L1a.6), 3567 (L1a.7), 3568 (L1a.8), 3569 (L1a.9), 3570 (L1a.10), 3571 (L1a.11), 3582 (L1a.12), 1968 (L1a.13), 7P1D5.1G9, 3B5.2 и Li81, в плане связывания с Sp35.

Изобретение также направлено на антитело к Sp35 или его антигенсвязывающий фрагмент, вариант либо производные, причем антитело к Sp35 включает, по меньшей мере, антигенсвязывающий участок моноклонального антитела, выбранного из группы, состоящей из 201', 3A3, 3A6, 1A7, 1G7, 2B10, 2C11, 2F3, 3P1D10.2C3, 3P1E11.3B7, 3P2C6.3G10.2H7, 3P2C9.2G4, 3P4A6.1D9, 3P4A1.2B9, 3P4C2.2D2, 3P4C5.1D8, 3P4C8.2G9, 30-C12 (Li01), 38-D01 (Li02), 35-E04 (Li03), 36-C09 (Li04), 30-A11 (Li05), 34-F02 (Li06), 29-E07 (Li07), 34-G04 (Li08), 36-A12 (Li09), 28-D02 (Li10), 30-B01 (Li11), 34-B03 (Li12), Li13, Li32, Li33, Li34, 3383 (L1a.1), 3495(L1a.2), 3563 (L1a.3), 3564 (L1a.4), 3565 (L1a.5), 3566 (L1a.6), 3567 (L1a.7), 3568 (L1a.8), 3569 (L1a.9), 3570 (L1a.10), 3571 (L1a.11), 3582 (L1a.12), 1968 (L1a.13), 7P1D5.1G9, 3B5.2 и Li81.

27 декабря 2006 г. следующие гибридомы депонированы с Американской коллекции типовых культур (ATCC) в Манассассе, VA: 2.P3B5.2 (ATCC Номер депозита PTA-8106), 7.P1D5.1.G9 (ATCC Номер депозита PTA-8107). Депонированная гибридома 2.P3B5.2 продуцирует моноклональное антитело 3B5.2, описанное в данном контексте, и депонированная гибридома 7.P1D5.1.G9 продуцирует антитело 7P1D5.1.G9, описанное в данном контексте. Гибридомы можно культивировать согласно способам, хорошо известным в области техники и описанным в данном контексте.

В ряде вариантов осуществления настоящее изобретение направлено на антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, вариант либо производное, которое специфически или предпочтительно связывается с определенным фрагментом или доменом полипептида Sp35. Данные фрагменты полипептида Sp35 включают, но без ограничения перечисленным, полипептид Sp35, включающий, в основном состоящий или состоящий из аминокислот 34-532; 34-417; 34-425; 34-493; 66-532; 66-417; 66-426; 66-493; 66-532; 417-532; 417-425 (основной участок Sp35); 417-493; 417-532; 419-493 (Ig-область Sp35); или 425-532 SEQ ID NO: 2 или вариант полипептида Sp35, по меньшей мере на 70, 75, 80, 85, 90 или 95% идентичный аминокислотам 34-532; 34-417; 34-425; 34-493; 66-532; 66 -417; 66-426; 66-493; 66-532; 417-532; 417-425 (основной участок Sp35), 417-493; 417-532; 419-493 (область Ig Sp35) или 425-532 SEQ ID NO: 2.

Дополнительные пептидные фрагменты Sp35, с которыми связываются некоторые антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты либо производные, соответствующие настоящему изобретению, включают, но без ограничения перечисленным, те фрагменты, которые включают, в основном состоят или состоят из одного или более богатых лейцином повторов (LRR) Sp35. Данные фрагменты, включают, например, фрагменты, включающие, в основном состоящие или состоящие из аминокислот 66-89; 66-113; 66-137; 90-113; 114-137; 138-161; 162-185; 186-209; 210-233; 234-257; 258-281; 282-305; 306-329 или 330-353 SEQ ID NO: 2. Предусматривают также соответствующие фрагменты варианта полипептида Sp35, по меньшей мере на 70, 75, 80, 85, 90 или 95% идентичные аминокислотам 66-89; 66-113; 90-113; 114-137; 138-161; 162-185; 186-209; 210-233; 234-257; 258-281; 282-305; 306-329 или 330 -353 SEQ ID NO: 2.

Дополнительные пептидные фрагменты Sp35, с которыми связываются некоторые антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты либо производные, соответствующие настоящему изобретению, включают, но без ограничения перечисленным, те фрагменты, которые включают, в основном состоят или состоят из одного или более богатых цистеином участков, фланкирующих LRR Sp35. Данные фрагменты, включают, например, фрагмент включающий, в основном состоящий или состоящий из аминокислот 34-64 SEQ ID NO: 2 (участок, фланкирующий N-концевой LRR (LRRNT)) или фрагмент включающий, в основном состоящий или состоящий из аминокислот 363-416 SEQ ID NO: 2 (участок, фланкирующий C-концевой LRR (LRRCT)), предусматривают также аминокислоты, соответствующие фрагментам варианта полипептида Sp35, по меньшей мере на 70, 75, 80, 85, 90 или 95% идентичного аминокислотам 34-64 и 363-416 SEQ ID NO: 2.

Как известно в области техники, "идентичность последовательности" между двумя полипептидами определяют сравнением последовательности аминокислот одного полипептида с последовательностью второго полипептида. При обсуждении в данном контексте, можно определить, является ли какой-либо конкретный полипептид по меньшей мере приблизительно на 70, 75, 80, 85, 90 или 95% идентичным другому полипептиду, используя способы и компьютерные программы/пакеты программ, известные в области техники, такие как, но без ограничения перечисленным, программа BESTFIT (Wisconsin Sequence Analysis Package, Version 8 для Unix, Genetics Computer Group, University Research Park, 575 Science Drive, Madison, WI 53711). В BESTFIT используют алгоритм локальной гомологии, предложенный в статье Smith and Waterman, *Advances in Applied Mathematics* 2:482-489 (1981), чтобы найти наилучший сегмент гомологии между двумя последовательностями. При использовании BESTFIT или любой другой программы выравнивания последовательностей для определения, является ли конкретная последовательность, например, на 95% идентичной эталонной последовательности, соответствующей настоящему

изобретению, конечно, задают такие параметры, что процент идентичности рассчитывают по полной длине последовательности эталонного полипептида и допускают гэпы в гомологии до 5% от общего числа аминокислот в эталонной последовательности.

Дополнительные пептидные фрагменты Sp35, с которыми связываются определенные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты либо производные, соответствующие настоящему изобретению, включают, но без ограничения перечисленным, те фрагменты, которые включают, в основном состоят или состоят из аминокислот 41-525 SEQ ID NO: 2; 40-526 SEQ ID NO: 2; 39-527 SEQ ID NO: 2; 38-528 SEQ ID NO: 2; 37-529 SEQ ID NO: 2; 36-530 SEQ ID NO: 2; 35-531 SEQ ID NO: 2; 34-531 SEQ ID NO: 2; 46-520 SEQ ID NO: 2; 45-521 SEQ ID NO: 2; 44-522 SEQ ID NO: 2; 43-523 SEQ ID NO: 2 и 42-524 SEQ ID NO: 2.

Еще дополнительные пептидные фрагменты Sp35, с которыми связываются определенные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты либо производные, соответствующие настоящему изобретению, включают, но без ограничения перечисленным, те фрагменты, которые включают, в основном состоят или состоят из аминокислот 1-33 SEQ ID NO: 2; 1-35 SEQ ID NO: 2; 34-64 SEQ ID NO: 2; 36-64 SEQ ID NO: 2; 66-89 SEQ ID NO: 2; 90-113 SEQ ID NO: 2; 114-137 SEQ ID NO: 2; 138-161 SEQ ID NO: 2; 162-185 SEQ ID NO: 2; 186-209 SEQ ID NO: 2; 210-233 SEQ ID NO: 2; 234-257 SEQ ID NO: 2; 258-281 SEQ ID NO: 2; 282-305 SEQ ID NO: 2; 306-329 SEQ ID NO: 2; 330-353 SEQ ID NO: 2; 363-416 SEQ ID NO: 2; 417-424 SEQ ID NO: 2; 419-493 SEQ ID NO: 2 и 494-551 SEQ ID NO: 2.

Дальнейшие пептидные фрагменты Sp35, с которыми связываются определенные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты либо производные, соответствующие настоящему изобретению, включают, но без ограничения перечисленным, те фрагменты, которые включают, в основном состоят или состоят из аминокислот 1-33 SEQ ID NO: 2; 1-35 SEQ ID NO: 2; 1-64 SEQ ID NO: 2; 1-89 SEQ ID NO: 2; 1-113 SEQ ID NO: 2; 1-137 SEQ ID NO: 2; 1-161 SEQ ID NO: 2; 1-185 SEQ ID NO: 2; 1-209 SEQ ID NO: 2; 1-233 SEQ ID NO: 2; 1-257 SEQ ID NO: 2; 1-281 SEQ ID NO: 2; 1-305 SEQ ID NO: 2; 1-329 SEQ ID NO: 2; 1-353 SEQ ID NO: 2; 1-416 SEQ ID NO: 2; 1-424 SEQ ID NO: 2; 1-493 SEQ ID NO: 2; 1-551 SEQ ID NO: 2; 1-531 SEQ ID NO: 2 и 1-532 SEQ ID NO: 2.

Дополнительные пептидные фрагменты Sp35, с которыми связываются определенные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты либо производные, соответствующие настоящему изобретению, включают, но без ограничения перечисленным, те фрагменты, которые включают, в основном состоят или состоят из аминокислот 34-64 SEQ ID NO: 2; 34-89 SEQ ID NO: 2; 34-113 SEQ ID NO: 2; 34-137 SEQ ID NO: 2; 34-161 SEQ ID NO: 2; 34-185 SEQ ID NO: 2; 34-209 SEQ ID NO: 2; 34-233 SEQ ID NO: 2; 34-257 SEQ ID NO: 2; 34-281 SEQ ID NO: 2; 34-305 SEQ ID NO: 2; 34-329 SEQ ID NO: 2; 34-353 SEQ ID NO: 2; 34-416 SEQ ID NO: 2; 34-424 SEQ ID NO: 2; 34-493 SEQ ID NO: 2 и 34-551 SEQ ID NO: 2.

Больше дополнительных фрагментов пептида Sp35, с которыми связываются определенные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты либо производные, соответствующие настоящему изобретению, включают, но без ограничения перечисленным, те фрагменты, которые включают, в основном состоят или состоят из аминокислот 34-530 SEQ ID NO: 2; 34-531 SEQ ID NO: 2; 34-532 SEQ ID NO: 2; 34-533 SEQ ID NO: 2; 34-534 SEQ ID NO: 2; 34-535 SEQ ID NO: 2; 34-536 SEQ ID NO: 2; 34-537 SEQ ID NO: 2; 34-538 SEQ ID NO: 2; 34-539 SEQ ID NO: 2; 30-532 SEQ ID NO: 2; 31-532 SEQ ID NO: 2; 32-532 SEQ ID NO: 2; 33-532 SEQ ID NO: 2; 34-532 SEQ ID NO: 2; 35-532 SEQ ID NO: 2; 36-532 SEQ ID NO: 2; 30-531 SEQ ID NO: 2; 31-531 SEQ ID NO: 2; 32-531 SEQ ID NO: 2; 33-531 SEQ ID NO: 2; 34-531 SEQ ID NO: 2; 35-531 SEQ ID NO: 2 и 36-531 SEQ ID NO: 2.

Еще дальнейшие пептидные фрагменты Sp35, с которыми связываются определенные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты либо производные, соответствующие настоящему изобретению, включают, но без ограничения перечисленным, те фрагменты, которые включают, в основном состоят или состоят из аминокислот 36-64 SEQ ID NO: 2; 36-89 SEQ ID NO: 2; 36-113 SEQ ID NO: 2; 36-137 SEQ ID NO: 2; 36-161 SEQ ID NO: 2; 36-185 SEQ ID NO: 2; 36-209 SEQ ID NO: 2; 36-233 SEQ ID NO: 2; 36-257 SEQ ID NO: 2; 36-281 SEQ ID NO: 2; 36-305 SEQ ID NO: 2; 36-329 SEQ ID NO: 2; 36-353 SEQ ID NO: 2; 36-416 SEQ ID NO: 2; 36-424 SEQ ID NO: 2; 36-493 SEQ ID NO: 2 и 36-551 SEQ ID NO: 2.

Дополнительные пептидные фрагменты Sp35, с которыми связываются определенные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты либо производные, соответствующие настоящему изобретению, включают, но без ограничения перечисленным, те фрагменты, которые включают, в основном состоят или состоят из аминокислот 36-530 SEQ ID NO: 2; 36-531 SEQ ID NO: 2; 36-532 SEQ ID NO: 2; 36-533 SEQ ID NO: 2; 36-534 SEQ ID NO: 2; 36-535 SEQ ID NO: 2; 36-536 SEQ ID NO: 2; 36-537 SEQ ID NO: 2; 36-538 SEQ ID NO: 2 и 36-539 SEQ ID NO: 2.

Многие пептидные фрагменты Sp35, с которыми связываются определенные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты либо производные, соответствующие настоящему изобретению, включают, но без ограничения перечисленным, те фрагменты, которые включают, в основном состоят или состоят из аминокислот 417-493 SEQ ID NO: 2; 417-494 SEQ ID NO: 2; 417-495 SEQ ID NO: 2; 417-496 SEQ ID NO: 2; 417-497 SEQ ID NO: 2; 417-498 SEQ ID NO: 2; 417-499 SEQ ID NO: 2; 417-500 SEQ ID NO: 2; 417-492 SEQ ID NO: 2; 417-491 SEQ ID NO: 2; 412-493 SEQ ID NO: 2; 413-493 SEQ ID NO: 2; 414-493 SEQ ID NO: 2; 415-493 SEQ ID NO: 2; 416-493 SEQ ID NO: 2; 411-493 SEQ ID NO: 2; 410-493 SEQ ID NO: 2.

NO: 2; 410-494 SEQ ID NO: 2; 411-494 SEQ ID NO: 2; 412-494 SEQ ID NO: 2; 413-494 SEQ ID NO: 2; 414-494 SEQ ID NO: 2; 415-494 SEQ ID NO: 2; 416-494 SEQ ID NO: 2; 417-494 SEQ ID NO: 2 и 418-494 SEQ ID NO: 2.

В дополнительном варианте осуществления пептидные фрагменты Sp35, с которыми связываются определенные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты либо производные, соответствующие настоящему изобретению, включают, полипептид Sp35, содержащий, в основном состоящий или состоящий из пептидов домена Ig Sp35 или фрагментов, вариантов или производных данных полипептидов. В частности, полипептиды включают, в основном состоят или состоят из следующих полипептидных последовательностей: ITX1X2X3 (SEQ ID NO: 287), ACX1X2X3 (SEQ ID NO: 288), VCX1X2X3 (SEQ ID NO: 289) и SPX1X2X3 (SEQ ID NO: 290), где X1 представляет собой лизин, аргинин, гистидин, глутамин или аспарагин, X2 представляет собой лизин, аргинин, гистидин, глутамин или аспарагин и X3 представляет собой лизин, аргинин, гистидин, глутамин или аспарагин. Например, пептидные фрагменты Sp35, с которыми связываются определенные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты либо производные, соответствующие настоящему изобретению, включают те фрагменты, которые включают, в основном состоят или состоят из следующих полипептидных последовательностей: SPRKH (SEQ ID NO: 291), SPRKK (SEQ ID NO: 292), SPRKR (SEQ ID NO: 293), SPKKH (SEQ ID NO: 294), SPHKH (SEQ ID NO: 295), SPRRH (SEQ ID NO: 296), SPRHH (SEQ ID NO: 297), SPRRR (SEQ ID NO: 298), SPHHH (SEQ ID NO: 299) SPKKK (SEQ ID NO: 300), LSPRKH (SEQ ID NO: 301), LSPRKK (SEQ ID NO: 302), LSPRKR (SEQ ID NO: 303), LSPKKH (SEQ ID NO: 304), LSPHKH (SEQ ID NO: 305), LSPRRH (SEQ ID NO: 306), LSPRHH (SEQ ID NO: 307), LSPRRR (SEQ ID NO: 308), LSPHHH (SEQ ID NO: 309) LSPKKK (SEQ ID NO: 310), WLSPRKH (SEQ ID NO: 311), WLSPRKK (SEQ ID NO: 312), WLSPRKR (SEQ ID NO: 313), WLSPKKH (SEQ ID NO: 314), WLSPHKH (SEQ ID NO: 315), WLSPRRH (SEQ ID NO: 316), WLSPRHH (SEQ ID NO: 317), WLSPRRR (SEQ ID NO: 318), WLSPHHH (SEQ ID NO: 319) WLSPKKK (SEQ ID NO: 320). Данные полипептиды Sp35 включают основную "петлю RKH" (Аргинин-Лизин-Гистидин, аминокислоты 456-458) в домене Ig Sp35. Дополнительные пептиды Sp35, которые включают основной трипептид, представляют собой ITPKRR (SEQ ID NO: 321), ACHHK (SEQ ID NO: 322) и VCHHK (SEQ ID NO: 323).

Дополнительные пептидные фрагменты Sp35, с которыми связываются определенные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты либо производные, соответствующие настоящему изобретению, включают полипептид Sp35, включающий, в основном состоящий или состоящий из следующих пептидов домена Ig Sp35 или фрагментов, вариантов или производных данных полипептидов. В частности, пептиды включают, в основном состоят или состоят из следующих полипептидных последовательностей: X4X5RKH (SEQ ID NO: 324), X4X5RRR (SEQ ID NO: 325), X4X5KKK (SEQ ID NO: 326), X4X5HHH (SEQ ID NO: 327), X4X5RKK (SEQ ID NO: 328), X4X5RKR (SEQ ID NO: 329), X4X5KKH (SEQ ID NO: 330), X4X5HKH (SEQ ID NO: 331), X4X5RRH (SEQ ID NO: 332) и X4X5RHH (SEQ ID NO: 333), где X4 представляет собой любую аминокислоту и X5 представляет собой любую аминокислоту.

В других вариантах осуществления пептидные фрагменты Sp35, с которыми связываются определенные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты либо производные, соответствующие настоящему изобретению, включают полипептид Sp35, включающий, в основном состоящий или состоящий из пептидов домена Ig Sp35 или фрагментов, вариантов или производных данных полипептидов. В частности, полипептиды включают, в основном состоят или состоят из следующих полипептидных последовательностей: ITX6X7X8 (SEQ ID NO: 334), ACX6X7X8 (SEQ ID NO: 335), VCX6X7X8 (SEQ ID NO: 336) и SPX6X7X8 (SEQ ID NO: 337), где X6 представляет собой лизин, аргинин, гистидин, глутамин или аспарагин, X7 представляет собой любую аминокислоту и X8 представляет собой лизин, аргинин, гистидин, глутамин или аспарагин. Например, полипептид включает, в основном состоит или состоит из следующей полипептидной последовательности: SPRLH (SEQ ID NO: 338).

Пептидные фрагменты Sp35, с которыми связываются определенные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты либо производные, соответствующие настоящему изобретению, включают полипептид Sp35, включающий, в основном состоящий или состоящий из пептидов, которые содержат аминокислоты 452-458 домена Ig Sp35 или его производных, причем аминокислота 452 представляет собой остаток триптофана или фенилаланина.

Дополнительные пептидные фрагменты Sp35, с которыми связываются определенные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты либо производные, соответствующие настоящему изобретению, включают полипептид Sp35, включающий, в основном состоящий или состоящий из пептидов основного домена Sp35. В частности, пептиды включают, в основном состоят или состоят из следующих полипептидных последовательностей: RRARIRDRK (SEQ ID NO: 339), KKVKEKEK (SEQ ID NO: 340), RRLRLRDRK (SEQ ID NO: 341), RRGRGRDRK (SEQ ID NO: 342) и RRIRARDRK (SEQ ID NO: 343).

Дополнительные примеры растворимых полипептидов Sp35 и способов и материалов для получения данных молекул с целью получения антител или фрагментов антител, соответствующих настоящему изобретению, можно найти, например, в Международной патентной заявке № PCT/US2004/008323, включенной в данный контекст в виде ссылки во всей своей полноте.

Способы получения антител хорошо известны в области техники и описаны в данном контексте.

После получения антител к различным фрагментам или к Sp35 полной длины без сигнальной последовательности, определение, какие аминокислоты или эпитоп Sp35, с которым связывается антитело или антигенсвязывающий фрагмент, можно установить с помощью протоколов картирования эпитопов, как описано в данном контексте, а также способами, известными в области техники (например, сэндвичевым ELISA с двойным антителом, как описано в главе 11 - "Immunology" (Иммунология) монографии Current Protocols in Molecular Biology (Современные протоколы молекулярной биологии) под ред. Ausubel et al., т.2, John Wiley & Sons, Inc. (1996)). Дополнительные протоколы картирования эпитопов можно найти в монографии Morris, G. Epitope Mapping Protocols (Протоколы картирования эпитопов), New Jersey: Humana Press (1996), обе из которых включены в данном контексте путем ссылки в своей полноте. Картирование эпитопов можно также провести с помощью коммерчески доступных средств (т.е. ProtoPROBE, Inc. (Milwaukee, Wisconsin)).

Кроме того, полученные антитела, которые связываются с любой частью Sp35, затем могут быть подвергнуты скринингу на способность действовать как антагонист Sp35 и, таким образом, способствовать отращиванию нервных, выживаемости нейронов и олигодендроцитов, пролиферации и дифференцировке, а также способствовать миелинизации. Антитела можно подвергнуть скринингу на выживаемость олигодендроцитов/нейронов с использованием способа, как описано в примерах 10 и 11. Кроме того, антитела можно подвергнуть скринингу на их способность способствовать миелинизации с использованием способа, предложенного в примере 9. Наконец, антитела можно подвергнуть скринингу на их способность способствовать пролиферации и дифференцировке олигодендроцитов, а также отращиванию нервных с использованием способа, как описано в примере 7. Другие антагонистические функции антител, соответствующих настоящему изобретению, можно тестировать с помощью других анализов, как описано в примерах в данном контексте.

В других вариантах осуществления настоящее изобретение включает антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, вариант или производное, которое специфически или предпочтительно связывается с по меньшей мере одним эпитопом Sp35, причем эпитоп включает, состоит в основном или состоит из по меньшей мере приблизительно четырех-пяти аминокислот SEQ ID NO: 2, по меньшей мере семи, по меньшей мере девяти или от по меньшей мере приблизительно 15 до приблизительно 30 аминокислоты SEQ ID NO: 2. Аминокислоты заданного эпитопа SEQ ID NO: 2, как описано, могут быть, но необязательно являются прилегающими друг к другу или линейными. В ряде вариантов осуществления по меньшей мере один эпитоп Sp35 включает, состоит в основном или состоит из нелинейного эпитопа, образованного внеклеточным доменом Sp35, в виде экспрессирующегося на поверхности клетки или в виде растворимого фрагмента, например, слитого с Fc-участком IgG. Таким образом в ряде вариантов осуществления по меньшей мере один эпитоп Sp35 включает, состоит в основном или состоит из по меньшей мере 4, по меньшей мере 5, по меньшей мере 6, по меньшей мере 7, по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10, по меньшей мере 15, по меньшей мере 20, по меньшей мере 25, от приблизительно 15 до приблизительно 30 или по меньшей мере 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или 100 следующих или не следующих друг за другом аминокислот SEQ ID NO: 2, где не следующие друг за другом аминокислоты образуют эпитоп посредством укладки белка.

В других вариантах осуществления настоящее изобретение включает антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, вариант или производное, которое специфически или предпочтительно связывается с по меньшей мере одним эпитопом Sp35, где эпитоп включает, состоит в основном или состоит из, в дополнение к одной, двум, трем, четырем, пяти, шести или более следующих или не следующих друг за другом аминокислот SEQ ID NO: 2, как описано выше, и дополнительной группы, которая модифицирует белок, например, можно включить углеводную группу, так что антитело к Sp35 связывается с более высокой аффинностью с модифицированным белком-мишенью, чем оно связывается с немодифицированным вариантом белка. Альтернативно антитело к Sp35 совсем не связывает немодифицированный вариант белка-мишени.

В ряде аспектов настоящее изобретение направлено на антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, вариант или производное, которое специфически связывается с полипептидом Sp35 или его фрагментом либо вариантом полипептида Sp35 с аффинностью, характеризующейся константой диссоциации (K_D), которая меньше чем K_D для указанного эталонного моноклонального антитела.

В ряде вариантов осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, вариант или производное, соответствующее изобретению, специфически связывается с по меньшей мере одним эпитопом Sp35 или фрагментом либо вариантом, описанными выше, т.е. связывается с данным эпитопом легче, чем оно связывалось бы с неродственным или случайным эпитопом; связывается предпочтительно с по меньшей мере одним эпитопом Sp35 или фрагментом либо вариантом, описанными выше, т.е. связывается с данным эпитопом легче, чем оно связывалось бы с родственным, близким, гомологичным или аналогичным эпитопом; конкурентно ингибирует связывание эталонного антитела, которое само специфически или предпочтительно связывается с определенным эпитопом Sp35 или фрагментом либо вариантом, описанным выше; или связывается по меньшей мере с одним эпитопом Sp35 или фрагментом либо вариантом, описанным выше с аффинностью, характеризующейся константой диссоциации K_D меньше чем приблизительно 5×10^{-2} М, приблизительно 10^{-2} М, приблизительно 5×10^{-3} М, приблизительно 10^{-3}

М, приблизительно 5×10^{-4} М, приблизительно 10^{-4} М, приблизительно 5×10^{-5} М, приблизительно 10^{-5} М, приблизительно 5×10^{-6} М, приблизительно 10^{-6} М, приблизительно 5×10^{-7} М, приблизительно 10^{-7} М, приблизительно 5×10^{-8} М, приблизительно 10^{-8} М, приблизительно 5×10^{-9} М, приблизительно 10^{-9} М, приблизительно 5×10^{-10} М, приблизительно 10^{-10} М, приблизительно 5×10^{-11} М, приблизительно 10^{-11} М, приблизительно 5×10^{-12} М, приблизительно 10^{-12} М, приблизительно 5×10^{-13} М, приблизительно 10^{-13} М, приблизительно 5×10^{-14} М, приблизительно 10^{-14} М, приблизительно 5×10^{-15} М или приблизительно 10^{-15} М. В конкретном аспекте антитело или его фрагмент предпочтительно связываются с человеческим полипептидом Sp35 или его фрагментом относительно мышинового полипептида Sp35 или его фрагмента.

Как используют в контексте констант диссоциации связывания антитела, термин "приблизительно" допускает степень вариации, присущую способам, используемым для измерения аффинности антитела. Например, в зависимости от уровня точности используемой измерительной аппаратуры, стандартной ошибки, основанной на числе измеренных образцов, и ошибки округления, термин "приблизительно 10^{-2} М" мог бы включать, например, от 0,05 до 0,005 М.

В специфических вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, вариант или производное, соответствующее изобретению, связывает полипептиды Sp35 или их фрагменты или варианты со скоростью диссоциации ($k(\text{off})$) меньше чем или равной $5 \times 10^{-2} \text{ с}^{-1}$, 10^{-2} с^{-1} , $5 \times 10^{-3} \text{ с}^{-1}$ или 10^{-3} с^{-1} . Альтернативно антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, вариант или производное, соответствующее изобретению, связывает полипептиды Sp35 или их фрагменты или варианты со скоростью диссоциации ($k(\text{off})$) меньше чем или равной $5 \times 10^{-4} \text{ с}^{-1}$, 10^{-4} с^{-1} , $5 \times 10^{-5} \text{ с}^{-1}$ или 10^{-5} с^{-1} , $5 \times 10^{-6} \text{ с}^{-1}$, 10^{-6} с^{-1} , $5 \times 10^{-7} \text{ с}^{-1}$ или 10^{-7} с^{-1} .

В других вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, вариант или производное, соответствующее изобретению, связывает полипептиды Sp35 или их фрагменты либо варианты со скоростью ассоциации ($k(\text{on})$) больше или равной $10^3 \text{ М}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$, $5 \times 10^3 \text{ М}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$, $10^4 \text{ М}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$ или $5 \times 10^4 \text{ М}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$. Альтернативно антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, вариант или производное, соответствующее изобретению, связывает полипептиды Sp35 или их фрагменты либо варианты со скоростью ассоциации ($k(\text{on})$) больше или равной $10^5 \text{ М}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$, $5 \times 10^5 \text{ М}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$, $10^6 \text{ М}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$ или $5 \times 10^6 \text{ М}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$ или $10^7 \text{ М}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$.

В различных вариантах осуществления антитело к Sp35 или его антигенсвязывающий фрагмент, вариант или производное, как описано в данном контексте, является антагонистом активности Sp35. В ряде вариантов осуществления, например, связывание антагонистического антитела к Sp35 с Sp35, как экспрессируется на нейронах, блокирует миелин-ассоциированное ингибирование отрастания невритов или гибель нервных клеток. В других вариантах осуществления связывание антитела к Sp35 с Sp35, как экспрессируется на олигодендроцитах, блокирует ингибирование роста или дифференцировки олигодендроцитов или блокирует демиелинизацию или дисмиелинизацию нейронов ЦНС.

Пока специально не указано, как используют в данном контексте, "его фрагмент, эталонный в отношении антитела, относится к антигенсвязывающему фрагменту, т.е. части антитела, которая специфически связывается с антигеном. В одном варианте осуществления антитело к Sp35, например, антитело, соответствующее изобретению, представляет собой биспецифическое антитело к Sp35, связывающий полипептид или антитело, например, биспецифическое антитело, мини-боди, антитело с делецией домена или слитый белок, обладающий специфичностью связывания в отношении более чем одного эпитопа, например, более чем одного антигена или более чем одного эпитопа на одном и том же антигене. В одном варианте осуществления биспецифическое антитело к Sp35, связывающий полипептид или антитело имеет по меньшей мере один связывающий домен, специфический в отношении по меньшей мере одного эпитопа на полипептиде-мишени, описанном в данном контексте, например, Sp35. В другом варианте осуществления биспецифическое антитело к Sp35, связывающий полипептид или антитело имеет по меньшей мере один связывающий домен, специфический в отношении эпитопа на полипептиде-мишени, и по меньшей мере один связывающий мишень домен, специфический в отношении лекарственного препарата или токсина. В еще одном варианте осуществления биспецифическое антитело к Sp35, связывающий полипептид или антитело имеет по меньшей мере один связывающий домен, специфический в отношении эпитопа на полипептиде-мишени, описанном в данном контексте, и по меньшей мере один связывающий домен, специфический в отношении пролекарственной формы. Биспецифическое антитело к Sp35, связывающий полипептид или антитело может представлять собой тетравалентное антитело, которое имеет два связывающих мишень домена, специфических в отношении эпитопа полипептида-мишени, описанного в данном контексте, и два связывающих мишень домена, специфических в отношении второй мишени. Таким образом, тетравалентное биспецифическое антитело к Sp35, связывающий полипептид или антитело могут быть бивалентными в отношении каждой специфичности.

Антитела к Sp35 или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты или производные, соответствующие изобретению, как известно обычным специалистам в области техники, могут включать константную область, которая опосредует одну или более эффекторных функций. Например, связывание компонента C1 комплемента в константной области антитела может активировать систему комплемента. Активация комплемента важна в опсонизации и лизисе клеточных патогенов. Активация компонен-

та также стимулирует воспалительную реакцию и может быть также включена в аутоиммунную гиперчувствительность. Кроме того, антитела связываются с рецепторами на различных клетках посредством Fc-участка, с центром связывания Fc-рецептора на Fc-участке антитела, связывающимся с Fc-рецептором (FcR) на клетке. Имеется ряд Fc-рецепторов, которые специфичны в отношении различных классов антитела, включая IgG (гамма-рецепторы), IgE (эпсилон-рецепторы), IgA (альфа-рецепторы) и IgM (мю-рецепторы). Связывание антитела с Fc-рецепторами на клеточных поверхностях переключает ряд важных и разнообразных биологических ответов, включая поглощение и разрушение покрытых антителом частиц, выведение иммунных комплексов, лизис покрытых антителом клеток-мишеней клетками-киллерами (называемый антитело-зависимой опосредованной клетками цитотоксичностью или ADCC), высвобождение воспалительных медиаторов, плацентарный перенос и контроль продукции иммуноглобулина.

Соответственно, некоторые варианты осуществления изобретения включают антитело к Sp35 или его антигенсвязывающий фрагмент, вариант или производное, в котором, по меньшей мере, фракция одного или более доменов константных участков исключена или иным образом изменена, чтобы обеспечить требуемые биохимические свойства, такие как пониженные эффекторные функции, способность к нековалентной димеризации, повышенная способность к локализации области опухоли, уменьшенный полупериод существования в сыворотке или увеличенный полупериод существования в сыворотке по сравнению с целым неизмененным антителом приблизительно такой же иммуногенности. Например, некоторые антитела, предназначенные для использования в способах диагностики и лечения, описанных в данном контексте, представляют собой антитела с делецией домена, которые включают полипептидную цепь, подобную тяжелой цепи иммуноглобулина, но в которых отсутствует по меньшей мере часть одного или более доменов тяжелой цепи. Например, в некоторых антителах один целый домен константной области модифицированного антитела будет исключен, например, весь или часть домена C_H2 будет исключен.

В ряде антител к Sp35, или их антигенсвязывающих фрагментах, вариантах или производных, описанных в данном контексте, часть Fc может быть подвергнута мутации с целью снижения эффекторной функции с использованием способов, известных в области техники. Например, делеция или инактивация (путем точечных мутаций или других средств) домена константной области может снизить уровень связывания Fc-рецептора циркулирующего модифицированного антитела, повышая тем самым повышая опухолевую локализацию. В других случаях может быть, что модификации константной области, согласующиеся с данным изобретением, замедляют связывание комплемента и, таким образом, уменьшают полупериод существования и неспецифическое связывание конъюгированного цитотоксина. Еще одни модификации константной области могут быть использованы для модификаций дисульфидных связей или олигосахаридных групп, которые дают возможность повышения уровня локализации вследствие повышенной специфичности антигена или гибкости антитела. Полученный в результате физиологический профиль, биодоступность и другие биохимические эффекты модификаций, такие как опухолевая локализация, биораспределение и полупериод существования в сыворотке, можно легко измерить и количественно определить, используя хорошо известные иммунологические способы без проведения излишних экспериментов.

Модифицированные формы антитела к Sp35 или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты или производные, соответствующих изобретению, можно получить из целого предшественника или родительского антитела с использованием способов, известных в области техники. Примеры способов более подробно обсуждаются в данном контексте.

В ряде вариантов осуществления как переменные, так и константные области антитела к Sp35 или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты или производные являются полностью человеческими. Полностью человеческие антитела можно получить, используя способы, которые известны в области техники и как описано в данном контексте. Например, полностью человеческие антитела к специфическому антигену можно получить путем введения антигена трансгенному животному, которое модифицировано так, чтобы получить данные антитела в ответ на введение антигена, но эндогенные локусы дезактивированы. Примеры способов, которые можно использовать для получения данных антител, описаны в патентах США 6150584, 6458592, 6420140, которые включены в виде ссылки во всей их полноте. Другие способы известны в области техники. Полностью человеческие антитела можно аналогичным образом получить различными способами представления, например, представления на фагах или с помощью систем представления на других вирусах, как более подробно описано в других разделах данного материала.

Антитела к Sp35 или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты или производные, соответствующие изобретению, можно получить или изготовить с использованием способов, которые известны в области техники. В ряде вариантов осуществления молекулы антитела или их фрагменты "получают рекомбинантным путем" т.е. получают с использованием технологии рекомбинантной ДНК. Примеры способов получения молекул антитела или их фрагментов более подробно обсуждают в других разделах данного материала.

Антитела к Sp35, или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты или производные, соответствующие изобретению, также включают производные, которые модифицированы, например, посредством

ковалентного присоединения молекулы любого типа к антителу, так что ковалентное присоединение не препятствует антителу специфически связываться с родственным ему эпитопом. Например, но не в порядке ограничения, производные антитела включают антитела, которые модифицированы, например, гликозилированием, ацетилизацией, пегилированием, фосфорилированием, амидированием, дериватизацией известными защитными/блокирующими группами, протеолитическим расщеплением, связыванием с клеточным лигандом или другим белком и т.д. Любые из множества химических модификаций можно осуществить известными способами антитела, включая, но без ограничения перечисленным, специфическое химическое расщепление, ацетилирование, формилирование, метаболический синтез туникамицина и т.п. Кроме того, производное может включать одну или более неклассических аминокислот.

В ряде вариантов осуществления антитела к Sp35 или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты или производные, соответствующие изобретению, не будут вызывать вредный иммунный ответ у животного, которого лечат, например, у человека. В одном варианте осуществления антитела к Sp35 или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты или производные, соответствующие изобретению, модифицируют, чтобы снизить их иммуногенность с использованием признанных в области техники способов. Например, антитела могут представлять собой гуманизированные, приматизированные, деиммунизированные или можно получить химерные. Данные типы антител получены из нечеловеческого антитела, как правило, антитела мышей или приматов, которое сохраняет или в существенной степени сохраняет антигенсвязывающие свойства исходного антитела, но которое менее иммуногенно для человека. Этого можно достигнуть различными способами, включая (а) прививание целых нечеловеческих переменных доменов на человеческие константные области с получением химерных антител, (б) прививание по меньшей мере части одного или более нечеловеческих участков, определяющих комплементарность (CDRs) на человеческий скелет и константных участков с сохранением или без сохранения важных скелетных остатков или (с) трансплантацию целых нечеловеческих переменных областей, но "маскирование" их подобным человеческому отделом путем замены поверхностных остатков. Данные способы описаны в статьях Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 57:6851-6855 (1984); Morrison et al., Adv. Immunol. 44:65-92 (1988); Verhoeven et al., Science 239:1534-1536 (1988); Padlan, Molec. Immun. 28:489-498 (1991); Padlan, Molec. Immun. 57:169-217 (1994) и патенты США № 5585089 5693761 5693762 и 6190370, все из которых включены в данный контекст в виде ссылки в их полноте.

Деиммунизацию можно также использовать для снижения иммуногенности антитела. Как используют в данном контексте, термин "деиммунизация" включает изменение антитела с целью модификации Т-клеточных эпитопов (см., например, WO9852976A1, WO0034317A2). Например, анализируют последовательности V_H и V_L из исходного антитела и человеческий Т-клеточный эпитоп "картируют" из каждой V-области, показывая положение эпитопов относительно участков, определяющих комплементарность (CDRs), и других ключевых остатков в последовательности. Отдельные Т-клеточные эпитопы из карты Т-клеточных эпитопов анализируют с целью идентификации альтернативных замен аминокислот с низким риском изменения активности конечного антитела. Создают диапазон альтернативных последовательностей V_H и V_L , включающий комбинации замен аминокислот, и затем данные последовательности вводят в круг связывающих полипептидов, например, Sp35-специфические антитела или их иммуноспецифические фрагменты, предназначенные для использования в способах диагностики и лечения, описанные в данном контексте, которые затем тестируют на действие. Как правило, генерируют и тестируют от 12 до 14 вариантов антител. Потом гены полной тяжелой и легкой цепей, включающие модифицированную V- и человеческую C-области клонируют в экспрессирующие векторы и впоследствии плазмиды вводят в клеточные линии для получения целого антитела. Затем антитела сравнивают в подходящих биохимических и биологических анализах и идентифицируют оптимальный вариант.

Антитела к Sp35 или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты или производные, соответствующие изобретению, можно генерировать любым подходящим способом, известным в области техники. Поликлональные антитела к представляющему интерес антигену можно получить различными способами, хорошо известными в области техники. Например, антитело к Sp35, например, связывающий полипептид, например, Sp35-специфическое антитело или его иммуноспецифический фрагмент можно ввести различным животным-хозяевам, включая, но без ограничения перечисленным, кроликам, мышам, крысам, курам, хомячкам, козам, ослам и т.п. с целью индукции образования сыворотки, содержащей поликлональные антитела, специфические в отношении антигена. Можно использовать различные адъюванты для повышения иммунологического ответа в зависимости от вида хозяина, и они включают, но без ограничения перечисленным, адъювант Фрейнда (полный и неполный), минеральные гели, такие как гидроксид алюминия, поверхностно-активные субстанции, такие как лизолецитин, плутоновые полиолы, полианионы, масляные эмульсии, гемоцианины блудечка, динитрофенол и потенциально используемые человеческие адъюванты, такие как BCG (бацилла Кальметта-Герена) и *Corynebacterium parvum*. Данные адъюванты также хорошо известны в области техники.

Моноклональные антитела можно получить, используя широкий круг способов, известных в области техники, включая использование гибридом, рекомбинантных технологий и технологий представления на фагах или их комбинации. Например, моноклональные антитела можно получить, используя гибридомные способы, включая известные в области техники и описанные, например, в монографиях Harlow

et al., *Antibodies: A Laboratory Manual* (Лабораторное руководство по антителам), Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2 изд. (1988); Hammerling et al., в сборнике: *Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas* Моноклональные Антитела и Т-клеточные гибридомы Elsevier, N. Y., 563-681 (1981) (указанные источники включены в виде ссылки во всей своей полноте). Термин "моноклональное антитело", как используют в данном контексте, не ограничен антителами, продуцируемыми гибридомной технологией. Термин "моноклональное антитело" относится к антителу, которое выделено из одного клона, включая эукариотический, прокариотический или фаговый клон, а не к способу, которым оно получено. Таким образом, термин "моноклональное антитело" не ограничен антителами, полученными гибридомной технологией. Моноклональные антитела можно получить, используя мышей с выбитым Sp35 для увеличения участков распознавания эпитопов. Моноклональные антитела можно получить, используя широкий круг способов, известных в области техники, включая использование гибридом и рекомбинантных технологий и технологий представления на фагах, как описано в других разделах в данном контексте.

При использовании признанных в области техники протоколов в одном примере антитела образуются у млекопитающих при множестве подкожных или внутрибрюшинных инъекций соответствующего антигена (например, очищенных опухоль-ассоциированных антигенов, таких как Sp35, или клеток либо клеточных экстрактов, содержащих данные антигены) и адьюванта. Данная иммунизация, как правило, вызывает иммунный ответ, который включает продукцию антиген-реактивных антител активированными спленоцитами или лимфоцитами. Хотя полученные в результате антитела можно собрать из сыворотки животного с получением поликлональных препаратов, часто требуется выделить отдельные лимфоциты из селезенки, лимфатических узлов или периферической крови для получения гомогенных препаратов моноклональных антител (MAbs). Предпочтительно, когда лимфоциты получают из селезенки.

В данном хорошо известном способе (см. статью Kohler et al., *Nature* 256:495 (1975)) относительно короткоживущие или смертные лимфоциты, выделенные у млекопитающего, которому инъецирован антиген, сливают с линией бессмертных опухолевых клеток (например, клеточной линией миеломы), таким образом, образуя гибридные клетки или "гибридомы", которые как бессмертны, так и способны продуцировать генетически закодированное антитело В-клетки. Полученные в результате гибриды разделяют на отдельные генетические штаммы с помощью отбора, разведения и повторного выращивания каждого отдельного штамма, содержащего специфические гены для формирования одного антитела. Они продуцируют антитела, которые являются гомогенными в отношении требуемого антигена и в отношении их чистого генетического происхождения их называют "моноклональными".

Гибридомные клетки, таким образом, получают и высевают и выращивают в подходящей среде для культивирования, которая предпочтительно содержит одну или более субстанций, которые ингибируют рост или выживаемость неслитых клеток миеломы. Специалисты в области техники будут иметь в виду, что реагенты, клеточные линии и среды для формирования, селекции и роста гибридом коммерчески доступны в ряде источников и стандартизированные протоколы вполне разработаны. Как правило, культуральную среду, в которой выращивают гибридомные клетки, оценивают на продукцию моноклональных антител к требуемому антигену антиген. Предпочтительно, когда специфичность связывания моноклональных антител, продуцируемых гибридомой клеток определяют в анализах *in vitro*, таких как иммунопреципитация, радиоиммуноанализ (RIA) или твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA). Затем идентифицируют гибридомные клетки, которые продуцируют антитела требуемой специфичности, аффинности и/или активности, клоны можно субклонировать способами ограничивающего разведения и выращивать стандартными способами (см. монографию Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*) Моноклональные антитела - принципы и практический подход, Academic Press, стр. 59-103 (1986)). Далее следует иметь в виду, что моноклональные антитела, секретируемые субклонами, можно отделить от культуральной среды, асцитной жидкости или сыворотки принятыми способами очистки, такими как, например, с использованием белка-A, хроматография на гидроксипатите, гель-электрофорез, диализ или аффинная хроматография.

Фрагменты антитела, которые распознают специфические эпитопы, можно генерировать известными способами. Например, фрагменты Fab и F(ab')₂ можно получить пептолитическим расщеплением молекул иммуноглобулина с использованием ферментов, таких как папаин (для получения фрагментов Fab) или пепсин (для получения фрагментов F(ab')₂). Фрагменты F(ab')₂ включают вариабельную область, константную область легкой цепи и домен C_H1 тяжелой цепи.

Компетентные специалисты в области техники будут также иметь в виду, что ДНК, кодирующая антитела или фрагменты антител (например, центры связывания антигена) также может быть получена из библиотек антител, таких как библиотеки представления на фагах. В частности, данный фаг можно использовать для представления антигенсвязывающих доменов, экспрессируемых из репертуара или комбинаторной библиотеки антител (например, человеческих или мышиных). Фаг, экспрессирующий антигенсвязывающий домен, который связывает представляющий интерес антиген, может быть выбран или идентифицирован с помощью антигена, например, с использованием меченого антигена или антигена, связанного или захваченного твердой поверхностью или частицей. Фаг, используемый в данных способах, как правило, представляет собой филаментозный фаг, включающий связывающие домены fd и M13, экспрессируемые с фага, с Fab, Fv OE DAB (отдельный участок Fv из легкой или тяжелой цепей),

или стабилизированные дисульфидом Fv-домены антитела, рекомбинантным образом слитые с белком либо фагового гена III, либо гена VIII. Примеры способов приведены, например, в EP 368 684 B1, патенте США 5969108, статьях Hoogenboom, H.R. and Chames, *Immunol. Today* 27:371 (2000); Nagy et al. *Nat. Med.* 5:801 (2002); Huie et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95:2682 (2001); Lui et al., *J. Mol. Biol.* 375:1063 (2002), каждая из которых включена в данном контексте в виде ссылки. В ряде публикаций (например, в статье Marks et al., *Bio/Technology* 70:779-783 (1992)) описано получение высокоаффинных человеческих антител путем перестановки цепи, а также комбинаторной инфекции и рекомбинации *in vivo* в качестве стратегии конструирования больших библиотек фагов. В другом варианте осуществления можно использовать рибосомное представление для замены бактериофага в качестве представляющей платформы (см., например, статьи Hanes et al., *Nat. Biotechnol.* 75:1287 (2000); Wilson et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95:3750 (2001) или Irving et al., *J. Immunol. Methods* 248:31 (2001)). В еще одном варианте осуществления библиотеки на клеточных поверхностях подвергают скринингу на антитела (см. статьи Boder et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:10701 (2000); Daugherty et al., *J. Immunol. Methods* 243:211 (2000)). Данные способы представляют альтернативы традиционным гибридомным технологиям в плане выделения и последующего клонирования моноклональных антител.

В способах представления на фагах функциональные домены антитела представляют на поверхности фаговых частиц, которые несут кодирующие их последовательности полинуклеотидов. Например, последовательности ДНК, кодирующие области V_H и V_L амплифицируют из библиотек кДНК животных (например, библиотек человеческой или мышинной кДНК лимфоидной ткани) или библиотек синтетических кДНК. В ряде вариантов осуществления ДНК, кодирующая области V_H и V_L связаны друг с другом линкером scFv посредством ПНР и клонированы в фagemидный вектор (например, p CANTAB 6 или pComb 3 HSS). Вектор вводят электропорацией в *E.coli* и *E.coli* инфицируют хелперным фагом. Фаг, используемый в данных способах, как правило, представляет собой филаментозный фаг, включающий fd и M13 и области V_H или V_L обычно рекомбинантным путем слиты либо с геном III, либо с геном VIII фага. Фаг, экспрессирующий антигенсвязывающий домен, который связывается с представляющим интерес антигеном (т.е. полипептидом Sp35 или его фрагментом) можно выбрать или идентифицировать с помощью антигена, например, с использованием меченого антигена или антигена, связанного или захваченного твердой поверхностью или частицей.

Дополнительные примеры способов представления на фагах, которые можно использовать для получения антител, включают описанные в статьях Brinkman et al., *J. Immunol. Methods* 752:41-50 (1995); Ames et al., *J. Immunol. Methods* 754:177-186 (1995); Kettleborough et al., *Eur. J. Immunol.* 24:952-958 (1994); Persic et al., *Gene* 757:9-18 (1997); Burton et al., *Advances in Immunology* 57:191-280 (1994); заявке Application № PCT/GB91/01134; публикациях PCT WO 90/02809; WO 91/10737; WO 92/01047; WO 92/18619; WO 93/11236; WO 95/15982; WO 95/20401 и патентах США № 5698426, 5223409, 5403484, 5580717, 5427908, 5750753, 5821047, 5571698, 5427908, 5516637, 5780225, 5658727, 5733743 и 5969108, каждый из которых включен в данном контексте в виде ссылки во всей полноте.

Как описано в вышеуказанных ссылках, после селекции фага кодирующие антитело участки из фага можно выделить и использовать для генерации полных антител, включая человеческие антитела или любой другой требуемый антигенсвязывающий фрагмент, и экспрессировать в любом требуемом хозяине, включая клетки млекопитающих, клетки насекомых, клетки растений, дрожжи и бактерии. Например, технологии рекомбинантного получения фрагментов Fab, Fab' и $F(ab')_2$ можно также использовать с помощью способов, известных в области техники, таких как описаны в публикации PCT WO 92/22324; статьях Mullinax et al., *BioTechniques* 12(6):864-869 (1992) и Sawai et al., *AJRI* 34:26-34 (1995) и Better et al., *Science* 240:1041-1043 (1988) (указанные материалы включены в виде ссылки во всей своей полноте).

Примеры способов, которые могут быть использованы для получения одноцепочечных Fvs и антител включают описанные в патентах США № 4946778 и 5258498; статьях Huston et al., *Methods in Enzymology* 205:46-88 (1991); Shu et al., *PNAS* 90:7995-7999 (1993) и Skerra et al., *Science* 240:1038-1040 (1988). Для некоторых вариантов применения, включая использование антител *in vivo* у человека и в анализах определения *in vitro*, может быть предпочтительным использовать химерные, гуманизированные или человеческие антитела. Химерное антитело представляет собой молекулу, в которой различные части антитела выделены у животных разных видов, например, антитела, имеющие варибельную область, выделенную из мышинового моноклонального антитела, и константную область человеческого иммуноглобулина. Способы получения химерных антител известны в области техники. См., например, статьи Morrison, *Science* 229:1202 (1985); Oi et al., *BioTechniques* 4:214 (1986); Gillies et al., *J. Immunol. Methods* 725:191-202 (1989); патенты США № 5807715, 4816567 и 4816397, которые включены в данном контексте в виде ссылки во всей своей полноте. Гуманизированные антитела представляют собой молекулы антител, выделенные из антитела видов, отличных от человека, которое связывает требуемый антиген, имеющий один или более участков определения комплементарности (CDRs), полученный у вида, отличного от человека, и скелетные участки из молекулы человеческого иммуноглобулина. Часто скелетные остатки на человеческих скелетных участках будут заменены соответствующим остатком из CDR донорного антитела, чтобы изменить, предпочтительно повысить уровень связывания антигена. Данные скелетные замены идентифицируют способами, хорошо известными в области техники, например, путем

моделирования взаимодействий CDR и скелетных остатков с целью идентификации скелетных остатков, важных для связывания антигена, и сравнения последовательностей с целью идентификации необычных скелетных остатков в определенных положениях. (См., например, Queen et al., патент США № 5585089; статью Riechmann et al., *Nature* 332:323 (1988), которые включены в данном контексте путем ссылки во всей своей полноте). Антитела можно гуманизировать с использованием ряда способов, известных в области техники, включая, например, CDR-прививание (см. EP 239400; публикацию PCT WO 91/09967; патенты США № 5225539, 5530101 и 5585089), покрытие или перекладку поверхности (см. EP 592106, EP 519596, статьи Padlan, *Molecular Immunology* 28(4/5):489-498 (1991); Studnicka et al., *Protein Engineering* 74:805-814 (1994); Roguska. et al., *PNAS* 97:969-973 (1994)) и перестановку цепи (см. патент США № 5565332, который включен посредством ссылки в своей полноте).

Полностью человеческие антитела особенно необходимы для терапевтического лечения больных людей. Человеческие антитела можно получить рядом способов, известных в области техники, включая вышеописанные способы представления на фагах с использованием библиотек антител, полученных их последовательностей человеческого иммуноглобулина. См. также патенты США № 4444887 и 4716111 и публикации PCT WO 98/46645, WO 98/50433, WO 98/24893, WO 98/16654, WO 96/34096, WO 96/33735 и WO 91/10741, каждая из которых включена в данном контексте в виде ссылки в своей полноте. Человеческие антитела можно также получить, используя трансгенных мышей, которые не способны к экспрессии функциональные эндогенные иммуноглобулины, но которые могут экспрессировать гены человеческого иммуноглобулина. Например, комплексы генов тяжелой и легкой цепей человеческого иммуноглобулина можно интродуцировать случайным образом или путем гомологичной рекомбинации в эмбриональные стволовые клетки мыши. Альтернативно, человеческую вариабельную область, константную область и область разнообразия можно интродуцировать в эмбриональные стволовые клетки мыши в дополнение к генам тяжелой и легкой цепи человека. Гены тяжелой и легкой цепи иммуноглобулина мыши можно сделать нефункциональными отдельно или одновременно с интродукцией локусов человеческого иммуноглобулина путем гомологичной рекомбинации. В частности, гомозиготная делеция участка JH препятствует продукции эндогенного антитела. Модифицированные эмбриональные стволовые клетки размножают и микроинъекцией вводят в бластоциты для получения химерных мышей. Затем химерных мышей скрещивают для получения гомозиготного потомства, которое экспрессирует человеческие антитела. Трансгенных мышей иммунизируют нормальным образом выбранным антигеном, например, всем или частью требуемого полипептида-мишени. Моноклональные антитела, направленные на антиген, можно получить от иммунизированных трансгенных мышей при использовании принятой гибридомной технологии. Трансгены человеческого иммуноглобулина, которые несут трансгенные мыши, реаранжируются в процессе дифференцировки В-клеток и затем подвергаются переключению класса и соматической мутации. Таким образом, используя данный способ, возможно получить терапевтически эффективные антитела IgG, IgA, IgM и IgE. В плане обзора данного способа получения человеческих антител см. статью Lonberg and Huszar *Int. Rev. Immunol.* 73:65-93 (1995). В плане подробного обсуждения данного способа получения человеческих антител и человеческих моноклональных антител и способов получения данных антител, см., например, публикации PCT WO 98/24893, WO 96/34096, WO 96/33735, патенты США № 5413923, 5625126, 5633425, 5569825, 5661016, 5545806, 5814318 и 5939598, которые включены в виде ссылки в данном контексте в их полноте. Кроме того, таким фирмам, как Abgenix, Inc. (Freemont, Calif.) и GenPharm (San Jose, Calif.) можно сделать заказ на получение человеческих антител, направленных на выбранный антиген, с использованием технологии, аналогичной вышеописанной.

Полностью человеческие антитела, которые распознают выбранный эпитоп, можно генерировать с использованием способа, называемого "направленной селекцией". В данном подходе выбранное нечеловеческое моноклональное антитело, например мышинное антитело, используют для того, чтобы направлять селекцию полностью человеческого антитела, распознающего тот же самый эпитоп (см. статью Jespers et al., *Bio/Technology* 72:899-903 (1988). См. также патент США № 5565332, который включен в виде ссылки в своей полноте).

Кроме того, антитела к полипептидам-мишеням, соответствующим изобретению, могут, в свою очередь, быть использованы для генерации антиидиотипических антител, которые "имитируют" полипептиды-мишени, с использованием способов, хорошо известных компетентным специалистам в области техники. (См., например, статьи Greenspan & Bona, *FASEB J.* 7(5):437-444 (1989) и Nissinoff, J. *Immunol.* 147(8):2429-2438 (1991)). Например, антитела, которые связываются и конкурентно ингибируют мультимеризацию полипептида и/или связывание полипептида, соответствующего изобретению, с лигандом, могут быть использованы для генерации антиидиотипов, которые "имитируют" мультимеризацию полипептида и/или домен связывания и, вследствие этого, связываются и нейтрализуют полипептид и/или его лиганд. Данные нейтрализующие антиидиотипы или фрагменты Fab данных антиидиотипов могут быть использованы в терапевтических схемах для нейтрализации лиганда полипептида. Например, данные антиидиотипические антитела могут быть использованы для связывания требуемого полипептида-мишени и/или связывания его лигандов/рецепторов и, таким образом, блокирования его биологической активности.

В другом варианте осуществления ДНК, кодирующую требуемые моноклональные антитела, легко можно выделить и секвенировать с использованием принятых способов (например, при использовании олигонуклеотидных зондов, которые способны специфически связываться с генами, кодирующими тяжелые и легкие цепи мышинных антител). Выделенные и субклонированные гибридомные клетки служат предпочтительным источником данной ДНК. После выделения ДНК можно поместить в экспрессирующие векторы, которыми затем трансфицируют прокариотические или эукариотические клетки-хозяева, такие как клетки *E.coli*, клетки COS обезьян, клетки яичников китайского хомячка (СНО) или клетки миеломы, которые в иных случаях не продуцируют иммуноглобулины. Более подробно, выделенную ДНК (которая может быть синтетической, как описано в данном контексте) можно использовать для клонирования последовательностей константной и варибельной областей для получения антител, как описано Newman et al., см. патент США № 5658570, поданный 25 января 1995 г., который включен в виде ссылки в данном контексте. В основном способ предусматривает экстракцию РНК из выбранных клеток, превращение в кДНК и амплификацию с помощью ПЦР с использованием Ig-специфических праймеров. Подходящие праймеры для данной цели также описаны в патенте США № 5658570. Как более подробно будет обсуждаться ниже, трансформированные клетки, экспрессирующие требуемое антитело, можно вырастить в относительно больших количествах для получения клинических и коммерческих запасов иммуноглобулина.

В одном варианте осуществления антитело к Sp35, соответствующее изобретению, включает по меньшей мере один CDR тяжелой или легкой цепи молекулы антитела, в другом варианте осуществления антитело к Sp35, соответствующее изобретению, включает по меньшей мере два CDRs из одной или более молекул антитела, в другом варианте осуществления антитело к Sp35, соответствующее изобретению, включает по меньшей мере три CDRs из одной или более молекул антитела. В другом варианте осуществления антитело к Sp35, соответствующее изобретению, включает по меньшей мере четыре CDRs из одной или более молекул антитела, в другом варианте осуществления антитело к Sp35, соответствующее изобретению, включает по меньшей мере пять CDRs из одной или более молекул антитела, в другом варианте осуществления антитело к Sp35, соответствующее изобретению, включает по меньшей мере шесть CDRs из одной или более молекул антитела. Примеры молекул антитела, содержащих по меньшей мере один CDR, которые могут быть включены в представленные антитела к Sp35, описаны в данном контексте.

В специальном варианте осуществления может быть проверена последовательность аминокислот варибельных доменов тяжелой и/или легкой цепи с целью идентификации последовательностей участков, определяющих комплементарность (CDRs) способами, которые хорошо известны в области техники, например, путем сравнения с известными последовательностями аминокислот других варибельных участков тяжелой и легкой цепей для определения участков гиперварибельности последовательности. С использованием рутинных технологий рекомбинантной ДНК один или более CDRs можно ввести в скелетные области, например, в человеческий скелетные области с целью гуманизации нечеловеческого антитела. Скелетные участки могут быть природными или консенсусными скелетными участками и предпочтительно человеческими скелетными участками (см., например, статью Chothia et al., *J. Mol. Biol.* 278:457-479 (1998) в плане перечня человеческих скелетных участков). Предпочтительно, когда полинуклеотид, генерируемый путем комбинирования скелетных участков и CDRs, кодирует антитело, которое специфически связывается с по меньшей мере одним эпитопом требуемого полипептида, например, Sp35. Предпочтительно, когда одну или более аминокислот можно сделать в скелетных участках, и предпочтительно, когда замены аминокислот повышают уровень связывания антитела с его антигеном. Кроме того, данные способы можно использовать для получения замен или делеций аминокислот одного или более остатков цистеина варибельной области, участвующих в межцепочечной дисульфидной связи с целью генерации молекул антитела, в которых отсутствует одна или более из межцепочечных дисульфидных связей. Другие изменения в полинуклеотиде охватываются настоящим изобретением и входят в компетенцию специалистов в области техники.

Кроме того, можно использовать способы, разработанные для получения "химерных антител" (см. статьи Morrison et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.* 57:851-855 (1984); Neuberger et al., *Nature* 572:604-608 (1984); Takeda et al., *Nature* 314:452-454 (1985)) путем сплайсинга генов из молекулы мышинного антитела соответствующей специфичности к антигену вместе с генами из молекулы человеческого антитела подходящей биологической активности. Как используют в данном контексте, химерное антитело представляет собой молекулу, в которой различные части получены от животных разных видов, такую как имеющую варибельную область, выделенную из мышинного моноклонального антитела, и константную область человеческого иммуноглобулина, например, гуманизированные антитела.

Альтернативно, способы, описанные для получения одноцепочечных антител (см. патент США № 4694778; статьи Bird, *Science* 242:423-442 (1988); Huston et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 55:5879-5883 (1988) и Ward et al., *Nature* 354:544-554 (1989)), можно адаптировать для получения одноцепочечных антител. Одноцепочечные антитела образуются посредством связывания фрагментов тяжелой и легкой цепей Fv-участка аминокислотным мостиком, дающего в результате одноцепочечное антитело. Можно также использовать способы сборки функциональных Fv-фрагментов в *E.coli* (см. статью Skerra et al.,

Science 242:1038-1041 (1988)).

Еще одни варианты осуществления настоящего изобретения включают генерацию человеческих или в существенной степени человеческих антител в трансгенных животных (например, мышах), которые не способны к продукции эндогенного иммуноглобулина (см., например, патенты США № 6075181, 5939598, 5591669 и 5589369, каждый из которых включен в данном контексте в виде ссылки). Например, было описано, что гомозиготная делеция участка, связывающего тяжелые цепи антитела, у химерных и мутантных по зародышевой линии мышей приводит в результате к полному ингибированию эндогенной продукции антитела. Перенос последовательности гена человеческого иммуноглобулина данным мышам, мутантным по зародышевой линии, будет в результате приводить к продукции человеческих антител при введении антигена. Другие предпочтительные средства генерации человеческих антител с использованием мышей SCID раскрыты в патенте США № 5811524, который включен в данном контексте в виде ссылки. Следует иметь в виду, что генетический материал, связанный с данными человеческими антителами, также можно выделить и провести с ним манипуляции, как описано в данном контексте.

Еще одно высокоэффективное средство генерации рекомбинантных антител описано в статье Newman, *Biotechnology* 10: 1455-1460 (1992). В частности, данный способ приводит в результате к генерации приматизированных антител, которые включают переменные домены обезьян и человеческие константные последовательности. Данный материал включен в виде ссылки в своей полноте в данном контексте. Более того, данный способ описан также в, как правило, переуступленных патентах США № 5658570, 5693780 и 5756096, каждый из которых включен в данном контексте в виде ссылки.

В другом варианте осуществления лимфоциты можно отселектировать путем микроманипуляций и выделить переменные гены. Например, можно выделить моноклеарные клетки периферической крови у иммунизированного животного и культивировать в течение приблизительно 7 дней *in vitro*. Культуры можно подвергнуть скринингу на специфические IgGs, которые соответствуют критериям скрининга. Клетки из положительных лунок можно выделить. Отдельные Ig-продуцирующие В-клетки можно выделить посредством FACS или путем идентификации их в комплемент-опосредованном анализе гемолитических бляшек. С Ig-продуцирующими В-клетками можно проводить микроманипуляции в пробирке и гены V_H и V_L можно амплифицировать, используя, например, ОТ-ПЦР. Гены V_H и V_L можно клонировать в экспрессирующий антитело вектор и трансфицировать ими клетки (например, эукариотические или прокариотические клетки) для экспрессии.

Альтернативно, клеточные линии, продуцирующие антитело, можно отселектировать и культивировать, используя способы, хорошо известные опытному специалисту. Данные способы описаны в множестве лабораторных руководств и первичных публикаций. В данном аспекте способы, подходящие для использования в изобретении, как описано ниже, представлены в монографии *Current Protocols in Immunology* (Современные протоколы в иммунологии), под ред. Coligan et al., Green Publishing Associates and Wiley-Interscience, John Wiley and Sons, New York (1991), которая в данном контексте включена в виде ссылки в своей полноте, включая дополнения.

Антитела, предназначенные для использования в диагностических и терапевтических способах, описанных в данном контексте, можно получить любым способом, известным в области техники, предназначенным для антител, в частности, путем химического синтеза или, предпочтительно, путем способов рекомбинантной экспрессии, как описано в данном контексте.

В одном варианте осуществления антитело к Sp35 или его антигенсвязывающий фрагмент, вариант или производное, соответствующее изобретению, включает синтетическую константную область, в которой один или более доменов частично или полностью удален ("антитела с делецией домена"). В ряде вариантов осуществления совместимые модифицированные антитела будут включать конструкции с делецией домена или варианты, в которых удален целый домен C_H2 (конструкции ΔC_H2). Для других вариантов осуществления короткий связывающий пептид может заменять удаленный домен, чтобы обеспечить гибкость и свободу движения переменной области. Компетентные специалисты в области техники будут иметь в виду, что данные конструкции являются особенно предпочтительными вследствие регуляторных свойств домена C_H2 в отношении скорости катаболизма антитела. Конструкции с делецией домена можно выделить с помощью вектора (например, фирмы Biogen IDEC Incorporated), кодирующего человеческий константный домен IgG1 (см., например, WO 02/060955 A2 и WO 02/096948 A2, которые включены в виде ссылки в своей полноте). Данный пример вектора разработан для удаления домена C_H2 и получения синтетического вектора, экспрессирующего константную область IgG1 с делецией домена.

В ряде вариантов осуществления антитела к Sp35 или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты или производные, соответствующие изобретению, представляют собой мини-боди. Мини-боди можно получить с использованием способов, описанных в области техники (см., например, патент США 5837821 или WO 94/09817 A1, которые включены в виде ссылки в своей полноте).

В одном варианте осуществления антитело к Sp35 или его антигенсвязывающий фрагмент, вариант или производное, соответствующее изобретению, включает тяжелую цепь иммуноглобулина, имеющую делецию или замену нескольких или даже одной аминокислоты в той мере, в которой позволяет связь между мономерными субъединицами. Например, мутации одной аминокислоты в выбранных областях домена C_H2 может быть достаточно для существенного снижения связывания Fc и, следовательно, по-

вышения уровня опухолевой локализации. Аналогично может потребоваться просто удалить ту часть одного или более доменов константной области, которая контролирует эффекторную функцию (например, связывание комплемента), которую предусматривают модулировать.

Данные частичные делеции константных областей могут улучшать выбранные свойства антитела (полупериод существования в сыворотке), сохраняя при этом интактными другие требуемые функции, связанные с данным доменом константной области. Более того, как упомянуто выше, константные области описанных антител могут быть синтетическими, несмотря на мутацию или замену одной или более аминокислоты, которая улучшает профиль полученной в результате конструкции. В этом плане может быть возможным нарушение активности, обеспечиваемой консервативным центром связывания (например, связывания Fc) при поддержании в существенной степени конфигурации и иммуногенного профиля модифицированного антитела. Еще одни варианты осуществления включают введение одной или более аминокислот в константную область для усиления требуемых свойств, таких как эффекторная функция, или обеспечение повышенного уровня связывания цитотоксина или углевода. В данных вариантах осуществления может требоваться инсерция или репликация специфических последовательностей, выделенных из выбранных доменов константных областей.

Настоящее изобретение предусматривает также антитела, которые включают, состоят в основном или состоят из вариантов (в том числе производных) молекул антитела (например, областей V_H и/или областей V_L), описанных в данном контексте, причем данные антитела или их фрагменты иммуноспецифически связываются с полипептидом Sp35 или его фрагментом либо вариантом. Стандартные способы, известные компетентным специалистам в области техники, можно использовать для интродукции мутаций в нуклеотидную последовательность, кодирующую антитело к Sp35, включая, но без ограничения перечисленным, сайт-направленный мутагенез и ПЦР-опосредованный мутагенез, который приводит в результате к замене аминокислот. Предпочтительно, когда варианты (включая производные) кодируют меньше чем 50 замен аминокислот, меньше чем 40 замен аминокислот, меньше чем 30 замен аминокислот, меньше чем 25 замен аминокислот, меньше чем 20 замен аминокислот, меньше чем 15 замен аминокислот, меньше чем 10 замен аминокислот, меньше чем 5 замен аминокислот, меньше чем 4 замены аминокислот, меньше чем 3 замены аминокислот или меньше чем 2 замены аминокислот относительно эталонной области V_H , V_H CDR1, V_H CDR2, V_H CDR3, области V_L , V_L CDR1, V_L CDR2 или V_L CDR3. "Консервативная замена аминокислоты" представляет собой замену, в которой остаток аминокислоты заменяют остатком аминокислоты, имеющим боковую цепь с аналогичным зарядом. Семейства остатков аминокислот, имеющих боковые цепи с аналогичными зарядами, определены в области техники. Данные семейства включают аминокислоты с основными боковыми цепями (например, лизин, аргинин, гистидин), кислотными боковыми цепями (например, аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота), незаряженными боковыми цепями (например, глицин, аспарагин, глутамин, серин, треонин, тирозин, цистеин), неполярными боковыми цепями (например, аланин, валин, лейцин, изолейцин, пролин, фенилаланин, метионин, триптофан), бета-разветвленными боковыми цепями (например, треонин, валин, изолейцин) и ароматическими боковыми цепями (например, тирозин, фенилаланин, триптофан, гистидин). Альтернативно мутации можно интродуцировать случайным образом во всей или по части кодирующей последовательности, например, путем насыщающего мутагенеза и полученные в результате мутанты могут быть подвергнуты скринингу на биологическую активность с целью идентификации мутантов, которые сохраняют активность (например, способность связывать полипептид Sp35).

Например, возможно интродуцировать мутации только в скелетные области или только в участки CDR молекулы антитела. Интродуцированные мутации могут быть молчащими или нейтральными миссенс-мутациями, т.е. не иметь или иметь маленький эффект в отношении способности антитела связываться с антигеном. Данные типы мутаций могут быть эффективными в плане оптимизации использования кодона или повышения продукции антитела гибридомой. Альтернативно ненейтральные миссенс-мутации могут изменять способность антитела связывать антиген. Местоположением большинства молчащих или нейтральных миссенс-мутаций, вероятно, являются скелетные участки, тогда как местоположением большинства ненейтральных миссенс-мутаций, по-видимому, является CDR, хотя это не является абсолютным требованием. Компетентный специалист в области техники смог бы создать и тестировать мутантные молекулы с требуемыми свойствами, такие как отсутствие изменений в антигенсвязывающей активности или изменение связывающей активности (например, усовершенствования в антигенсвязывающей активности или изменение в специфичности антитела). После мутагенеза кодируемый белок можно рутинно экспрессировать, и функциональную и/или биологическую активность кодируемого белка (например, способность к иммуноспецифическому связыванию по меньшей мере одного эпитопа полипептида Sp35) можно определить, используя способы, описанные в данном контексте, или путем рутинной модификации способов, известных в области техники.

IV. Полинуклеотиды, кодирующие антитела к Sp35.

Настоящее изобретение предусматривает также молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие антитела к Sp35 или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты или производные, соответствующие изобретению.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение предусматривает выделенный полинук-

леотид, включающий, в основном состоящий или состоящий из нуклеиновой кислоты, кодирующей варируемую область тяжелой цепи иммуноглобулина (V_H), в которой по меньшей мере один из CDRs варируемой области тяжелой цепи или по меньшей мере два из CDRs варируемой области тяжелой цепи по меньшей мере на 80, 85, 90 или 95% идентичны эталонным последовательностям аминокислот CDR1, CDR2 или CDR3 тяжелой цепи из моноклональных антител к Sp35, описанных в данном контексте. Альтернативно участки CDR1, CDR2 и CDR3 V_H по меньшей мере на 80, 85, 90 или 95% идентичны эталонным последовательностям аминокислот CDR1, CDR2 или CDR3 тяжелой цепи из моноклональных антител к Sp35, описанных в данном контексте. Таким образом, согласно данному варианту осуществления варируемая область тяжелой цепи, соответствующая изобретению, имеет последовательности полипептидов CDR1, CDR2 или CDR3, родственные последовательностям полипептидов, показанным в табл. 4.

Таблица 4

Эталонные последовательности аминокислот V_H CDR1, CDR2 и CDR3*

	VH-CDR1	VH-CDR2	VH-CDR3
Li10	P=TYPMV (SEQ ID NO:6)	P=WIQPSGGVTAYADSVKG (SEQ ID NO:8)	P=FYSSGWDFDL (SEQ ID NO:10)
	N=ACTTACCCATATGGT (SEQ ID NO:5)	N=TGGATCGGTCCTTCT GGTGGCGTTACTGCTTA TGCTGACTCCGTTAAAGGT (SEQ ID NO:7)	N=CCCTATAGCAGTGGCT GGTGGGACTTCGATCTC (SEQ ID NO:9)
Li07	P=MYFMG (SEQ ID NO:12)	P=SISPSGGFTSYADSVKG (SEQ ID NO:14)	P=DRHAFDI (SEQ ID NO:16)
	N=ATGTACTTTATGGG (SEQ ID NO:11)	N=TCTATCTCTCCTTCTGGTGGCTTTAC TTCITATGCTGACTCCGTTAAAGGT (SEQ ID NO:13)	N=GATCGGCATGCTTTTGATATC (SEQ ID NO:15)
Li05	P=AYAMG (SEQ ID NO:18)	P=SIVSSGGYTDYADSVKG (SEQ ID NO:20)	P=BGDHNAFDI (SEQ ID NO:22)
	N=CTTACGCTATGGG (SEQ ID NO:17)	N=TCTATCGTTTCTTCTGGTGGCT ATACTGATTATGCTGACTCCGTT AAAGGT (SEQ ID NO:19)	N=GAGGGTGAOCATAATGCTTTT GATATC (SEQ ID NO:21)
Li11	P=SYAMY (SEQ ID NO:24)	P=SISTSGGYTGYADSVKG (SEQ ID NO:26)	P=DTSDNDYYMDV (SEQ ID NO:28)
	N=TCTTACGCTATGTA (SEQ ID NO:23)	N=TCTATCTCTACTTCTGGTGGCTA TACTGGTTATGCTGACTCCGTTAAAG GT (SEQ ID NO:25)	N=GATACCAGCGATAATGAC TACTACTACATGGACGTC (SEQ ID NO:27)
Li01	P=KYQMT (SEQ ID NO:30)	P=SIYPSGGNTVYADSVKG (SEQ ID NO:32)	P=GTEAVFDY (SEQ ID NO:34)
	VH-CDR1	VH-CDR2	VH-CDR3
Li09	P=MYSMV (SEQ ID NO:60)	P=YISPSGGKTMAYADSVKG (SEQ ID NO:62)	P=DSRRRYDFWSGYHNYYYM DV (SEQ ID NO:64)
	N=ATGTACTCTATGG TT (SEQ ID NO:59)	N=TATATCTCTCCTTCTGGTGGCAAG ACTATGTATGCTGACTCCGTTAAAGGT (SEQ ID NO:61)	N=GATTGAGACGCCGGTATTACG ATTTTGGAGTGGTTATCACAAC CTACTACTACTACATGGACGTC (SEQ ID NO:63)
Li04	P=RYNMG (SEQ ID NO:66)	P=VIYPSGGGTHYADSVKG (SEQ ID NO:68)	P=SIADDAFDI (SEQ ID NO:70)
	N=CGTTACAATATGG GT (SEQ ID NO:65)	N=GITATCTATCCTTCTGGTGGCGGT ACTCATTATGCTGACTCCGTTAAAGGT (SEQ ID NO:67)	N=TCTATAGCAGATGATGCTTTTG TATC (SEQ ID NO:69)
Li02	P=TYEMI (SEQ ID NO:72)	P=SIGPSGGLTWYADSVKG (SEQ ID NO:74)	P=MYVCVRIDSSGWAFDI (SEQ ID NO:76)
	N=ACTTACGAGATG ATT (SEQ ID NO:71)	N=TCTATCGGTCCTTCTGGTGGCC TTACTTGGTATGCTGACTCCGTTAAA (SEQ ID NO:73)	N=ATGTATTACTGTGTACGGATTG TGATAGTAGTGGTTGGGCTTTGA ATC (SEQ ID NO:75)
Li13	P=HYEMY (SEQ ID NO:389)	P=RIVSSGGFTKYADSVKG (SEQ ID NO:390)	P=EGDNDAFDI (SEQ ID NO:391)
Li32	P=AYMMQ (SEQ ID NO:395)	P=SISPSGGNTKYADSVKG (SEQ ID NO:396)	P=GDYGYWFDL (SEQ ID NO:397)
Li33	P=IYPMF (SEQ ID NO:401)	P=WIQPSGGITKYADSVKG (SEQ ID NO:402)	P=EGHNDWYFDL (SEQ ID NO:403)
Li34	P=NYEMY (SEQ ID NO:407)	P=GIYSSGGITVYADSVKG (SEQ ID NO:408)	P=AILDWWYFDL (SEQ ID NO:409)
1A7	P=NYGMN (SEQ ID NO:77)	P=WINIDTGEPTYEDFQG (SEQ ID NO:78)	P=EGVHFDY (SEQ ID NO:79)
2F3	P=FSDAWLD (SEQ ID NO:80)	P=EIIRSKANNHATNYAESVKG (SEQ ID NO:81)	P=SFAY (SEQ ID NO:82)

	VH-CDR1	VH-CDR2	VH-CDR3
L1a.13	P=GFTFSSYAMS (SEQ ID NO:231)	P=AISGSGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:232)	P=HYTYMHFEDY (SEQ ID NO:233)
3B5.2	P=SYWMH (SEQ ID NO:410)	P=VIDPSDSYTNYNQKFRG (SEQ ID NO:411)	P=FYGSHWFFDV (SEQ ID NO:412)
	N=AGCTACTGGATG CAC (SEQ ID NO:424)	N=GTGATTGATCCTTCT GATAGTTATACTAACAATCAA AAGTTCAGGGGC (SEQ ID NO:425)	N=CCTTACTACGGTAGTCACT GGTTCITCGATGTC (SEQ ID NO:426)
L1a1	P=AYEMK (SEQ ID NO:436) N=GCTTACGAGATGA AG (SEQ ID NO:439)	P=VIGPSGGFTFYADSVKG (SEQ ID NO:437) N=GTTATCGGTCCTTCTGGTGGCT TTACTTTTATGCTGACTCCGT AAAGGT (SEQ ID NO:440)	P=EGDNDAFDI (SEQ ID NO:438) N=GAGGGTGATAATGATGCTTTTC ATC (SEQ ID NO:441)
L1a.06	P=GFTFSSNWMS (SEQ ID NO:210)	P=TIFYSGSSTYYADSVKG (SEQ ID NO:211)	P=DLPKGFQRYGFDDV (SEQ ID NO:212)
L1a.07	P=GFTFSGYALS (SEQ ID NO:213)	P=TIWGSSTYYADSVKG (SEQ ID NO:214)	P=EYWYDQFTAV (SEQ ID NO:215)
L1a.08	P=GDSVSSNSAAWS (SEQ ID NO:216)	P=RIYYRSKWYNDYAVSVKS (SEQ ID NO:217)	P=EVYSAGIMDY (SEQ ID NO:218)
L1a.09	P=GYSFTNHWIG (SEQ ID NO:219)	P=IDPSDSNTNYSFQG (SEQ ID NO:220)	P=GFYGIADTFDV (SEQ ID NO:221)
L1a.10	P=GYSFTNYWIA (SEQ ID NO:222)	P=MIYPDDSNNTNYSFQG (SEQ ID NO:223)	P=TNVLFYDS (SEQ ID NO:224)
L1a.11	P=GFTFSDYGIS (SEQ ID NO:225)	P=NLYDGSSTYYADSVKG (SEQ ID NO:226)	P=GYPTDDYSFDI (SEQ ID NO:227)
L1a.12	P=GDSVSDNSAAWG (SEQ ID NO:228)	P=RIYYRSKWYNDYAVSVKS (SEQ ID NO:229)	P=GRHEYGGGLGYAEAMDH (SEQ ID NO:230)

* Определено по системе Kabat (см. выше).

N=нуклеотидная последовательность.

P=последовательность полипептида.

В ряде вариантов осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент, включающий V_H , кодируемую полинуклеотидом, специфически или предпочтительно связывается с Sp35.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения предусматривает выделенный полинуклеотид, включающий, в основном состоящий или состоящий из нуклеиновой кислоты, кодирующей варируемую область тяжелой цепи иммуноглобулина (V_H), в которой участки CDR1, CDR2 и CDR3 имеют последовательности полипептида, которые идентичны группам CDR1, CDR2 и CDR3, показанным в табл. 4. В ряде вариантов осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент, включающий V_H , кодируемую полинуклеотидом, специфически или предпочтительно связывается с Sp35.

В дополнительном варианте осуществления изобретения настоящее изобретение предусматривает выделенный полинуклеотид, включающий, в основном состоящий или состоящий из нуклеиновой кислоты, кодирующей варируемую область тяжелой цепи иммуноглобулина (V_H), в которой участки CDR1, CDR2 и CDR3 кодируются нуклеотидными последовательностями, по меньшей мере на 80, 85, 90, 95 или 100% идентичными участкам CDR1, CDR2 и CDR3 V_H полипептида тяжелой цепи иммуноглобулина, продуцируемого гибридомой 2.P3B5.2 (ATCC Номер депозита PTA-8106) или участками CDR1, CDR2 и CDR3 V_H полипептида тяжелой цепи иммуноглобулина, продуцируемого гибридомой 7.P1D5.1.G9 (ATCC Номер депозита PTA-8107).

В следующем аспекте настоящее изобретение предусматривает выделенный полинуклеотид, включающий, в основном состоящий или состоящий из нуклеиновой кислоты, кодирующей варируемую область тяжелой цепи иммуноглобулина (V_H), в которой участки CDR1, CDR2 и CDR3 кодируются нуклеотидными последовательностями, которые идентичны нуклеотидным последовательностям, которые кодируют группы CDR1, CDR2 и CDR3, показанные в табл. 4. В ряде вариантов осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент, включающий V_H , кодируемую полинуклеотидом, специфически или предпочтительно связывается с Sp35.

В дополнительном варианте осуществления изобретения настоящее изобретение предусматривает выделенный полинуклеотид, включающий, в основном состоящий или состоящий из нуклеиновой кислоты, кодирующей варируемую область тяжелой цепи иммуноглобулина (V_H), в которой участки CDR1, CDR2 и CDR3 кодируются нуклеотидными последовательностями, по меньшей мере на 80, 85, 90, 95 или 100% идентичными полинуклеотиду, кодирующему участки CDR1, CDR2 и CDR3 V_H тяжелой цепи иммуноглобулина, продуцируемые гибридомой 2.P3B5.2 (ATCC Номер депозита PTA-8106) или полинуклеотиду, кодирующему участки CDR1, CDR2 и CDR3 V_H тяжелой цепи иммуноглобулина, продуцируемые гибридомой 7.P1D5.1.G9 (ATCC Номер депозита PTA-8107).

В ряде вариантов осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, включающий, в основном состоящий или состоящий из V_H , кодируемого одним или более из вышеописанных полинуклеотидов, специфически или предпочтительно связывается с тем же эпитопом, что моноклональное антитело, выбранное из группы, состоящей из: 201', 3A3, 3A6, 1A7, 1G7, 2B10, 2C11, 2F3, 3P1D10.2C3, 3P1E11.3B7, 3P2C6.3G10.2H7, 3P2C9.2G4, 3P4A6.1D9, 3P4A1.2B9, 3P4C2.2D2, 3P4C5.1D8, 3P4C8.2G9, 30-C12 (Li01), 38-D01 (Li02), 35-E04 (Li03), 36-C09 (Li04), 30-A11 (Li05), 34-F02 (Li06), 29-E07 (Li07), 34-G04 (Li08), 36-A12 (Li09), 28-D02 (Li10), 30-B01 (Li11), 34-B03 (Li12), Li13, Li32, Li33, Li34, 3383

(L1a.1), 3495(L1a.2), 3563 (L1a.3), 3564 (L1a.4), 3565 (L1a.5), 3566 (L1a.6), 3567 (L1a.7), 3568 (L1a.8), 3569 (L1a.9), 3570 (L1a.10), 3571 (L1a.11), 3582 (L1a.12), 1968 (L1a.13), 7P1D5.1G9, 3B5.2 и Li81, или будет конкурентно ингибировать связывание данного моноклонального антитела с Sp35.

В ряде вариантов осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, включающий, в основном состоящий или состоящий из V_H , кодируемой одним или более из вышеописанных полинуклеотидов, специфически или предпочтительно связывается с полипептидом Sp35 или его фрагментом или вариантом полипептида Sp35 с аффинностью, характеризующейся константой диссоциации (K_D) не больше чем 5×10^{-2} M, 10^{-2} M, 5×10^{-3} M, 10^{-3} M, 5×10^{-4} M, 10^{-4} M, 5×10^{-5} M, 10^{-5} M, 5×10^{-6} M, 10^{-6} M, 5×10^{-7} M, 10^{-7} M, 5×10^{-8} M, 10^{-8} M, 5×10^{-9} M, 10^{-9} M, 5×10^{-10} M, 10^{-10} M, 5×10^{-11} M, 10^{-11} M, 5×10^{-12} M, 10^{-12} M, 5×10^{-13} M, 10^{-13} M, 5×10^{-14} M, 10^{-14} M, 5×10^{-15} M или 10^{-15} M.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение предусматривает выделенный полинуклеотид, включающий, в основном состоящий или состоящий из нуклеиновой кислоты, кодирующей варируемую область легкой цепи иммуноглобулина (V_L), в которой по меньшей мере один из CDR варируемой области легкой цепи или по меньшей мере два из CDRs варируемой области легкой цепи по меньшей мере на 80, 85, 90 или 95% идентичны эталонным последовательностям аминокислот CDR1, CDR2 или CDR3 легкой цепи из моноклональных антител к Sp35, описанных в данном контексте. Альтернативно участки CDR1, CDR2 и CDR3 V_L по меньшей мере на 80, 85, 90 или 95% идентичны последовательностям аминокислот CDR1, CDR2 или CDR3 легкой цепи из моноклональных антител к Sp35, описанных в данном контексте. Таким образом, согласно данному варианту осуществления варируемая область легкой цепи, соответствующая изобретению, имеет последовательности полипептидов CDR1, CDR2 или CDR3, родственные последовательностям полипептидов, показанным в табл. 5.

Таблица 5

Эталонные последовательности аминокислот V_L CDR1, CDR2 и CDR3*

	VL-CDR1	VL-CDR2	VL-CDR3
Li10	P=RASQIGNWLA (SEQ ID NO:87)	P=AASSLES (SEQ ID NO:89)	P=QQAQTFPLT (SEQ ID NO:91)
	N=CGGGCGAGTCAGGG TATTGGCAACTGGTTAG CC (SEQ ID NO:86)	N=GCTGCATCCAGTTTG GAAAGT (SEQ ID NO:88)	N=CAACAGGCTCAGAC TTTCCCGCTCACC (SEQ ID NO:90)
Li07	P=SGDQLGDKHVA (SEQ ID NO:93)	P=LDIKRPA (SEQ ID NO:95)	P=QAWDIKTV (SEQ ID NO:97)
	N=TCTGGAGATCAGITG GGTGACAAACATGTGG CT (SEQ ID NO:92)	N=CTAGACATTAAG AGGCCCGCA (SEQ ID NO:94)	N=CAGGCGTGGGACATC AAGACGGTC (SEQ ID NO:96)
Li05	P=GGDNIGSKSVH (SEQ ID NO:99)	P=DDYDRPS (SEQ ID NO:101)	P=QVRDSRTEERV (SEQ ID NO:103)
	N=GGGGGAGACAACAT TGGAAGTAAGAGTGT CCAC (SEQ ID NO:98)	N=GATGATTATGACC GGCCCTCA (SEQ ID NO:100)	N=CAGGTGAGGGACAGCCG TACTGAGGAACGGGTG (SEQ ID NO:102)
Li11	P=RASQEIANYLA (SEQ ID NO:105)	P=DTYTLQT (SEQ ID NO:107)	P=QQADIFPLS (SEQ ID NO:109)
	N=CGGGCGAGTCAGGAG ATTGCCAACTACTTAGCC (SEQ ID NO:104)	N=GATACATACAC TTTGCACT (SEQ ID NO:106)	N=CAACAGGCTGACATTTT CCCGCTCTCT (SEQ ID NO:108)
Li01	P=QASQDISNYLN (SEQ ID NO:111)	P=DASNLET (SEQ ID NO:113)	P=QQADRFPVVT (SEQ ID NO:115)

	VL-CDR1	VL-CDR2	VL-CDR3
	P=SGDKLGDKFAS (SEQ ID NO:141) N=TCTGCAGATAAAT TGGGGGATAAAATTGCT TCC (SEQ ID NO:140)	P=QDRKRLS (SEQ ID NO:143) N=CAAGATAGGA AGCGTCTCTCA (SEQ ID NO:142)	P=QAWDTNTVV (SEQ ID NO:145) N=CAGGCGTGGGACA CCAACTGTGTGTC (SEQ ID NO:144)
Li02			
Li13	P=RASQSVSYLA (SEQ ID NO:386)	P=DASNRA (SEQ ID NO:387)	P=QQRNWPMT (SEQ ID NO:388)
Li32	P=QASQDISYLN (SEQ ID NO:392)	P=DAFILEG (SEQ ID NO:393)	P=QSDQLPVT (SEQ ID NO:394)
Li33	P=RASQSVSYLA (SEQ ID NO:398)	P=DASNRA (SEQ ID NO:399)	P=QYDKWFLT (SEQ ID NO:400)
Li34	P=HASQDISNYLS (SEQ ID NO:404)	P=DAFNLET (SEQ ID NO:405)	P=QHYDNLFFT (SEQ ID NO:406)
Li7	P=SASSSVSYMH (SEQ ID NO:146)	P=DTSKLS (SEQ ID NO:147)	P=QWSSNPFT (SEQ ID NO:148)
2F3	P=RASQNTYNYLA (SEQ ID NO:149)	P=NAKTLPD (SEQ ID NO:150)	P=QHFWAIFYT (SEQ ID NO:151)
3PID10.20	P=KSSQSLNLSGNQKNYLT (SEQ ID NO:152)	P=WASTRES (SEQ ID NO:153)	P=QNDYSYPLT (SEQ ID NO:154)
3PIE11.3E	P=KSSQSLNLSGNQKSYLT (SEQ ID NO:155)	P=WASTRES (SEQ ID NO:156)	P=QNDYSYPLT (SEQ ID NO:157)
Li1a.01	P=SGDSLPSKFVH (SEQ ID NO:234)	P=RDNNRPS (SEQ ID NO:235)	P=SSYDALTD (SEQ ID NO:236)
Li1a.02	P=RASQSITNSYLG (SEQ ID NO:237)	P=DASSRAT (SEQ ID NO:238)	P=QASDAPE (SEQ ID NO:239)
Li1a.05	P=RASQGINFWLN (SEQ ID NO:240)	P=AGSNLJS (SEQ ID NO:241)	P=MQSDFFP (SEQ ID NO:242)

	VL-CDR1	VL-CDR2	VL-CDR3
Li1a.04	P=TGSSNIGAGYDVS (SEQ ID NO:243)	P=RNNNRPS (SEQ ID NO:244)	P=QTYDNSTD (SEQ ID NO:245)
Li1a.05	P=SGDNIRSYVH (SEQ ID NO:246)	P=EDSNRPS (SEQ ID NO:247)	P=QSYDSAILH (SEQ ID NO:248)
Li1a.06	P=RSSQSLVLTGYTYLN (SEQ ID NO:249)	P=LVSNRAS (SEQ ID NO:250)	P=QYYGMPL (SEQ ID NO:251)
Li1a.07	P=RASQSVSYQYLA (SEQ ID NO:252)	P=GASSRAT (SEQ ID NO:253)	P=QYGSVPR (SEQ ID NO:254)
Li1a.08	P=SGDSLGSYYVH (SEQ ID NO:255)	P=DDNDRPS (SEQ ID NO:256)	P=SAVDYSART (SEQ ID NO:257)
Li1a.09	P=SGDNLGSKYVS (SEQ ID NO:258)	P=DDDDRPS (SEQ ID NO:259)	P=SSYDFLNLGL (SEQ ID NO:260)
Li1a.10	P=SGDSLGGKSVH (SEQ ID NO:261)	P=EDSERPS (SEQ ID NO:262)	P=SSYTNVD (SEQ ID NO:263)
Li1a.11	P=SGDNLGKKYVG (SEQ ID NO:264)	P=DDNDRPS (SEQ ID NO:265)	P=QSYDDTSI (SEQ ID NO:266)
Li1a.12	P=SGDSLGNKYVH (SEQ ID NO:267)	P=DDSDRPS (SEQ ID NO:268)	P=QTDVYVGY (SEQ ID NO:269)
Li1a.13	P=GTSSDVGGYNYVS (SEQ ID NO:270)	P=DVSNRPS (SEQ ID NO:271)	P=QSYDRYRLKN (SEQ ID NO:272)
3B5.2	P=SASSRVSYVH (SEQ ID NO:413) N=AGTGCCAGCTCAC GTGTAAGTACGTG CAC (SEQ ID NO:427)	P=DTSNLAS (SEQ ID NO:414) N=GACACATCCAAC CTGGCTTCT (SEQ ID NO:428)	P=QQWSTNPPT (SEQ ID NO:415) N=CAGCAGTGGAGTA CTAACCACCCACG (SEQ ID NO:429)
Li81	P= RASQSVSYLA (SEQ ID NO:442) N=AGGGCCAGTCAGA GTGTTAGCAGCTACT TAGCC (SEQ ID NO:445)	P= DASNRA (SEQ ID NO:443) N=GATGCATCCAACAGGG CACT (SEQ ID NO:446)	P= QQRNWPMT (SEQ ID NO:444) N=CAGCAGCGTAGCAACTGG CGATGTACACT (SEQ ID NO:447)

* Определено по системе Kabat (см. выше).

N=нуклеотидная последовательность.

P=последовательность полипептида.

В ряде вариантов осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент, включающий V_L, кодируемую полинуклеотидом, специфически или предпочтительно связывается с Sp35.

В дополнительном варианте осуществления изобретения настоящее изобретение предусматривает выделенный полинуклеотид, включающий, в основном состоящий или состоящий из нуклеиновой кислоты, кодирующей вариативную область легкой цепи иммуноглобулина (V_L), в которой участки CDR1, CDR2 и CDR3, кодируемые нуклеотидными последовательностями, по меньшей мере на 80, 85, 90, 95 или 100% идентичны участкам CDR1, CDR2 и CDR3 V_L полипептида легкой цепи иммуноглобулина, продуцируемого гибридомой 2.ПЗВ5.2 (ATCC Номер депозита РТА-8106) или участкам CDR1, CDR2 и CDR3 V_L полипептида легкой цепи иммуноглобулина, продуцируемого гибридомой 7.П1 Д5.1.Г9 (ATCC Номер депозита РТ А-8107).

В другом аспекте настоящее изобретение предусматривает выделенный полинуклеотид, включаю-

щий, в основном состоящий или состоящий из нуклеиновой кислоты, кодирующей вариабельную область легкой цепи (V_L) иммуноглобулина, в которой участки CDR1, CDR2 и CDR3 имеют полипептидные последовательности, которые идентичны группам CDR1, CDR2 и CDR3, показанным в табл. 5. В ряде вариантов осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент, включающий V_L , кодируемую полинуклеотидом, специфически или предпочтительно связывается с Sp35.

В следующем аспекте настоящее изобретение предусматривает выделенный полинуклеотид, включающий, в основном состоящий или состоящий из нуклеиновой кислоты, кодирующей вариабельную область легкой цепи (V_L) иммуноглобулина, в которой участки CDR1, CDR2 и CDR3 кодируются нуклеотидными последовательностями, которые идентичны нуклеотидным последовательностям, которые кодируют группы CDR1, CDR2 и CDR3, показанные в табл. 5. В ряде вариантов осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент, включающий V_L , кодируемую полинуклеотидом, специфически или предпочтительно связывается с Sp35.

В дополнительном варианте осуществления изобретения настоящее изобретение предусматривает выделенный полинуклеотид, включающий, в основном состоящий или состоящий из нуклеиновой кислоты, кодирующей вариабельную область (V_L) легкой цепи иммуноглобулина (V_H), в которой участки CDR1, CDR2 и CDR3 кодируются нуклеотидными последовательностями, по меньшей мере на 80, 85, 90, 95 или 100% идентичными полинуклеотиду, кодирующему участки CDR1, CDR2 и CDR3 (V_L) легкой цепи иммуноглобулина, продуцируемые гибридомой 2.P3B5.2 (ATCC Номер депозита PTA-8106), или полинуклеотиду, кодирующему участки CDR1, CDR2 и CDR3 (V_L) легкой цепи иммуноглобулина, продуцируемые гибридомой 7.P1D5.1.G9 (ATCC Номер депозита PTA-8107).

В ряде вариантов осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, включающий, в основном состоящий или состоящий из V_L , кодируемого одним или более из вышеописанных полинуклеотидов, специфически или предпочтительно связывается с тем же эпитопом, что моноклональное антитело, выбранное из группы, состоящей из: 201', 3A3, 3A6, 1A7, 1G7, 2B10, 2C11, 2F3, 3P1D10.2C3, 3P1E11.3B7, 3P2C6.3G10.2H7, 3P2C9.2G4, 3P4A6.1D9, 3P4A1.2B9, 3P4C2.2D2, 3P4C5.1D8, 3P4C8.2G9, 30-C12 (Li01), 38-D01 (Li02), 35-E04 (Li03), 36-C09 (Li04), 30-A11 (Li05), 34-F02 (Li06), 29-E07 (Li07), 34-G04 (Li08), 36-A12 (Li09), 28-D02 (Li10), 30-B01 (Li11), 34-B03 (Li12), Li13, Li32, Li33, Li34, 3383 (L1a.1), 3495 (L1a.2), 3563 (L1a.3), 3564 (L1a.4), 3565 (L1a.5), 3566 (L1a.6), 3567 (L1a.7), 3568 (L1a.8), 3569 (L1a.9), 3570 (L1a.10), 3571 (L1a.11), 3582 (L1a.12), 1968 (L1a.13), 7P1D5.1G9, 3B5.2 и Li81, или будет конкурентно ингибировать связывание данного моноклонального антитела с Sp35.

В ряде вариантов осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, включающий, в основном состоящий или состоящий из V_L , кодируемой одним или более из вышеописанных полинуклеотидов, специфически или предпочтительно связывается с полипептидом Sp35 или его фрагментом или вариантом полипептида Sp35 с аффинностью, характеризующейся константой диссоциации (K_D) не больше чем 5×10^{-2} M, 10^{-2} M, 5×10^{-3} M, 10^{-3} M, 5×10^{-4} M, 10^{-4} M, 5×10^{-5} M, 10^{-5} M, 5×10^{-6} M, 10^{-6} M, 5×10^{-7} M, 10^{-7} M, 5×10^{-8} M, 10^{-8} M, 5×10^{-9} M, 10^{-9} M, 5×10^{-10} M, 10^{-10} M, 5×10^{-11} M, 10^{-11} M, 5×10^{-12} M, 10^{-12} M, 5×10^{-13} M, 10^{-13} M, 5×10^{-14} M, 10^{-14} M, 5×10^{-15} M или 10^{-15} M.

В следующем варианте осуществления настоящее изобретение включает выделенный полинуклеотид, включающий, в основном состоящий или состоящий из нуклеиновой кислоты, кодирующей V_H , по меньшей мере на 80, 85, 90 или 95% идентичную последовательности эталонного полипептида V_H , выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 158-172, 372, 376, 380, 384 и 416, показанных в табл. 6. В ряде вариантов осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент, включающие V_H , кодируемую полинуклеотидом, специфически или предпочтительно связываются с Sp35.

В другом аспекте настоящее изобретение включает выделенный полинуклеотид, включающий, в основном состоящий или состоящий из а последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей V_H , имеющую последовательность полипептида, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 158-172, 372, 376, 380, 384 и 416, показанных в табл. 6. В ряде вариантов осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент, включающие V_H , кодируемую полинуклеотидом, специфически или предпочтительно связываются с Sp35.

Таблица 6

Последовательности полипептида V_H

VH		SEQ ID NO:
Li02	EVQLLESGGGLVQPFGSLRLSCAASGFTFSTYEMIWVRQAPGKGLEWVS GP SGGLTWYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAMYYCVRIDDS GW AFDIWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAP	158
Li09	EVQLLESGGGLVQPFGSLRLSCAASGFTFSMYSMVWVRQAPGKGLEWV IS PSGGKTM YADSVKGRFTISRDN SKNTFY LQMNSLRAEDTAVYYCARDSE RY YDFWSGYHNYYYYYMDVWGKGTTTVTVSSASTKGPSVFPLAP	159
Li06	EVQLLESGGGLVQPFGSLRLSCAASGFTFSEYPMDWVRQAPGKGLEWVS Y SSGGSTVYADSIKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGDS AF DIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAP	160
Li05	EVQLLESGGGLVQPFGSLRLSCAASGFTFSAYAMGWVRQAPGKGLEWV IV SSGGYT D YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGE NA FDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAP	161
Li04	EVQLLESGGGLVQPFGSLRLSCAASGFTFSRYNMGWVRQAPGKGLEWV IY PSGGGTHYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCASSIAE AF DIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAP	162
Li08	EVQLLESGGGLVQPFGSLRLSCAASGFTFSHYEMVWVRQAPGKGLEWV RS SGGATKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKESPD YF DYWGQGT L VTVSSASTKGPSVFPLAP	163
Li11	EVQLLESGGGLVQPFGSLRLSCAASGFTFSYAMYWVRQAPGKGLEWV ST SGGYTGYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDTSE DY YYMDVWGKGTTTVTVSSASTKGPSVFPLAP	164
Li10	EVQLLESGGGLVQPFGSLRLSCAASGFTFSTYPMVWVRQAPGKGLEWVS IG PSGGVTAYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARPYS W WDFDLWGRGTLTVTVSSASTKGPSVFPLAP	165

VH		SEQ ID NO:
LI01	EVQLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSKYQMTWVRQAPGKGLEWV Y PSGGNTVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCASGTT V FDYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAP	166
LI07	EVQLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSMYFMGWVRQAPGKGLEWV IS PSGGFTSYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRH D IWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAP	167
LI03	EVQLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQYPMFWVRQAPGKGLEWV Y PSGGSTVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAGC L GDFDYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAP	168
LI12	EVQLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQYNMFVRQAPGKGLEWV SS SGGMTMYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREAL Y CSGGSCYSDYYYYGMDVWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAP	169
1A7	QVQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNWVKAPGKGLKWN W INTDTGEPTYTEDFQGRFAFSLETSASTVYLQFN NLKNEDTATYFCAREG F DYWGQGT LVTVSS	170
2F3	EVKLEES GGGLVQPGGSMKLSAASGFTFSDAWLDWVRQSPEKGLEWV IR SKANNHATNYAESVKGRFTISRDDSKSSVYLQMNSLRAEDTGIYFCTPSE W GQGT LVTVSS	171
3P1 D10. 2C3 3P1 E11. 3B7	QVQLQSGAELARPGASVKLS CRASGYTFTSSWTQWVKQRPQG LEWV IY PGDGDTRYTQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLASEDSAVYYCARHNS G MDYWGQGT SVTVSS	172
LI1 3	EVQLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYEMYWVRQAPGKGLEW VSRIVSSGGFTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CATEGDNDAFDIWGQGT LVTVSS	372
LI3 2	EVQLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSAYMMQWVRQAPGKGLEW VSSISPSGGNTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARGDYGYWFDWPWGQGT LVTVSS	376

VH		SEQ ID NO:
Li3 3	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSIYPMFWVRQAPGKGLEWV SWIGPSGGITKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTATYYCA REGHNDWYFDLWGRGTLTVSS	380
Li3 4	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYEMYWVRQAPGKGLEW VSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARAAILDWYFDLWGRGTLTVSS	384
3B 5.2	QVQLQQPGAELVRPGTSVKLSRASGYTFTSYWMHWVKQRPGQGLE WIGVIDPSDSTYNYNQKFRKATLTVDTSSTAYMQLSSLTSEDSAVYY CARPYYGSHWFFDVWGVTGTTTVSS	416
P1 A7 var. 2	QVQLVQSGHEVQKPGASVKVSCASGYTFTNYGMNWLQAPGGGLK WMGWINTDTGEPTYTEDFQGRFVSIDTSASTVYLQISSLKAEDMAMY YCAREGVHFDYWGQGTTLTVSS	432
Li8 1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSAYEMKWVRQAPGKGLEW VSVIGPSGGFTFYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC ATEGDNDADFIDWQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSL GTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDFEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREBQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKCKVSNKALPAPIEKTSK AKGGPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHN HYTQKSLSLSPG	433
Li8 1 (aglycosylated)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSAYEMKWVRQAPGKGLEW VSVIGPSGGFTFYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC ATEGDNDADFIDWQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSL GTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDFEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREBQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKCKVSNKALPAPIEKTSK AKGGPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHN HYTQKSLSLSPG	435

В следующем варианте осуществления настоящее изобретение включает выделенный полинуклеотид, включающий, в основном состоящий или состоящий из нуклеиновой кислоты, кодирующей V_H , по меньшей мере на 80, 85, 90 или 95% идентичную эталонной последовательности полипептида V_H , выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 158-172, 372, 376, 380, 384 и 416. В ряде вариантов осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент, включающий V_H , кодируемую полинуклеотидом, специфически или предпочтительно связывается в Sp35.

В другом аспекте настоящее изобретение включает выделенный полинуклеотид, включающий, в основном состоящий или состоящий из последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей V_H , соответствующую изобретению, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 158-172, 372, 376, 380, 384 и 416. В ряде вариантов осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент, включающий V_H , кодируемую полинуклеотидом, специфически или предпочтительно связывается с Sp35.

В дополнительном варианте осуществления настоящее изобретение включает выделенный полинуклеотид, включающий, в основном состоящий или состоящий из нуклеиновой кислоты, кодирующей V_H , по меньшей мере на 80, 85, 90, 95 или 100% идентичную эталонной последовательности полипептида V_H , выбранной из группы, состоящей из полипептида тяжелой цепи иммуноглобулина, продуцируемого гибридомой 2.P3B5.2 (ATCC Номер депозита PTA-8106) и полипептида тяжелой цепи иммуноглобулина, продуцируемого гибридомой 7.P1D5.1.G9 (ATCC Номер депозита PTA-8107).

В ряде вариантов осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, включающий, в основном состоящий или состоящий из V_H , кодируемой одним или более из вышеописанных полинуклеотидов, специфически или предпочтительно связывается с тем же эпитопом, что моноклональное антитело, выбранное из группы, состоящей из: 201', 3A3, 3A6, 1A7, 1G7, 2B10, 2C11, 2F3, 3P1D10.2C3, 3P1E11.3B7, 3P2C6.3G10.2H7, 3P2C9.2G4, 3P4A6.1D9, 3P4A1.2B9, 3P4C2.2D2, 3P4C5.1D8, 3P4C8.2G9, 30-C12 (Li01), 38-D01 (Li02), 35-E04 (Li03), 36-C09 (Li04), 30-A11 (Li05), 34-F02 (Li06), 29-E07 (Li07), 34-G04 (Li08), 36-A12 (Li09), 28-D02 (Li10), 30-B01 (Li11), 34-B03 (Li12), Li13, Li32, Li33, Li34, 3383 (L1a.1), 3495 (L1a.2), 3563 (L1a.3), 3564 (L1a.4), 3565 (L1a.5), 3566 (L1a.6), 3567 (L1a.7), 3568 (L1a.8), 3569 (L1a.9), 3570 (L1a.10), 3571 (L1a.11), 3582 (L1a.12), 1968 (L1a.13), 7P1D5.1G9, 3B5.2 и Li81, или будет конкурентно ингибировать связывание данного моноклонального антитела с Sp35.

В ряде вариантов осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, включающий, в основном состоящий или состоящий из V_H , кодируемой одним или более из вышеописанных полинуклеотидов, специфически или предпочтительно связывается с полипептидом Sp35 или его фрагментом или вариантом полипептида Sp35 с аффинностью, характеризующейся константой диссоциации (K_D) не больше чем 5×10^{-2} M, 10^{-2} M, 5×10^{-3} M, 10^{-3} M, 5×10^{-4} M, 10^{-4} M, 5×10^{-5} M, 10^{-5} M, 5×10^{-6} M, 10^{-6} M, 5×10^{-7} M, 10^{-7} M, 5×10^{-8} M, 10^{-8} M, 5×10^{-9} M, 10^{-9} M, 5×10^{-10} M, 10^{-10} M, 5×10^{-11} M, 10^{-11} M, 5×10^{-12} M, 10^{-12} M, 5×10^{-13} M, 10^{-13} M, 5×10^{-14} M, 10^{-14} M, 5×10^{-15} M или 10^{-15} M.

В дополнительных вариантах осуществления настоящее изобретение включает выделенный поли-

нуклеотид, который кодирует тяжелую цепь иммуноглобулина, включающий, в основном состоящий или состоящий из нуклеиновой кислоты, кодирующей тяжелую цепь, по меньшей мере на 80, 85, 90, 95 или 100% идентичную полинуклеотиду SEQ ID NO: 420, как показано ниже. В ряде вариантов осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент, включающий тяжелую цепь, кодируемую полинуклеотидом, специфически или предпочтительно связывается с Sp35 и/или тем же эпитопом, что моноклональное антитело 3B5.2.

Последовательность полинуклеотида тяжелой цепи иммуноглобулина человеческого и мышиного химерного моноклонального антитела 3B5.2:

```

ATGGGATGGAGCTGTGTAATGCTCTTGGTATCAACAGCTACAGGTGTCCACTCCCA
GGTCCAACATGCAGCAGCCTGGGGCTGAGCTGGTGAGGCCTGGGACTTCAGTGAAG
TTGTCCTGCAGGGCTTCTGGCTACACCTTCACCAGCTACTGGATGCACTGGGTAAA
GCAGAGGCCTGGACAAGGCCTTGAGTGGATCGGAGTGATTGATCCTTCTGATAGTT
ATACTAACTACAATCAAAAAGTTTCAAGGGCAAGGCCACATTGACTGTAGACACATC
CTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTCT
ATTACTGTGCAAGACCTTACTACGGTAGTCACTGGTTCTTCGATGTCTGGGGCACA
GGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCT
GGCACCTCTCTCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTC
AAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCA
GCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGC
AGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACG
TGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTG
TGACAAGACTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCG
TCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCC
TGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTC
AACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAAGCCGCGGGAG
GAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCCTCTGCACCAGG
ACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAAGCCCTCCCAGC
CCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTG
TACACCCTGCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTACGCTGACCT
GCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGG
GCAGCCGGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCC
TTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACG
TCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGAGAAGAGC
CTCTCCCTGTCTCCCGTTGA (SEQ ID NO:420).

```

В дополнительных вариантах осуществления, настоящее изобретение включает выделенный полинуклеотид, которые кодирует переменную область тяжелой цепи (V_H), причем полинуклеотид содержит последовательность нуклеиновой кислоты V_H , выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO 173-184, 370, 374, 378, 382 и 422, как показано в табл. 7. В ряде вариантов осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент, включающий V_H , кодируемую полинуклеотидом, специфически или предпочтительно связывается с Sp35.

Последовательности полинуклеотидов V_H

VH		SEQ ID NO:
Li02	GAAGTTCAATTGTTAGAGTCTGGTGGCGGTCTTGTTTCAGCCTGGTGGTTC TTTACGTCTTTCTTGCCTGCTTCCGGATTCACTTTCTCTACTTACGAGA TGATTGGGTTTCGCCAAGCTCCTGGTAAAGGTTTGGAGTGGGTTTCTTCT ATCGGTCCTTCTGGTGGCCTTACTTGGTATGCTGACTCCGTAAAGGTCG CTTCACTATCTCTAGAGACAACCTCTAAGAATACTCTCTACTTGCAGATGA ACAGCTTAAGGGCTGAGGACACCGCCATGTATTACTGTGTACGGATTGAT GATAGTAGTGGTTGGGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCAC CGTCTCAAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCGCTAGCACCC	173
Li09	GAAGTTCAATTGTTAGAGTCTGGTGGCGGTCTTGTTTCAGCCTGGTGGTTC TTTACGTCTTTCTTGCCTGCTTCCGGATTCACTTTCTCTATGTACTCTA TGGTTTGGGTTTCGCCAAGCTCCTGGTAAAGGTTTGGAGTGGGTTTCTTAT ATCTCTCCTTCTGGTGGCAAGACTATGTATGCTGACTCCGTAAAGGTCG CTTCACTATCTCTAGAGACAACCTCTAAGAATACTTTCTACTTGCAGATGA ACAGCTTAAGGGCTGAGGACACCGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATTCTG AGACGCCGGTATTACGATTTTGGAGTGGTTATCACAACTACTACTACTA CTACATGGACGTCTGGGGCAAAGGGACCACGGTCACCGTCTCAAGCGCCT CCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCGCTAGCACCC	174
Li06	GAAGTTCAATTGTTAGAGTCTGGTGGCGGTCTTGTTTCAGCCTGGTGGTTC TTTACGTCTTTCTTGCCTGCTTCCGGATTCACTTTCTCTGAGTACCCTA TGGATTGGGTTTCGCCAAGCTCCTGGTAAAGGTTTGGAGTGGGTTTCTTCT ATCTATTCTTCTGGTGGCTCTACTGTTTATGCTGACTCCATTAAAGGTCG CTTCACTATCTCTAGAGACAACCTCTAAGAATACTCTCTACTTGCAGATGA ACAGCTTAAGGGCTGAGGACACCGCCGTGTATTACTGTGCCAGAGAGGGT GACTCTGATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC AAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCGCTAGCACCC	175

VH		SEQ ID NO:
Li05	GAAGTTCAATTGTTAGAGTCTGGTGGCGGTCTTGTTTCAGCCTGGTGGTTC TTTACGTCTTTCTTGCCTGCTTCCGGATTCACTTTCTCTGCTTACGCTA TGGGTTGGGTTCCGCAAGCTCCTGGTAAAGGTTTGGAGTGGGTTTCTTCT ATCGTTTCTTCTGGTGGCTATACTGATTATGCTGACTCCGTTAAAGGTCG CTTCACTATCTCTAGAGACAACCTAAGAATACTCTCTACTTGCAGATGA ACAGCTTAAGGGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCCAGAGAGGGT GACCATAATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC AAGCGCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCGCTAGCACCC	176
Li04	GAAGTTCAATTGTTAGAGTCTGGTGGCGGTCTTGTTTCAGCCTGGTGGTTC TTTACGTCTTTCTTGCCTGCTTCCGGATTCACTTTCTCTCGTTACAATA TGGGTTGGGTTCCGCAAGCTCCTGGTAAAGGTTTGGAGTGGGTTTCTGTT ATCTATCCTTCTGGTGGCGGTACTCAITATGCTGACTCCGTTAAAGGTCG CTTCACTATCTCTAGAGACAACCTAAGAATACTCTCTACTTGCAGATGA ACAGCTTAAGGGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCCAGTCTTATA GCAGATGATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC AAGCGCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCGCTAGCACCC	177
Li08	GAAGTTCAATTGTTAGAGTCTGGTGGCGGTCTTGTTTCAGCCTGGTGGTTC TTTACGTCTTTCTTGCCTGCTTCCGGATTCACTTTCTCTCATTACGAGA TGGTTTGGGTTCCGCAAGCTCCTGGTAAAGGTTTGGAGTGGGTTTCTTCT ATCGTTTCTTCTGGTGGCGGTACTAAGTATGCTGACTCCGTTAAAGGTCG CTTCACTATCTCTAGAGACAACCTAAGAATACTCTCTACTTGCAGATGA ACAGCTTAAGGGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCCAAGAGTCCG CCAGACGACTACTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCTGGTCACCGTCTC AAGCGCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCGCTAGCACCC	178
Li11	GAAGTTCAATTGTTAGAGTCTGGTGGCGGTCTTGTTTCAGCCTGGTGGTTC TTTACGTCTTTCTTGCCTGCTTCCGGATTCACTTTCTCTTCTTACGCTA TGTATTGGGTTCCGCAAGCTCCTGGTAAAGGTTTGGAGTGGGTTTCTTCT ATCTCTACTTCTGGTGGCTATACTGGTTATGCTGACTCCGTTAAAGGTCG CTTCACTATCTCTAGAGACAACCTAAGAATACTCTCTACTTGCAGATGA ACAGCTTAAGGGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCCAGAGATACC AGCGATAATGACTACTACTACATGGACGCTCTGGGGCAAAGGGACCAAGGT CACCGTCTCAAGCGCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCGCTAGCAC CC	179
Li10	GAAGTTCAATTGTTAGAGTCTGGTGGCGGTCTTGTTTCAGCCTGGTGGTTC TTTACGTCTTTCTTGCCTGCTTCCGGATTCACTTTCTCTACTTACCCTA TGGTTTGGGTTCCGCAAGCTCCTGGTAAAGGTTTGGAGTGGGTTTCTTGG ATCGGTCTTCTGGTGGCGTTACTGCTTATGCTGACTCCGTTAAAGGTCG CTTCACTATCTCTAGAGACAACCTAAGAATACTCTCTACTTGCAGATGA ACAGCTTAAGGGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCCAGACCTAT AGCAGTGGCTGGTGGGACTTCGATCTCTGGGGCCGTGGCACCCCTGGTCAC CGTCTCAAGCGCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCGCTAGCACCC	180

VH		SEQ ID NO.
Li01	GAAGTTCAATTGTTAGAGTCTGGTGGCGGTCTTGTTTCAGCCTGGTGGTTC TTTACGTCTTTCTTGCGCTGCTTCCGGATTCACTTTCTCTAAGTACCAGA TGACTTGGGTTTCGCCAAGCTCCTGGTAAAGGTTTGGAGTGGGTTTCTTCT ATCTATCCTTCTGGTGGCAATACTGTTTATGCTGACTCCGTTAAAGGTGCG CTTCACTATCTCTAGAGACAACCTCTAAGAATACTCTCTACTTGCAGATGA ACAGCTTAAGGGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGTGGGACT ACAGAGGCAGTCTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCCTGGTCACCGTCTC AAGCGCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCGCTAGCACCC	181
Li07	GAAGTTCAATTGTTAGAGTCTGGTGGCGGTCTTGTTTCAGCCTGGTGGTTC TTTACGTCTTTCTTGCGCTGCTTCCGGATTCACTTTCTCTATGTACTTTA TGGGTTGGGTTTCGCCAAGCTCCTGGTAAAGGTTTGGAGTGGGTTTCTTCT ATCTCTCCTTCTGGTGGCTTACTTCTTATGCTGACTCCGTTAAAGGTGCG CTTCACTATCTCTAGAGACAACCTCTAAGAATACTCTCTACTTGCAGATGA ACAGCTTAAGGGCTGAGGACACTGCAGTCTACTATTGTGCGAGAGATCGG CATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCAAGCGC CTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCGCTAGCACCC	182
Li03	GAAGTTCAATTGTTAGAGTCTGGTGGCGGTCTTGTTTCAGCCTGGTGGTTC TTTACGTCTTTCTTGCGCTGCTTCCGGATTCACTTTCTCTCAGTACCCTA TGGAGTGGGTTTCGCCAAGCTCCTGGTAAAGGTTTGGAGTGGGTTTCTGGT ATCTATCCTTCTGGTGGCTTACTGTTTATGCTGACTCCGTTAAAGGTGCG CTTCACTATCTCTAGAGACAACCTCTAAGAATACTCTCTACTTGCAGATGA ACAGCTTAAGGGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGCGGGG CAGTGGCTGGGGGACTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCCTGGTCACCGT CTCAAGCGCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCGCTAGCACCC	183
Li12	GAAGTTCAATTGTTAGAGTCTGGTGGCGGTCTTGTTTCAGCCTGGTGGTTC TTTACGTCTTTCTTGCGCTGCTTCCGGATTCACTTTCTCTCAGTACAATA TGTTTTGGGTTTCGCCAAGCTCCTGGTAAAGGTTTGGAGTGGGTTTCTCGT ATCTCTTCTTCTGGTGGCATGACTATGTATGCTGACTCCGTTAAAGGTGCG CTTCACTATCTCTAGAGACAACCTCTAAGAATACTCTCTACTTGCAGATGA ACAGCTTAAGGGCTGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAGAAGCG TTACGGCCTTATTGTAGTGGTGGTAGCTGCTACTCCGACTACTACTACTA CGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCAAGCGCCT CCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCGCTAGCACCC	184
Li13	GAAGTTCAATTGTTAGAGTCTGGTGGCGGTCTTGTTTCAGCCTGGTGGTTC TTTACGTCTTTCTTGCGCTGCTTCCGGATTCACTTTCTCTCATTACGAGA TGTATTGGGTTTCGCCAAGCTCCTGGTAAAGGTTTGGAGTGGGTTTCTCGT ATCGTTTCTTCTGGTGGCTTTACTAAGTATGCTGACTCCGTTAAAGGTGCG CTTCACTATCTCTAGAGACAACCTCTAAGAATACTCTCTACTTGCAGATGA ACAGCTTAAGGGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCAACAGAGGGT GATAATGATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTC AAGC	370

VH		SEQ ID NO:
L132	GAAGTTCAATTGTTAGAGTCTGGTGGCGGTCTTGTTACAGCCTGGTGGTTC TTTACGTCTTTCTTGCGCTGCTTCCGGATTCACTTTCTCTGCTTACATGA TGCAGTGGGTTCCGCAAGCTCCTGGTAAAGGTTTGGAGTGGGTTTCTTCT ATCTCTCCTTCTGGTGGCAATACTAAGTATGCTGACTCCGTTAAAGGTCG CTTCACTATCTCTAGAGACAACCTAAGAATACTCTCTACTTGCAGATGA ACAGCTTAAGGGCTGAGGACACGCCGCTGTATTACTGTGCGAGAGGAGAT TATGGTACTGGTTCGACCCCTGGGGCCAGGGCACCTGGTCACCGTCTC AAGC	374
L133	GAAGTTCAATTGTTAGAGTCTGGTGGCGGTCTTGTTACAGCCTGGTGGTTC TTTACGTCTTTCTTGCGCTGCTTCCGGATTCACTTTCTCTATTTACCCCTA TGTTTTGGGTTCCGCAAGCTCCTGGTAAAGGTTTGGAGTGGGTTTCTTGG ATCGGTCCTTCTGGTGGCATTACTAAGTATGCTGACTCCGTTAAAGGTCG CTTCACTATCTCTAGAGACAACCTAAGAATACTCTCTACTTGCAGATGA ACAGCTTAAGGGCTGAGGACACGCCACATATTACTGTGCGAGAGAGGGG CATAACGACTGGTACTTCGATCTCTGGGGCCGTGGCACCTGGTCACCGT CTCAAGC	378
L134	GAAGTTCAATTGTTAGAGTCTGGTGGCGGTCTTGTTACAGCCTGGTGGTTC TTTACGTCTTTCTTGCGCTGCTTCCGGATTCACTTTCTCTAATTACGAGA TGTATTGGGTTCCGCAAGCTCCTGGTAAAGGTTTGGAGTGGGTTTCTGGT ATCTATCTTCTGGTGGCATTACTGTTTATGCTGACTCCGTTAAAGGTCG CTTCACTATCTCTAGAGACAACCTAAGAATACTCTCTACTTGCAGATGA ACAGCTTAAGGGCTGAGGACACGCCGCTGTATTACTGTGCTAGGGCAGCC ATCCTCGACTGGTACTTCGATCTCTGGGGCCGTGGCACCTGGTCACCGT CTCAAGC	382
3B5. 2	CAGGTCCAACCTGCAGCAGCCTGGGGCTGAGCTGGTGAGGCCTGGGACTTC AGTGAAGTTGTCTGCAGGGCTTCTGGCTACACCTTCACCAGCTACTGGA TGCAGTGGGTAAAGCAGAGGCTTGGACAAAGGCTTGAGTGGATCGGAGTG ATTGATCCTTCTGATAGTTATACTAACTACAATCAAAAGTTCAGGGGCAA GGCCACATTGACTGTAGACACATCTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTCA GCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCAAGACCTTAC TACGGTAGTCACTGGTCTTCGATGTCTGGGGCACAGGGACCACGGTCA CGTCTCCTCA	422
VH		SEQ ID NO:
L181	GAAGTACAATTGTTAGAGTCTGGTGGCGGTCTTGTTACAGCCTGG TGGTTCCTTACGTCTTTCTTGCGCTGCTTCCGGATTCACTTTCTCT GCTTACGAGATGAAGTGGGTTCCGCAAGCTCCTGGTAAAGGTTT GGAGTGGGTTTCTGTTATCGGTCTTCTGGTGGCTTTACTTTTAA TGCTGACTCCGTTAAAGGTGCTTCACTATCTCTAGAGACAACCT CTAAGAATACTCTCTACTTGCAGATGAACAGCTTAAGGGCTGAG GACACGGCCGTGTATTACTGTGCAACAGAGGGTGATAATGATG CTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCAAGC GCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCTTGGCACCCCTCCTC CAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTC AAGGACTACTTCCCGAACCCTGACGGTGTCTGGAAGTCAAG GCGCCTGACACGCGGCTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAG TCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCAC AAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAAT CTTGTGACAAGACTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAA CTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAA GGACACCCCTCATGATCTCCCGACCCCTGAGGTACATGCGTGG TGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAACTG GTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCG CGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCC TCACCGTCTGACACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAA GTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAA ACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGT ACACCCCTGCCCCATCCCGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGT CAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCG CCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACA AGACCACGCCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTC TACAGCAAGCTCACCGTGACAAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGA ACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAAGAGCCTCTCCTGTCTCCCGGT	448

VH	SEQ ID NO:
Li81 agly cosy late d	450
GAAGTACAATTGTTAGAGTCTGGTGGCGGTCTTGTTGAGCCTGG TGGTTCTTTACGTCTTTCTTGCCTGCTTCCGGATTCACTTTCTCT GCTTACGAGATGAAGTGGGTTTCGCCAAGCTCCTGGTAAAGGTTT GGAGTGGGTTTCTGTTATCGGTCTCTTGGTGGCTTACTTTTA TGCTGACTCCGTAAAGGTGCTTCACTATCTCTAGAGACAACT CTAAGAATACTCTCTACTTGCAGATGAACAGCTTAAGGGCTGAG GACACGGCCGTGATTACTGTGCAACAGAGGGTGATAATGATG CTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACCAAGGTCAACCGTCTCAAGC GCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCTGGCACCTCTCTC CAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCTGGGTGCTGCTGGTC AAGGACTACTTCCCGAACCAGGTGACGGTGTCTGCGAACTCAG GCGCCCTGACCAGCGGCTGCACACCTTCCCGGTGTCTCTACAG TCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCAC AAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAT CTTGTGACAAGACTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAA CTCTGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCGCCAAACCCAA GGACACCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGG TGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTG GTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCG CGGGAGGAGCAGTACAACAGCGGTACCGTGTGGTCAGCGTCC TCACCGTCTGCACCAAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAA GTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAA ACCATCTCAAAGCCAAAGGCGACGCCCGAGAACCACAGGTGT ACACCTGCCCCCATCCCGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGT CAGCCTGACCTGCTGTTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCG CCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACA AGACCAGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCTTCTCTCTC TACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGA ACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGT	

В следующем варианте осуществления настоящее изобретение включает выделенный полинуклеотид, включающий, в основном состоящий или состоящий из кодирующей V_H нуклеиновой кислоты, по меньшей мере на 80, 85, 90 или 95% идентичной эталонной последовательности нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 173-184, 370, 374, 378, 382 и 422, представленных с табл. 7. В ряде вариантов осуществления полинуклеотид кодирует полипептид V_H , который специфически или предпочтительно связывается с Sp35.

В ряде вариантов осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, включающий, в основном состоящий или состоящий из V_H , кодируемого одним или более из вышеописанных полинуклеотидов, специфически или предпочтительно связывается с тем же эпитопом, что моноклональное антитело, выбранное из группы, состоящей из: 201', 3A3, 3A6, 1A7, 1G7, 2B10, 2C11, 2F3, 3P1D10.2C3, 3P1E11.3B7, 3P2C6.3G10.2H7, 3P2C9.2G4, 3P4A6.1D9, 3P4A1.2B9, 3P4C2.2D2, 3P4C5.1D8, 3P4C8.2G9, 30-C12 (Li01), 38-D01 (Li02), 35-E04 (Li03), 36-C09 (Li04), 30-A11 (Li05), 34-F02 (Li06), 29-E07 (Li07), 34-G04 (Li08), 36-A12 (Li09), 28-D02 (Li10), 30-B01 (Li11), 34-B03 (Li12), Li13, Li32, Li33, Li34, 3383 (L1a.1), 3495 (L1a.2), 3563 (L1a.3), 3564 (L1a.4), 3565 (L1a.5), 3566 (L1a.6), 3567 (L1a.7), 3568 (L1a.8), 3569 (L1a.9), 3570 (L1a.10), 3571 (L1a.11), 3582 (L1a.12), 1968 (L1a.13), 7P1D5.1G9, 3B5.2 и Li81, или будет конкурентно ингибировать связывание данного моноклонального антитела с Sp35.

В ряде вариантов осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, включающий, в основном состоящий или состоящий из V_H , кодируемой одним или более из вышеописанных полинуклеотидов, специфически или предпочтительно связывается с полипептидом Sp35 или его фрагментом или вариантом полипептида Sp35 с аффинностью, характеризующейся константой диссоциации (K_D) не больше чем 5×10^{-2} M, 10^{-2} M, 5×10^{-3} M, 10^{-3} M, 5×10^{-4} M, 10^{-4} M, 5×10^{-5} M, 10^{-5} M, 5×10^{-6} M, 10^{-6} M, 5×10^{-7} M, 10^{-7} M, 5×10^{-8} M, 10^{-8} M, 5×10^{-9} M, 10^{-9} M, 5×10^{-10} M, 10^{-10} M, 5×10^{-11} M, 10^{-11} M, 5×10^{-12} M, 10^{-12} M, 5×10^{-13} M, 10^{-13} M, 5×10^{-14} M, 10^{-14} M, 5×10^{-15} M или 10^{-15} M.

В дополнительном варианте осуществления настоящее изобретение включает выделенный полинуклеотид, включающий, в основном состоящий или состоящий из нуклеиновой кислоты, кодирующей V_H , по меньшей мере на 80, 85, 90, 95 или 100% идентичную эталонной последовательности полинуклеотида V_H , выбранной из группы, состоящей из полинуклеотида, кодирующего тяжелую цепь иммуноглобулина, продуцируемого гибридомой 2.P3B5.2 (ATCC Номер депозита PTA-8106) и полинуклеотида, кодирующего тяжелую цепь иммуноглобулина, продуцируемого гибридомой 7.P1D5.1.G9 (ATCC Номер депозита PTA-8107).

В следующем варианте осуществления настоящее изобретение включает выделенный полинуклеотид, включающий, в основном состоящий или состоящий из нуклеиновой кислоты, кодирующей V_L , по меньшей мере на 80, 85, 90 или 95% идентичную эталонной последовательности полипептида V_L , выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 273-286, 373, 377, 381, 385 и 417, показанных в табл. 8. В ряде вариантов осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент, включающие V_L , кодируемую полинуклеотидом, специфически или предпочтительно связывается с Sp35.

В другом аспекте настоящее изобретение включает выделенный полинуклеотид, включающий, в основном состоящий или состоящий из последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей V_L , имеющую последовательность полипептида, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 273-286, 373, 377, 381, 385 и 417, показанных в табл. 8. В ряде вариантов осуществления антитело или антиген-связывающий фрагмент, включающий V_L , кодируемую полинуклеотидом, специфически или предпочтительно связывается с Sp35.

Таблица 8

Последовательности полипептида V_L		
VL		SEQ ID NO:
Li02	FYSHSAQYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKFASWYQQKAGQS PVLV IFQDRKRLSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDTNT VVFGGGTKLTVLGQPKAAP	273
Li09	FYSHSAQDIQMTQSPSSLSAFVGDRAITCRASQSIDTYLNWYQQKPG KAPKLLIYAASKLEDGVPSRFGSGGTGDTFTLTIRSLQPEDFGTYCQQ SYSPPLTFGGGKVEIKRTVAAP	274
Li06	FYSHSAQDIQMTQSPSTLSASVGDRTITCRASQSISSWLAWYQQKPG KAPNLLIYAASSLRTGVPSRFRGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQ DYSYPLTFGGGKLEIKRTVAAP	275
Li05	FYSHSAQSVLTQPPSVSVAPGQTARISCGGDNIGSKSVHWYQQRPGQA PVLVYDDYDRPSGIPERFSGSNSGDTAILTITRVEVGDEADFYCQVR DSRTEERVFGGGTKVTVLGQPKAAP	276
Li08	FYSHSAQDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQASQDISYLNWYQQKPG KAPKVLITDVSNLQGTGVPSRFGSGSASATDFTLTISSLQPEDATYYCQQ SDNLPLTFGGGKVEIKRTVAAP	277
Li11	FYSHSAQDIQMTQSPSSVSAPIGDRVTITCRASQEIANYLAWYQQKPG KAPK LLIYDITYLTQDTPPRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDATYFCQQAIFP LSFG GGTKVEIKRTVAAP	278
Li10	FYSHSAQDIQMTQSPSSMSASVGDVTITCRASQGIGNWLAWYQQKP GKAP TLLIYAASSLESGVPSRFTGSGSSGIDFTLTISDLHPEDLATYYCQQAQ TFPLTFGGGTRVDLKRTVAAP	279
Li01	FYSHSAQDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQASQDISNYLNWYQQKPG KAPKLLIYDASNLETGVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ ADRFPAVTFGGGKVEIKRTVAAP	280
Li07	FYSHSAQSELTQPPSVSVSPGQTAITCSGDLGDKHVAWYQQKPGQS PVLVIYLDIKRPAGISERFSGSNSGNTATLTIRGTQAMDEADYYCQAW DIKTVFGGGTKLTVLSQPKAAP	281
Li03	FYSHSAQDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQKPG KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQS YSTPWTFGGGKVEIKRTVAAP	282
1A7	QIVLTQSPAIMSASPGKVTMTCSASSSVSYMHWYQQKSGTSPKRWTY DTSKLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQWSSNPFT FGSGTKLEIK	283
2F3	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASGNIYNLAWFQQKQKSPQLLV YNAKTLPDGVPSRFGSGSGTQYFLKINSQPEDFGSYCQHFWAIPY TFGGGKLE	284

VL		SEQ ID NO:
3P1D 10.2C 3	DIVMTQSPSSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVFDRFTGSGSGTDFTLTINSVQAEDLAVYYCQNDYSYPLFTFGSGTKLEIR	285
3P1E 11.3B 7	DIVMTQSPSSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLNSGNQKSYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVFDRFTGSGSGTDFTLTINSVQAEDLAVYYCQNDYSYPLFTFGSGTKLEIR	286
Li13	DIQMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRAITGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQRSNWPMYTFGQGTKEIK	373
Li32	DIQMTQSPDLSASVGDRTVITTCQASQDISYYLNWYQQKPGMAPKLLYDAFILEGGAPSRFSGSGSGTDFTISNLPEDFATYFCQQSDQLPVTFGGQTKVEIR	377
Li33	DIQMTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRAITGIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQQYDKWPLTFGGGQTKVEIK	381
Li34	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITTCASQDISNYLSWYQQKPGKAPKLLIYDAFNLETGVPSRFSGSGSGTDFTTISLQPEDFATYYCQHYDNLPFTFGPGRVAIR	385
3B5. 2	QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSRVSYVHWYQQKSGTSPKRWLYDTSNLAGSVPARFGNGSGTSYSLTISMEADAATYYCQQWSTNPTFGGGQTKLEIK	417
P1A 7 var. 1	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMHWYQQKPGQAPRLLIYDTSKLASGIPARFSGSGSGTDYTLTISSELPEDFAVYYCQQWSSNPFTFGGQTKVEIK	430
P1A 7 var. 2	qIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMHWYQQKPGQAPRLLIYDTSKLASGIPARFSGSGSGTDYTLTISSELPEDFAVYYCQQWSSNPFTFGGQTKVEIK	431
Li81	DIQMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRAITGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQRSNWPMYTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIPPSDEQLKSGTASVVCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	434

В следующем варианте осуществления настоящее изобретение включает выделенный полинуклеотид, включающий, в основном состоящий или состоящий из нуклеиновой кислоты, кодирующей V_L , по меньшей мере на 80, 85, 90 или 95% идентичной эталонной последовательности полипептида V_L , выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 273-286, 373, 377, 381 385 и 417, как показано в табл. 8.

В ряде вариантов осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент, включающий V_L , кодируемую полинуклеотидом, специфически или предпочтительно связывается с Sp35.

В другом аспекте настоящее изобретение включает выделенный полинуклеотид, включающий, в основном состоящий или состоящий из последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей V_L , соответствующую изобретению, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 273-286, 373, 377, 381, 385 и 417. В ряде вариантов осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент, включающий V_L , кодируемую полинуклеотидом, специфически или предпочтительно связывается с Sp35.

В дополнительном варианте осуществления настоящее изобретение включает выделенный полинуклеотид, включающий, в основном состоящий или состоящий из нуклеиновой кислоты, кодирующей V_L , по меньшей мере на 80, 85, 90, 95 или 100% идентичную эталонной последовательности полипептида V_L , выбранной из группы, состоящей из полипептида легкой цепи иммуноглобулина, продуцируемого гибридомой 2.P3B5.2 (ATCC Номер депозита PTA-8106) и полипептида легкой цепи иммуноглобулина, продуцируемого гибридомой 7.P1D5.1.G9 (ATCC Номер депозита PTA-8107).

В ряде вариантов осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, включающий, в основном состоящий или состоящий из V_L , кодируемой одним или более из вышеописанных полинуклеотидов, специфически или предпочтительно связывается с тем же эпитопом, что моноклональное антитело, выбранное из группы, состоящей из 201', 3A3, 3A6, 1A7, 1G7, 2B10, 2C11, 2F3, 3P1D10.2C3, 3P1E11.3B7, 3P2C6.3G10.2H7, 3P2C9.2G4, 3P4A6.1D9, 3P4A1.2B9, 3P4C2.2D2, 3P4C5.1D8, 3P4C8.2G9, 30-C12 (Li01), 38-D01 (Li02), 35-E04 (Li03), 36-C09 (Li04), 30-A11 (Li05), 34-F02 (Li06), 29-E07 (Li07), 34-G04 (Li08), 36-A12 (Li09), 28-D02 (Li10), 30-B01 (Li11), 34-B03 (Li12), Li13, Li32, Li33, Li34, 3383 (L1a.1), 3495 (L1a.2), 3563 (L1a.3), 3564 (L1a.4), 3565 (L1a.5), 3566 (L1a.6), 3567 (L1a.7), 3568 (L1a.8), 3569 (L1a.9), 3570 (L1a.10), 3571 (L1a.11), 3582 (L1a.12), 1968 (L1a.13), 7P1D5.1G9, 3B5.2 и Li81, или будет конкурентно ингибировать связывание данного моноклонального антитела с Sp35.

В ряде вариантов осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, включающий, в основном состоящий или состоящий из V_L , кодируемой одним или более из вышеописанных полинуклеотидов, специфически или предпочтительно связывается с полипептидом Sp35 или его фрагментом или вариантом полипептида Sp35 с аффинностью, характеризующейся константой диссоциации (K_D) не больше чем 5×10^{-2} M, 10^{-2} M, 5×10^{-3} M, 10^{-3} M, 5×10^{-4} M, 10^{-4} M, 5×10^{-5} M, 10^{-5} M, 5×10^{-6} M, 10^{-6} M, 5×10^{-7} M, 10^{-7} M, 5×10^{-8} M, 10^{-8} M, 5×10^{-9} M, 10^{-9} M, 5×10^{-10} M, 10^{-10} M, 5×10^{-11} M, 10^{-11} M, 5×10^{-12} M, 10^{-12} M, 5×10^{-13} M, 10^{-13} M, 5×10^{-14} M, 10^{-14} M, 5×10^{-15} M или 10^{-15} M.

В дополнительных вариантах осуществления настоящее изобретение включает выделенный поли-

нуклеотид, который кодирует легкую цепь иммуноглобулина, где полинуклеотид представляет собой выделенный полинуклеотид, включающий, в основном состоящий или состоящий из нуклеиновой кислоты, кодирующей легкую цепь по меньшей мере на 80, 85, 90, 95 или 100% идентичную полинуклеотиду SEQ ID NO: 421, как показано ниже. В ряде вариантов осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент, включающий легкую цепь, кодируемую полинуклеотидом, специфически или предпочтительно связывается с Sp35 и/или тем же эпитопом, что моноклональное антитело 3B5.2.

Последовательность полинуклеотида легкой цепи иммуноглобулина мышиного и человеческого химерного антитела 3B5.2:

```
ATGGATTTCAGGTGCAGATTTTCAGCTTCCTGCTAATCAGTGCCTCAGTCATAAT
ATCCAGAGGACAAATTGTTCTCACCCAGTCTCCAGCAATCATGTCTGCATCTCCAG
GGGAGAAGGTACCATGACCTGCAGTGCCAGCTCACGTGTAAGTTACGTGCACTG
GTACCAGCAGAAGTCAGGCACCTCCCCAAAAGATGGCTTTATGACACATCCAAC
CTGGCTTCTGGAGTCCCTGCTCGCTTCGGTGGCAATGGGTCTGGGACCTCTTACTC
TCTCACAATCAGCAGCATGGAGGCTGAAGATGCTGCCACTTATTACTGCCAGCAGT
GGAGTACTAACCACCCACGTTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAACGTAC
GGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTG
GAACTGCCTCTGTTGTGTGCTGTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTA
CAGTGAAGGTGGATAACGCCCTCAATCGGGTAACCTCCAGGAGAGTGTACAG
AGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCA
AAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCCTGCGAAGTACCCATCAGGGCCT
GAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTAG (SEQ ID NO:421).
```

В дополнительных вариантах осуществления настоящее изобретение включает выделенный полинуклеотид, который кодирует вариабельную область легкой цепи (V_L), причем полинуклеотид содержит последовательность нуклеиновой кислоты V_L , выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO 185-194, 371, 375, 379, 383 и 423, как показано в табл. 9. В ряде вариантов осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент, включающий V_L , кодируемую полинуклеотидом, специфически или предпочтительно связывается с Sp35.

Таблица 9
Последовательности полинуклеотидов V_L

VL		SEQ ID NO:
Li02	TTCTATTCTCAGTGCACAGTACGAATTGACTCAGCCACCCTCAGTGTCCG TGTCCCCAGGACAGACAGCCAGCATCACCCTGCTCTGGAGATAAATTGGGGGA TAAATTGCTTCTCGGTATCAGCAGAAGGCAGGCCAGTCCCTGTGTGGTCT ATCTTTCAAGATAGGAAGCGTCTCTCAGGGATCCCTGAGCGATTCTCTGGCT CCAACTCTGGGAACACAGCCACTCTGACCATCAGCGGACCCAGGCTATGGA TGAGGCTGACTATTACTGTGAGCGTGGGACACCAACACTGTGGTCTTCGGC GGAGGGACCAAGCTGACCGTCTTAGGTGAGCCCAAGGCTGCCCCC	185
Li09	TTCTATTCTCAGTGCACAAGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCC TGTCTGCATTGTGGGAGACAGAGTCGCCATCACTTGCCCGCGCAAGTCAGAG CATCGACACCTATTTTAAATTGGTATCAGCAGAAACAGGGAAAGCCCTAAA CTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTGGAAGACGGGTCCCATCAAGATTCA GTGGCAGTGGAACTGGGACAGATTCACTCTCACCATCAGAAGTCTGCAACC TGAAGATTTTGGAACTTACTACTGTCAACAGATTACAGTCCCTCTCACT TTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAACCGAACTGTGGCTGCACCA	186
Li06	TTCTATTCTCAGTGCACAAGACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACCC TGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCCAGTCAGAG TATTAGTAGCTGGTTGGCCTGGTATCAGCAGAAACAGGGAAAGCCCTAAC CTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTACGAACCTGGGTCCCATCAAGATTCA GGGCGAGTGGATCTGGCAGAGATTCACTCTCACCATCAGCAGCTGCAAGC TGAAGATTTTGAACGTATTACTGTCTACAAGATTACAGTTACCTCTCACT TTTGGCCAGGGACCAAGCTGGAGATCAACCGAACTGTGGCTGCACCA	187
Li05	TTCTATTCTCAGTGCACAGAGCGTCTTGAATCAGCCACCCTCGGTGTGAG TGGCCCCAGGCCAGACGGCCAGGATTTCCTGTGGGGGAGACAACTTGAAG TAAGAGTGTCCACTGGTACCAGCAGAGGCCAGGCCAGGCCCTCTCTGGTC GTGTATGATGATTATGACCGGCCCTCAGGGATCCCTGAGCGATTCTCTGGCT CCAACTCTGGGACACGGCCATCCTGACCATCACCAGGCTCGAAGTCTGGGA TGAGGCCGACTTTTATTGTCAAGTGTGAGGGACAGCCGTAAGGAGAACGGGTG TTCGGCGGAGGGACCAAGGTGACCGTCTTAGGTGAGCCCAAGGCTGCCCCC	188
Li08	TTCTATTCTCAGTGCACAAGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCC TGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCAGGCGAGTCAGGA CATTAGTTACTATTTTAAATTGGTATCAGCAGAAACAGGGAAAGCCCTAAG GTCTGATCTACGATGTATCCAAATTGCAACAGGGGTCCCATCAAGTTCA GTGGAAGTGGCTCTGCGACAGATTTACTCTCACCATCAGCAGCTGCAAGC TGAAGATATTGCGACATATTACTGTCAACAGTCTGATAATCTCCCTCTCACT TTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATTAAACCGAACTGTGGCTGCACCA	189

VL		SEQ ID NO:
Li11	TTCTATTCTCAGTGCACAAGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCTG TGTCTGCACCTATAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGTTCGGGCGAGTCAGGA GATTGCCAACTACTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAG CTCCTGATCTATGATACATACACTTTGCAGACTGACGTCCACCGAGGTTC GCGGCAGTGGTTCGGGGACAGATTTCACTCTCACTATCAGCAGCCTGCAGCC TGAAGATACTGCAACTTACTTTTGTCAACAGGCTGACATTTCCCGCTCTCT TTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAACGAACTGTGGCTGCACCA	190
Li10	TTCTATTCTCAGTGCACAAGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCA TGTCTGCTTCTGTAGGGACACAGTCACCATCACTTGTTCGGGCGAGTCAGGG TATTGGCAACTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCAACT CTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGGAAAGTGGGTCCCATCAAGGTTCA CCGGCAGCGGAGTTCTCTGGGATAGATTTCCTCTCACCATCAGCGACCT GCACCTGAAGATTGGCAACTTACTATTGTCAACAGGCTCAGACTTTCCCG CTCACCTTCGGCGGAGGGACAGGGTGGACCTCAAGCGAACTGTGGCTGCAC CA	191
Li01	TTCTATTCTCAGTGCACAAGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTCTCCC TGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCAGGCGAGTCAGGA CATTAGCAACTATTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAG CTCCTGATCTACGATGCATCCAATTGGAAACAGGGGTCCCATCAAGGTTCA GCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCC TGAAGATTTGCAACTTACTATTGTCAACAGGCTGACAGGTTCCTGCGGTC ACTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAACGAACTGTGGCTGCACCA	192
Li07	TTCTATTCTCAGTGCACAGGCGAATTGACTCAGCCACCTCAGTGTCCG TGTCCCAGGACAGACAGCCATCATCACTGCTCTGGAGATCAGTTGGGTGA CAAACATGTGGCTTGGTATCAACAGAAAGCCAGGCCAGTCCCTGTGCTGGTC ATCTATCTAGACATTAAAGAGGCCCGCAGGGATTCTGAGCGATTCTCTGGCT CCAACCTCTGGAAATACAGCCACTCTGACCATCAGAGGGACCCAGGCTATGGA TGAAGCTGACTATTACTGTCAAGCGTGGGACATCAAGACGGTCTTCGGCGGG GGGACCAAGCTGACCGTCTGAGTCAGCCCAAGGCTGCCCCC	193
Li03	TTCTATTCTCAGTGCACAAGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTCTCCC TGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCAGGCGAAGTCAGAG CATTAGCAGTATTATAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAG CTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGGAAAGTGGGTCCCATCAAGGTTCA GTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACC TGAAGATTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCGTGGACG TTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGAACTGTGGCTGCACCA	194
Li1 3	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCAGCCACCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAA AGAGCCACCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAGCTACTTAGCC TGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCAGGCTCCTCATCTATGATGCA TCCAACAGGGCCACTGGCATCCAGCCAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGG ACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTT TATTACTGTCAAGCGTAGCAACTGGCCGATGTACACTTTTGGCCAGGGG ACCAAGCTGGAGATCAAA	371

VL		SEQ ID NO:
Li3 2	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGTCTGCATCTGTTGGAGAC AGAGTCACCATCACTTGCAGGCGAGTCAAGACATTAGCTACTATTTAAAT TGGTATCAGCAGAAACAGGGATGGCCCCCTAAACTCCTCATCTACGATGCC TTCATTTTGGAGGAGGGGCCCATCAGGTTTCAGTGGGAGCGGCTCTGGG ACAGATTTTCTTTTCCACCATCAGCAATCTACAGCCTGAGGATATTGCAACT TATTTCTGTCAACAGTCTGATCAACTGCCCGTGACCTTCGGCCAAGGGACC AAGGTGGAAATCAGA	375
Li3 3	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCAGGCACCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAA AGAGCCACCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAAGTGTAGCAGCTACTTAGGCC TGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCAGGCTCCTCATCTATGATGCA TCCAACAGGGCCACTGGCATCCAGCCAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGG ACAGAGTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGTCTGAGGATTTTGAGTT TATTACTGTCAAGATATGATAAGTGGCCGCTCACTTTCGGCGAGGGACC AAGGTGGAGATCAA	379
Li3 4	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGAC AGAGTCACCATCACTTGCATGCGAGTCAAGACATTAGCAACTATTTAAGT TGGTATCAGCAGAAACAGGTAAAGCCCCCTAAACTCCTGATCTACGATGCT TTCAATTTGGAGACAGGAGTCCCATCGAGTTTCAGTGGAAAGTGGATCTGGC ACAGATTTTACATTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACA TATTACTGTCAAGCACTATGATAATCTCCCATTCACCTTCGGCCCTGGGACC AGAGTGGCGATCAGA	383
3B 5.2	CAAAATGTTCTCACCAGTCTCCAGCAATCATGTCTGCATCTCCAGGGGAG AAGGTCACCATGACCTGCAGTGCAGCTCACGTGTAAGTTACGTGCATGG TACCAGCAGAAGTCAGGCACCTCCCCAAAGATGGCTTTATGACACATCC AACCTGGCTTCTGGAGTCCCTGTCTCGCTTCGGTGGCAATGGGTCTGGGACC TCTTACTCTCTCAATCAGCAGCATGGAGGCTGAAGATGCTGCCACTTAT TACTGCCAGCAGTGGAGTACTAACCCACCCACGTTTCGGAGGGGGACCAAG CTGGAATAAATA	423
Li8 1	GATATCCAGATGACCCAGTCTCCAGGCACCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAA AGAGCCACCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAAGTGTAGCAGCTACTTAGCC TGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCAGGCTCCTCATCTATGATGCA TCCAACAGGGCCACTGGCATCCAGCCAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGG ACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGAGCCTGAAGATTTTGAGTT TATTACTGTCAAGCAGTAGCAACTGGCCGATGACACTTTTGGCCAGGGG ACCAAGCTGGAGATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCACTTTC CCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACCTGCTGTGTGTGCTGCTG CTGAATAACTTCTATCCAGAGAGGGCCAAAGTACAGTGGAGGTGGATAAC GCCCTCCAATCGGGTAACCTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAG GACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAAGCAGACTAC GAGAAACACAAAGTCTACGCTGCGAAAGTCAACCATCAGGGCCTGAGCTCG CCCGTCAAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTAG	449

В следующем варианте осуществления настоящее изобретение включает выделенный полинуклеотид, включающий, в основном состоящий или состоящий из нуклеиновой кислоты, кодирующей V_L по меньшей мере на 80, 85, 90 или 95% идентичную полинуклеотиду V_L , выбранному из группы, состоящей из SEQ ID NO: 185-194, 371, 375, 379, 383 и 423, представленных в табл. 9. В ряде вариантов осуществления полинуклеотид кодирует полипептид V_L , который специфически или предпочтительно связывается с Sp35.

В ряде вариантов осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, включающий, в основном состоящий или состоящий из V_L , кодируемой одним или более вышеописанных полинуклеотидов, специфически или предпочтительно связывается с тем же эпитопом, что моноклональное антитело, выбранное из группы, состоящей из 201', 3A3, 3A6, 1A7, 1G7, 2B10, 2C11, 2F3, 3P1D10.2C3, 3P1E11.3B7, 3P2C6.3G10.2H7, 3P2C9.2G4, 3P4A6.1D9, 3P4A1.2B9, 3P4C2.2D2, 3P4C5.1D8, 3P4C8.2G9, 30-C12 (Li01), 38-D01 (Li02), 35-E04 (Li03), 36-C09 (Li04), 30-A11 (Li05), 34-F02 (Li06), 29-E07 (Li07), 34-G04 (Li08), 36-A12 (Li09), 28-D02 (Li10), 30-B01 (Li11), 34-B03 (Li12), Li13, Li32, Li33, Li34, 3383 (L1a.1), 3495 (L1a.2), 3563 (L1a.3), 3564 (L1a.4), 3565 (L1a.5), 3566 (L1a.6), 3567 (L1a.7), 3568 (L1a.8), 3569 (L1a.9), 3570 (L1a.10), 3571 (L1a.11), 3582 (L1a.12), 1968 (L1a.13), 7P1D5.1G9, 3B5.2 и Li81, или будет конкурентно ингибировать связывание данного моноклонального антитела с Sp35.

В ряде вариантов осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, включающий, в основном состоящий или состоящий из V_L , кодируемой одним или более из вышеописанных полинуклеотидов, специфически или предпочтительно связывается с полипептидом Sp35 или его фрагментом или вариантом полипептида Sp35 с аффинностью, характеризующейся константой диссоциации (K_D) не больше чем 5×10^{-2} M, 10^{-2} M, 5×10^{-3} M, 10^{-3} M, 5×10^{-4} M, 10^{-4} M, 5×10^{-5} M, 10^{-5} M, 5×10^{-6} M, 10^{-6} M, 5×10^{-7} M, 10^{-7} M, 5×10^{-8} M, 10^{-8} M, 5×10^{-9} M, 10^{-9} M, 5×10^{-10} M, 10^{-10} M, 5×10^{-11} M, 10^{-11} M, 5×10^{-12} M, 10^{-12} M, 5×10^{-13} M, 10^{-13} M, 5×10^{-14} M, 10^{-14} M, 5×10^{-15} M или 10^{-15} M.

В дополнительном варианте осуществления настоящее изобретение включает выделенный полинуклеотид, включающий, в основном состоящий или состоящий из нуклеиновой кислоты, кодирующей V_L по меньшей мере на 80, 85, 90, 95 или 100% идентичную эталонной последовательности полинуклеотида V_L , выбранной из группы, состоящей из полинуклеотида, кодирующего легкую цепь иммуноглобулина, продуцируемую гибридомой 2.P3B5.2 (ATCC Номер депозита PTA-8106), и полинуклеотида, кодирующего легкую цепь иммуноглобулина, продуцируемую гибридомой 7.P1D5.1.G9 (ATCC Номер депозита PTA-8107).

Любой из вышеописанных полинуклеотидов может далее включать дополнительные нуклеиновые

кислоты, кодирующие, например, сигнальный пептид, чтобы направлять секрецию кодируемого полипептида, константные области антитела, как описано в данном контексте или другие гетерологичные полипептиды, как описано в данном контексте.

Кроме того, как более подробно описано в других разделах данного материала, настоящее изобретение включает композиции, содержащие полинуклеотиды, включающие один или более вышеописанных полинуклеотидов. В одном варианте осуществления изобретение включает композиции, содержащие первый полинуклеотид и второй полинуклеотид, причем указанный первый полинуклеотид кодирует полипептид V_H , как описано в данном контексте, и причем указанный второй полинуклеотид кодирует полипептид V_L , как описано в данном контексте. В частности, композицию, которая включает, состоит в основном или состоит из полинуклеотида V_H , как показано в таблице 7, и полинуклеотида V_L , как показано в табл. 9, где указанный полинуклеотид V_H и указанный полинуклеотид V_L выбраны из группы, состоящей из:

- i) SEQ ID NO: 173 и SEQ ID NO: 185;
- ii) SEQ ID NO: 174 и SEQ ID NO: 186;
- iii) SEQ ID NO: 175 и SEQ ID NO: 187;
- iv) SEQ ID NO: 176 и SEQ ID NO: 188;
- v) SEQ ID NO: 178 и SEQ ID NO: 189;
- vi) SEQ ID NO: 179 и SEQ ID NO: 190;
- vii) SEQ ID NO: 180 и SEQ ID NO: 191;
- viii) SEQ ID NO: 181 и SEQ ID NO: 192;
- ix) SEQ ID NO: 182 и SEQ ID NO: 193;
- x) SEQ ID NO: 183 и SEQ ID NO: 194;
- xi) SEQ ID NO: 370 и SEQ ID NO: 371;
- xii) SEQ ID NO: 374 и SEQ ID NO: 375;
- xiii) SEQ ID NO: 378 и SEQ ID NO: 379;
- xiv) SEQ ID NO: 382 и SEQ ID NO: 385;
- xv) SEQ ID NO: 422 и SEQ ID NO: 423;
- xvi) SEQ ID NO: 448 и SEQ ID NO: 449 и
- xvii) SEQ ID NO: 450 и SEQ ID NO: 449.

Настоящее изобретение также включает фрагменты полинуклеотидов, соответствующих изобретению, как описано в других разделах. Кроме того, полинуклеотиды, которые кодируют слитые полинуклеотиды, фрагменты Fab и другие производные, как описано в данном контексте, также предусмотрены изобретением.

Полинуклеотиды можно продуцировать или изготовить любым способом, известным в области техники. Например, если нуклеотидная последовательность антитела известна, полинуклеотид, кодирующий антитело, можно собрать из полученный химическим синтезом олигонуклеотидов (например, как описано в статье Kutmeier et al., *BioTechniques* 17:242 (1994)), который, вкратце, включает синтез перекрывающихся олигонуклеотидов, содержащих части последовательности, кодирующей антитело, отжиг и лигирование данных олигонуклеотидов и затем амплификацию лигированных олигонуклеотидов с помощью ПНР.

Альтернативно полинуклеотид, кодирующий антитело к Sp35 или его антигенсвязывающий фрагмент, вариант или производное, можно генерировать из нуклеиновой кислоты, полученной из подходящего источника. Если клон, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую определенное антитело, недоступен, но последовательность молекулы антитела известна, то нуклеиновую кислоту, кодирующую антитело, можно синтезировать химическим путем или получить из подходящего источника (например, библиотеки кДНК антител или библиотеки кДНК, генерированной, или нуклеиновой кислоты, предпочтительно поли-A+РНК, выделенной из любой ткани или клеток, экспрессирующих данное антитело или другое антитело к Sp35, таких как гибридомные клетки, отобранные для экспрессии антитела), путем ПЦР-амплификации с использованием синтетических праймеров, гибридизующихся с 3'- и 5'-концами последовательности, или клонированием с использованием олигонуклеотидного зонда, специфического в отношении последовательности конкретного гена, с целью идентификации, например, клона кДНК из библиотеки кДНК, которая кодирует данное антитело или другое антитело к Sp35. Амплифицированные нуклеиновые кислоты, генерированные посредством ПЦР, затем можно клонировать в реплицирующиеся клонирующие векторы, используя любой способ, хорошо известный в области техники.

После установления нуклеотидной последовательности и соответствующей последовательности аминокислот антитела к Sp35 или его антигенсвязывающего фрагмента, варианта или производного с его нуклеотидной последовательностью можно произвести манипуляции с помощью способов, хорошо известных в области техники, предназначенных для манипуляций с нуклеотидными последовательностями, например, технологий рекомбинантной ДНК, сайт-направленного мутагенеза, ПЦР и т.п. (см., например, способы, описанные в монографии Sambrook et al., *Molecular Cloning, A Laboratory Manual* (Молекулярное клонирование, лабораторное руководство), 2 изд., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N. Y. (1990) и под ред. Ausubel et al., *Current Protocols in Molecular Biology* (Современные протоколы в

молекулярной биологии), John Wiley & Sons, NY (1998), обе из которых включены в виде ссылки в данном контексте в своей полноте), с целью генерации антител, имеющих разные последовательности аминокислот, например, для создания замен, делеций и/или инсерций аминокислот.

Полинуклеотид, кодирующий антитело к Sp35 или его антигенсвязывающий фрагмент, вариант или производное, может состоять из любого полирибонуклеотида или полидезоксирибонуклеотида, которые могут представлять собой немодифицированную РНК или ДНК либо модифицированную РНК или ДНК. Например, полинуклеотид, кодирующий антитело к Sp35 или его антигенсвязывающий фрагмент, вариант или производное, могут состоять из одно- или двухцепочечной ДНК, ДНК, которая представляет собой смесь одно- и двухцепочечных участков, одно- и двухцепочечной РНК и РНК, которая представляет собой смесь одно- и двухцепочечных участков, гибридных молекул, включающих ДНК и РНК, которые могут быть одноцепочечными или, более типично, двухцепочечными или смесью одно- и двухцепочечных участков. Кроме того, полинуклеотид, кодирующий антитело к Sp35 или его антигенсвязывающий фрагмент, вариант или производное, может состоять из трехцепочечных участков, включающих РНК или ДНК либо обе, РНК и ДНК. Полинуклеотид, кодирующий антитело к Sp35 или его антигенсвязывающий фрагмент, вариант или производное, может также содержать одно или более модифицированных оснований или скелеты ДНК или РНК, модифицированные для стабильности или по другим причинам. "Модифицированные" основания включают, например, тритилированные основания и необычные основания, такие как инозин. Можно осуществить множество модификаций ДНК и РНК; таким образом, термин "полинуклеотид" охватывает химически, ферментативно или метаболически модифицированные формы.

Выделенный полинуклеотид, кодирующий неприродный вариант полипептида, выделенный из иммуноглобулина (например, часть тяжелой цепи или часть легкой цепи иммуноглобулина), можно создать путем интродукции одной или более замен, добавлений или делеций нуклеотидов в нуклеотидной последовательности иммуноглобулина, так что одна или более замен, добавление или делеций аминокислот интродуцируются в кодируемый белок. Мутации можно интродуцировать стандартными способами, такими как сайт-направленный мутагенез и ПЦР-опосредованный мутагенез. Предпочтительно, когда делают консервативные замены аминокислот в одном или более неосновных остатков аминокислот. V. Полипептиды антитела к SP35

Настоящее изобретение далее направлено на выделенные полипептиды, которые образуют антитела к Sp35, их антигенсвязывающие фрагменты, варианты или производные. Антитела к Sp35, соответствующие настоящему изобретению, включают полипептиды, например, последовательности аминокислот, кодирующие Sp35-специфические антигенсвязывающие участки, выделенные из молекул иммуноглобулина. Полипептид или последовательность аминокислот, "выделенная из" определенного белка, относящаяся к природе полипептида. В ряде случаев полипептид или последовательность аминокислот, которые выделены из определенного исходного полипептида или последовательности аминокислот, имеет последовательность аминокислот, в основном идентичную исходной последовательности или ее части, причем часть состоит из по меньшей мере 10-20 аминокислот, по меньшей мере 20-30 аминокислот, по меньшей мере 30-50 аминокислот или тех, которые иным идентифицируются обычным специалистом в области техники, как происходящие из исходной последовательности.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение предусматривает выделенный полипептид, включающий, в основном состоящий или состоящий из вариательной области тяжелой цепи иммуноглобулина (V_H), где по меньшей мере один из CDRs вариательной области тяжелой цепи или по меньшей мере два из CDRs вариательной области тяжелой цепи по меньшей мере на 80, 85, 90 или 95% идентичны эталонной последовательности аминокислот CDR1, CDR2 или CDR3 тяжелой цепи из моноклональных антител к Sp35, описанных в данном контексте. Альтернативно участки CDR1, CDR2 и CDR3 V_H по меньшей мере на 80, 85, 90 или 95% идентичны эталонной последовательности аминокислот CDR1, CDR2 или CDR3 V_H из моноклональных антител к Sp35, описанных в данном контексте. Таким образом, согласно данному варианту осуществления, вариательная область тяжелой цепи, соответствующая изобретению, имеет последовательности полипептидов CDR1, CDR2 и CDR3, родственные группам, показанным в табл. 4, см. выше. В ряде вариантов осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент, включающий полипептид V_H , специфически или предпочтительно связывается с Sp35.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение предусматривает выделенный полипептид, включающий, в основном состоящий или состоящий из вариательной области тяжелой цепи иммуноглобулина (V_H), в которой участки CDR1, CDR2 и CDR3 имеют последовательности полипептида, которые идентичны группам CDR1, CDR2 и CDR3, показанным в табл. 4. В ряде вариантов осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент, включающий полипептид V_H , специфически или предпочтительно связывается с Sp35.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение предусматривает выделенный полипептид, включающий, в основном состоящий или состоящий из вариательной области тяжелой цепи иммуноглобулина (V_H), где по меньшей мере один из CDRs вариательной области тяжелой цепи или по меньшей мере два из CDRs вариательной области тяжелой цепи по меньшей мере на 80, 85, 90, 95 или 100% идентичны эталонной последовательности аминокислот CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, выбранной из

группы, состоящей из последовательности аминокислот CDR1, CDR2 и CDR3 V_H тяжелой цепи иммуноглобулина, продуцируемой гибридомой 2.P3B5.2 (ATCC Номер депозита РТА-8106) последовательности аминокислот CDR1, CDR2 и CDR3 V_H тяжелой цепи иммуноглобулина, продуцируемой гибридомой 7.P1D5.1.G9 (ATCC Номер депозита РТА-8107).

В следующем варианте осуществления настоящее изобретение включает выделенный полипептид включающий, в основном состоящий или состоящий из полипептида V_H , по меньшей мере на 80, 85, 90, 95 или 100% идентичный эталонной последовательности полипептида V_H , выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 158-172, 372, 376, 380, 384, 416 и 433, как показано в табл. 6, и SEQ ID NO: 435. В ряде вариантов осуществления антитело или антиген связывающий фрагмент, включающий полипептид V_H , специфически или предпочтительно связывается с Sp35.

В другом аспекте настоящее изобретение включает выделенный полипептид, включающий, в основном состоящий или состоящий из полипептида V_H , выбранного из группы, состоящей из SEQ ID NO: 158-172, 372, 376, 380, 384, 416 и 433, как показано в табл. 6, и SEQ ID NO: 435. В ряде вариантов осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент, включающий полипептид V_H , специфически или предпочтительно связывается с Sp35.

В следующем варианте осуществления настоящее изобретение включает выделенный полипептид, включающий, в основном состоящий или состоящий из полипептида V_H , по меньшей мере на 80, 85, 90, 95 или 100% идентичного эталонной последовательности полипептида V_H , выбранного из группы, состоящей из тяжелой цепи иммуноглобулина, продуцируемой гибридомой 2.P3B5.2 (ATCC Номер депозита РТА-8106), и тяжелой цепи иммуноглобулина, продуцируемой гибридомой 7.P1D5.1.G9 (ATCC Номер депозита РТА-8107).

В ряде вариантов осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, включающий, в основном состоящий или состоящий из одного или более вышеописанных полипептидов V_H , специфически или предпочтительно связывается с тем же эпитопом, что моноклональное антитело, выбранное из группы, состоящей из 201', 3A3, 3A6, 1A7, 1G7, 2B10, 2C11, 2F3, 3P1D10.2C3, 3P1E11.3B7, 3P2C6.3G10.2H7, 3P2C9.2G4, 3P4A6.1D9, 3P4A1.2B9, 3P4C2.2D2, 3P4C5.1D8, 3P4C8.2G9, 30-C12 (Li01), 38-D01 (Li02), 35-E04 (Li03), 36-C09 (Li04), 30-A11 (Li05), 34-F02 (Li06), 29-E07 (Li07), 34-G04 (Li08), 36-A12 (Li09), 28-D02 (Li10), 30-B01 (Li11), 34-B03 (Li12), Li13, Li32, Li33, Li34, 3383 (L1a.1), 3495 (L1a.2), 3563 (L1a.3), 3564 (L1a.4), 3565 (L1a.5), 3566 (L1a.6), 3567 (L1a.7), 3568 (L1a.8), 3569 (L1a.9), 3570 (L1a.10), 3571 (L1a.11), 3582 (L1a.12), 1968 (L1a.13), 7P1D5.1G9, 3B5.2 и Li81, или будет конкурентно ингибировать связывание данного моноклонального антитела с Sp35.

В ряде вариантов осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, включающий, в основном состоящий или состоящий из одного или более их вышеописанных полипептидов V_H , специфически или предпочтительно связывается с полипептидом Sp35 или его фрагментом или вариантом полипептида Sp35 с аффинностью, характеризующейся константой диссоциации (K_D) не больше чем 5×10^{-2} M, 10^{-2} M, 5×10^{-3} M, 10^{-3} M, 5×10^{-4} M, 10^{-4} M, 5×10^{-5} M, 10^{-5} M, 5×10^{-6} M, 10^{-6} M, 5×10^{-7} M, 10^{-7} M, 5×10^{-8} M, 10^{-8} M, 5×10^{-9} M, 10^{-9} M, 5×10^{-10} M, 10^{-10} M, 5×10^{-11} M, 10^{-11} M, 5×10^{-12} M, 10^{-12} M, 5×10^{-13} M, 10^{-13} M, 5×10^{-14} M, 10^{-14} M, 5×10^{-15} M или 10^{-15} M.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение предусматривает выделенный полипептид включающий, в основном состоящий или состоящий из вариабельной области легкой цепи иммуноглобулина (V_L), где по меньшей мере один из CDRs вариабельной области легкой цепи или по меньшей мере два из CDRs вариабельной области легкой цепи по меньшей мере на 80, 85, 90 или 95% идентичны эталонным последовательностям аминокислот CDR1, CDR2 или CDR3 легкой цепи из моноклональных антител к Sp35, описанных в данном контексте. Альтернативно участки CDR1, CDR2 и CDR3 V_L по меньшей мере на 80, 85, 90 или 95% идентичны эталонным последовательностям аминокислот CDR1, CDR2 или CDR3 легкой цепи из моноклональных антител к Sp35, описанных в данном контексте. Таким образом, согласно данному варианту осуществления вариабельная область легкой цепи, соответствующая изобретению, имеет последовательности полипептидов CDR1, CDR2 и CDR3, родственные полипептидам, показанным в табл. 5, см. выше. В ряде вариантов осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент, включающий полипептид V_L , специфически или предпочтительно связывается с Sp35.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение предусматривает выделенный полипептид, включающий, в основном состоящий или состоящий из вариабельной области легкой цепи иммуноглобулина (V_L), в которой участки CDR1, CDR2 и CDR3 имеют последовательности полипептида, которые идентичны группам CDR1, CDR2 и CDR3, показанным в табл. 5. В ряде вариантов осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент, включающий полипептид V_L , специфически или предпочтительно связывается с Sp35.

В одном варианте осуществления, настоящее изобретение предусматривает выделенный полипептид, включающий, в основном состоящий или состоящий из вариабельной области легкой цепи иммуноглобулина (V_L), где по меньшей мере один из CDRs вариабельной области легкой цепи или по меньшей мере два из CDRs вариабельной области легкой цепи по меньшей мере на 80, 85, 90, 95 или 100%

идентичны эталонным последовательностям аминокислот CDR1, CDR2 или CDR3 легкой цепи иммуноглобулина, выбранным из группы, состоящей из последовательностей аминокислот CDR1, CDR2 и CDR3 V_L легкой цепи иммуноглобулина, продуцируемых гибридомой 2.P3B5.2 (ATCC Номер депозита РТА-8106) и последовательностей аминокислот CDR1, CDR2 или CDR3 легкой цепи иммуноглобулина, продуцируемых гибридомой 7.P1D5.1.G9 (ATCC Номер депозита РТА-8107).

В следующем варианте осуществления настоящее изобретение включает выделенный полипептид, включающий, в основном состоящий или состоящий из полипептида V_L, по меньшей мере на 80, 85, 90 или 95% идентично эталонной последовательности полипептида V_L, выбранного из группы, состоящей из SEQ ID NO: 273-286, 373, 377, 381, 385, 417 и 434, показанных в табл. 8. В ряде вариантов осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент, включающий полипептид V_L, специфически или предпочтительно связывается с Sp35.

В другом аспекте настоящее изобретение включает выделенный полипептид включающий, в основном состоящий или состоящий из полипептида V_L, выбранного из группы, состоящей из SEQ ID NO: 273-286, 373, 377, 381, 385, 417 и 434, показанных в табл. 8. В ряде вариантов осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент, включающий полипептид V_L, специфически или предпочтительно связывается с Sp35.

В следующем варианте осуществления настоящее изобретение включает выделенный полипептид, включающий, в основном состоящий или состоящий из полипептида V_L, по меньшей мере на 80, 85, 90, 95 или 100% идентично эталонной последовательности полипептида V_L, выбранного из группы, состоящей из легкой цепи V_L иммуноглобулина, продуцируемой гибридомой 2.P3B5.2 (ATCC Номер депозита РТА-8106) и легкой цепи V_L иммуноглобулина, продуцируемой гибридомой 7.P1D5.1.G9 (ATCC Номер депозита РТА-8107).

В ряде вариантов осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, включающий, состоящий в основном из одного или более из вышеописанных полипептидов V_L, специфически или предпочтительно связывается с тем же эпитопом, что моноклональное антитело, выбранное из группы, состоящей из 201', 3A3, 3A6, 1A7, 1G7, 2B10, 2C11, 2F3, 3P1D10.2C3, 3P1E11.3B7, 3P2C6.3G10.2H7, 3P2C9.2G4, 3P4A6.1D9, 3P4A1.2B9, 3P4C2.2D2, 3P4C5.1D8, 3P4C8.2G9, 30-C12 (Li01), 38-D01 (Li02), 35-E04 (Li03), 36-C09 (Li04), 30-A11 (Li05), 34-F02 (Li06), 29-E07 (Li07), 34-G04 (Li08), 36-A12 (Li09), 28-D02 (Li10), 30-B01 (Li11), 34-B03 (Li12), Li13, Li32, Li33, Li34, 3383 (L1a.1), 3495(L1a.2), 3563 (L1a.3), 3564 (L1a.4), 3565 (L1a.5), 3566 (L1a.6), 3567 (L1a.7), 3568 (L1a.8), 3569 (L1a.9), 3570 (L1a.10), 3571 (L1a.11), 3582 (L1a.12), 1968 (L1a.13), 7P1D5.1G9, 3B5.2 и Li81, или будет конкурентно ингибировать связывание данного моноклонального антитела с Sp35.

В ряде вариантов осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, включающий, в основном состоящий или состоящий из одного или более их вышеописанных полипептидов V_L, специфически или предпочтительно связывается с полипептидом Sp35 или его фрагментом или вариантом полипептида Sp35 с аффинностью, характеризующейся константой диссоциации (K_D) не больше чем 5×10⁻² M, 10⁻² M, 5×10⁻³ M, 10⁻³ M, 5×10⁻⁴ M, 10⁻⁴ M, 5×10⁻⁵ M, 10⁻⁵ M, 5×10⁻⁶ M, 10⁻⁶ M, 5×10⁻⁷ M, 10⁻⁷ M, 5×10⁻⁸ M, 10⁻⁸ M, 5×10⁻⁹ M, 10⁻⁹ M, 5×10⁻¹⁰ M, 10⁻¹⁰ M, 5×10⁻¹¹ M, 10⁻¹¹ M, 5×10⁻¹² M, 10⁻¹² M, 5×10⁻¹³ M, 10⁻¹³ M, 5×10⁻¹⁴ M, 10⁻¹⁴ M, 5×10⁻¹⁵ M или 10⁻¹⁵ M.

В других вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включает, в основном состоит или состоит из полипептида V_H, как показано в табл. 6, и полипептида V_L, как показано в табл. 8, выбранных из группы, состоящей из:

- i) SEQ ID NO: 170 и SEQ ID NO: 283;
- ii) SEQ ID NO: 171 и SEQ ID NO: 284;
- iii) SEQ ID NO: 172 и SEQ ID NO: 285;
- iv) SEQ ID NO: 172 и SEQ ID NO: 286;
- v) SEQ ID NO: 158 и SEQ ID NO: 273;
- vi) SEQ ID NO: 159 и SEQ ID NO: 274;
- vii) SEQ ID NO: 160 и SEQ ID NO: 275;
- viii) SEQ ID NO: 161 и SEQ ID NO: 276;
- ix) SEQ ID NO: 163 и SEQ ID NO: 277;
- x) SEQ ID NO: 164 и SEQ ID NO: 278;
- xi) SEQ ID NO: 165 и SEQ ID NO: 279;
- xii) SEQ ID NO: 166 и SEQ ID NO: 280;
- xiii) SEQ ID NO: 167 и SEQ ID NO: 281;
- xiv) SEQ ID NO: 168 и SEQ ID NO: 282;
- xv) SEQ ID NO: 372 и SEQ ID NO: 373;
- xvi) SEQ ID NO: 376 и SEQ ID NO: 377;
- xvii) SEQ ID NO: 380 и SEQ ID NO: 381;
- xviii) SEQ ID NO: 384 и SEQ ID NO: 385;
- xix) SEQ ID NO: 416 и SEQ ID NO: 417;

xx) SEQ ID NO: 433 и SEQ ID NO: 434;

xxi) SEQ ID NO: 435 и SEQ ID NO: 434.

В других вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включает, в основном состоит или состоит из полипептида V_H и полипептида V_L , выбранных из группы, состоящей из полипептида V_H и полипептида V_L , продуцируемых гибридомой 2.P3B5.2 (ATCC Номер депозита РТА-8106), полипептида V_H и полипептида V_L , продуцируемых гибридомой 7.P1D5.1.G9 (ATCC Номер депозита РТА-8107).

Любой из вышеописанных полипептидов может далее включать дополнительные полипептиды, например, сигнальный пептид, чтобы направлять секрецию кодируемого полипептида, константные области антитела, как описано в данном контексте, или другие гетерологичные полипептиды, как описано в данном контексте.

Дополнительно полипептиды, соответствующие изобретению, включают фрагменты полипептида, как описано в других разделах. Дополнительно полипептиды, соответствующие изобретению, включают слитый полипептид, фрагменты Fab и другие производные, как описано в данном контексте.

Кроме того, как описано более подробно в других разделах данного материала, настоящее изобретение включает композиции, содержащие вышеописанные полипептиды.

Обычный специалист в области техники будет также иметь в виду, что полипептиды антител к Sp35, как описано в данном контексте, могут быть модифицированы, так что они отличаются по последовательности аминокислот от природного связывающего полипептида, из которого они получены. Например, полипептид или последовательность аминокислот, выделенные из обозначенного белка, могут быть близки, например, иметь определенный процент идентичности с исходной последовательностью, например, она может быть на 60, 70, 75, 80, 85, 90 или 95% идентичной исходной последовательности.

Более того, могут быть проведены замены, деления или инерции аминокислот, приводящие к консервативным заменам или изменениям на "неосновных" участках аминокислот. Например, полипептид или последовательность аминокислот, выделенная из обозначенного белка, может быть идентичной исходной последовательности за исключением одной или более замен, инсерций или делеций отдельных аминокислот, например, одной, двух, трех, четырех, пяти, шести, семи, восьми, девяти, десяти, пятнадцати, двадцати или более замен, инсерций или делеций отдельных аминокислот. В ряде вариантов осуществления полипептид или последовательность аминокислот, выделенная из обозначенного белка, имеет от одной до пяти, от одной до десяти, от одной до пятнадцати или от одной до двадцати замен, инсерций или делеций отдельных аминокислот относительно исходной последовательности.

Некоторые полипептиды антител к Sp35, соответствующие настоящему изобретению, включают, в основном состоят или состоят из последовательности аминокислот, выделенной из человеческого последовательности аминокислот. Однако некоторые полипептиды антитела к Sp35 включают одну или более следующих друг за другом аминокислот, выделенных у другого вида млекопитающих. Например, антитело к Sp35, соответствующее настоящему изобретению, может включать часть тяжелой цепи, шарнирную часть или антигенсвязывающий участок приматов. В другом примере одна или более выделенных у мышей аминокислот могут присутствовать в полипептиде немышинного антитела, например, в антигенсвязывающем центре антитела к Sp35. В ряде терапевтических приложений разработаны Sp35-специфические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты или аналоги, чтобы они не были иммуногенными у животного, которому вводят антитело.

В ряде вариантов осуществления полипептид антитела к Sp35 включает последовательность аминокислот или одну или более групп, не связанных с антителом. Примеры модификаций детально описаны ниже. Например, одноцепочечный фрагмент антитела fv, соответствующий изобретению, может включать последовательность гибкого линкера или может быть модифицирован введением функциональной группы (например, ПЭГ (полиэтиленгликоля), лекарственного препарата, токсина или метки).

Полипептид антитела к Sp35, соответствующий изобретению может включать, в основном состоять или состоять из слитого белка. Слитые белки представляют собой химерные молекулы, которые включают, например, антигенсвязывающий домен иммуноглобулина с по меньшей мере одним центром связывания мишени и по меньшей мере одну гетерологичную часть, т.е. часть, с которой он не связан естественным образом в природных условиях. Последовательности аминокислот могут в норме находиться в отдельных белках, которые помещают вместе в слитом полипептиде или они могут в норме находиться в том же белке, но их помещают в новом расположении в слитом полипептиде. Слитые белки можно получить, например, путем химического синтеза или путем создания и трансляции полинуклеотида, в котором участки пептида кодируются в требуемой связи.

Термин "гетерологичный", как применяют в отношении полинуклеотида или полипептида, означает, что полинуклеотид или полипептид выделен из элемента, отличного от остальных элементов, с которыми его сравнивают. Например, как используют в данном контексте, "гетерологичный полипептид", предназначенный для слияния с антителом к Sp35 или его антигенсвязывающим фрагментом, вариантом или аналогом, выделяют из неиммуноглобулинового полипептида того же вида или иммуноглобулинового либо неиммуноглобулинового полипептида другого вида.

"Консервативная замена аминокислоты" представляет собой замену, в которой остаток аминокис-

лоты заменяют остатком аминокислоты, имеющим подобную боковую цепь. Семейства остатков аминокислот, имеющих подобные боковые цепи, определены в области техники, включая основные боковые цепи (например, лизин, аргинин, гистидин), кислотные боковые цепи (например, аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота), незаряженные полярные боковые цепи (например, глицин, аспарагин, глутамин, серин, треонин, тирозин, цистеин), неполярные боковые цепи (например, аланин, валин, лейцин, изолейцин, пролин, фенилаланин, метионин, триптофан), бета-разветвленные боковые цепи (например, треонин, валин, изолейцин) и ароматические боковые цепи (например, тирозин, фенилаланин, триптофан, гистидин). Таким образом предпочтительно, когда остаток неосновной аминокислоты в полипептиде иммуноглобулина заменяют остатком другой аминокислоты из того же семейства боковых цепей. В другом варианте осуществления цепь аминокислоты может быть заменена структурно близкой цепью, которая отличается порядком и/или композицией членов семейства боковых цепей.

Альтернативно в другом варианте осуществления могут быть случайным образом интродуцированы мутации по всей или части последовательности, кодирующей иммуноглобулин, например путем нацеленного мутагенеза, и полученные в результате мутанты могут быть введены в антитела к Sp35, предназначенные для использования в способах диагностики и лечения, описанные в данном контексте, и подвергнуты скринингу на способность связывать требуемый антиген, например, Sp35.

VI. Слитые белки и конъюгаты антител.

Как обсуждают более подробно в других разделах данного материала, антитела к Sp35, или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты или производные, соответствующие изобретению, можно далее рекомбинантным образом слить с гетерологичным полипептидом по N- или C-концу или химическим путем конъюгировать (включая ковалентные и нековалентные конъюгирования) с полипептидами или другими композициями. Например, Sp35-специфические антитела к Sp35 могут быть рекомбинантным образом слиты или конъюгированы с молекулами, используемыми в качестве меток в анализах детекции, и эффекторными молекулами, такими как гетерологичные полипептиды, лекарственные препараты, радионуклиды или токсины. См., например, публикации PCT WO 92/08495; WO 91/14438; WO 89/12624; патент США № 5314995 и EP 396387, которые включены в данном контексте в виде ссылки в своей полноте.

Антитела к Sp35 или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты или производные, соответствующие изобретению, включают производные, которые модифицированы, т.е. путем ковалентного присоединения любого типа молекулы к антителу, так что данное ковалентное присоединение не препятствует связыванию антитела с Sp35. Например, но не путем ограничения, производные антитела включают антитела, которые модифицированы, например, гликозилированием, ацетилизацией, пегилированием, фосфорилированием, амидированием, дериватизацией с помощью известных защитных/блокирующих групп, протеолитическим расщеплением, связью с клеточным лигандом или другим белком и т.п. Любая из многочисленных химических модификаций может быть осуществлена известными способами, включая, но без ограничения перечисленным, специфическое химическое расщепление, ацетилирование, формилирование, метаболический синтез туникамина и т.п. Кроме того, производное может включать одну или более неклассических аминокислот.

Антитела к Sp35 или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты или производные, соответствующие изобретению, могут состоять из аминокислот, связанных друг с другом пептидными связями или модифицированными пептидными связями, т.е. пептидных изостеров, и могут включать аминокислоты, отличные от 20 кодируемых генами аминокислот. Sp35-специфические антитела можно модифицировать посредством естественных процессов, таких как посттрансляционный процессинг или химическими способами модификации, которые хорошо известны в области техники. Данные модификации хорошо описаны в основных руководствах и более подробных монографиях, а также в обширной исследовательской литературе. Модификации могут находиться в какой-либо части Sp35-специфического антитела, включая пептидный скелет, боковые цепи аминокислот и амино- или карбоксильные концы или на группах, таких как углеводы. Следует иметь в виду, что один и тот же тип модификации может присутствовать в одних и тех же или варьирующих степенях в нескольких центрах в заданном Sp35-специфическом антителе. Кроме того, заданное Sp35-специфическое антитело может включать многие типы модификаций. Sp35-специфические антитела могут быть разветвленными, например, в результате убиквитинирования, и могут быть циклическим с разветвлением или без него. Циклические, разветвленные или разветвленные циклические Sp35-специфические антитела могут быть результатом посттрансляционных естественных процессов или могут быть получены способами синтеза. Модификации включают ацетилирование, ацилирование, АДФ-рибозилирование, амидирование, ковалентное присоединение флавина, ковалентное присоединение группы гема, ковалентное присоединение нуклеотида или нуклеотидного производного, ковалентное присоединение липида или производного липида, ковалентное присоединение фосфатидилинозита, поперечное сшивание, циклизацию, образование дисульфидной связи, деметилирование, образование ковалентных перекрестных сшивок, образование цистеина, образование пироглутамата, формилирование, гамма-карбоксилирование, гликозилирование, образование GPI-якоря, гидроксилирование, йодирование, метилирование, миристоилирование, окисление, пегилирование, протеолитическое процессирование, фосфорилирование, пренилирование, рацемизацию, селеноилирова-

ние, сульфатирование, опосредованное переносом РНК введение аминокислот в белки, такое как аргинилирование и убиквитинирование. (См., например, монографии *Proteins - Structure And Molecular Properties* (Белки - структура и молекулярные свойства), Т. Е. Creighton, W. H. Freeman and Company, New York, 2 изд., (1993); *Posttranslational Covalent Modification Of Proteins* (Посттрансляционная ковалентная модификация белков), под ред. В. С. Johnson, Academic Press, New York, стр. 1-12 (1983); статьи Seifter et al., *Meth Enzymol* 182:626-646 (1990); Rattan et al., *Ann NY Acad Sci* 663:48-62 (1992)).

Настоящее изобретение предусматривает также слитые, включающие антитело к Sp35 или его антигенсвязывающий фрагмент, вариант или производное и гетерологичный полипептид. Гетерологичный полипептид, с которым слито антитело, может быть использован для действия или эффективен для получения направленности на клетки, экспрессирующие полипептид Sp35. В одном варианте осуществления слитый белок, соответствующий изобретению, включает, состоит в основном или состоит из полипептида, имеющего последовательность аминокислот любой одной или более из областей V_H антитела, соответствующего изобретению, или последовательности аминокислот любой одной или более областей V_L антитела, соответствующего изобретению, или его фрагментам либо вариантам, и последовательности гетерологичного полипептида. В другом варианте осуществления слитый белок, предназначенный для использования в способах диагностики и лечения, описанных в данном контексте, включает, состоит в основном или состоит из полипептида, имеющего последовательность аминокислот любых одного, двух, трех из CDRs V_H Sp35-специфического антитела или его фрагментов, вариантов или производных или последовательность аминокислот любых одного, двух, трех из CDRs V_L Sp35-специфического антитела или его фрагментов, вариантов или производных последовательности гетерологичного полипептида. В одном варианте осуществления слитый белок включает полипептид, имеющий последовательность аминокислот CDR3 V_H Sp35-специфического антитела, соответствующего настоящему изобретению, или его фрагмент, производное или вариант и последовательность гетерологичного полипептида, причем слитый белок специфически связывается с по меньшей мере одним эпитопом Sp35. В другом варианте осуществления слитый белок включает полипептид, имеющий последовательность аминокислот по меньшей мере одного участка V_H Sp35-специфического антитела, соответствующего изобретению, и последовательность аминокислот по меньшей мере одного участка V_L Sp35-специфического антитела, соответствующего изобретению, или его фрагменты, производные или варианты и последовательность гетерологичного полипептида. Предпочтительно, когда участки V_H и V_L слитого белка соответствуют антителу из одного источника (или фрагменту scFv либо Fab), который специфически связывает по меньшей мере один эпитоп Sp35. В еще одном варианте осуществления слитый, предназначенный для использования в способах диагностики и лечения, описанных в данном контексте, включает полипептид, имеющий последовательность аминокислот любых одного, двух, трех из CDRs V_H Sp35-специфического антитела и последовательность аминокислот любых одного, двух, трех из CDRs V_L Sp35-специфического антитела или его фрагментов, вариантов или производных и последовательность гетерологичного полипептида. Предпочтительно, когда два, три, четыре, пять, шесть или более из V_H CDR(s) или V_L CDR(s) соответствуют антителу, полученному из одного источника (или фрагменту scFv либо Fab), соответствующим изобретению. Изобретение охватывает также молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие данные слитые белки.

Примеры слитых белков, описанные в литературе, включают слияния Т-клеточного рецептора (см. статью Gascoigne et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 54:2936-2940 (1987)); CD4 (см. статьи Capon et al., *Nature* 357:525-531 (1989); Traunecker et al., *Nature* 339:68-70 (1989); Zettmeissl et al., *DNA Cell Biol. USA* 9:347-353 (1990) и Byrn et al., *Nature* 344:667-670 (1990)); L-селектина (хоуминг-рецептора) (см. статьи Watson et al., *J. Cell. Biol.* 110:2221-2229 (1990) и Watson et al., *Nature* 349:164-167 (1991)); CD44 (см. статью Aruffo et al., *Cell* 67:1303-1313 (1990)); CD28 и B7 (см. статью Linsley et al., *J. Exp. Med.* 173:721-730 (1991)); CTLA-4 (см. статью Linsley et al., *J. Exp. Med.* 174:561-569 (1991)); CD22 (см. статью Stamenkovic et al., *Cell* 66:1133-1144 (1991)); Рецептора ФНО (фактора некроза опухоли) (см. статьи Ashkenazi et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 55:10535-10539 (1991); Lesslauer et al., *Eur. J. Immunol.* 27:2883-2886 (1991) и Peppel et al., *J. Exp. Med.* 774:1483-1489 (1991)) и рецептора α IgE (см. статью Ridgway and Gorman, *J. Cell. Biol. Vol.* 115, реферат № 1448 (1991)).

В ряде вариантов осуществления антитела к Sp35, фрагменты антитела, их производные и варианты далее включают направленную группу. Направленные группы включают белок или пептид, который направляет локализацию в определенной части тела, например, в головном мозге или его отделах. В ряде вариантов осуществления антитела к Sp35, фрагменты антитела, их производные и варианты присоединены или слиты с группой, направленной на головной мозг. Группы, направленные на головной мозг, присоединяют ковалентно (например, путем прямого трансляционного слияния или посредством химической связи, либо прямой, либо через спейсерную молекулу, которые необязательно может быть расщепляемой) или присоединяют ковалентно (например, посредством обратимых взаимодействий, таких как авидин, биотин, белок А, IgG, и т.п.). В других вариантах осуществления антитела к Sp35, фрагменты антитела, их производные и варианты присоединяют к одной или более групп, направленных на головной мозг. В дополнительных вариантах осуществления группы, направленную на головной мозг, присоединяют к множеству антител к Sp35, фрагментов антитела, их производным и вариантам.

Группа, направленная на головной мозг, связанная с антителом к Sp35, фрагментом антитела, его производным или вариантом, усиливает доставку в головной мозг данных антител к Sp35, фрагментов антитела, его производных и вариантов. Описан ряд полипептидов, которые при слиянии с белком или терапевтическим агентом доставляют белок или терапевтический агент через гематоэнцефалический барьер (BBB). Неограничивающие примеры включают однодоменное антитело FC5 (см. статью Abulrob et al. (2005) *J. Neurochem.* 95, 1201-1214); mAB 83-14, а моноклональное антитело к человеческому инсулиновому рецептору (см. статью Pardridge et al. (1995) *Pharmacol. Res.* 12, 807-816); пептиды B2, B6 и B8, связывающие человеческий трансферриновый рецептор (hTfR) (см. статью Xia et al. (2000) *J. Virol.* 74, 11359-11366); моноклональное антитело 0X26 к трансферриновому рецептору (см. статью Pardridge et al. (1991) *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 259, 66-70) и SEQ ID NO: 1-18 из патента США № 6306365. Содержание вышеприведенных материалов включено в данном контексте в виде ссылки в их полноте.

Повышенный уровень доставки в головной мозг антитела к Sp35, фрагмента антитела, его производного или варианта определяют рядом средств, хорошо разработанных в области техники. Например, введение животному радиоактивно, ферментно или флуоресцентно меченного антитела к Sp35, фрагмента антитела, его производного и вариант, связанного с группой, направленной на головной мозг; определение локализации в головном мозге и сравнение локализации с эквивалентным радиоактивно, ферментно или флуоресцентно меченным антителом к Sp35, фрагментом антитела, его производным или вариантом, которые не связаны с группой, направленной на головной мозг. Другие средства определения повышенной направленности описаны в вышеуказанных ссылках.

Как обсуждают в других разделах данного материала, антитела к Sp35, или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты или производные, соответствующие изобретению, могут быть связаны с гетерологичными полипептидами для повышения полупериода существования *in vivo* полипептидов или для использования в иммуноанализах с помощью способов, известных в области техники. Например, в одном варианте осуществления, ПЭГ можно конъюгировать с антителами к Sp35, соответствующими изобретению, для увеличения из полупериодов существования *in vivo*. См. статьи Leong, S.R., et al., *Cytokine* 76:106 (2001); *Adv. in Drug Deliv. Rev.* 54:531 (2002); или Weir et al., *Biochem. Soc. Transactions* 30:512 (2002).

Более того, антитела к Sp35 или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты или производные, соответствующие изобретению, можно слить с маркерными последовательностями, такими как пептид, для облегчения их очистки или детекции. В предпочтительных вариантах осуществления маркерная последовательность аминокислот представляет собой гексагистиридиновый пептид, такой как метка, предусматриваемая в векторе pQE (QIAGEN, Inc., 9259 Eton Avenue, Chatsworth, Calif., 91311), в числе прочих, многие из которых коммерчески доступны. Как описано, например, в статье Gentz et al., *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 5(5):821-824 (1989), гексагистидин обеспечивает удобную очистку слитого белка. Другие пептидные метки, используемые для очистки, включают, но без ограничения перечисленным, метку "HA", которая соответствует эпитопу, выделенному из белка гемагглютинина гриппа (см. статью Wilson et al., *Cell* 37:767 (1984)) и метку "flag".

Слитые белки можно получить при использовании способов, которые хорошо известны в области техники (см., например патенты США № 5116964 и 5225538). Точный центр, в котором делают слияние, можно выбрать эмпирически для оптимизации секреции и характеристики связывания слитого белка. ДНК, кодирующей слитый белок, затем трансфицируют клетку-хозяин для экспрессии.

Антитела к Sp35 или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты или производные, соответствующие настоящему изобретению, можно использовать в неконъюгированной форме или можно конъюгировать по меньшей мере с одной из множества молекул, например, для улучшения терапевтических свойств молекулы, для того, чтобы способствовать направленной детекции или для визуализации или лечения пациента. Антитела к Sp35, или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты или производные, соответствующие изобретению, можно пометить или конъюгировать до или после очистки, когда проводят очистку.

В частности, антитела к Sp35 или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты или производные, соответствующие изобретению, можно конъюгировать с терапевтическими агентами, пролекарственными формами, пептидами, белками, ферментами, вирусами, липидами, модификаторами биологического ответа, фармацевтическими агентами или ПЭГ.

Компетентные специалисты в области техники будут иметь в виду, что конъюгаты можно также собрать с использованием многочисленных способов в зависимости от выбранного для конъюгирования агента. Например, конъюгаты с биотином получают, например, посредством реакции связывающего полипептида с активированным сложным эфиром биотина, таким как сложный N-гидроксисукцинимидный эфир биотина. Аналогично конъюгаты с флуоресцентным маркером можно получить в присутствии связывающего агента, например, тех, которые перечислены в данном контексте, или путем реакции с изотиоцианатом, предпочтительно флуоресцеин-изотиоцианатом. Конъюгаты антител к Sp35 или их антигенсвязывающих фрагментов, вариантов или производных, соответствующие изобретению, получают аналогичным образом.

Настоящее изобретение далее охватывает антитела к Sp35 или их антигенсвязывающие фрагменты,

варианты или производные, соответствующие изобретению, конъюгированные с диагностическим или лечебным фактором. Антитела к Sp35 можно использовать диагностически, например, для мониторинга развития или прогресса неврологического заболевания как части способа клинического тестирования, например, с целью определения эффективности заданной схемы лечения и/или предупреждения. Детекцию можно облегчить путем связывания антитела к Sp35 или его антигенсвязывающего фрагмента, варианта или производного с определяемой субстанцией. Примеры определяемых субстанций включают различные ферменты, простетические группы, флуоресцентные материалы, люминесцентные материалы, биолюминесцентные материалы, радиоактивные материалы, испускающие позитрон металлы для использования в различных способах томографии с эмиссией позитрона и нерадиоактивные парамагнитные ионы металлов. См., например, патент США № 4741900 в плане ионов металлов, которые можно конъюгировать с антителами для использования в качестве диагностических агентов, соответствующих настоящему изобретению. Примеры подходящих ферментов включают пероксидазу хрена, щелочную фосфатазу, бета-галактозидазу или ацетилхолинэстеразу; примеры подходящих комплексов простетических групп включают стрептавидин/биотин и авидин/биотин; примеры подходящих флуоресцентных материалов включают умбеллиферон, флуоресцеин, флуоресцеин изотиоцианат, родамин, дихлортриазиниламин флуоресцеин, дансилхлорид или фикоэритрин; пример люминесцентного материала включает люминол; примеры биолюминесцентных материалов включают люциферазу, люциферин и экворин и примеры подходящего радиоактивного материала включают ^{125}I , ^{131}I , ^{111}In или ^{99}Tc .

Антитело к Sp35 или его антигенсвязывающий фрагмент, вариант или производное могут быть также определяемо помечены связыванием их с хемилюминесцентным соединением. Затем присутствие хемилюминесцентно меченного антитела к Sp35 определяют по детекции присутствия люминесценции, которая появляется во время химической реакции. Примерами особенно эффективных хемилюминесцентно метящих соединений являются люминол, изолюминол, тероматический сложный эфир акридиния, имидазол, соль акридиния и сложный оксалатный эфир.

Одним из путей, которым антитело к Sp35 или его антигенсвязывающий фрагмент, вариант или производное можно определяемо пометить, является связывание его с ферментом и использование связанного продукта в ферментном иммуноанализе (EIA) (см. работы Voller, A., "The Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)" (Иммуноферментный твердофазный анализ (ELISA), Microbiological Associates Quarterly Publication, Walkersville, Md., Diagnostic Horizons 2:1-7 (1978)); статьи Voller et al., J. Clin. Pathol. 31:501-520 (1978); Butler, J. E., Meth. Enzymol. 73:482-523 (1981); монографию под ред. Maggio, E., Enzyme Immunoassay (Иммуноферментный анализ), CRC Press, Boca Raton, Fla., (1980); монографию под ред. Ishikawa, E. et al., Enzyme Immunoassay (Иммуноферментный анализ), Kaku Shoin, Tokyo (1981). Фермент, который связан с антителом к Sp35, будет реагировать с подходящим субстратом, предпочтительно хромогенным субстратом так, чтобы образовать химическую группу, которую можно определить, например, спектрометрическими, флуориметрическими или визуальными средствами. Ферменты, которые можно использовать для определяемого мечения антитела включают, но без ограничения перечисленным, малатдегидрогеназу, стафилококковую нуклеазу, дельта-5-стероид-изомеразу, алкогольдегидрогеназу дрожжей, альфа-глицерофосфатазу, дегидрогеназу, триозофосфатизомеразу, пероксидазу хрена, щелочную фосфатазу, аспарагиназу, глюкозооксидазу, бета-галактозидазу, рибонуклеазу, уреазу, каталазу, глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназу, глюкоамилазу и ацетилхолинэстеразу. Кроме того, детекцию можно осуществить колориметрическими способами, в которых используют хромогенный субстрат фермента. Детекцию можно также осуществить путем визуального сравнения степени ферментной реакции субстрата по сравнению с аналогично приготовленными стандартами.

Детекцию можно также осуществить, используя любой из многочисленных других иммуноанализов. Например, путем введения радиоактивной метки в антитело к Sp35 или его антигенсвязывающий фрагмент, вариант или производное возможно определить антитело при использовании радиоиммуноанализа (RIA) (см., например, монографию Weintraub, B., Principles of Radioimmunoassays, Seventh Training Course on Radioligand Assay Techniques, The Endocrine Society (Принципы радиоиммуноанализов, седьмой учебный курс по методам анализа радиолигандов, эндокринологическое общество) (март, 1986)), которая включена в виде ссылки в данном контексте). Радиоактивный изотоп можно определить с помощью средств, включающих, но без ограничения перечисленным, гамма-счетчик, сцинтилляционный счетчик или авторадиографию.

Антитело к Sp35 или его антигенсвязывающий фрагмент, вариант или производное можно также определяемо пометить с использованием металлов, испускающих флуоресценцию, таких как ^{152}Eu или других из группы лантанидов. Данные металлы можно присоединить в антителу с помощью таких металл-хелатирующих групп, как диэтилтриаминапентауксусная кислота (DTPA) или этилендиаминтетрауксусная кислота (EDTA).

Способы конъюгирования различных групп с антителом к Sp35 или его антигенсвязывающим фрагментом, вариантом или производным хорошо известны, см., например, раздел Arnon et al., "Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy" (Моноклональные Антитела для получения иммунонаправленности лекарственных препаратов в лечении рака), в монографии Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy (Моноклональные Антитела и лечение рака), под ред. Reisfeld et al., стр. 243-

56 (Alan R. Liss, Inc. (1985); раздел Hellstrom et al., "Antibodies For Drug Delivery" (Антитела для доставки лекарственных препаратов) в монографии *Controlled Drug Delivery* (Контролируемая доставка лекарственных препаратов) (2 изд.), под ред. Robinson et al., Marcel Dekker, Inc., стр. 623-53 (1987); раздел Thorpe, "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review" (Антитела-носители цитотоксических агентов в лечении рака. Обзор), в монографии *Monoclonal Antibodies'84: Biological And Clinical Applications* (Моноклональные Антитела'84: Биологическое и клиническое применение) под ред. Pinchera et al., стр. 475-506 (1985); раздел "Analysis, Results и Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Антитело in Cancer Therapy" (Анализ, результаты и будущие перспективы терапевтического применения антител с радиоактивной меткой в лечении рака), в монографии *Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy* (Моноклональные Антитела для выявления и лечения рака), под ред. Baldwin et al., Academic Press стр. 303-16 (1985) и статью Thorpe et al., "The Preparation And Cytotoxic Properties Of Antibody-Toxin Conjugates" (Получение и цитотоксические свойства конъюгатов антителотоксин), *Immunol. Rev.* (52:119-58 (1982).

VII. Экспрессия полипептидов антител.

Как хорошо известно, РНК можно выделить из исходных клеток гибридомы или из других трансформированных клеток стандартными способами, такими как экстракция гуанидинизотиоцианатом и осаждение с последующим центрифугированием или хроматографией. При необходимости мРНК можно выделить из общей РНК стандартными способами, такими как хроматография на олиго-dT-целлюлозе. Подходящие способы известны в области техники.

В одном варианте осуществления кДНК, которые кодируют легкие и тяжелые цепи антитела можно получить либо одновременно, либо раздельно, используя обратную транскриптазу и ДНК-полимеразу в соответствии с хорошо известными способами. ПЦР можно инициировать с помощью консенсусных константных областям праймеров или с помощью более специфических праймеров на основе опубликованных ДНК и последовательностей аминокислот тяжелой и легкой цепи. Как обсуждают выше, ПЦР можно также использовать для выделения клонов ДНК, кодирующих легкие и тяжелые цепи антитела. В данном случае можно провести скрининг библиотек с помощью консенсусных праймеров или более крупных гомологичных зондов, таких как зонды мышиной константной области.

ДНК, как правило, плазмидную ДНК, можно выделить из клеток с использованием способов, известных в области техники, провести рестрикционное картирование и секвенировать в соответствии со стандартными хорошо известными способами, приведенными в деталях, например, в предшествующих ссылках, относящихся к технологиям рекомбинантной ДНК. Конечно, ДНК может быть синтетической согласно настоящему изобретению на любой стадии процессы выделения или последующего анализа.

После манипуляций с выделенным генетическим материалом для получения антител к Sp35, или их антигенсвязывающих фрагментов, вариантов или производных, соответствующих изобретению, полинуклеотиды, кодирующие антитела к Sp35, как правило, вводят в экспрессирующий вектор для интро-дукции в клетки-хозяева, которые можно использовать для получения требуемого количества антитела к Sp35.

Для рекомбинантной экспрессии антитела или его фрагмента, производного или аналога, например, тяжелой или легкой цепи антитела, которое связывается с молекулой-мишенью, описанной в данном контексте, например, Sp35, требуется конструирование экспрессирующего вектора, включающего полинуклеотид, который кодирует антитело. После получения полинуклеотида, кодирующего молекулу антитела или тяжелую либо легкую цепь антитела или его encoding an антитело molecule or a heavy or light chain of an антитело или его части (предпочтительно включающей вариабельный домен тяжелой или легкой цепи), соответствующего изобретению, можно получить вектор для продукции молекулы антитела технологией рекомбинантной ДНК с использованием способов, хорошо известных в области техники. Так, способы получения белка путем экспрессии полинуклеотида, содержащего нуклеотидную последовательность, кодирующую антитело, описаны в данном контексте. Способы, которые хорошо известны компетентным специалистам в области техники, можно использовать для конструирования экспрессирующих векторов, содержащих последовательности, кодирующие антитело и соответствующие сигналы контроля транскрипции и трансляции. Данные способы включают, например, технологии рекомбинантной ДНК *in vitro*, способы синтеза и генетическую рекомбинацию *in vivo*. Изобретение, таким образом, предусматривает реплицирующиеся векторы, включающие нуклеотидную последовательность, кодирующую молекулу антитела, соответствующую изобретению, или ее тяжелую либо легкую цепь или вариабельный домен тяжелой либо легкой цепи, функционально связанную с промотором. Данные векторы могут включать нуклеотидную последовательность, кодирующую константную область молекулы антитела (см., например, публикацию PCT WO 86/05807; публикацию PCT WO 89/01036 и патент США № 5122464), и вариабельный домен антитела можно клонировать в данный вектор для экспрессии целой тяжелой или легкой цепи.

Клетку-хозяин можно сотрансфицировать двумя экспрессирующими векторами, соответствующими изобретению, первым вектором, кодирующим полипептид, выделенный из тяжелой цепи, и вторым вектором, кодирующим полипептид, выделенный из легкой цепи. Два вектора могут содержать идентичные селектируемые маркеры, которые делают возможной равную экспрессию полипептидов тяжелой и лег-

кой цепи. Альтернативно можно использовать один вектор, который кодирует полипептиды как тяжелой, так и легкой цепи. В данных случаях легкую цепь лучше помещать перед тяжелой цепью, чтобы избежать избытка нетоксичной тяжелой цепи (см. статьи Proudfoot, *Nature* 322:52 (1986); Kohler, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:2197 (1980)). Кодированные последовательности тяжелой и легкой цепей могут включать кДНК или геномную ДНК.

Термин "вектор" или "экспрессирующий вектор" используют в данном контексте для обозначения векторов, используемых в соответствии с настоящим изобретением в качестве носителя для интродукции и экспрессии требуемого гена в клетке-хозяине. Как известно компетентным специалистам в области техники, данные векторы можно легко выбрать из группы, состоящей из плазмид, фагов, вирусов и ретровирусов. Как правило, векторы, совместимые с данным изобретением, будут включать селекционный маркер, соответствующие сайты рестрикции для облегчения клонирования требуемого гена и способность входить и/или реплицироваться в эукариотических или прокариотических клетках.

В целях данного изобретения могут быть использованы многочисленные системы экспрессирующих векторов. Например, в одном классе векторов используют элементы ДНК, которые выделены из вирусов животных, таких как вирус папилломы крупного рогатого скота, вирус полиомы, аденовирус, вирус вакцинии, бакуловирус, ретровирусы (RSV, MMTV или MOMLV) либо вирус SV40. Другие включают использование полицистронных систем с внутренними сайтами связывания рибосом. Кроме того, клетки, в хромосомы которых интегрирована ДНК, можно селектировать путем интродукции одного или более маркеров, которые обеспечивают возможность селекции трансфицированных клеток-хозяев. Маркер может обеспечивать прототрофность ауксотрофному хозяину, устойчивость к биоцидам (например, антибиотикам) или устойчивость к тяжелым металлам, таким как медь. Ген селективируемого маркера может быть либо прямо связан с последовательностями ДНК, предназначенными для экспрессии, либо интродуцирован в ту же клетку посредством сотрансформации. Дополнительные элементы могут также потребоваться для оптимального синтеза мРНК. Данные элементы могут включать сигнальные последовательности, сплайс-сигналы, а также транскрипционные промоторы, энхансеры и сигналы терминирования.

В особенно предпочтительных вариантах осуществления клонированные гены вариабельной области вводят в экспрессирующий вектор вместе с генами константной области тяжелой и легкой цепи (предпочтительно человеческими), синтетическими, как обсуждают выше. В одном варианте осуществления это осуществляют при использовании патентованного экспрессирующего вектор фирмы Biogen IDEC, Inc., называемого NEOSPLA (см. патент США 6159730). Данный вектор включает промотор/энхансер цитомегаловируса, главный промотор мышинового бета-глобина, ориджин репликации SV40, последовательность полиаденилирования бычьего гормона роста, экзон 1 и экзон 2 неомифосфотрансферазы, ген и лидерную последовательность дигидрофолатредуктазы. Данный вектор, как обнаружено, приводит в результате к очень высокому уровню экспрессии антител при инкорпорации генов вариабельной и константной области, трансфекции клеток CHO с последующей селекцией на G418-содержащей среде и амплификации с метотрексатом. Конечно, любой экспрессирующий вектор, который способен вызвать экспрессию в эукариотических клетках, можно использовать в настоящем изобретении. Примеры подходящих векторов включают, но без ограничения перечисленным плазмиды pcDNA3, pHCMV/Zeo, pCR3.1, pEF1/His, pIND/GS, pRc/HCMV2, pSV40/Zeo2, pTRACER-HCMV, pUB6/V5-His, pVAX1 и pZeoSV2 (доступны в фирме Invitrogen, San Diego, CA) и плазмиду pCI (доступна в фирме Promega, Madison, WI). Как правило, скрининг среди большого количества трансформированных клеток тех, которые экспрессируют достаточно высокие уровни тяжелых и легких цепей иммуноглобулина, является рутинным экспериментированием, которое можно осуществить, например, в роботизированных системах. Векторные системы описаны также в патентах США № 5736137 и 5658570, каждый из которых включен в виде ссылки в своей полноте в данном контексте. Данная система обеспечивает высокие уровни экспрессии, например, > 30 пг/клетку/день. Другие примеры векторных систем раскрыты, например, в патенте США No 6413777.

В других предпочтительных вариантах осуществления антитела к Sp35 или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты или производные, соответствующие изобретению, можно экспрессировать с использованием полицистронных конструкций, таких как описанные в публикации патентной заявки США № 2003-0157641 A1, поданной 18 ноября 2002 г. и включенной в данном контексте в своей полноте. В данных новых системах экспрессии множество продуктов генов, представляющих интерес, таких как тяжелая и легкая цепи антител, можно получить из одной полицистронной конструкции. В данных системах преимущественно используют сайт внутреннего входа в рибосому (IRES) для получения относительно высоких уровней антител к Sp35, например, связывающих полипептидов, в частности, Sp35-специфических антител или их иммуноспецифических фрагментов, в эукариотических клетках-хозяевах. Совместимые последовательности IRES раскрыты в патенте США № 6193980, который также включен в данном контексте. Компетентные специалисты в области техники будут иметь в виду, что данные системы экспрессии можно использовать для эффективного получения полного круга антител к Sp35, раскрытых в данной заявке.

В более общих чертах после получения вектора или последовательности ДНК, кодирующей мономерную субъединицу антитела к Sp35, экспрессирующий вектор может быть интродуцирован в подхо-

дующую клетку-хозяин. Интродукцию плазмиды в клетку-хозяин можно осуществить различными способами, хорошо известными компетентным специалистам в области техники. Они включают, но без ограничения перечисленным, трансфекцию (включая электрофорез и электропорацию), слияние протопластов, осаждение фосфатом кальция, слияние клеток с покрытой оболочкой ДНК, микроинъекцию и инъекцию интактного вируса. См. раздел Ridgway, A. A. G. "Mammalian Expression vectors" (Экспрессирующие векторы млекопитающих) в монографии *Vectors* (Векторы) под ред. Rodriguez and Denhardt, Butterworths, Boston, Mass., гл. 24.2, стр. 470-472 (1988). Как правило, интродукцию плазмиды в хозяина осуществляют путем электропорации. Клетки-хозяева, несущие экспрессирующую конструкцию, выращивают в условиях, подходящих для продукции легких цепей и тяжелых цепей и оценивают на синтез белка тяжелой и/или легкой цепи. Примеры способов анализа включают твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA), радиоиммуноанализ (RIA) или анализ путем сортировки клеток по активации флуоресценции (FACS), иммуногистохимию и т.п.

Экспрессирующий вектор переносят в клетку-хозяин принятыми способами и трансфицированные клетки затем культивируют принятыми способами с целью получения антитела для использования в способах, описанных в данном контексте. Таким образом, изобретение включает клетки-хозяева, включающие полинуклеотид, кодирующий антитело, соответствующее изобретению, или его тяжелую или легкую цепь, функционально связанный с гетерологичным промотором. В предпочтительных вариантах осуществления для экспрессии двухцепочечных антител векторы, кодирующие как тяжелую, так и легкую цепи, можно соэкспрессировать в клетке-хозяине для экспрессии целой молекулы иммуноглобулина, как подробно описано ниже.

Как используют в данном контексте, термин "клетки-хозяева" относится к клеткам, которые несут векторы, сконструированные с использованием технологий рекомбинантной ДНК и кодирующие по меньшей мере один гетерологичный ген. В описаниях способов выделения антител из рекомбинантных хозяев термины "клетка" и "клеточная культура" используют взаимозаменяемо для обозначения источника антитела до тех пор, пока ясно не определено иначе. Другими словами, выделение полипептида из "клеток" может означать либо из отцентрифугированных клеток, либо из клеточной культуры, содержащей как среду, так и суспендированные клетки.

Многочисленные системы хозяин-экспрессирующий вектор можно использовать для экспрессии молекул антитела, предназначенных для использования в способах, описанных в данном контексте. Данные системы экспрессии в хозяине представляют носители, с помощью которых можно получить и затем очистить кодирующие последовательности, представляющие интерес, но, кроме того, представляют клетки, которые могут при трансформации или трансфекции подходящими нуклеотидными кодирующими последовательностями экспрессировать молекулу антитела, соответствующую изобретению, *in situ*. Они включают, но без ограничения перечисленным микроорганизмы, такие как бактерии (например, *E. coli*, *B. subtilis*), трансформированные рекомбинантной ДНК бактериофага, плазмидной ДНК или космидной ДНК, экспрессирующей векторы, содержащие последовательности, кодирующие антитело; дрожжи (например, *Saccharomyces*, *Pichia*), трансформированные рекомбинантными дрожжевыми экспрессирующими векторами, содержащими последовательности, кодирующие антитело; системы клеток насекомых, инфицированных рекомбинантными вирусными экспрессирующими векторами (например, бакуловирусы), содержащими последовательности, кодирующие антитело; системы клеток растений, инфицированных рекомбинантными вирусными экспрессирующими векторами (например, вирусом мозаики цветной капусты, CaMV; вирусом табачной мозаики, TMV) или трансформированных рекомбинантными плазмидными экспрессирующими векторами (например, Ti-плазмидой), содержащими последовательности, кодирующие антитело, или системы клеток млекопитающих (например, клеток COS, CHO, BLK, 293, 3T3), несущие рекомбинантные экспрессирующие конструкции, содержащие промоторы, выделенные из генома клеток млекопитающих (например, металлотионеиновый промотор) или из вирусов млекопитающих (например, аденовирусный поздний промотор, промотор 7.5K вируса вакцинии). Предпочтительно, когда бактериальные клетки, такие как *Escherichia coli*, и, более предпочтительно, эукариотические клетки, особенно предназначенные для экспрессии целой молекулы рекомбинантного антитела, используют для экспрессии молекулы рекомбинантного антитела. Например, клетки млекопитающих, такие как клетки яичников китайского хомячка (CHO), в сочетании с вектором, таким как промоторный элемент средне-раннего гена из человеческого цитомегаловируса, представляет собой эффективную экспрессирующую систему для антител (см. статьи Foecking et al., *Gene* 45:101 (1986); Cockett et al., *Bio/Technology* 8:2 (1990)).

Линия клеток-хозяев, используемая для экспрессии белка часто происходит от млекопитающих; компетентные специалисты в области техники обладают способностью предпочтительно определять конкретные линии клеток-хозяев, которые наиболее подходят для экспрессии в них требуемого продукта гена. Примеры линий клеток-хозяев включают, но без ограничения перечисленным, CHO (яичники китайского хомячка), DG44 и DUXB11 (линии яичников китайского хомячка, DHFR минус), HELA (человеческая карцинома шейки матки), CV1 (линия почки обезьяны), COS (производное CV1 с T-антигеном SV40), VERY, BHK (почка хомячка), MDCK, 293, WI38, R1610 (фибробласт китайского хомячка) BALBC/3T3 (мышинный фибробласт), HAK (линия почки хомячка), SP2/O (мышинная миелома), P3×63-

Ag3.653 (мышьяная миелома), BFA-1c1BPT (коровьи эндотелиальные клетки), RAJ1 (человеческий лимфоцит) и 293 (человеческая почка). Клетки СНО особенно предпочтительны. Линии клеток-хозяев, как правило, доступны из коммерческих источников, Американской коллекции типовых культур или из опубликованной литературы.

Кроме того, можно выбрать штамм клеток-хозяев, который модулирует экспрессию введенной последовательности или модифицирует и процессирует продукт гена требуемым специфическим образом. Данные модификации (например, гликозилирование) и процессинг (например, расщепление) белковых продуктов могут быть важными для функции белка. Различные клетки-хозяева имеют характерные и специфические механизмы пост-трансляционного процессинга и модификации белков и продуктов гена. Можно выбрать подходящие клеточные линии или системы хозяев, чтобы обеспечить правильную модификацию и процессинг экспрессируемого чужеродного белка. В этом плане можно использовать эукариотические клетки-хозяева, которые обладают клеточным механизмом надлежащего процессинга первичного транскрипта, гликозилирования и фосфорилирования продукта гена.

Для длительной продукции рекомбинантных белков с высоким выходом предпочтительна стабильная экспрессия. Например, можно сконструировать клеточные линии, которые стабильно экспрессируют молекулу антитела. Лучше, чем использовать экспрессирующие векторы, которые содержат вирусные ориджины репликации, можно трансформировать клетки-хозяева ДНК, контролируемой соответствующими элементами контроля экспрессии (например, промотором, энхансерными последовательностями, терминаторами транскрипции, сайтами полиаденилирования и т.п.) и селективируемым маркером. После интродукции чужеродной ДНК инженерным клеткам можно дать возможность расти в течение 1-2 дней в обогащенной среде и затем перевести в селективные среды. Селективируемый маркер в рекомбинантной плазмиде дает устойчивость к селективному фону и позволяет клеткам стабильно интегрировать плазмиду в их хромосомы и расти с образованием областей, которые, в свою очередь, можно клонировать и размножить с получением клеточных линий. Данный способ можно преимущественно использовать для конструирования клеточных линий, которые стабильно экспрессируют молекулу антитела.

Можно использовать ряд систем селекции, включая, но без ограничения перечисленным, гены тимидинкиназы вируса простого герпеса (см. статью Wigler et al., Cell 11:223 (1977)), гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансферазы (см. статью Szybalska & Szybalski, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 48:202 (1992)) и аденинфосфорибозилтрансферазы (см. статью Lowy et al., Cell 22:811 (1980)), которые могут быть использованы в tk-, hprt- или aprt-клетках соответственно. Кроме того, устойчивость к антиметаболитам можно использовать как основу селекции для следующих генов: dhfr, который обуславливает устойчивость к метотрексату (см. статьи Wigler et al., Natl. Acad. Sci. USA 77:357 (1980); O'Hare et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:1521 (1981)); gpt, который обуславливает устойчивость к микофеноловой кислоте (см. статью Mulligan & Berg, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:2012 (1981)); neo, который обуславливает устойчивость к аминогликозиду G-418 (см. статьи Clinical Pharmacy 72:488-505; Wu and Wu, Biotherapy 3:87-95 (1991); Tolstoshev, Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 32:513-596 (1993); Mulligan, Science 260:926-932 (1993) и Morgan and Anderson, Ann. Rev. Biochem. 62:191-211 (1993); TIB TECH 11(5): 155-215 (май, 1993) и hygR, который обуславливает устойчивость к гидромицину (см. статью Santerre et al., Gene 30:141 (1984)). Способы, общеизвестные в области технологии рекомбинантной ДНК, которые могут быть использованы, описаны в монографиях под ред. Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology (Современные протоколы в молекулярной биологии), John Wiley & Sons, NY (1993); Kriegler, Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual (Лабораторное руководство по переносу и экспрессии генов), Stockton Press, NY (1990) и в гл. 12 и 13 монографии под ред. Dracopoli et al., Current Protocols in Human Genetics (Современные протоколы в генетике человека), John Wiley & Sons, NY (1994); статье Colberre-Garapin et al., J. Mol. Biol. 150:1 (1981), которые включены в виде ссылки в данном контексте в своей полноте.

Уровни экспрессии молекул антитела можно повысить путем амплификации вектора (в качестве обзора см. монографию Bebbington and Hentschel, The use of vectors based on gene amplification for the expression of cloned genes in mammalian cells in DNA cloning (Использование векторов на основе амплификации генов для экспрессии клонированных генов в клетках млекопитающих при клонировании ДНК), Academic Press, New York, т. 3. (1987)). Когда маркер в векторной системе, экспрессирующей антитело, амплифицируется, повышение уровня ингибитора, присутствующего в культуре клетки-хозяина, будет увеличивать число копий маркерного гена. Поскольку амплифицированный участок связан с геном антитела, продукция антитела будет также повышаться (см. статью Crouse et al., Mol. Cell. Biol. 3:257 (1983)).

Продукция *in vitro* дает возможность масштабирования с получением больших количеств требуемых полипептидов. Способы культивирования клеток млекопитающих в условиях тканевой культуры известны в области техники и включают гомогенную суспензионную культуру, например в эрлифтном реакторе или в реакторе с непрерывным перемешиванием или иммобилизованную или инкапсулированную клеточную культуру, например, в полых волокнах, микрокапсулах или агарозных микрочастицах или керамических картриджах. Если необходимо и/или требуется, растворы полипептидов можно очистить принятыми хроматографическими способами, например гель-фильтрацией, ионообменной хроматографией, хроматография на DEAE-целлюлозе или (иммуно-)аффинной хроматографией, например, после

предпочтительного биосинтеза синтетического полипептида шарнирной области или перед либо после стадии НИС-хроматографии, описанной в данном контексте.

Гены, кодирующие антитела к Sp35, или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты или производные, соответствующие изобретению, можно также экспрессировать в клетках немлекопитающих, таких как клетки бактерий или дрожжей или растений. Бактерии, которые легко поглощают нуклеиновые кислоты, включают представителей энтеробактерий, таких как штаммы *Escherichia coli* или *Salmonella*; *Bacillaceae*, таких как *Bacillus subtilis*; *Pneumococcus*; *Streptococcus* и *Haemophilus influenzae*. Кроме того, следует иметь в виду, что при экспрессии в бактериях гетерологичные полипептиды, как правило, становятся частью телец включения. Гетерологичные полипептиды должны быть выделены, очищены и затем собраны в функциональные молекулы. Когда требуются тетравалентные формы антител, субъединицы будут затем самособираться в тетравалентные антитела (см. WO02/096948A2).

В бактериальных системах можно преимущественно отобрать ряд экспрессирующих векторов в зависимости от предназначенного использования экспрессируемой молекулы антитела. Например, когда нужно получить большое количество данного белка для генерации фармацевтических композиций молекул антитела, могут потребоваться векторы, которые направляют экспрессию высоких уровней продуктов слитого белка, которые легко очистить. Данные векторы включают, но без ограничения перечисленным, экспрессирующий вектор *E. coli* pUR278 (см. статью Ruther et al., *EMBO J.* 2:1791 (1983)), в котором кодирующая последовательность антитела может быть лигирована отдельно в вектор в рамке считывания с кодирующим участком *lacZ*, так что образуется слитый белок; векторы pIN (см. статьи Inouye & Inouye, *Nucleic Acids Res.* 73:3101-3109 (1985); Van Heeke & Schuster, *J. Biol. Chem.* 24:5503-5509 (1989)) и т.п. Векторы pGEX можно также использовать для экспрессии чужеродных полипептидов в виде слитых белков в глутатион S-трансферазой (GST). Как правило, данные слитые белки растворимы и легко могут быть очищены из лизированных клеток путем адсорбции и связывания с частицами глутатион-агарозной матрицы с последующей элюцией в присутствии свободного глутатиона. Векторы pGEX сконструированы так, что включают сайты протеазного расщепления тромбина или фактора Ха, так что клонированный целевой продукт гена может высвобождаться из группы GST.

Кроме прокариот можно также использовать эукариотические микробы. *Saccharomyces cerevisiae* или обычные пекарские дрожжи являются наиболее часто используемыми среди эукариотических микроорганизмов, хотя обычно доступен ряд других штаммов, например, *Pichia pastoris*.

Для экспрессии в *Saccharomyces*, обычно используют плазмиду YRp7, например, (см. статьи Stinchcomb et al., *Nature* 282:39 (1979); Kingsman et al., *Gene* 7:141 (1979); Tschemper et al., *Gene* 70:157 (1980)). Данная плазида уже включает ген TRP1, который представляет собой селективный маркер для мутантного штамма дрожжей, которые лишены способности расти на триптофанае, например ATCC № 44076 или PER4-1 (см. статью Jones, *Genetics* 55:12 (1977)). Присутствие нарушения *trp1* в качестве характеристики генома дрожжевой клетки-хозяина затем дает эффективную окружающую среду для детекции трансформации роста в отсутствие триптофана.

В системах насекомых вирус ядерного полиэдрома *Autographa californica* (AcNPV), как правило, используют в качестве вектора для экспрессии чужеродных генов. Вирус растет в клетках *Spodoptera frugiperda*. Последовательность, кодирующую антитело, можно клонировать отдельно в неосновные участки (например, ген полиэдрина) вируса и поместить под контроль промотора AcNPV (например, полиэдринового промотора).

После рекомбинантной экспрессии молекулы антитела, соответствующего изобретению, ее можно очистить любым способом, известным в области техники, предназначенным для очистки молекулы иммуноглобулина, например, с помощью хроматографии (например, ионообменной, аффинной, особенно с аффинностью в отношении специфического антигена после колоночной хроматографии с белком А и по размеру), центрифугированием, с помощью дифференцированной растворимости или любым другим стандартным способом очистки белков. Альтернативно предпочтительный способ повышения аффинности антител, соответствующих изобретению, раскрывают в US 2002 0123057 A1.

VIII. Способы лечения с использованием терапевтических антител к Sp35.

Как описано в данном контексте, антитела к Sp35 или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты или производные, соответствующие изобретению, могут облегчить NgR1-опосредованное ингибирование удлинения аксонов, которое в норме имеет место в нейронах ЦНС. Это благоприятно в случаях, когда удлинение аксонов или отрастание невритов требуется в головном или спинном мозге. Повреждение спинного мозга, включая частичное или полное разрушение или разрыв, иллюстрирует случай, в котором необходимо удлинение аксонов, но оно, как правило, ингибируется посредством операции пути Nogo. Примеры заболевания или нарушений, при которых было бы благоприятным удлинение аксонов и/или отрастание невритов в головном мозге, включают инсульт, рассеянный склероз и другие нейродегенеративные заболевания или нарушения, такие как рассеянный склероз (MS), прогрессирующую многоочаговую лейкоэнцефалопатию (PML), энцефаломиелит (EPL), центральный миелозис варолиева моста (CPM), адренолейкодистрофию, болезнь Александра, болезнь Пеллицеуса-Мерцбахера (PMZ), лейкодистрофию глобоидных клеток (болезнь Краббе) и дегенерацию Валлериана, неврит оптического нерва (ретробульбарный неврит), поперечный миелит, боковой амиотрофический склероз (ALS), болезнь

Гентингтона, болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, повреждение спинного мозга, травматическое повреждение головного мозга, повреждения после облучения, неврологические осложнения при химиотерапии, инсульт, невропатию, острую ишемическую невропатию оптического нерва (острую ишемическую ретробульбарную невропатию), дефицит витамина Е, синдром дефицита выделенного витамина Е, AR, синдром Басен-Корнцвейга, синдром Маркиафавы-Бигнами, метахроматическую лейкодистрофию, невралгию тройничного нерва, паралич Белла, повреждение спинного мозга и все неврологические заболевания, связанные с гибелью нервных клеток.

Авторы, кроме того, обнаружили, что Sp35 экспрессируется в олигодендроцитах и вносит вклад в биологию олигодендроцитов. Растворимые производные Sp35, ряд полинуклеотидов (например, РНКi), а также некоторые антитела, которые специфически связываются с Sp35, как описано в данном контексте, действуют как антагонисты функции Sp35 в олигодендроцитах, способствуя пролиферации, дифференцировке и выживаемости олигодендроцитов и способствуя миелинизации нейронов *in vitro* и *in vivo*. Это благоприятно при заболеваниях, нарушениях или состояниях, включающих демиелинизацию и дисмиелинизацию. Примеры заболеваний или нарушений, в которых была бы благоприятной пролиферация, дифференцировка и выживаемость и/или миелинизация либо ремиелинизация олигодендроцитов, включают рассеянный склероз (MS), прогрессирующую многоочаговую лейкоэнцефалопатию (PML), энцефаломиелит (EPL), центральный миелолиз варолиева моста (CPM), аденолейкодистрофию, болезнь Александра, болезнь Пелицеуса-Мерцбахера (PMZ), лейкодистрофию глобоидных клеток (болезнь Краббе), дегенерацию Валлериана, невит оптического нерва (ретробульбарный неврит), поперечный миелит, боковой амиотрофический склероз (ALS), болезнь Гентингтона, болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, повреждение спинного мозга, травматическое повреждение головного мозга, повреждения после облучения, неврологические осложнения при химиотерапии, инсульт, острую ишемическую ретробульбарную невропатию (острую ишемическую ретробульбарную невропатию), дефицит витамина Е, синдром дефицита выделенного витамина Е, AR, синдром Басен-Корнцвейга, синдром Маркиафавы-Бигнами, метахроматическую лейкодистрофию, невралгию тройничного нерва и паралич Белла.

Соответственно, один вариант осуществления настоящего изобретения предусматривает способы лечения повреждения спинного мозга, заболевания или нарушения, связанные с ингибированием роста нейронов в ЦНС, заболевания или нарушения, связанные с ингибированием роста и дифференцировки олигодендроцитов и заболевания, включающие демиелинизацию или дисмиелинизацию нейронов ЦНС у животного, страдающего от данного повреждения или заболевания или предрасположенного к развитию данного заболевания, причем способ, включающий, в основном состоящий или состоящий из введения животному эффективного количества антитела к Sp35 или его антигенсвязывающего фрагмента, варианта или производного. Антитела, соответствующие изобретению, описаны в данном контексте и включают моноклональные антитела, перечисленные в табл. 3А и 3В, антитела, которые специфически связываются с тем же самым эпитопом, что моноклональные антитела, перечисленные в табл. 3А и 3В, антитела, которые конкурентно ингибируют связывание моноклональных антител, перечисленных в табл. 3А и 3В, с Sp35, и антитела, включающие полипептиды, выделенные из моноклональных антител, перечисленных в табл. 3А и 3В.

Терапевтическое антитело к Sp35, предназначенное для использования в способах лечения, описанных в данном контексте, можно получить и использовать в качестве лечебного фактора, который способствует отращиванию невритов ЦНС, выживаемости нейронов, направленности аксонов и регенерации аксонов, который способствует выживаемости, росту и/или дифференцировке олигодендроцитов и который способствует миелинизации или ремиелинизации нейронов ЦНС. Свойства подходящих терапевтических антител к Sp35 включают: связывание с эпитопами Sp35, которое приводит в результате к блокированию активности Sp35, связыванию с Sp35 с достаточной аффинностью, чтобы вызвать терапевтический эффект, и связывание с Sp35 предпочтительно по отношению к нормальным партнерам связывания, например, рецептору Nogo.

Терапевтические антитела к Sp35 могут быть моноклональными, химерными или гуманизированными антителами или фрагментами антител, которые специфически связываются с Sp35. Антитела могут быть моновалентными, бивалентными, поливалентными или бифункциональными антителами. Фрагменты антител включают без ограничения перечисленным фрагменты Fab, F(ab')₂ и Fv.

Терапевтические антитела к Sp35 или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты или производные, соответствующие изобретению, можно использовать в немеченой или неконъюгированной форме, или они могут быть спарены или связаны с лекарственными препаратами, метками или стабилизирующими агентами, которые могут давать или не давать дополнительные терапевтические эффекты.

Специальная доза и схема лечения для любого конкретного пациента будет зависеть от ряда факторов, включая конкретное используемое антитело к Sp35 или его антигенсвязывающий фрагмент, вариант или производное, возраст, массу тела, общее состояние здоровья, пол и диету, а также время введения, скорость выведения, комбинацию лекарственных препаратов и тяжесть конкретного заболевания, которое лечат. Оценка данных факторов ухаживающим за больным медицинским персоналом находится в компетенции обычного специалиста в области техники. Количество будет также зависеть от конкретного пациента, проходящего лечение, способа введения, типа препарата, свойств используемого соединения,

тяжести заболевания и требуемого эффекта. Используемое количество можно установить с помощью фармакологических и фармакокинетических принципов, хорошо известных в области техники.

В способах, соответствующих изобретению, антитела к Sp35 или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты или производные могут быть введены непосредственно в нервную систему, интрацеребровентрикулярно или интратекально, например, в область хронического повреждения MS, как более подробно обсуждают ниже.

В различных вариантах осуществления антитела к Sp35, как описано выше, является антагонистом активности Sp35. В ряде вариантов осуществления, например, связывание антагонистического антитела к Sp35 с Sp35, поскольку он экспрессируется на нейронах, блокирует миелин-ассоциированное ингибирование отрастания нервных отростков или гибель нервных клеток. В других вариантах осуществления связывание антитела к Sp35 с Sp35, поскольку он экспрессируется на олигодендроцитах, блокирует ингибирование роста или дифференцировки олигодендроцитов или блокирует демиелинизацию или дисмиелинизацию нейронов ЦНС.

В способах, соответствующих настоящему изобретению, антитела к Sp35 или его антигенсвязывающий фрагмент, вариант или производное, в частности, антитела к Sp35, описанные в данном контексте, могут быть введены непосредственно в виде предварительно полученного полипептида или опосредованно через вектор нуклеиновой кислоты, чтобы создать возможность благоприятного отрастания аксонов, способствовать пролиферации, дифференцировке и выживаемости олигодендроцитов и/или способствовать миелинизации или ремиелинизации.

В ряде вариантов осуществления пациенту можно лечить молекулой нуклеиновой кислоты, кодирующей антитело к Sp35 или его антигенсвязывающий фрагмент, вариант или аналог, например, в векторе. Дозы нуклеиновых кислот, кодирующих полипептиды, лежат в интервале от приблизительно 10 нг до 1 г, 100 нг до 100 мг, 1 мкг до 10 мг или 30-300 мкг ДНК/пациента. Дозы для инфекционных вирусных векторов варьируют от 10-100 или более вирионов/дозу.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антитело к Sp35 или его антигенсвязывающий фрагмент, вариант или производное вводят в способе лечения, который включает: (1) трансформацию или трансфекцию клетки-хозяина нуклеиновой кислотой, например, вектором, который экспрессирует антитело к Sp35 или его антигенсвязывающий фрагмент, вариант или производное и (2) имплантацию трансформированной клетки-хозяина млекопитающему в область заболевания, нарушения или повреждения. Например, трансформированную клетку-хозяина можно имплантировать в область повреждения спинного мозга или в область дисмиелинизации. В ряде вариантов осуществления изобретения имплантируемую клетку-хозяина удаляют из организма млекопитающего, временно культивируют, трансформируют или трансфицируют выделенной нуклеиновой кислотой, кодирующей антитело к Sp35, и имплантируют обратно тому же самому млекопитающему, у которого ее удалили. Клетка может, но это необязательное требование, быть удалена из той же области, в которую ее имплантируют. Данные варианты осуществления, в ряде случаев известные как генотерапия *ex vivo*, могут обеспечить постоянное снабжение полипептидом Sp35, локализованное в области действия, в течение ограниченного периода времени.

Способы лечения повреждения, заболеваний или нарушений спинного мозга, связанные с ингибированием роста нейронов в ЦНС, заболеваний или нарушений, связанных с ингибированием роста и дифференцировки олигодендроцитов, и заболеваний, включающих демиелинизацию или дисмиелинизацию нейронов ЦНС, включающие введение антитела к Sp35 или антигенсвязывающего фрагмента, варианта или производного, соответствующих изобретению, как правило, тестируют *in vitro* и затем *in vivo* на приемлемой модели на животном на требуемую терапевтическую или профилактическую активность перед использованием у человека. Подходящие модели на животном, включая трансгенных животных, будут известны обычным специалистам в области техники. Например, анализы *in vitro* для демонстрации терапевтической применимости антитела к Sp35, описанные в данном контексте, включают эффект антитела к Sp35 на клеточную линию и образец ткани пациента. Эффект антитела к Sp35 на клеточную линию и/или образец ткани можно установить с использованием способов, известных компетентным специалистам в области техники, таких как анализы, описанные в других разделах данного материала. Согласно изобретению, анализы *in vitro*, которые можно использовать для определения, показано ли введение специфического антитела к Sp35, включают анализы на клеточных культурах *in vitro*, в которых образец ткани пациента выращивают в культуре и подвергают воздействию или иным образом обрабатывают соединением и наблюдают эффект данного соединения на образец ткани.

Дополнительные активные соединения также могут быть введены в композиции, соответствующие изобретению. Например, антитело к Sp35 или его антигенсвязывающий фрагмент, вариант или производное, соответствующие изобретению, могут быть приготовлены совместно и/или введены совместно с одним или более дополнительных лечебных факторов.

Изобретение охватывает любой подходящий способ доставки антитела к Sp35 или его антигенсвязывающего фрагмента, варианта или производного, соответствующего изобретению, в выбранную ткань-мишень, включая болюсную инъекцию водного раствора или имплантацию системы с контролируемым высвобождением. Использование имплантата с контролируемым высвобождением уменьшает необходи-

мость повторных инъекций.

IX. Фармацевтические композиции и способы введения.

Способы получения и введения антител к Sp35, или их антигенсвязывающих фрагментов, вариантов или производных, соответствующих изобретению, нуждающемуся в этом пациенту, хорошо известны или могут быть легко установлены компетентными специалистами в области техники. Путь введения антитела к Sp35 или его антигенсвязывающего фрагмента, варианта или производного может быть, например пероральным, парентеральным, посредством ингаляции или местным. Термин парентеральный, как используют в данном контексте, включает, например, внутривенное, внутриартериальное, внутрибрюшинное, внутримышечное, подкожное, ректальное или вагинальное введение. Хотя ясно предусматривают, что все данные формы введения входят в объем изобретения, форма для введения будет представлять собой раствор для инъекций, в частности, для внутривенной или внутриартериальной инъекции или капельницы. Как правило, подходящая фармацевтическая композиция для инъекции может содержать буфер (например, ацетатный, фосфатный или цитратный буфер), поверхностно-активное вещество (например, полисорбат), необязательно стабилизирующий агент (например, человеческий альбумин) и т.п. Однако, в других способах, совместимых в данном материале, антитела к Sp35, или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты или производные, соответствующие изобретению, могут быть доставлены непосредственно в область патологической клеточной популяции, повышая, таким образом, воздействие лечебного фактора на больную ткань.

Как обсуждалось ранее, антитела к Sp35 или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты или производные, соответствующие изобретению, можно вводить в фармацевтически эффективном количестве для лечения *in vivo* повреждения спинного мозга, заболеваний или нарушений, связанных с ингибированием роста нейронов в ЦНС, заболеваний или нарушений, связанных с ингибированием роста или дифференцировки олигодендроцитов и заболеваний, включающих демиелинизацию или дисмиелинизацию ЦНС. В этом плане следует иметь в виду, что описанные антитела будут получены так, чтобы облегчить введения и способствовать стабильности активного агента. Предпочтительно, когда фармацевтические композиции, соответствующие настоящему изобретению, включают фармацевтически приемлемый, нетоксичный стерильный носитель, такой как физиологический раствор, нетоксичные буферы, консерванты и т.п.

Для целей данной заявки фармацевтически эффективное количество антитела к Sp35 или его антигенсвязывающего фрагмента, варианта или производного, конъюгированного или неконъюгированного, следует подбирать так, чтобы оно соответствовало количеству, достаточному для достижения эффективного связывания с мишенью и для достижения положительного эффекта, например, для облегчения симптомов заболевания или нарушения или для детекции субстанции или клетки.

Фармацевтические композиции, используемые в данном изобретении, включают фармацевтически приемлемые носители, в том числе, например, ионообменники, квасцы, стеарат алюминия, лецитин, сывороточные белки, такие как человеческий сывороточный альбумин, буферные субстанции, такие как фосфаты, глицин, сорбиновая кислота, сорбат калия, смеси частичных глицеридов насыщенного растительных жирных кислот, вода, соли или электролиты, такие как протаминсульфат, гидрофосфат диатрия, гидрофосфат калия, хлорид натрия, соли цинка, коллоидный оксид кремния, трисиликат магния, поливинилпирролидон, субстанции на основе целлюлозы, полиэтиленгликоль, натрий карбоксиметилцеллюлоза, полиакрилаты, воска, полиэтилен-полиоксипропиленовые блок-сополимеры и ланолин.

Препараты для парентерального введения включают стерильные водные или неводные растворы, суспензии и эмульсии. Примерами неводных растворителей являются пропиленгликоль, полиэтиленгликоль, растительные масла, такие как оливковое масло, и инъекционные органические сложные эфиры, такие как этилолеат. Водные носители включают воду, спиртовые/водные растворы, эмульсии или суспензии, в том числе солевой раствор и забуференные среды. В данном изобретении фармацевтически приемлемые носители включают, но без ограничения перечисленным, 0,01-0,1 М и, предпочтительно, 0,05 М фосфатный буфер или 0,8% солевой раствор. Другие распространенные парентеральные носители включают растворы фосфата натрия, декстрозу Рингера, декстрозу и хлорид натрия, среду Рингера с лактатом или нелетучие масла. Внутривенные носители включают текучие и питательные добавки, добавки электролитов, такие как на основе декстрозы Рингера и т.п. Могут также присутствовать консерванты и другие дополнительные компоненты, такие как, например, антимикробные агенты, антиоксиданты, хелатирующие агенты и инертные газы и т.п.

Более подробно фармацевтические композиции, подходящие для инъекционного использования, включают стерильные водные растворы (при водорастворимых агентах) или дисперсии и стерильные порошки для приготовления стерильных инъекционных растворов или дисперсий для немедленного применения. В данных случаях композиция должна быть стерильной и должна быть текучей в той степени, чтобы ее было легко использовать в шприце. Она должна быть стабильной в условиях изготовления и хранения и будет предпочтительно защищенной консервантом от заражающего действия микроорганизмов, таких как бактерии и грибы. Носитель может быть представлен растворителем или дисперсионной средой, содержащей, например, воду, спирт, полиол (например, глицерин, пропиленгликоль и жидкий полиэтиленгликоль и т.п.) и их подходящими смесями. Надлежащую текучесть можно поддерживать,

например, путем использования покрытия, такого как лецитин, путем поддержания требуемого размера частиц в случае дисперсии и посредством использования поверхностно-активных веществ. Подходящие препараты, предназначенные для использования в терапевтических способах, описанных в данном контексте, приведены в справочнике Remington's Pharmaceutical Sciences (Фармацевтические науки Ремингтона), Mack Publishing Co., 16 изд. (1980).

Предупреждение действия микроорганизмов может достигаться с помощью различных антибактериальных и противогрибковых агентов, например, парабенов, хлорбутанола, фенола, аскорбиновой кислоты, тимеросала и т.п. Во многих случаях будет предпочтительным включить в композицию изотонические агенты, например, сахара, полиспирты, такие как маннит, сорбит, или хлорид натрия. Пролонгированное всасывание инъекционных композиций можно осуществить включением в композицию агента, который замедляет всасывание, например, моностеарата алюминия и желатина.

В любом случае стерильные инъекционные растворы можно приготовить введением активного соединения (например, антитела к Sp35 или его антигенсвязывающего фрагмента, варианта или производного, как в виде монокомпонента, так и в сочетании с другими активными агентами) в требуемое количество подходящего растворителя с одним или комбинацией перечисленных в данном контексте ингредиентов, как требуется, с последующей стерилизацией фильтрованием. Как правило, дисперсии получают введением активного соединения в стерильный носитель, который содержит базовую дисперсионную среду и требуемые другие ингредиенты из вышеперечисленных. В случае стерильных порошков для приготовления стерильных инъекционных растворов предпочтительными способами получения являются вакуумная сушка и лиофилизация, которая дает порошок активного ингредиента с добавлением любого дополнительного требуемого ингредиента из его ранее стерилизованного фильтрованием раствора. Препараты для инъекций обрабатывают, наполняют ими контейнеры, такие как ампулы, пакеты, бутылочки, шприцы или флаконы и запечатывают в асептических условиях согласно способам, известным в области техники. Кроме того, препараты могут быть упакованы и проданы в форме набора, такого как описан в одновременно рассматриваемой заявке U.S.S.N. 09/259337 (US-2002-0102208 A1), которая включена в данном контексте в виде ссылки в своей полноте. Предпочтительно, когда данные изделия будут иметь этикетки или вкладыши в упаковку, указывающие, что прилагаемые композиции используют для лечения пациента, страдающего от аутоиммунных или неопластических нарушений или предрасположенного к ним.

Парентеральные препараты могут представлять собой однократную болюсную дозу, вливание или ударную болюсную дозу с последующей поддерживающей дозой. Данные композиции можно вводить через специфические фиксированные или варьирующие интервалы, например, один раз в день или "по мере необходимости".

Некоторые фармацевтические композиции, используемые в данном изобретении, можно вводить перорально в приемлемой лекарственной форме, включая, например, капсулы, таблетки, водные суспензии или растворы. Некоторые фармацевтические композиции можно также вводить с помощью назального аэрозоля или ингаляции. Данные композиции можно получить в виде растворов в солевом растворе с использованием бензилового спирта или других подходящих консервантов, стимуляторов всасывания для повышения биодоступности и/или других традиционных солюбилизирующих или диспергирующих агентов.

Количество антитела к Sp35 или его фрагмента, варианта или производного, которое можно смешивать с материалами носителя, чтобы получить разовую лекарственную форму, будет варьировать в зависимости от хозяина, которого лечат, и конкретного способа введения. Композицию можно вводить в разовой дозе, множестве доз или в течение установленного периода времени в виде инфузии. Схемы дозирования также можно подобрать, чтобы обеспечить оптимальный требуемый ответ (например, терапевтический или профилактический ответ).

Находясь в объеме настоящего описания, антитела к Sp35 или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты или производные, соответствующие изобретению, могут быть введены человеку или другому животному в соответствии с вышеуказанными способами лечения в количестве, достаточном для получения терапевтического эффекта. Антитела к Sp35, или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты или производные, соответствующие изобретению, могут быть введены данному человеку или другому животному в традиционной лекарственной форме, полученной при смешивании антитела, соответствующего изобретению, с принятым фармацевтически приемлемым носителем или разбавителем с соответствием с известными способами.

Компетентный специалист в области техники будет иметь в виду, что форма и характер фармацевтически приемлемого носителя или разбавителя обусловлены количеством активного ингредиента, в котором его следует смешать, путем введения и другими хорошо известными переменными. Компетентные специалисты в области техники будут, кроме того, иметь в виду, что коктейль, включающий один или два вида антител к Sp35 или их антигенсвязывающих фрагментов, вариантов или производных, соответствующих изобретению, может быть, как полагают, быть особенно эффективным.

Эффективные дозы композиций, соответствующих настоящему изобретению, для лечения повреждения спинного мозга, заболеваний или нарушений, связанных с ингибированием роста нейронов в ЦНС,

заболеваний или нарушений, связанных с ингибированием роста или дифференцировки олигодендроцитов, и заболеваний, включающих демиелинизацию или дисмиелинизацию ЦНС, варьируют в зависимости от многих различных факторов, включая средства введения, область-мишень, физиологическое состояние пациента, является ли пациент человеком или животным, другие вводимые лекарственные средства и является ли лечение профилактическим или терапевтическим. Обычно пациент является человеком, но можно также лечить отличных от человека млекопитающих, в том числе трансгенных животных. Лечебные дозы можно оттитровать, используя рутинные способы, известные компетентному специалисту в области техники, для оптимизации безопасности и эффективности.

Для лечения повреждения спинного мозга, заболеваний или нарушений, связанных с ингибированием роста нейронов в ЦНС, заболеваний или нарушений, связанных с ингибированием роста или дифференцировки олигодендроцитов, и заболеваний, включающих демиелинизацию или дисмиелинизацию ЦНС антителом к Sp35 или его антигенсвязывающим фрагментом, вариантом или производным доза может лежать в интервале, например, от приблизительно 0,0001-100 мг/кг и чаще 0,01-5 мг/кг (например, 0,02, 0,25, 0,5, 0,75, 1, 2 мг/кг и т.п.) массы тела хозяина.

Например, дозы могут составлять 1 мг/кг массы тела или 10 мг/кг массы тела или лежать в интервале 1-10 мг/кг, предпочтительно по меньшей мере 1 мг/кг. Предусматривают также, что промежуточные дозы в вышеуказанных интервалах входят в объем изобретения. Пациентам можно вводить данные дозы ежедневно, через день, каждую неделю или согласно любой другой схеме, определенной с помощью эмпирического анализа. Пример лечения предусматривает ведение в множестве доз в течение длительного периода, например, по меньшей мере шести месяцев. Дополнительные примеры схем лечения предусматривают введение один раз каждые две недели или один раз в месяц или один раз каждые 3-6 месяцев. Примеры схем дозирования включают 1-10 мг/кг или 15 мг/кг в следующие друг за другом дни, 30 мг/кг через день или 60 мг/кг в неделю. В некоторые месяцы одновременно вводят два или более моноклональных антител с различными специфичностями связывания, в данном случае доза каждого вводимого антитела входит в указанные интервалы.

Антитела к Sp35 или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты или производные, соответствующие изобретению, можно вводить во многих случаях. Интервалы между однократными дозами могут составлять день, неделю, месяц или год. Интервалы могут быть также нерегулярными, как показано по измерению уровней в крови полипептида-мишени или молекулы-мишени в организме пациента. В ряде способов дозу подбирают, чтобы достигнуть концентрации полипептида в плазме 1-1000 мкг/мл, и в некоторых способах - 25-300 мкг/мл. Альтернативно антитела к Sp35 или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты или производные, соответствующие изобретению, можно вводить как препарат с замедленным высвобождением, в таких случаях требуется менее частое введение. Доза и частота варьируют в зависимости от полупериода существования антитела в организме пациента. Полупериод существования антитела к Sp35 можно также пролонгировать путем слияния в стабильным полипептидом или группой, например, альбумином или ПЭГ. Как правило, гуманизированные антитела демонстрируют самый длинный полупериод жизни, затем следуют химерные антитела и нечеловеческие антитела. В одном варианте осуществления антитела к Sp35 или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты или производные, соответствующие изобретению, могут быть введены в неконъюгированной форме. В другом варианте осуществления антитела к Sp35 или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты или производные, соответствующие изобретению, могут быть введены многократно в конъюгированной форме. В еще одном варианте осуществления антитела к Sp35, или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты или производные, соответствующие изобретению, могут быть введены в неконъюгированной формы, затем в конъюгированной форме и наоборот.

Композиции, соответствующие настоящему изобретению, можно ввести любым подходящим способом, например, парентерально, интравентрикулярно, перорально, с помощью ингаляционного спрея, местно, ректально, назально, заочно, вагинально или с помощью имплантированного резервуара. Термин "парентерально", как используют в данном контексте, включает подкожный, внутривенный, внутримышечный, внутрисуставный, интрасиновиальный, внутригрудный, интратекальный, внутрипеченочный, в область поражения и внутричерепной способы инъекции или инфузии. Как описано ранее, антитела к Sp35 или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты или производные, соответствующие изобретению, действуют в нервной системе, способствуя выживаемости, пролиферации и дифференцировке олигодендроцитов и миелинизации нейронов и выживаемости нервных клеток, регенерации аксонов и направленности аксонов. Согласно этому, в способах, соответствующих изобретению, антитела к Sp35 или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты или производные вводят таким путем, чтобы они проходили через гематоэнцефалический барьер. Данное прохождение может быть результатом физико-химических свойств, присущих самой молекуле антитела к Sp35, действия других компонентов в фармацевтическом препарате или использования механического устройства, такого как игла, канюля или хирургические инструменты, для нарушения гематоэнцефалического барьера. Когда антитело к Sp35 представляет собой молекулу, которая в силу своих свойств не пересекает гематоэнцефалический барьер, например, слияние с группой, которая облегчает пересечение, подходящими способами введения являются, например, интратекальный или внутричерепной, например, непосредственно в хроническое пора-

жение MS. Когда антитело к Sp35 представляет собой молекулу, которая в силу своих свойств пересекает гематоэнцефалический барьер, путь введения может представлять собой один или более из различных путей, описанных ниже. В некоторых способах антитела вводят в виде композиций с замедленным высвобождением или устройств, таких как устройство Medipad™. Доставка через гематоэнцефалический барьер может быть усилена несущей молекулой, такой как антитело к Fc-рецептору, трансферрин, антитело к инсулиновому рецептору или конъюгат токсина либо агент, усиливающий проникновение.

Антитела к Sp35 или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты или производные, используемые в способах, соответствующих изобретению, могут быть непосредственно введены инфузией в головной мозг. Различные имплантаты для прямой инфузии в головной мозг известны и эффективны в плане доставки терапевтических соединений больным людям, страдающим от неврологических нарушений. Они включают постоянную инфузию в головной мозг с использованием насоса, стереотаксически имплантированных временных интерстициальных катетеров, постоянных имплантатов внутричерепных катетеров и хирургически имплантированных биоразрушаемых имплантатов. См., например, статьи Gill et al., "Direct brain infusion of glial cell line-derived neurotrophic factor in Parkinson disease" (Прямая инфузия в головном мозге нейротрофического фактора, выделенного из глиальной клеточной линии при болезни Паркинсона), *Nature Med.* 9: 589-95 (2003); Scharfen et al., "High Activity Iodine-125 Interstitial Implant For Gliomas" (Высокоактивный йод-125 интерстициальный имплантат при глиомах) *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.* 24(4):583-91 (1992); Gaspar et al., "Permanent ¹²⁵I Implants for Recurrent Malignant Gliomas" (Постоянные имплантаты ¹²⁵I при рецидивирующих злокачественных глиомах), *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.* 43(5):977-82 (1999); гл. 66, стр. 577-580, раздел Bellezza et al., "Stereotactic Interstitial Brachytherapy" (Стереотаксическая интерстициальная брахитерапия) в монографии Gildenberg et al., *Textbook of Stereotactic and Functional Neurosurgery* (Руководство по стереотаксической и функциональной нейрохирургии), McGraw-Hill (1998) и статью Brem et al., "The Safety of Interstitial Chemotherapy with BCNU-Loaded Polymer Followed by Radiation Therapy in the Treatment of Newly Diagnosed Malignant Gliomas: Phase I Trial" (Безопасность интерстициальной химиотерапии с помощью BCNU-нагруженного полимера с последующей радиотерапией при лечении вновь диагностированных злокачественных глиом), *J. Neuro-Oncology* 26: 111-23 (1995).

Композиции могут также включать антитело к Sp35, диспергированное в материале биосовместимого носителя, который действует как подходящая система доставки или поддержки для соединений. Подходящие примеры носителей с замедленным высвобождением включают полупроницаемые полимерные матрицы в виде формованных изделий, таких как суппозитории или капсулы. Имплантируемые или микрокапсулярные матрицы с замедленным высвобождением включают полилактиды (см. патент США № 3773319; EP 58481), сополимеры L-глутаминовой кислоты и гамма-этил-L-глутамата (см. статью Sidman et al., *Biopolymers* 22:547-56 (1985)); поли(2-гидроксиэтилметакрилат), этиленвинилцетат (см. статьи Langer et al., *J. Biomed. Mater. Res.* 15:167-277 (1981); Langer, *Chem. Tech.* 12:98-105 (1982)) или поли-D-(-)-3-гидроксимасляную кислоту (EP 133988).

В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело к Sp35 или его антигенсвязывающий фрагмент, вариант или производное, соответствующее изобретению, вводят пациенту путем прямой инфузии в соответствующую область головного мозга. См., например, работу Gill et al., *supra*. Имеются альтернативные способы, и их можно использовать для введения антитела к Sp35, соответствующего изобретению. Например, стереотаксическое помещение катетера или имплантата можно осуществить с использованием установки Ричерта-Мундингера и многоцелевой локализационной установки ZD (Zamagno-Dujovny). Сканирование с использованием компьютерной томографии с повышенным контрастом (СТ) при инъекции 120 мл омнипак, 350 мг йода/мл при толщине среза 2 мм может дать возможность планирования трехмерного многоплоскостного лечения (STP, Fischer, Freiburg, Germany). Данное оборудование позволяет осуществлять планирование на основе исследований изображений магнитного резонанса, объединяя целевую информацию, полученную с помощью СТ и MRI, для ясного подтверждения мишени.

Для данной цели можно использовать стереотаксическую систему Лекселла (Downs Surgical, Inc., Decatur, GA), модифицированную для применения со сканнером GE CT scanner (General Electric Company, Milwaukee, WI), а также стереотаксическую систему Брауна-Робертса-Уэллса (BRW) (Radionics, Burlington, MA). Таким образом утром в день имплантации круговое базовое кольцо стереотаксической рамки BRW может быть присоединено к черепу пациента. Серийные СТ-срезы можно получить с интервалами 3 мм на участке (ткани-мишени) с помощью рамки локализатора с графитовым стержнем, прикрепленным к базовой плате. Компьютеризированную программу планирования лечения можно запустить на компьютере VAX 11/780 (Digital Equipment Corporation, Maynard, Mass.), используя СТ-координаты изображений графитовым стержнем для картирования области между СТ-пространством и BRW-пространством.

Антитела к Sp35 или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты или производные, соответствующие изобретению, необязательно могут быть введены в комбинации с другими агентами, которые эффективны при лечении нарушения или состояния, требующего лечения (например, профилактического или терапевтического).

Х. Диагностические агенты.

Далее изобретение предусматривает диагностический способ, используемый во время диагностики нервных нарушений или повреждений, который включает измерение уровня экспрессии белка или транскрипта Sp35 в ткани или других клетках или жидкости тела, полученных от пациента, и сравнение измеренного уровня экспрессии со стандартными уровнями экспрессии Sp35 в нормальной ткани или жидкости тела, при этом повышение уровня экспрессии относительно стандарта является показателем нарушения.

Sp35-специфические антитела можно использовать для анализа уровней белка в биологическом образце с использованием классических иммуногистологических способов, известных компетентным специалистам в области техники (например, см. статьи see Jalkanen, et al., J. Cell. Biol. 707:976-985 (1985); Jalkanen, et al., J. Cell Biol. 705:3087-3096 (1987)). Другие способы на основе антител, используемые для детекции экспрессии белка, включают иммуноанализы, такие как твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA), иммунопреципитацию и вестерн-блоттинг. Подходящие анализы описаны более детально в других разделах данного материала.

Под выражением "оценка уровня экспрессии полипептида Sp35" подразумевают качественное или количественное измерение или установление уровня полипептида Sp35 в первом биологическом образце либо непосредственно (например, путем определения или оценки абсолютного уровня белка), либо относительно (например, путем сравнения с ассоциированным раком уровнем полипептида во втором биологическом образце). Предпочтительно, когда измеряют или оценивают уровень экспрессии полипептида Sp35 в первом биологическом образце и сравнивают со стандартным уровнем полипептида Sp35, причем стандарт берут из второго биологического образца, полученного от субъекта, не имеющего нарушения, или определяют усреднением уровней, полученных в популяции субъектов, не имеющих нарушения. Как будут иметь в виду в области техники, когда "стандартный" уровень полипептида Sp35 известен, его можно использовать повторно в качестве стандарта для сравнения.

Под термином "биологический образец" подразумевают любой биологический образец, полученный от субъекта, клеточную линию, тканевую культуру или другой источник клеток, потенциально экспрессирующих Sp35. Способы получения биоптатов тканей и жидкостей тела у млекопитающих хорошо известны в области техники.

Антитела к Sp35, предназначенные для использования в вышеописанных диагностических способах, включают любое антитело к Sp35, которое специфически связывается с продуктом гена Sp35, как описано в других разделах данного материала.

XI. Иммуноанализы.

Антитела к Sp35 или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты или производные, соответствующие изобретению, можно проанализировать на иммуноспецифическое связывание любым способом, известным в области техники.

Иммуноанализы, которые можно использовать, включают, но без ограничения перечисленным, системы конкурентного и неконкурентного анализов с использованием таких методов, как вестерн-блоты, радиоиммуноанализы, ELISA (твердофазный иммуноферментный анализ), "сэндвичевые" иммуноанализы, анализы на основе иммунопреципитации, реакции преципитина, реакции на основе диффузии преципитина в геле, анализы на основе иммунодиффузии, анализы агглютинации, анализы связывания комплекса, иммунорадиометрические анализы, флуоресцентные иммуноанализы, иммуноанализы с использованием белка А, в числе прочих. Данные анализы являются рутинными и хорошо известны в области техники (см., например, монографию под ред. Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology (Современные методы в молекулярной биологии), John Wiley & Sons, Inc., New York, т. 1 (1994), которая включена в виде ссылки в данном контексте в своей полноте). Примеры иммуноанализов вкратце описаны ниже (но не подразумеваются как ограничивающие).

Протоколы иммунопреципитации, как правило, включают лизирование популяции клеток в лизирующем буфере, таком как буфер RIPA (1% NP-40 или Triton X-100, 1% дезоксихолат натрия, 0,1% SDS (додецилсульфат натрия), 0,15 M NaCl, 0,01 M фосфат натрия при pH 7,2, 1% трисиллол) с добавлением ингибиторов протеинфосфатазы и/или протеазы (например, EDTA (этилендиаминтетрауксусной кислоты), PMSF, аprotинина, ванадата натрия), добавление представляющего интерес антитела к клеточному лизату, инкубирование в течение периода времени (например, 1-4 ч) при 4°C, добавление белка А и/или белка G на частицах сефарозы к клеточному лизату, инкубирование в течение приблизительно одного часа или более при 4°C, промывание частиц в буфере для лизиса и ресуспендирование частиц в SDS/буфере для образцов. Способность представляющего интерес антитела к иммунопреципитации определенного антигена можно оценить, например, с помощью анализа вестерн-блот. Компетентный специалист в области техники должен быть знаком с параметрами, которые можно модифицировать для повышения уровня связывания антитела с антигеном и снижения уровня фона (например, предварительное осветление клеточного лизата с помощью частиц сефарозы). В плане дальнейшего обсуждения протоколов иммунопреципитации см., например, монографию под ред. Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology (Современные методы в молекулярной биологии), John Wiley & Sons, Inc., New York, т. 1 (1994), раздел 10.16.1.

Анализ вестерн-блот в основном включает получение образцов белка, электрофорез образцов белка в полиакриламидном геле (например, 8-20% SDS-PAGE (электрофорез в полиакриламидном геле с использованием 8-20% додецилсульфата натрия) в зависимости от молекулярной массы антигена), перенос образца белка из полиакриламидного геля на мембрану, такую как нитроцеллюлоза, PVDF или нейлон, блокирование мембраны в блокирующем растворе (например, PBS (забуференный фосфатом солевой раствор) с 3% BSA (бычий сывороточный альбумин) или обезжиренное молоко), промывание мембраны в буфере для промывания (например, PBS-Tween 20), блокирование мембраны первичным антителом (антителом, представляющим интерес), разведенным в блокирующем буфере, промывание мембраны в буфере для промывания, блокирование мембраны вторичным антителом (которое распознает первичное антитело, например, антитело к человеку), конъюгированным с субстратом фермента (например, пероксидазы хрена или щелочной фосфатазы) или радиоактивной молекулой (например, 32p or 125I), разведенной в блокирующем буфере, промывание мембраны в буфере для промывания и детекцию присутствия антигена. Компетентный специалист в области техники должен быть осведомлен относительно параметров, которые могут быть модифицированы, чтобы повысить определяемый сигнал и понизить фоновый шум. В плане дальнейшего обсуждения, касающегося протоколов вестерн-блота, см., например, монографию под ред. Ausubel et al., *Current Protocols in Molecular Biology* (Современные методы в молекулярной биологии), John Wiley & Sons, Inc., New York, т. 1 (1994), раздел 10.8.1.

ELISAs включают получение антигена, покрытие лунок 96-луночного планшета для титрования антигеном, добавление представляющего интерес антитела, конъюгированного с определяемым соединением, таким как субстрат фермента (например, пероксидазы хрена или щелочной фосфатазы) в лунку и инкубирование в течение периода времени и детекцию присутствия антигена. В ELISAs представляющее интерес антитело не должно быть конъюгировано с определяемым соединением; вместо этого в лунку может быть добавлено второе антитело (которое распознает представляющее интерес антитело), конъюгированное с определяемым соединением. Кроме того, вместо покрытия лунки антигеном лунка можно покрыть антителом. В данном случае второе антитело, конъюгированное с определяемым соединением, можно добавить после добавления представляющего интерес антигена в лунку с покрытием. Компетентный специалист в области техники должен быть осведомлен относительно параметров, которые могут быть модифицированы, чтобы повысить определяемый сигнал, а также других вариантов ELISA, известных в области техники. В плане дальнейшего обсуждения, касающегося ELISAs, см., например, монографию под ред. Ausubel et al., *Current Protocols in Molecular Biology* (Современные методы в молекулярной биологии), John Wiley & Sons, Inc., New York, т. 1 (1994), раздел 11.2.1.

Аффинность связывания антитела с антигеном и скорость диссоциации взаимодействия антитело-антиген можно определить с помощью анализов конкурентного связывания. Одним примером анализа конкурентного связывания является радиоиммуноанализ, включающий инкубирование меченого антигена (например, ^3H или ^{125}I) с представляющим интерес антителом в присутствии повышающихся количеств немеченого антигена и детекцию антитела, связанного с меченым антигеном. Аффинность представляющего интерес антитела в отношении конкретного антигена и скорости диссоциации связывания можно определить на основании данных с помощью графического анализа по Скетчарду. Конкурентцию с вторым антителом также можно определить, используя радиоиммуноанализы. В данном случае антиген инкубируют с представляющим интерес антителом, конъюгированным с меченым соединением (например, ^3H или ^{125}I) в присутствии повышающихся количеств немеченого второго антитела.

Антитела к Sp35 или их антигенсвязывающие фрагменты, варианты или производные, соответствующие изобретению, кроме того, используют гистологически, например, в иммуофлуоресцентных, иммуоэлектронно-микроскопических или неиммунологических анализах, для детекции *in situ* продуктов гена ракового антигена или консервативных вариантов или их пептидных фрагментов. Детекция *in situ* может быть осуществлена удалением гистологического образца у пациента и обработкой его меченым антителом к Sp35 или его антигенсвязывающим фрагментом, вариантом или производным, предпочтительно обработкой наложением меченого антитела (или фрагмента) на биологический образец. При использовании данного способа возможно установить не только присутствие белка Sp35 или его консервативных вариантов или пептидных фрагментов, но также его распределение в исследуемой ткани. Используя настоящее изобретение обычный специалист легко поймет, что любой из широкого круга гистологических способов (таких как способы окрашивания) можно модифицировать для достижения данной детекции *in situ*.

Иммуноанализы и неиммуноанализы продуктов гена Sp35 или его консервативных вариантов или пептидных фрагментов будут, как правило, включать инкубирование образца, такого как биологическая жидкость, тканевый экстракт, свежесобранные клетки или лизаты клеток, которые инкубировали в клеточной культуре, в присутствии определяемого меченого антитела, способного связываться с Sp35 или его консервативными вариантами или пептидными фрагментами, и детекцию связанного антитела любым из множества способов, хорошо известных в области техники.

Биологический образец можно привести в контакт и иммобилизовать на твердофазной основе или носителе, таком как нитроцеллюлоза или другой твердый носитель, который способен к иммобилизации клеток, клеточных частиц или растворимых белков. Затем основу можно промыть подходящими буфе-

рами с последующей обработкой определяемо меченым антителом к Sp35 или его антигенсвязывающим фрагментом, вариантом или производным. Затем твердофазную основу можно второй раз промыть буфером для удаления несвязанного антитела. Затем антитело необязательно метят. Количество связанной метки на твердой основе можно затем определить принятыми средствами.

Под выражением "твердофазная основа или носитель" подразумевают любую основу, способную к связыванию антигена или антитела. Хорошо известные основы или носители включают стекло, полистирол, полипропилен, полиэтилен, декстран, нейлон, амилазы, природные и модифицированные целлюлозы, полиакриламиды, габбро или магнетит. Для целей настоящего изобретения носитель по природе может быть либо растворимым до некоторой степени, либо нерастворимым. Материал носителя может иметь практически любую возможную конфигурацию до тех пор, пока связанная молекула способна связываться с антигеном или антителом. Таким образом, конфигурация основы может быть сферической, как в гранулах, или цилиндрической, как во внутренней поверхности тест-пробирки или наружно поверхности стержня. Альтернативно поверхность может быть плоской, такой как лист, тест-полоска и т.п. Предпочтительные основы включают полистироловые гранулы. Компетентным специалистам в области техники будут известны многие другие подходящие носители для связывания антитела или антигена, или они будут способны установить это с использованием рутинного экспериментирования.

Активность связывания заданной партии антитела к Sp35 или его антигенсвязывающего фрагмента, варианта или производного можно определить согласно хорошо известным способам. Компетентные специалисты в области техники будут способны определить функциональные и оптимальные условия анализа для каждого определения при использовании рутинного экспериментирования.

Имеется множество способов измерения аффинности взаимодействия антитело-антиген, но относительно немного для измерения констант скорости. Большинство способов основано либо на введении метки в антитело или антиген, которая неизбежно затрудняет рутинные измерения и вводит элементы неопределенности в измеряемые количества.

Поверхностный плазмонный резонанс (SPR), как проводят на приборе BIAcore, представляет ряд преимуществ относительно традиционных способов измерения аффинности взаимодействий антитело-антиген: (i) не требуется вводить мету ни в антитело, ни в антиген; (ii) необязательно предварительно очищать антитела, супернатант клеточной культуры можно использовать непосредственно; (iii) измерения в режиме реального времени, обеспечивающие быстрое полуколичественное сравнение взаимодействий различных моноклональных антител, дают возможность и достаточны для многих целей оценки, (iv) биспецифическую поверхность можно регенерировать, так что серию различных моноклональных антител можно легко сравнить в идентичных условиях, (v) аналитические процедуры полностью автоматизированы и широкие серии измерений можно проводить без участия пользователя. См. BIAapplications Handbook, версия AB (переиздание 1998), код BIACORE № BR-1001-86; BIAtechnology Handbook, версия AB (переиздание 1998), код BIACORE № BR- 1001-84.

Для исследований связывания на основе SPR необходимо, чтобы один член пары связывания был иммобилизован на поверхности датчика. Иммобилизованный партнер связывания называют лигандом.

Партнер связывания в растворе называют аналитом. В ряде случаев лиганд непрямо присоединяют к поверхности посредством связывания с другой иммобилизованной молекулой, которую называют захватывающей молекулой. Ответ SPR отражает изменение концентрации массы на поверхности детектора, когда аналиты связываются или диссоциируют.

Основываясь на SPR, измерения, проведенные на BIAcore в режиме реального времени, непосредственно мониторируют взаимодействия, когда они происходят. Способ хорошо подходит для определения кинетических параметров. Сравнительное ранжирование аффинности провести чрезвычайно просто и обе константы, кинетическую и аффинности, можно вывести из данных сенсограммы.

Когда аналит впрыскивают в дискретный импульс через поверхность лиганда, полученную в результате сенсограмму можно разделить на три основные фазы: (i) связывания аналита с лигандом во время впрыскивания образца, (ii) уравнивание или стабильная стадия во время впрыскивания образца, когда скорость связывания аналита уравнивается диссоциацией из комплекса, (iii) диссоциация аналита с поверхности во время протекания буфера.

Фазы ассоциации и диссоциации дают информацию относительно кинетики взаимодействия аналит-лиганд (k_a и k_d , скорости образования и диссоциации комплекса, $k_d/k_a = K_d$). Фаза равновесия дает информацию относительно аффинности взаимодействия аналит-лиганд (K_d).

Пакет программ BIAevaluation представляет большие возможности для построения кривой с использованием как численного интегрирования, так и общих алгоритмов построения. При использовании подходящего анализа данных, можно получить отдельные константы скорости и аффинности взаимодействия на основании простых исследований с помощью BIAcore. Интервал аффинностей, измеряемых данным способом, лежит в очень широком интервале от мМ до пМ.

Специфичность эпитопов является важной характеристикой моноклонального антитела. Картирование эпитопа с помощью BIAcore в противоположность традиционным способам с использованием радиоиммуноанализа, ELISA или других способов поверхностной адсорбции не требует введения метки или очистки антител и дает возможность проведения тестов многоцентрированной специфичности с использованием

ем последовательности нескольких моноклональных антител. Кроме того, большие количества анализов можно обработать автоматически.

Эксперименты по попарному связыванию тестируют способность двух MAbs одновременно связываться с одним и тем же антигеном. MAbs, направленные на разные эпитопы, будут связывать независимо, тогда как MAbs, направленные на идентичные или близко родственные эпитопы, будут мешать связыванию друг друга. Данные эксперименты по связыванию с использованием ВІАscore просты в осуществлении.

Например, можно использовать захватывающую молекулу для связывания первого Mab с последующим добавлением антигена и затем второго MAbs. Сенсограммы будут показывать: 1. как много антигена связывается с первым Mab, 2. до какой степени второе MAbs связывается с присоединенным к поверхности антигеном, 3. если второе MAbs не связывается, изменяет ли результаты обратный порядок попарного теста.

Ингибирование пептидом представляет собой другой способ, используемый для картирования эпитопа. Данный способ может дополнить исследования попарного связывания антител и может связать функциональные эпитопы со структурными свойствами, когда известна первичная последовательность антигена. Пептиды или фрагменты антигена тестируют на ингибирование связывания различных MAbs с иммобилизованным антигеном. Пептиды, которые нарушают связывание заданного MAbs считают структурно близкими эпитопу, определенному с помощью данного MAbs.

В практической реализации настоящего изобретения будут использовать, пока не указано иначе, традиционные способы, применяемые в биологии клетки, молекулярной биологии, трансгенной биологии, микробиологии, рекомбинантной ДНК и иммунологии, которые входят в компетенцию специалистов в области техники. Данные способы полностью объясняются в литературе. См., например, монографии *Molecular Cloning A Laboratory Manual* (Лабораторное руководство по молекулярному клонированию), 2 изд., под ред. Sambrook et al., Cold Spring Harbor Laboratory Press: (1989); *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (Лабораторное руководство по молекулярному клонированию), под ред. Sambrook et al., Cold Springs Harbor Laboratory, New York (1992), *DNA Cloning* (Клонирование ДНК) под ред. D. N. Glover, т.т. I и II (1985); *Oligonucleotide Synthesis* (Синтез олигонуклеотидов) под ред. M. J. Gait, (1984); Mullis et al., патент США No: 4683195; *Nucleic Acid Hybridization* (Синтез нуклеиновых кислот) под ред. B. D. Hames & S. J. Higgins, (1984); *Transcription And Translation* (Транскрипция и трансляция) под ред. B. D. Hames & S. J. Higgins (1984); *Culture Of Animal Cells* (Культура клеток животных), R. I. Freshney, Alan R. Liss, Inc., (1987); *Immobilized Cells And Enzymes* (иммобилизованные клетки и ферменты), IRL Press, (1986); B. Perbal, *A Practical Guide To Molecular Cloning* (Практическое руководство по молекулярному клонированию) (1984); учебник *Methods In Enzymology* (Методы в энзимологии), Academic Press, Inc., N.Y.; монографии *Gene Transfer Vectors For Mammalian Cells* (Векторы для переноса генов для клеток млекопитающих), под ред. J. H. Miller and M. P. Calos, Cold Spring Harbor Laboratory (1987); *Methods In Enzymology* (Методы в энзимологии), т.т. 154 и 155 (под ред. Wu et al.); *Immunochemical Methods In Cell And Molecular Biology* (Иммунохимические методы в клеточной и молекулярной биологии), под ред. Mayer and Walker, Academic Press, London (1987); *Handbook Of Experimental Immunology* (Руководство по экспериментальной иммунологии), т.т. I-IV, под ред. D. M. Weir and C. C. Blackwell, (1986); *Manipulating the Mouse Embryo* (манипуляции с мышинными эмбрионами), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., (1986) и Ausubel et al., *Current Protocols in Molecular Biology* (Современные методы молекулярной биологии), John Wiley and Sons, Baltimore, Maryland (1989).

Основные принципы конструирования антител приведены в монографии *Antibody Engineering* (Конструирование антител), 2 изд., под ред. C.A.K. Borrebaeck, Oxford Univ. Press (1995). Основные принципы конструирования белков приведены в монографии *Protein Engineering, A Practical Approach* (Практический подход к конструированию белков), под ред. Rickwood, D., et al., IRL Press at Oxford Univ. Press, Oxford, Eng. (1995). Основные принципы связывания антител или антител с гаптеном приведены в монографиях Nisonoff, A., *Molecular Immunology* (Молекулярная иммунология), 2 изд., Sinauer Associates, Sunderland, MA (1984) и Steward, M. W., *Antibodies, Their Structure and Function* (Антитела, их структура и функция), Chapman and Hall, New York, NY (1984). Кроме того, стандартные способы в иммунологии, известные в области техники, не описанные специально, в основном соответствуют тем, что представлены в монографиях *Current Protocols in Immunology* (Современные методы с иммунологии), John Wiley & Sons, New York; под ред. Stites et al., *Basic and Clinical Immunology* (Общая и клиническая иммунология) (8 изд.), Appleton & Lange, Norwalk, CT (1994) и под ред. Mishell and Shiigi, *Selected Methods in Cellular Immunology* (Избранные методы клеточной иммунологии), W.H. Freeman and Co., New York (1980).

Стандартные работы, на которые ссылаются, представляющие основные принципы иммунологии, включают монографии *Current Protocols in Immunology* (Современные методы в иммунологии), John Wiley & Sons, New York; Klein, J., *Immunology: The Science of Self-Nonself Discrimination* (Иммунология - наука распознавания: свой-несвой), John Wiley & Sons, New York (1982); под ред. Kennett, R., et al., *Monoclonal Antibodies, Hybridoma: A New Dimension in Biological Analyses* (Моноклональные Антитела, гибридома - новое измерение в биологических анализах), Plenum Press, New York (1980); раздел Campbell,

A., "Monoclonal Antibody Technology" (Технология Моноклональных антител) в монографии под ред. Burden, R., et al., Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology (Лабораторные методы в биохимии и молекулярной биологии), т. 13, Elsevier, Amsterdam (1984), Kuby Immunology (Иммунология Кьюби) 4 изд. под ред. Richard A. Goldsby, Thomas J. Kindt and Barbara A. Osborne, H. Freeman & Co. (2000); Roitt, L., Brostoff, J. and Male D., Immunology (Иммунология) 6 изд. London: Mosby (2001); Abbas A., Abul, A. and Lichtman, A., Cellular and Molecular Immunology (Клеточная и молекулярная иммунология) 5 изд., Elsevier Health Sciences Division (2005); Kontermann and Dubel, Antibody Engineering (Конструирование Антител), Springer Verlag (2001); Sambrook and Russell, Molecular Cloning: A Laboratory Manual (Лабораторное руководство по молекулярному клонированию). Cold Spring Harbor Press (2001); Lewin, Genes VIII (Гены VIII), Prentice Hall (2003); Harlow and Lane, Antibodies: A Laboratory Manual ((Лабораторное руководство по антителам), Cold Spring Harbor Press (1988); Dieffenbach and Dveksler, PCR Primer (Праймер для ПНР) Cold Spring Harbor Press (2003).

Все из вышеприведенных ссылок, а также все ссылки, приведенные в данном контексте, включены в данном контексте в виде ссылки в своей полноте.

Примеры

Пример 1.

Sp35 включен в биологию олигодендроцитов.

Олигодендроциты созревают на протяжении нескольких стадий развития, дифференцируясь из клеток-предшественников A2B5 (которые экспрессируют A2B5) в премиелинизирующие олигодендроциты (которые экспрессируют O1 и O4) и, наконец, в зрелые миелинизирующие олигодендроциты (которые экспрессируют O1, O4 и MBP). Таким образом по мониторингованию присутствия и отсутствия маркеров A2B5, O1, O4 и MBP возможно определить стадию развития данной клетки и оценить роль Sp35-Fc в биологии олигодендроцитов. В качестве общего обзора биологии олигодендроцитов, см., например, статью Baumann and Pham-Dinh, *Physiol. Rev.* 81: 871-927 (2001).

Моноклональные антитела к O4, MBP и CNP-азе получают от фирмы Sternberger Monoclonals; антитело к APC (клон CC-1; ссылка 29) - от фирмы Calbiochem. Другими антителами являются: антитело к бета-III-тубулину (Covance), Sp35 (Biogen Idee), Fyn (Santa Cruz Biotechnology) и фосфо-Fyn (Biosource). Моноклональные антитела к A2B5 доступны в фирме Chemicon.

Sp35 экспрессируется в олигодендроцитах.

Экспрессию Sp35 в культурах очищенных крысиных нейронов P13 CG, олигодендроцитов P2 и астроцитов P4 анализируют с помощью полимеразной цепной реакции после обратной транскрипции (ОТ-ПЦР). Набор фирмы Ambion, Inc. используют для экстракции мРНК из клеток головного мозга крыс согласно инструкциям изготовителя. Полуколичественная ОТ-ПЦР, проводимая с использованием прямого праймера 5' AGAGACATGCGATTGGTGA 3' (SEQ ID NO: 344) и обратного праймера 5' AGAGATGTAGACGAGGTCATT 3' (SEQ ID NO: 345), показывает высокий уровень экспрессии в нейронах, более низкий уровень экспрессии в олигодендроцитах и отсутствие экспрессии в астроцитах.

Экспрессию Sp35 в олигодендроцитах подтверждают путем гибридизации *in situ* в срезах, полученных из глазного нерва взрослой крысы. Срезы зрительного нерва крысы получают и обрабатывают, как описано в статье Mi et al., "Sp35 is a component of the Nogo-66 receptor/p75 signaling complex" (Sp35 - компонент комплекса передачи сигнала рецептора Nogo-66/p75) *Nat. Neurosci.* 7: 221-28 (2004) и зондируют меченной диоксигенином антисмысловой или смысловой РНК Sp35, используя первые 500 нуклеотидов кодирующей последовательности Sp35. Срезы окрашивают согласно инструкциям изготовителя, используя набор Tyramide Signal Amplification kit (Amersham Biosciences) и набор с антителом к диоксигенину, конъюгированному с флуоресцентной меткой (Perkin Elmer). Для комбинированных *in situ* и иммунофлуоресцентных анализов срезы сначала зондируют РНК, меченными диоксигенином и затем антителами, например антителом CC1 (Calbiochem; маркером зрелых олигодендроцитов) или антителом к Sp35. Авторы наблюдают, что олигодендроциты, которые гибридизуются с антисмысловым зондом Sp35 также совместно окрашиваются антителом к CC1 (данные не показаны). Никакого специфического мечения не наблюдают при использовании смыслового зонда Sp35.

Экспрессию Sp35 в олигодендроцитах подтверждают также иммуногистохимическими исследованиями срезов тканей из области бокового желудочка коры головного мозга крысы P7. Большинство кортикальных клеток, которые метятся антителом CC1 метятся также антителом к Sp35. Данные не показаны. Специфичность взаимодействия подтверждают предварительной адсорбцией антитела к Sp35 на Sp35-Fc (см. Example 2), которая элиминирует сигнал.

Выбывание экспрессии Sp35 посредством Sp35-специфической РНКi способствует росту и дифференцировке олигодендроцитов.

Sp35-специфическое РНКi используют для устранения экспрессии Sp35 в клетках-предшественниках олигодендроцитов, чтобы исследовать, как Sp35 участвует в росте и дифференцировке олигодендроцитов. 50000 клеток-предшественников олигодендроцитов A2B5 инфицируют лентивирусом, несущим Sp35-специфическую последовательность РНКi или контрольную РНКi, полученную следующим образом.

Мышиную и крысиную последовательности ДНК Sp35 сравнивают, чтобы найти гомологичные об-

ласти для использования потенциальных маленьких шпилечных РНК (shРНК). Для экспрессии в лентивирусах РНКi Sp35 CH324 конструируют путем отжига олигонуклеотидов LV 1-035 и LV 1-036 и лигирования в разрезанную HpaI и XhoI pLL3.7. Вектор pLL3.7, дополнительные способы и продукцию вируса используют, как описано в статье Robinson et al., Nat. Genet. 33, 401-06 (2003). Олигонуклеотиды РНКi Sp35 приобретают в фирме MWG, и они имеют следующие последовательности: LV1- 035 (смысловый олиго) 5' - TGA TCG TCA TCC TGC TAG ACT TCA AGA GAG TCT AGC AGG ATG ACG ATC TTT TTT C - 3' (SEQ ID NO: 346) и LV1-036 (антисмысловый олиго) 5' - TCG AGA AAA AAG ATC GTC ATC CTG CTA GAC TCT CTT GAA GTC TAG CAG GAT GAC GAT CA - 3' (SEQ ID NO: 347).

Контрольную РНКi конструируют с теми же олигонуклеотидными последовательностями за исключением изменений нуклеотидов, показанных строчными буквами: 5'-TGA TCc TCA TcC ttC Tat ACT TCA AGA GAG TgT AGC AGG ATG AcG ATC TTT TTT CTC GA-3' (SEQ ID NO: 348) и 5'- TCG AGA AAA AAG ATC GTC ATC CTG CTA GAC TCT CTT GAA GTa TAG aAG GAT GAC GAT CA-3'. (SEQ ID NO: 349).

Перед получением лентивируса ДНК из pLL3.7 или потенциальной shРНК в pLL3.7 клетки CHO сотрансфицируют с мышинной меченой Sp35-НА плазмидой в соотношении 5 к 1 в 6-луночном формате. Выбывание анализируют детекцией вестерн-блотом метки Sp35-НА из лизатов трансфицированных клеток CHO, а также нозерн-блотом общей РНК, полученной из лунок в двух повторностях. Блот зондируют фрагментом ДНК Sp35. Анализы проводят через 48 ч после трансфекции. Как ожидают, имеется 1-кратное уменьшение мРНК Sp35 в клетках CHO, обработанных РНКi CH324 относительно клеток, обработанных контролем. Данные не показывают. Лентивирусы ElnAi, несущие белок зеленой флуоресценции (GFP), генерируют, как описано в статье Robinson et al. В культурах, обработанных либо контролем, либо РНКi Sp35 приблизительно 80% олигодендроцитов является GFP-положительными. Общее число клеток не изменяется при обработках РНКi. Для количественной оценки эффектов РНКi на дифференцировку подсчитывают только GFP-экспрессирующие олигодендроциты.

Обогащенные популяции олигодендроцитов выращивают из самок крыс Long Evans P2, как описано в статье Conn, Meth. Neurosci. 2:1-4 (Academic Press; 1990) со следующими модификациями. Вкратце, передний мозг препарируют и помещают в забуференный солевой раствор Хенка (HBSS; Invitrogen). Ткань разрезают на фрагменты по 1 мм и инкубируют при 37°C в течение 15 мин в 0,01% трипсине и 10 мкг/мл ДНКазы. Отделившиеся клетки помещают на колбы для тканевых культур T75, покрытые поли-L-лизин и выращивают при 37°C в течение 10 дней в среде DMEM с 20% сывороткой телячьих эмбрионов (Invitrogen). Предшественники олигодендроцитов (A2B5⁺) собирают путем встряхивания колбы в течение ночи при 200 об/мин при 37°C, получая в результате популяцию 95% чистоты. Культуры поддерживают в среде Игла в модификации Дальбекко с высоким содержанием глюкозы (DMEM) с добавлением FGF/PDGF (10 нг/мл; Peprotech) в течение 1 недели. Удаление FGF/PDGF позволяет клеткам A2B5⁺ дифференцироваться в O4⁺ премиелинизирующие олигодендроциты через 3-7 дней и дифференцироваться в O4⁺ и MBP⁺ зрелые олигодендроциты через 7-10 дней. Данные состояния дифференцировки легко видеть по изменениям морфологии: A2B5⁺ клетки биполярны по форме, O4⁺ премиелинизирующие олигодендроциты имеют более длинные и более разветвленные отростки, и MBP⁺ зрелые олигодендроциты включают структуры миелиновой оболочки между отростками.

Клетки-предшественники олигодендроцитов A2B5 инфицируют лентивирусом, содержащим РНК-i CH324. Полученные в результате клетки культивируют в течение 3 дней и подсчитывают число O4-положительных (маркер дифференцировки олигодендроцитов) олигодендроцитов. Уровень эндогенной экспрессии Sp35 снижают инфекцией лентивируса РНК-i Sp35 и подтверждают с помощью ОТ-ПЦР. Снижение уровня Sp35 дает в результате более высокодифференцированные зрелые олигодендроциты по сравнению с контрольными инфицированными клетками, что очевидно по увеличению длины отростков клеток и присутствию большого количества структур миелиновой оболочки (данные не показывают). Среди клеток, которые экспрессируют РНК-i Sp35, в три раза больше зрелых (O4-положительных) олигодендроцитов по сравнению с контрольными культурами. Данные результаты показывают, что Sp35 может отрицательно регулировать дифференцировку олигодендроцитов.

Доминантно-отрицательный Sp35 способствует росту и дифференцировке олигодендроцитов.

Конструируют лентивирусные векторы, которые экспрессируют дикий тип и доминантно-отрицательную форму Sp35. Последовательность ДНК, кодирующую мышинный Sp35 полной длины (FL-Sp35, остатки аминокислот 34-614 SEQ ID NO: 2) амплифицируют с помощью ПЦР, используя праймеры 5' - GAG GAT CTC GAC GCG GCC GCA TGG AGA CAG ACA CAC TCC TG - 3' (SEQ ID NO: 350) и 5' - GGG GCG GAA TTG GAT CCT CAC AGA TCC TCT TCT GAG ATG AG-3' (SEQ ID NO: 351) и вводят в лентивирусный вектор HRST-IRESegFP в сайты NotI и BamHI. Аналогично последовательность ДНК, кодирующую доминантный отрицательный Sp35 (DN-Sp35, остатки аминокислот 34-581 SEQ ID NO: 2) амплифицируют с помощью ПЦР, используя праймеры 5' - GAG GAT CTC GAC GCG GCC GCA TGG AGA CAG ACA CAC TCC TG - 3' (SEQ ID NO: 352) and 5' - GAT ACG GAT CCT CAG CCT TTG CCC CGG CTC CAT AGA AAC AGC -3' (SEQ ID NO: 353). Плазмидами FL-Sp35 и DN-Sp35 трансфицируют клетки 293 с получением лентивируса, как описано в статье Robinson et al., "A lentivirus-based system to functionally silence genes in primary mammalian cells, stem cells and transgenic mice by РНК interference"

(Система на основе лентивирусов для получения функционально молчания генов в первичных клетках млекопитающих, стволовых клетках и у трансгенных мышей посредством интерференции РНК) Nat. Genet. 33: 401-06 (2003). Олигодендроциты инфицируют лентивирусом в концентрации 2 MOI на клетку и подтверждают экспрессию FL-Sp35 и DN-Sp35 с помощью вестерн-блота.

DN-Sp35 способствует дифференцировке олигодендроцитов, давая повышение числа зрелых олигодендроцитов. Напротив, сверхэкспрессия Sp35 полной длины (FL-Sp35) имеет противоположный эффект и ингибирует дифференцировку, что является доказательством уменьшения числа зрелых олигодендроцитов по сравнению с контролем (данные не приводят).

Пример 2.

Конструирование и очистка слитого белка Sp35-Fc.

Получают конструкцию, сливая внеклеточную часть человеческого Sp35 (остатки 1-532) с шарнирным и Fc-участком человеческого IgG1, чтобы исследовать биологическую функцию Sp35. Частичную кодирующую последовательность человеческого Sp35 получают с помощью ПЦР из клона 227.2, используя прямой праймер 5' - CAG CAG GTC GAC GCG GCC GCA TGC TGG CGG GGG GCG T -3' (SEQ ID NO: 354) и обратный праймер 5' - CAG CAG GTC GAC CTC GCC CGG CTG GTT GGC CAA CCA GCC GGG CGA GGT CGA CCT CGA GG - 3' (SEQ ID NO: 355).

Продукт ПЦР с тупыми концами субклонируют в сайт SrfI вектора PCR SCRIPT AMP (Stratagene) с целью создания PCR SCRIPT AMP-Sp35. Фрагмент SalI выделяют из PCR SCRIPT AMP-Sp35 и субклонируют в вектор PCRCAMP Ig (производное вектора Stratagene PCR SCRIPT AMP). В вектор PCRCAMP субклонируют шарнирную последовательность и последовательность Fc гамма как фрагмент SalI(5') - NotI(3'). Фрагмент SalI Sp35 субклонируют в сайт the SalI вектора PCRCAMP Ig, тем самым сливая сигнальную последовательность и внеклеточный домен Sp35 (кодоны 1-532) в рамке считывания с последовательностями, кодирующими шарнирный и Fc-участок человеческого Ig1. Идентифицируют корректные изоляты и фрагмент NotI, охватывающий фрагмент Fc Sp35 субклонируют в единственный сайт клонирования NotI экспрессирующего вектора CHO, PV90 (Biogen Idee). Полученную в результате плазмиду подтверждают секвенированием ДНК и называют GT123.

Стабильные клеточные линии, экспрессирующие слитый белок Sp35-Fc, генерируют электропорацией клеток-хозяев CHO DG44 плазмидой GT 123. Трансфицированные клетки CHO культивируют в альфа-минус MEM в присутствии 10% диализованной сыворотки и 4 mM глутамина для селекции нуклеозид-независимого роста. Через четырнадцать дней после трансфекции клетки подпитывают свежей средой. Для скрининга клеток, экспрессирующих Sp35-Fc, клетки CHO метят козым антителом к человеческому IgG, меченным фикоэритрином (PE) (Jackson Labs) и подвергают сортировке с использованием высокоскоростной проточной цитометрии в приборе FACS Mo-Flo (Cytomation). Отбирают клетки, которые экспрессируют самые высокие уровни Sp35-Fc. Данные клетки размножают в культуре в течение 7 дней, затем повторно метят и проводят повторный сортировку. Клетки, экспрессирующие самые высокие уровни Sp35-Fc, выделяют как индивидуальные клоны в 96-луночных планшетах. Данные клоны выращивают в течение двух недель и затем подпитывают свежими средами за один день до проведения анализа FACS с целью проверки уровней экспрессии. Клоны, которые экспрессируют самые высокие уровни Sp35-Fc, размножают и создают банки замороженных клеток. Клеточные линии адаптируют к росту в суспензионной культуре в бессывороточной среде BCM16. Титр Sp35-Fc, продуцируемого данными клонами, определяют по росту клеточных линий при 37°C в течение 4-5 пассажей, затем выращивают клетки до 50% максимальной плотности клеток и культивируют их в течение 10-15 дней при 28°C, пока плотность жизнеспособных клеток не упадет до 75%. В это время собирают культуральную среду, очищают от клеток и дебриса центрифугированием и титруют культуральные супернатанты на уровне Sp35-Fc с помощью анализа вестерн-блот с использованием антитела к человеческому Ig (Jackson Lab) в качестве зонда.

Слитый белок Sp35-Fc очищают из осветленной культуральной среды следующим образом: 9 мл 1M HEPES pH 7,5 добавляют к 900 мл кондиционированной среды. Среду порционно загружают на 3 ч при 4°C на 3 мл Белок А-сефарозу (Amersham Bioscience). Смола собирают в колонке 1,5 см (I.D.) и промывают четыре раза 3 мл PBS, два раза 4 мл PBS, содержащим 800 mM NaCl и затем снова 3 мл PBS. Sp35-Fc элюируют с колонки 25 mM NaH₂PO₄, pH 2,8 и 100 mM NaCl во фракциях по 1,5 мл и нейтрализуют добавлением 75 мкл 0,5 M NaH₂PO₄, pH 8,6. Фракции, содержащие пики белка, идентифицируют по поглощению при 280 нм, объединяют и подвергают дальнейшей очистке на колонке с белком А объемом 1 мл. Перед нагрузкой добавляют NaCl до 600 mM и HEPES, pH 7,5 до 50 mM. Колонку промывают два раза 600 мкл 10 mM HEPES pH 7,5 и 1 M NaCl и затем 1 мл PBS. Sp35-Fc элюируют с колонки 25 mM NaH₂PO₄, pH 2,8 и 100 mM NaCl, собирая фракции по 0,5 мл, и нейтрализуют добавлением 25 мкл 0,5 M NaH₂PO₄, pH 8,6. Фракции, содержащие пики белка, идентифицируют по поглощению при 280 нм и объединяют. При восстанавливающем SDS-PAGE белок Sp35-Fc движется в виде одной полосы (чистота >95%) при видимой массе 90 кД. В невосстанавливающих условиях белок идет как димер с приблизительно массой 180 кД. Берут аликваты очищенного белка Sp35-Fc и хранят при -70°C.

Пример 3.

Получение специфических в отношении Sp35 моноклональных антител.

Антитела к Sp35, которые специфически связывают полипептид Sp35, соответствующий изобрете-

нию, получают, используя следующие способы и процедуры.

А. Анализ антитела путем скрининга.

1. Анализ ELISA.

Sp35-Fc (0,5 мкг в 50 мкл 0,1 М буфера на основе бикарбоната натрия, pH 9,0) добавляют в каждую лунку 96-луночных планшетов MaxiSorp™ (Nunc™). Затем планшеты инкубируют при 37°C в течение 1 ч или при 4°C в течение 16 ч. Центры неспецифического связывания на планшетах блокируют, используя 25 мМ HEPES, pH 7,4, включающий 0,1% BSA, 0,1% овальбумин, 0,1% (5% (мас./об.) обезжиренного сухого молока в 150 мМ NACE) и 0,001% азид. Разведения сыворотки или супернатантов гибридомы (например, серийные трехкратные разведения) добавляют по каждому ряду планшета и инкубируют при 25°C в течение 1 ч. После трехкратного промывания PBS, в каждую лунку добавляют 50 мкл разведения 1:10000 козьего вторичного антитела к мыши, конъюгированного с пероксидазой хрена (Jackson ImmunoResearch Inc.) и инкубируют в течение еще 1 ч. После трех промываний проявляют окраску TMB (Pierce) и блокируют 2 М серной кислотой. Интенсивность окрашивания мониторируют в спектрофотометре при длине волны 450 нм.

2. Анализ FACS.

Клетки COS-7 или клетки CHO метят 0,1 мкМ CellTracker™ Green CMFDA (Molecular Probes, Eugene OR), как описано изготовителем. Равные объемы меченных CellTracker™ контрольных клеток смешивают с промытыми клетками Sp35-COS-7 или клетками Sp35-CHO (полученным путем временной трансфекции Sp35-экспрессирующим вектором) перед инкубированием с тест-антисывороткой к Sp35 или супернатантами гибридомы. 50 мкл смеси клеток вносят в каждую лунку 96-луночных полистироловых планшетов с V-образным дном (Costar® 3877, Corning, NY) и добавляют 100 мкл мышиной сыворотки, супернатанта гибридомы или контрольного антитела к Sp35. После инкубирования при 4°C в течение 30 мин клетки промывают и инкубируют с 50 мкл конъюгированного с фикоэритрином аффинно чистого фрагмента F(ab')₂ Fc гамма-специфического козьего вторичного антитела к мышиному IgG (1:200, Jackson ImmunoResearch Laboratory, West Grove, PA) в PBS. В конце инкубирования клетки дважды промывают PBS и суспендируют в 200 мкл PBS, содержащего 1% сыворотку телячьих эмбрионов (FBS) и подвергают анализам FACS. Альтернативно клетки Sp35-COS-7 или клетки Sp35-CHO смешивают с мышиной сывороткой или супернатантом гибридомы и затем обрабатывают конъюгированным с R-фикоэритрином вторичным козьим антителом к мыши и непосредственно подвергают стандартному анализу FACS.

В. Получение с помощью гибридомы мышиных моноклональных антител к Sp35.

Самок мышей RBF в возрасте восьми недель (Jackson Labs, Bar Harbor, ME) иммунизируют внутрибрюшинно эмульсией, содержащей 50 мкг Sp35-Fc (аминокислоты 34-532 SEQ ID NO: 2, слитые с шарнирным и F-участком человеческого IgG1), полученным, как описано в примере 2, или иммунизируют внутрибрюшинно эмульсией, содержащей 50 мкг человеческого Sp35-Fc и 50 мкл полного адъюванта Фрейнда (Sigma® Chemical Co., St. Louis, MO) один раз каждые две недели. Сыворотки иммунизированных мышей собирают перед первой иммунизацией и через 1 неделю после второй и третьей иммунизаций и измеряют титры антитела к Sp35 с помощью анализа FACS на Sp35-экспрессирующих клетках COS-7, как описано выше. Бустерную конечную дозу дают после третьей иммунизации и за три дня до того, когда начинают слияния гибридом.

Сыворотки, полученные от мышей, иммунизированных различными пептидами Sp35, подвергают скринингу с помощью ELISA, как описано выше. Мышей, положительных по антителам, которые специфически связывают экспрессирующие Sp35 клетки COS-7, идентифицируют проточной цитометрией (FACS), как описано выше, и умерщвляют. У мышей выделяют спленоциты и сливают с миеломой FL653 (APRT-производное мышиной миеломы Ig-HGPRT-Balb/c, поддерживаемой в DMEM, содержащей 10% FBS, 4500 мг/л глюкозы, 4 мМ L-глутамин и 20 мг/мл 8- азагуанина), как описано в монографии Monoclonal Antibodies, Hybridomas: A New Dimension in Biological Analyses (Моноклональные Антитела, гибридома - новое измерение в биологических анализах), под ред. Kennett, R.H., McKearn, T.J. and Bechtol, K.B. New York: Plenum Press (1982). Слитые клетки помещают в 24- или 48-луночные планшеты (Corning Glass Works, Coining, NY) и подпитывают средой для культивирования, содержащей аденин, аминокперин и тимидин (AAT, доступный в фирме Sigma® Chemical Co., St. Louis, MO). Устойчивые к AAT культуры подвергают скринингу с помощью ELISA или проточной цитометрии, как описано выше, в отношении связывания либо с клетками Sp35-COS-7, либо с Sp35-Fc. Положительные гибридомы далее субконируют путем ограничивающего разведения.

Выделяют семнадцать гибридомных клеточных линий, продуцирующих моноклональные антитела, полученные от мышей, иммунизированных Sp35-Fc. Свойства полученных из гибридом моноклональных антител показаны в табл. 3А и 3В.

Полинуклеотиды, кодирующие вариабельные домены (V_H и V_L) моноклональных антител 1A7, 2F3, 3P1D10.2C3 и 3P1E11.3B7 выделяют посредством ПЦР, клонируют и подвергают анализу последовательности следующим способом. Общую РНК экстрагируют из клеток гибридомы, используя мининабор Qiagen® RNeasy® и генерируют кДНК из выделенной РНК посредством ОТ-ПЦР, используя стандарт-

ные условия. Для ОТ-ПЦР используют коктейль праймеров. Предпочтительный набор праймеров включает праймер с 5'-концом праймера, гибридизующегося с сигнальной последовательностью и 3'-концом праймера, гибридизующегося с константным доменом, находящимся 3' от соединения FR4/константного домена. Это дает возможность амплификации интактного переменного домена без неопределенных моментов относительно N-конца моноклонального антитела и соединения V/C. Компетентный специалист в области техники признает, что наборы праймеров должны быть модифицированы для амплификации различных матриц и для различных условий ПНР. Иногда может случиться наличие большого количества непродуктивной информации (например, CDR3-FR4, непродуктивной легкой цепи со сдвигом рамки считывания из партнера слияния) или неспецифической продуктивной информации и осложнить клонирование переменных цепей. Одним из решений является использование данных по N-концевой последовательности из аутентичного очищенного антитела для создания вырожденного праймера для получения возможности клонирования. Альтернативно можно использовать "универсальные скелетные" праймеры, такие как описаны в статье Orlandi et al., PNAS 86:3833 (1989), которые "фиксируют" N- и C-концы переменных доменов (т.е. N-конец FR1 и C-конец FR4 являются праймер-определенными). Кроме того, данные по последовательностям для конструирования более эффективных праймеров можно получить из основной массы продуктов ОТ-ПЦР, которые очищают гель-хроматографией и затем секвенируют. Продукт ПЦР также можно субклонировать, используя, например, набор TOPO Cloning Kit (Invitrogen), затем секвенировать. Данные по последовательностям затем получают из множества независимых субклонов или гель-очищенных фрагментов для точного определения консенсусной последовательности.

Последовательность легкой цепи P1E11.3B7 определяют, используя коктейль 5'-праймеров сигнальной последовательности мышинной каппа-легкой цепи: (i) 5' GGG GAT ATC CAC CAT GGA TTT TCA GGT GCA GAT TTT CAG 3' (SEQ ID NO: 356), (ii) 5' GGG GAT ATC CAC CAT GRA GTC ACA KAC YCA GGT CTT YRT A 3' (SEQ ID NO: 357), (iii) 5' GGG GAT ATC CAC CAT GAA GTT GCC TGT TAG GCT GTT G 3' (SEQ ID NO: 358) и (iv) 5' GGG GAT ATC CAC CAT GAG GKC CCC WGC TCA GYT YCT KGG A 3' (SEQ ID NO: 359), с одним 3'-праймером мышинного каппа-константного домена: 5' GCG TCT AGA ACT GGA TGG TGG GAG ATG GA 3' (SEQ ID NO: 4), где K=G/T, R=A/G, W=A/T и Y=C/T. Полученный в результате продукт ПЦР субклонировать и секвенируют множество независимых субклонов. Выведенная консенсусная последовательность согласуется с данными деградиационного секвенирования Эдмана. Секвенирование показывает, что 5'-праймер вырожденной сигнальной последовательности 5' GGG GAT ATC CAC CAT GRA GTC ACA KAC YCA GGT CTT YRT A 3" (SEQ ID NO: 357) представляет собой праймер, который дает переменный домен легкой цепи 3P1E11.3B7 при амплификации.

Последовательность тяжелой цепи 3P1E11.3B7 определяют, используя коктейль 5' ПЦР-праймеров сигнальной последовательности мышинной тяжелой цепи: (i) 5' GGG GAT ATC CAC CAT GGR ATG SAG CTG KGT MAT SCT CTT 3' (SEQ ID NO: 360) (ii) 5' GGG GAT ATC CAC CAT GRA CTT CGG GYT GAG CTK GGT TTT 3' (SEQ ID NO: 361) и (iii) 5' GGG GAT ATC CAC CAT GGC TGT CTT GGG GCT GCT CTT CT 3' (SEQ ID NO: 362) с 3'-праймером вырожденного константного домена CH1 мышинного Ig1 5' AGG TCT AGA AYC TCC ACA CAC AGG RRC CAG TGG ATA GAC 3' (SEQ ID NO: 363), где K=G/T, M= A/C, R=A/G и Y=C/T. С помощью ПЦР при использовании данного коктейля праймеров с множеством различных условий циклинга не удастся получить последовательность переменного домена тяжелой цепи, в которой выведенный N-конец согласуется с определенной по деградаци Эдмана последовательностью очищенного антитела 3P1E11.3B7. Вследствие этого авторы используют универсальные праймеры тяжелой цепи: FR1 5' AGG TSM ARC TGC AGS AGT CWG G 3' (SEQ ID NO: 364) и FR4 5' TGA GGA GAC GGT GAC CGT GGT CCC TTG GCC CCA G 3' (SEQ ID NO: 365), где M= A/C, R=A/G, S=C/G и W=A/T.

Данный набор дает переменный домен мышинной тяжелой цепи, выведенная последовательность которого согласуется с эмпирическими данными 3P1E11.3B7.

Для проверки того, что N- и C-концы переменного домена тяжелой цепи аутентичны и не определены праймером, проводят другую реакцию ПЦР с праймером вырожденной сигнальной последовательности 5' ATG GAR TGY AAY TGG ATH CTN CCN TTY A 3' (SEQ ID NO: 366) и вышеупомянутым 3' праймером константного домена 5' AGG TCT AGA AYC TCC ACA CAC AGG RRC CAG TGG ATA GAC 3' (SEQ ID NO: 367), где H=A/C/T, N=A/C/G/T, R=A/G и Y=C/T. Конструкция праймера вырожденной сигнальной последовательности основана на сигнальных последовательностях лучших вариантов, выделенных при поиске TFASTA в базе данных последовательностей грызунов Genbank, запрашиваемых с использованием консенсусной выведенной последовательности FR1 3P1E11.3B7 из реакции ПЦР с вышеописанным "универсальным праймером". Данная ПЦР дает продукт с полным переменным доменом мышинной тяжелой цепи.

Полные мышинные переменные домены 3P1E11.3B7 используют (с молчащим мутагенезом при необходимости интродуцировать сайты рестрикции) в сочетании с кДНК человеческого IgG1 и каппа-константного домена для конструирования химерных кДНК тяжелой и легкой цепи, соответственно кДНК иммуноглобулина полной длины субклонировать в экспрессирующий вектор, названный pNE001, производное коммерческого эпизомного экспрессирующего вектора pCER4 для клеток млекопитающих

на основе EBV. Экспрессирующими векторами тяжелой и легкой цепи (называемые pXW372 и pXW363 соответственно) сотрансфицируют клетки 293-EBNA. Анализ вестерн-блот (зондируемый реагентами, специфическими в отношении человеческого IgG) кондиционированной среды временно трансфицированных клеток подтверждает экспрессию химерных 3P1E11.3B7-huIgG1, каппа mAb. Полученные в результате последовательности полипептидов V_H и V_L 3P1E11.3B7 показаны в табл. 6 и 8 и представляют собой SEQ ID NO: 173 и 209 соответственно. Последовательности тяжелой и легкой цепей для моноклональных антител 1A7, 2F3 и 3P1D10.2C3 определяют аналогичными способами.

С. Идентификация моноклональных антител к Sp35 путем представления на фагах.

Фрагменты Fab моноклонального антитела к Sp35 идентифицируют и выделяют из библиотек представления на фагах, как описано в статьях Hoet et al., *Nat. Biotech.* 23:344-348 (2005); Rauchenberger, et al., *J. Biol. Chem.* 278:194-205 (2003) и Knappik, et al., *J. Mol. Biol.* 296:57-86 (2000), все из которых включены в данный контекст в виде ссылки в своей полноте.

Библиотеку представления на фагах Fab MorphoSys HuCAL® GOLD ("Библиотека представления на фагах-2" в табл. 3B), которая включает вариабельные области гуманизированного синтетического антитела подвергают скринингу в отношении рекомбинантного человеческого растворимого белка Sp35-Fc стандартными способами скрининга ELISA AND IHC. См., например, монографию Ostendorp, R., Frisch, C. and Urban M, "Generation, engineering and production of human antibodies using HuCAL®" (Генерация, конструирование и продукция человеческих антител с использованием HuCAL®), т. 2 Novel Technologies and Therapeutic Use (Новые технологии и терапевтическое применение). New York: Kluwer Academic/Plenum 13-52 (2004). Очищены и охарактеризованы Fab-фаги, которые специфически связываются с Sp35. Свойства данных фрагментов Fab моноклональных антител, выделенных из представления на фагах, показаны в табл. 3B, как "моноклональные фрагменты Fab, выделенные из библиотеки представления на фагах-2". Выделенный Fab-фаг 1968 выбран для дальнейшего анализа.

Пример 4.

Иммунопреципитация Sp35 моноклональными антителами к Sp35.

Для проведения иммунопреципитации клетки COS-1, экспрессирующие Sp35, слитые с гемагглютининовой (НА) меткой на N-конце, получают путем временной трансфекции клеток COS-1 конструкцией ДНК, которая экспрессирует белок Sp35 полной длины с меткой НА. Клетки собирают через 48 ч после трансфекции и лизируют в 1 мл буфера для лизиса (50 mM HEPES, pH 7,5, 150 mM NaCl, 1,5 mM MgCl₂, 1 mM EGTA, 1% Triton X-100 и 10% глицерин) в течение 30 мин при 4°C. После центрифугирования при 14000xg в течение 15 мин супернатанты инкубируют с частицами, белок A/G-сефарозы (Santa Cruz) при 4°C в течение 1 ч и затем инкубируют при 4°C в течение 1 ч с мышинными моноклональными антителами к Sp35 либо 1A7, либо 2F3. Частицы промывают 3 раза буфером для лизиса, кипятят в буфере для образцов Леммли, подвергают 4-20% SDS-PAGE и анализируют вестерн-блоттингом, используя антитело, которое распознает метку НА. Как показано на геле, полученном при SDS-PAGE, моноклональные антитела 1A7 и 2F3 иммунопреципитируют человеческий и мышинный Sp35 (см. фиг. 1). Как показано на фиг. 1, моноклональное антитело 2F3 сильно иммунопреципитирует как человеческий, так и мышинный Sp35, тогда как моноклональное антитело 1A7, которое сильно иммунопреципитирует человеческий Sp35, только слабо распознает мышинный белок Sp35. Аналогично моноклональные антитела 1G7, 2B10, 2F3, 3P4C2.2D2, 3P4C8.2G9, Li01, Li03, Li05, Li06, Li07, Li08, Li11, Li12, 7P1D5.1G9 и 3B5.2 иммунопреципитируют человеческий или мышинный либо человеческий и мышинный Sp35 (см табл. 3B и 3C). Кроме того, Li08 иммунопреципитирует AP-Sp35, и моноклональные антитела 1B6.4 и 3E3.1 иммунопреципитируют эндогенный Sp35 (см. табл. 3B).

Пример 5.

Специфическое связывание антитела к Sp35 с Sp35 определено посредством ELISA.

Для того чтобы определить, какие участки полипептида Sp35 связаны различными полученными из гибридом и представления на фагах моноклональных антител, полученных в примере 2, осуществляют анализ ELISA с использованием панели укороченных полипептидов Sp35, каждый из которых слит с шарнирным и Fc-участками IgG1 способами, описанными в примере 1. Панель состоит из следующих фрагментов Sp35 фрагменты: аминокислоты 34-425 SEQ ID NO: 2, аминокислоты 417-532 SEQ ID NO: 2, аминокислоты 417-493 SEQ ID NO: 2 и аминокислоты 34-532 SEQ ID NO: 2. В качестве контролей используют овальбумин и BSA. Как показано в табл. 3B, все, полученные из гибридомы mAbs 2F3, 2B10, 3A3, 3P4c2.2d2 и 3P4c8.2g9 и полученные из Fab-фага mAbs 3383, 3563, 3564, 3565, 3568, 3569, 3570 и 3582, специфически связываются с фрагментами 1-417 и 1-534 Sp35, позволяя предположить, что данные антитела связываются с эпитопами в области LRR Sp35. Полученные из гибридомы Mabs 1A7, 3P1B11F9, 3P1D10.2C3, 3P1E11.3B7, 3P2C63G10.2H7, 2P2C9.2G4, 3P4A61D9 и 394C51D8 и полученные из Fab-фага Mabs 3495, 3566, 3567 и 1968 специфически связываются с фрагментом 34-532 Sp35 и слабо связываются с 417-532 Sp35, позволяя предположить, что данные антитела, вероятно, связываются с эпитопами, которые по меньшей мере включают часть C-конца Sp35 до участка LRR. В аналогичных экспериментах данные последние антитела, кроме того, специфически связывают полипептид Sp35, состоящий из аминокислот 34-534 человеческого Sp35, и обладают низкой аффинностью в отношении мыш-

ного и крысиного Sp35. Аффинность данных последних антител в отношении мышинового и крысиного Sp35 восстанавливается до уровня, наблюдаемого при использовании человеческого Sp35, когда аминокислота 419 мышинового или крысиного Sp35 изменена из гистидина (H) на аргинин (R). Аргинин представляет собой аминокислоту в положении 419 в человеческом Sp35. K_d для моноклонального антитела 1A7, как определяют, составляет 10 нМ (1×10^{-9} М) для связывания человеческого Sp35 и 20 мкМ (2×10^{-5} М) для связывания мышинового Sp35. Для ELISA Ap-Sp35 с целью детекции антител, связанных с участком 417-532, ELISA проводят следующим образом: Mabs покрывают планшеты для ELISA, затем инкубируют либо со слитым белком Sp35-AP при 4°C в течение ночи с последующей обработкой AP-связанным антителом к человеку (H+L) (1:5000, Jackson ImmunoResearch) при комнатной температуре в течение 1 ч или AP-слитыми белками при 4°C в течение ночи. Субстрат AP потом затем проявляют 10 мг/мл 4NPP в 0,1 М глицине, 1 мМ $MgCl_2$, 1 мМ $ZnCl_2$, pH 10,5 и читают при O.D. (оптической плотности) 405.

В аналогичных экспериментах моноклональные антитела 3B5.2 и 7P1D5.1G9, а также фрагмент Fab антитела 7P1D5.1G9 тестируют в анализах ELISA на способность связывать человеческий Sp35, полный участок LRR Sp35, область Ig Sp35 и мышинный Sp35. Как показано в табл. 3С, фрагмент Fab 3B5.2, 7P1D5.1G9 и 7P1D5.1G9 связывает человеческий и мышинный Sp35. Моноклональные антитела 3B5.2 и 7P1D5.1G9 связывают также участок LRR Sp35. См табл. 3С.

В анализе связывания Sp35 с моноклональными антителами 3B5.5, фиксированными на дне лунки для тканевой культуры, следующие антитела не блокируют связывание 3B5.2 Sp35: Li03, Li05, Li08, Li011 и фрагмент Fab фрагмент Li013.

Пример 6.

Специфическое связывание антитела к Sp35 с Sp35 определено посредством FACS.

Для дальнейшей характеристики связывающих свойств полученных из гибридомы mAbs к Sp35 1A7 и 2F3, полученных, как описано в примере 3, сравнивают связывание как фиксированных, так и живых клеток COS-7 или 293, экспрессирующих мышинный или человеческий Sp35. Трансфицированные и не-трансфицированные Sp35 клетки фиксируют и подвергают анализу FACS (FACS: клетки, трансфицированные человеческим или мышинным Sp35 контрольным вектором отделяют от планшетов для культивирования, промывают 2% FBS/PBS и инкубируют с первичным антителом к концентрации 1 мкг/мл на льду в течение 1 ч. Клетки промывают 3 раза 2% FBS/PBS, затем инкубируют с PE-меченным вторичным антителом (1:100, JacksonImmunoResearch) на льду в течение 30 мин. После двух промываний 2% FBS/PBS клетки фиксируют в 2% PFA и подвергают анализу FACS с PE). Результаты, полученные при FACS, показывают, что MAb 1A7 и 2F3 связываются с клетками COS-7 или 293, экспрессирующими Sp35, но не связываются с контрольными клетками с отсутствием экспрессии Sp35 (см. фиг. 2-5).

В аналогичных экспериментах клетки CHO, стабильно трансфицированные Sp35, используют в анализе FACS для дальнейшей характеристики связывающих свойств 3B5.2 и 7P1D5.1G9. Как показано на фиг. 15, 3B5.2 и 7P1D5.1G9 связываются с Sp35 на трансфицированных клетках CHO. В частности, антитела 3B5.2 и 7P1D5.1G9 тестируют на способность связывать клетки CHO, трансфицированные и экспрессирующие человеческий или мышинный Sp35. Как показано на фиг. 15, число клеток, связанных антителами 3B5.2 и 7P1D5.1G9, как измеряют по средней флуоресценции (MCF), возрастает с концентрацией используемого антитела. Кроме того, антитело 3B5.2 связывает больше клеток, как измерено по средней флуоресценции (MCF), чем 7P1D5.1G9.

Пример 7.

Анализ отрастания нервных.

Для тестирования способности выделенных из гибридомы и выделенных из Fab-фага моноклональных антител, полученных выше, к реверсии ингибирующего эффекта ингибиторов миелина ЦНС, например, OMgp, на нейроны, стекла для культур Lab-Tek® (4-луночные) покрывают 0,1 мг/мл поли-D-лизин (Sigma®). Ap-OMgp (1 мкг/пятно) или PBS наносят пятном в виде капель по 3 мкл. Затем стекла Lab-Tek® промывают и покрывают 10 мкг/мл ламинина (Gibco™). Ганглии задних корешков (DRG's) крысы Sprague Dawley P6-7 разъединяют с помощью 1 мг/мл коллагеназы типа 1 (Worthington), третируют проведенными через огонь пастеровскими пипетками, предварительно помещают в планшеты для обогащения клеток нейронов и, наконец, помещают по 10000 клеток/лунку на предварительно покрытые Lab-Tek® стекла для культур. Сразу после помещения DRG добавляют десять мкг/мл mAb 1A7 или 2F3. Средой для культивирования является F12 (доступная в фирме Gibco/Invitrogen), содержащая 5% инактивированной нагреванием донорской лошадиной сыворотки, 5% инактивированной нагреванием сыворотки телячьих эмбрионов и 50 нг/мл мышинового фактора роста нервов (mNGF) и инкубируют при 37°C и 5% CO_2 в течение 6 ч. После инкубирования стекла фиксируют в 4% параформальдегиде/20% сахарозе и окрашивают антителом к бета-III-тубулину TUJ1 (Covance) через 16 ч.

В качестве вторичного антитела к стеклам добавляют Alexa-Fluor® 594 к мыши (Molecular Probes), разведенное 1:300 и инкубируют в течение 2 ч при комнатной температуре. Стекла накрывают покровными стеклами Gel/Mount™ (Biomed™). 5x цифровые фотографии получают с помощью пакета программ OpenLab™ (Improvision, Inc., Lexington, MA) и анализируют фотографии для количественной

оценки отрастания невритов, используя пакет программ OPENLAB™, осуществляя все в соответствии со специальными параметрами изготовителя.

Оба Mabs, 1A7 и 2F3, защищают нейроны DRG от OMgp-опосредованного ингибирования отрастания невритов (см. фиг. 6). 3B5.2 также защищает нейроны DRG от OMgp-опосредованного ингибирования отрастания невритов (данные не приводят).

Пример 8.

Моноклональное антитело 1A7 способствует функциональному восстановлению на модели повреждения спинного мозга на крысах.

Повреждение спинного мозга ("SCI") вызывают дорсальным полурассечением сверху следующим образом, модифицированным на основании ранее описанных способов (см. статью Li, S. et al. *J. Neurosci.* 24, 10511-10520 (2004)). Анестезированных самок крыс Long Evans (в возрасте 7 недель, Charles River) делают предоперационное обезболивание (Бупренорфин/Бупренекс, 0,05 мг/кг подкожно) и дают успокаивающее (мидазолам, 2,5 мг/кг внутривенно) и проводят дорсальное полурассечение в области грудных позвонков 6/7, полностью прерывая основной дорсомедиальный и дорсолатеральный кортикоспинальный путь (CST). Дорсальные и дорсолатеральные компоненты кортикоспинального пути (CST) полностью рассекают и вентральную часть CST оставляют интактной. Мостик вентральной ткани, остающийся после полурассечения составляет приблизительно 20% спинного мозга в обоих группах, получающих лечение (данные не приводят).

Функцию задней конечности количественно оценивают, используя способ оценки в открытом поле Бассо-Бевати-Бреснаана (BBB) (см. статью Eby, M.T. et al., *J. Biol. Chem.* 275, 15336-15342 (2000), включенную в данный контекст в виде ссылки), и все животные испытывают заметные функциональные недостатки после SCI при почти полном параличе задних конечностей через день после хирургического вмешательства. Сразу после рассечения CST вводят интратекальный катетер в субарахноидное пространство в области T7 и соединяют его с заправленным мини-осмотическим насосом (модель Alzet 2004, Alza Corp), введенным в подкожное пространство. Мини-осмотические насосы доставляют контрольный белок изотипа человеческого IgG (5 мг/мл) или моноклональное антитело 1A7 (4,8 мг/мл), постоянно с скоростью 0,25 мкл/час в течение 5 недель. Контрольные (леченные человеческим IgG) животные восстанавливают основную функцию в течение 5 недель в течение эксперимента, но выходят на плато в 3-4 недели, в конечном счете достигая среднего показателя BBB $9 \pm 0,45$ (см. фиг. 11). Напротив, постоянная интратекальная инфузия 1A7 в течение 5 недель после рассечения спинного мозга приводит в результате в существенной степени улучшенным показателям BBB относительно контрольных животных к 5 неделям при продолжающемся улучшении функции в интервале времени 2-5 недель, достигая среднего показателя BBB $11,1 \pm 0,7$ (см. фиг. 7). Данные результаты демонстрируют, что лечение моноклональным антителом 1A7 к Sp35 способствует восстановлению функции после повреждения спинного мозга, как продемонстрировано по повышению показателя BBB, регенерации аксонов и уменьшенной ретракции аксонов, наблюдаемой при иммуногистохимическом окрашивании аксонов. Антитело 3B5.2 также способствует выздоровлению после повреждения спинного мозга (данные не приводят).

Пример 9.

Антитела к Sp35 1A7, 2F3, 3P1D10.2C3, 3P1E11.3B7, 6P4F4.1D3, 6P4F4.1F9, 7P1D5.1G9, Li05, Li06, Li08, Li13, Li28, Li33, D05, D08 и 3B5.2 способствуют миелинизации *in vitro*.

Роль антител к Sp35 1A7 и 2F3 в миелинизации исследуют *in vitro* посредством обработки сокультур нейронов ганглиев задних корешков (DRG) и олигодендроцитов антителами к Sp35 1A7 и 2F3 и тестирования миелинизации с помощью иммуногистохимии и вестерн-блоттинга. Для данных исследований необходимо сначала генерировать первичные культуры нейронов DRG и олигодендроцитов.

Эмбриональные ганглии задних корешков самок крыс Long Evans E14-E17 культивируют, как описано в статье Plant et al., *J. Neurosci.* 22:6083-91 (2002). Вырезанные DRGs помещают на покрытые поли-L-лизинном покровные стекла (100 мкг/мл) в течение 2 недель. Клетки инкубируют в присутствии фтордезоксисуридина в дни 2-6 и в среде NLA, содержащей $1 \times B27$, 100 нг/мл NGF (Gibco) в дни 8-11.

Олигодендроциты самок крыс Long Evans в возрасте 2 дней (P2) культивируют, как описано в статье Conn, Meth. *Neurosci.* 2:1-4 (Academic Press; 1990) со следующими модификациями. Вкратце, передний мозг удаляют у крыс P2 и помещают в холодную среду HBSS (Gibco). Фрагменты ткани разрезают на кусочки 1 мм и инкубируют при 37°C в течение 15 мин в 0,01% трипсине и 10 мкг/мл ДНКазе. Разделенные клетки помещают на покрытые поли-L-лизинном колбы для тканевых культур T75 и выращивают в среде DMEM с добавлением 20% сыворотки телячьих эмбрионов при 37°C в течение 10 дней. A2B5-положительные олигодендроциты собирают встряхиванием колб в течение ночи при 200 об/мин. при 37°C. Олигодендроциты A2B5 культивируют в течение 7 дней в DMEM (Gibco), содержащей 25 мМ D-глюкозу, 4 мМ L-глутамин, 1 мМ пируват натрия, 50 мкг/мл человеческого апо-трансферрина, 5 мкг/мл бычьего панкреатического инсулина, 30 нМ селенат натрия, 10 нМ гидрокортизон, 10 нМ D-биотин, 1 мг/мл BSA, 10 нг/мл FGF и PDGF (Peprotech). Затем клетки собирают путем трипсинизации. Затем клетки сокультивируют с нейронами DRG в присутствии или в отсутствие 1, 3, 10 или 30 мкг/мл моноклональных антител к Sp35 1A7 или 2F3 или отрицательного контрольного антитела с среде NLA, содержа-

щей 2% сыворотку телячьих эмбрионов, 50 мкг/мл аскорбиновой кислоты, 100 нг/мл NGF (Gibco). Определяют, что эффективная доза для внесения в данный анализ лежит в интервале от 0,1 мкг/мл до 10 мкг/мл в зависимости от антитела. Компетентный специалист в области техники мог бы определить эффективную дозу при использовании анализов, описанных в данном контексте.

Культуральную среду заменяют и различные моноклональные антитела снова добавляют каждые три дня. Через 30 дней при 37°C сокультивируемые клетки окрашивают иммуногистологическим способом окрашивания ("ИГХ") на нейрофиламенты антителом к бета-III-тубулину с целью идентификации аксонов или антителом к MBP с целью идентификации олигодендроцитов (см. фиг. 7). Сокультивируемые клетки также лизируют и подвергают анализу вестерн-блот для количественной оценки MBP (см. изображение G фиг. 8). Основываясь на данных анализов ИГХ и вестерн-блота, сокультивируемые клетки, обработанные антителами к Sp35 1A7 и 2F3, показывают повышенную выживаемость олигодендроцитов и нейронов, повышенное количество пучков аксонов и повышенные количества MBP-положительных клеток (см. изображение F фиг. 8, в 10 раз больше MBP-положительных клеток по сравнению с культурами, обработанными контрольным антителом).

В аналогичном эксперименте сокультуры олигодендроцитов и DRG инкубируют в присутствии или в отсутствие антител к Sp35 Li05 и Li06 или отрицательного контрольного антитела. Сокультивируемые клетки лизируют и подвергают анализу вестерн-блот, чтобы количественно оценить MBP (см. фиг. 12). Основываясь на данных анализов вестерн-блот, сокультивируемые клетки, обработанные антителами к Sp35 Li05 и Li06, показывают повышенные количества MBP-положительных клеток, аналогично сокультивируемым клеткам, обработанным 3, 10 и 30 мкг Sp35-Fc (LINGO-I-Fc).

В аналогичном эксперименте сокультуры олигодендроцитов и DRG инкубируют в присутствии или в отсутствие антител к Sp35 3B5.2, 3P1D10.2C3, 3P1E11.3B7, 6P4F4.1D3, 6P4F4.1F9, 7P1D5.1G9, Li08, Li13, Li28 и Li33 и также стимулируют миелинизацию. Аналогично антитела D05 и D08 полной длины также способствуют миелинизации. Наименьшая эффективная доза антитела 3B5.2 и 7P1D5.1G9, необходимая для стимуляции миелинизации в эксперименте с сокультурой DRG составляет 0,1 мкг/мл.

Кроме того, фрагмент Fab 7P1D5.1G9 тестируют в подобном анализе миелинизации *in vitro*. Фрагмент Fab 7P1D5.1G9 стимулирует миелинизацию в концентрации 1,0 мкг/мл.

Данные результаты показывают, что обработка сокультур DRG-олигодендроцитов антителами к Sp35 1A7, 2F3, 3P1D10.2C3, 3P1E11.3B7, 6P4F4.1D3, 6P4F4.1F9, 7P1D5.1G9, Li05, Li06, Li08, Li13, Li28, Li33, D05, D08 и 3B5.2 способствует взаимодействиям зрелый олигодендроцит-аксон и миелинизации по сравнению с культурами, обработанными контрольным антителом.

Пример 10.

Антитела к Sp35 фрагменты Fab способствуют выживаемости олигодендроцитов и миелинизации *in vivo*.

Взрослых самцов мышей дикого типа C57B1/6 кормят купризоном (0,2% измельченного с перемолотым мышинным кормом по массе) в течение 6 недель, чтобы вызвать демиелинизацию в мозолистом теле, согласно способу, описанному в статье Morell P et al., *Mol Cell Neurosci.* 12:220-7 (1998). Вкратце, моноклональное антитело к Sp35 1A7 стереотаксически инъецируют в демиелинизированное мозолистое тело через 2, 2,5 и 3 недели кормления купризоном по способу, описанному ниже. Контрольным мышам стереотаксически инъецируют через такие же интервалы стерилизованную среду, содержащую контрольное антитело. Через 6 недель кормление купризоном заканчивают, мышей возвращают к нормальной диете в течение 2, 4 и 6 недель (только перемолотый мышинный корм), чтобы дать возможность ремиелинизации.

1A7 и контрольные моноклональные антитела доставляют следующим образом. Обработанных купризоном мышей анестезируют кетамин (80 мг/кг массы тела) и ксилазином (10 мг/кг массы тела) и помещают в иммобилизационный аппарат, разработанный для стереотаксической хирургии (David Kopf Instruments). Открывают кожу головы и инъецируют стерильные соединения (1 мкМ в 1 мл HBSS) односторонне в сильно демиелинизированное мозолистое тело мышши-реципиента дикого типа с помощью шприца Гамильтона объемом 10 мкл, используя стереотаксические координаты 0,7 мм сзади и 0,3 мм сбоку от брегмы на глубину 1,7 мм (см. статью Messier et al., *Pharmacol. Biochem. Behav.* 63: 313-18 (1999)). Дополнительным контрольным мышам-реципиентам стереотаксически инъецируют HBSS, не содержащий соединения. Отверстие в черепе заполняют Gelfoam и поле смазывают пенициллином и стрептомицином (Gibco) и зашивают рану. Мышей умерщвляют каждую неделю эксперимента после инъекции и из головной мозг удаляют и обрабатывают для проведения молекулярного, биохимического и гистологического анализа.

Животные, получающие лечение антителом к Sp35 1A7, показывают повышенную выживаемость зрелых олигодендроцитов (основываясь на окрашивании антителом CC1, см. изображение A на фиг. 9) и миелинизацию аксонов по данным ИГХ с использованием антитела к белку MBP или лускола быстрого синего (см. изображение B на фиг. 9). Антитело CC1-положительные олигодендроциты количественно оценивают через 4 недели и 6 недель (см. изображение C на фиг. 9). Данные результаты показывают, что лечение антителом к Sp35 1A7 способствует выживаемости зрелых олигодендроцитов и миелинизации аксонов по сравнению с мышами, лечеными контрольным антителом. Аналогично у животных, полу-

чающих антитело 1A7 или 1 мкг/мл фрагмента Fab 7P1D5.1G9 в лизолецитиновой модели демиелинизации также происходит стимуляция миелинизации аксонов по сравнению с контрольными животными.

Пример 11.

Антитело к Sp35 1A7 способствует выживаемости клеток ганглиев сетчатки (RGC) на модели рассечения зрительного нерва.

Антитело к Sp35 1A7 тестируют на модели рассечения зрительного нерва, в которой исследуют факторы, которые воздействуют на функцию нейронов. В данном исследовании используют молодых самок крыс Sprague Dawley (SD). Правый зрительный нерв каждого животного рассекают внутривидно в 1,5 мм от диска зрительного нерва. Кусочек гелевой пены, пропитанный 6% Fluoro-Gold (FG) наносят на свежерассеченную область непосредственно сзади диска зрительного нерва, чтобы пометить выживающие клетки ганглиев сетчатки (RGCs). Животных делят на три группы (n=6 в каждой группе), которые получают либо антитело к Sp35 1A7, либо контрольное антитело, либо только PBS путем инъекции в стекловидное тело. Объем каждой инъекции в стекловидное тело составляет 4 мкл, тогда как доза каждой инъекции составляет 2 мкг. Инъекции в стекловидное тело проводят сразу после рассечения зрительного нерва.

Всем животным позволяют выживать в течение 1 недели. За два дня до умерщвления животных левый зрительный нерв каждого животного рассекают и вводят 6% FG, как описано выше, чтобы пометить жизнеспособные RGCs, которые служат внутренним контролем. Животных умерщвляют сверхдозой нембутала и разрезают сетчатки в 4% параформальдегиде. Делают четыре радиальных разреза, чтобы разделить сетчатки на четыре квадранта (верхний, нижний, носовой и височный). Затем сетчатки повторно фиксируют в том же фиксаторе в течение 1 ч, прежде чем из них монтируют плоский препарат с использованием заливочной среды (Dako). Предметные стекла исследуют под флуоресцентным микроскопом, используя ультрафиолетовый фильтр (возбуждающая длина волны = 330-380 нм). Меченые RGCs подсчитывают вдоль срединной линии каждого квадранта, начиная от диска зрительного нерва к периферической границе сетчатки с интервалами 500 мкм при сетке окуляра 200×200 мкм². Процент выживших RGCs, полученный в результате каждого типа лечения, выражают путем сравнения числа выживших RGCs в поврежденных глазах с глазами, расположенными на противоположной стороне. Все данные выражают как среднее ± SEM (стандартная ошибка). Статистическую достоверность оценивают однофакторной ANOVA с последующим повторным hoc-тестом Таки-Крамера. Разницы считают достоверными для p<0,05. Животные, леченные антителом к Sp35 1A7, показывают повышенный уровень выживаемости нейронов (80%) по сравнению с животными, леченными контрольным антителом или PBS, каждое из которых показывает только приблизительно 50% выживаемость нейронов (см. фиг. 10).

Пример 12.

Тестирование антител к Sp35 на ремиелинизацию на модели разрушения зрительного нерва.

Правый зрительный нерв полностью разрушают хирургическими щипцами No 5 в течение 10 с приблизительно в 1,5 мм позади глазного яблока внутривидно непосредственно перед введением 2 мкл моноклонального антитела 1A7, 2F3, Li05 и Li06 в 2 мл путем инъекции в стекловидное тело.

Животные получают вторую инъекцию в стекловидное тело того же препарата через одну неделю после хирургического вмешательства. Через две недели после хирургического вмешательства животным вливают фиксаторы EM, вторично фиксируют и обрабатывают срезы семитином и алтрагином. Продольные срезы зрительного нерва окрашивают и готовят для исследования миелина. Миелинизацию проксимальных и дистальных частей разрушенного зрительного нерва сравнивают в различных группах лечения. Животных, леченных Sp35-Fc и 1A7, 2F3, Li05 и Li06, а также соответствующих контрольных животных анализируют на ремиелинизацию в дистальной части зрительного нерва по сравнению с контролями.

Пример 13.

Тестирование антител к Sp35 на регенерацию аксонов на модели разрушения зрительного нерва.

Правый зрительный нерв разрушают хирургическими щипцами No 5 в течение 10 с приблизительно в 1,5-2 мм позади глазного яблока внутривидно непосредственно перед введением 2 мкг моноклонального антитела 1A7 в PBS путем инъекции в стекловидное тело. 4 крыс тестируют с использованием антитела 1A7 и 8 крыс используют в качестве контрольных животных. Животные получают вторую инъекцию в стекловидное тело того же препарата через одну неделю после хирургического вмешательства. За три дня до умерщвления тест-животных (день 11 эксперимента), 2 мл СТВ-FITC инъецируют в стекловидное тело, чтобы пометить антероградные регенерирующие аксоны зрительного нерва. В день 14 после хирургического вмешательства животным делают вливание и повторно фиксируют. Разрушенный зрительный нерв обрабатывают для получения замороженных продольных срезов. Меченые СТВ-FITC аксоны, которые пересекают область повреждения, подсчитывают как регенерирующие волокна на различных расстояниях после области разрушения. Когда 1A7 инъецируют в глаз, наблюдают регенерацию аксонов до 250 мкм за областью разрушения. См. фиг. 14.

Пример 14.

Антитела к Sp35 способствуют ремиелинизации и восстановлению зрительного нерва при использовании модели вызываемого MOG EAE на крысах.

Для данных экспериментов используют модель вызываемого гликопротеином миелина олигодендроцитов (MOG) экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита (EAE) на крысах. Это модель на животных человеческого рассеянного склероза. 50 мкл 200 нг полного адьюванта Фрейнда (Chondrex Inc.) с добавлением 50 мкл 50 мкг MOG в солевом растворе эмульгируют (1:1) и сохраняют на льду до внутрикожной инъекции в основание хвоста каждого животного. Во всех экспериментах используют самок бурых норвежских крыс в возрасте 8-10 недель. Общее наблюдение в области техники показывает, что модель EAE вызывается приблизительно через 15 дней после инъекции MOG. Крыс оценивают по клиническим признакам EAE. Оцениваемыми признаками являются следующие: степень 0,5, дистальный парез хвоста; степень 1, полный паралич хвоста; степень 1,5, парез хвоста и слабый парез задних конечностей; степень 2,0, односторонний сильный парез задних конечностей; степень 2,5, двусторонний сильный парез задних конечностей; степень 3,0, полный двусторонний паралич задних конечностей; степень 3,5, полный двусторонний паралич задних конечностей и парез одной передней конечности; степень 4, полный паралич (тетраплегия), состояние агонии или смерть. Животные получают лечение после индукции модели EAE.

2 мкг/мкл антитела к Sp35 (1A7) инъектируют в стекловидное тело в день 15 после индукции MOG-EAE. 2 мкг/мкл антитела к Sp35, 1A7, инъектируют дополнительно два раза в день 22 и день 28. После окончания эксперимента животным делают вливание 4% PFA. Зрительные нервы повторно фиксируют в 1% OsO₄, обезживают и заключают в эпон. Делают семитиновые срезы (1 мкм) и окрашивают толуидином синим для оценки миелинизации. Зрительные нервы леченых животных сравнивают с нелечеными животными в плане регенерации аксонов и ремиелинизации в зрительном нерве. Все процедуры проводят, следуя протоколу, одобренному комитетом по уходу и использованию животных института (IACUC).

Животные, получающие лечение антителом к Sp35 1A7 показывают ремиелинизацию и восстановление зрительного нерва по сравнению с нормальными зрительными нервами или животными, которые подвергаются вызываемой MOG EAE, но не получают лечения (см. фиг. 13). На изображении С фиг. 13 стрелки указывают на миелинизированные аксоны. Животные, получающие антитело, которое распознает домен III белка G из *Streptococcus* (MOPC21), неспецифическое в отношении Sp35, не проявляют признаков ремиелинизации или восстановления зрительного нерва по сравнению с нормальными зрительными нервами или зрительными нервами нелеченых животных (данные не приводят). Антагонистическое антитело к Sp35 1A7 способствует ремиелинизации и восстановлению зрительных нервов на модели вызываемого MOG EAE у крыс (см. фиг. 13).

Пример 15.

Тестирование антител к Sp35 на стимуляцию ремиелинизации ЦНС при использовании модели вызываемого MOG EAE на мышах.

EAE вызывают у смешанной линии мышей 129B6 путем внутрикожной иммунизации (day 0) 100 мкг белка MOG1-125, эмульгированного полным адьювантом Фрейнда (CFA). Инъектируемый объем составляет 100 мкл/мышь и распределяется на 3 области (ушная раковина, спина и кожа). Эмульсию готовят на основе соотношения объемов 1:1, и она содержит 1 мг/мл MOG1-125 и 2 мг/мл *M. tuberculosis* (штамм H37Ra, Chondrex). Токсин коклюша (200 нг/мышь) вводят внутривентрально во время иммунизации и через 2 дня после нее. Массу тела и клинические показатели EAE (0 = отсутствие клинических признаков; 1 = мягкий хвост; 2 = слабость задних конечностей, нарушенный рефлекс выпрямления или утиная походка; 3 = полный паралич задних конечностей или отсутствующий рефлекс выпрямления; 4 = полный паралич задних конечностей при некоторой степени включения передних конечностей; 5 = животное полностью парализовано; 6 = агония или смерть) регистрируют ежедневно. Все процедуры проводят, следуя протоколу, одобренному комитетом по уходу и использованию животных института (IACUC). Животные получают лечение моноклональными антителами 1A7, 2F3, Li05 и Li06 или контрольным антителом в день 0 исследования. Образцы крови берут в различное время на протяжении экспериментов способом ретроорбитального кровопускания. Плазму отделяют от PBMC центрифугированием и фенотипирование клеток осуществляют окрашиванием FACS. Профилирование гуморального ответа антител к MOG проводят с помощью ELISA, используя подкласс/изотип-специфические mAbs (Pharmin-gen). В конце каждого эксперимента собирают головной мозг, спинной мозг, зрительные нервы и седалищные нервы после вливания.

Такой же протокол используют, чтобы вызвать EAE у мышей с выбитым Sp35 и особей из приплода. Мыши с выбитым Sp35, как правило, показывают более низкий показатель EAE (1,5) и никаких рецидивов по сравнению с контролем (в течение 45-дневного периода), чем особи из приплода дикого типа (показатель EAE 3,5).

Животных, леченных Sp35-Fc и 1A7, 2F3, анализируют на ремиелинизацию по сравнению с контролем.

Меченный His белок MOG₁₋₁₂₅ экспрессируют в *Pichia pastoris*, используя индуцируемый доксоцик-

лином промотор TetO-AOX1 (M. Levesque, D. Krushinskie и K. Strauch, рукопись на стадии подготовки). Внеклеточную кодирующую последовательность (Gly1-Gly125 зрелого белка после удаления сигнальной последовательности) крысиного MOG амплифицируют с помощью ПЦР, используя следующие праймеры: 5'GGGGTATCTCTCGAGAAAAGAGAGCATCATCATCATCATATGGGACAGTTC AGAGTGA-TAGGG 3' (SEQ ID NO: 368) и 5TTCGCGGCCGCTATTAGCCAGGGTTG ATCCAGTAGAAGGG3' (SEQ ID NO: 369).

Пример 16.

Конструирование варианта 3B5.2.

Следующее представляет собой последовательность аминокислот вариабельной легкой цепи (V_L) антитела 3B5.2, CDRs подчеркнуты и N-связанный сайт гликозилирования выделен жирным шрифтом и двойным подчеркиванием:

QIVLTQSPAI MSASPGEKVT
MTCSASSRVS YVHWYQQKSG TSPKRWLYDT SNLASGVPAR FGGNGSGTSY

SLTISSMEAE DAATYYCQOW STNPPTFGGG TKLEIK (SEQ ID NO:417).

Чтобы определить, влияет ли на экспрессию антитела 3B5.2 и/или связывание антитела к Sp35 удаление сайта гликозилирования, конструируют вариант 3B5.2. В частности, положения Kabat positions 63-68 в FR3 подвергают мутации до консенсусной последовательности человеческой и мышиной каппа-легкой цепи SGS~~SG~~SG (SEQ ID NO: 418). Полученная в результате мутантная вариабельная легкая цепь 3B5.2 представляет собой следующее, причем подвергнутые мутации аминокислоты выделены жирным шрифтом и двойным подчеркиванием:

QIVLTQSPAI MSASPGEKVT MTCSASSRVS YVHWYQQKSG
TSPKRWLYDT SNLASGVPAR FSGSGSGTSY SLTISSMEAE DAATYYCQOW

STNPPTFGGG TKLEIK (SEQ ID NO:419).

При тестировании способность обоих, антитела 3B5.2 и варианта антитела 3B5.2 связываться с белком Sp35 одинакова. Кроме того, основываясь на данных по электрофоретической подвижности, предполагают, что вариабельная легкая цепь 3B5.2 гликозилирована, тогда как вариант легкой цепи не гликозилирован. Наконец, уровни экспрессии обоих антител в трансфицированных клетках одинаковы.

Пример 17.

Конструирование гуманизированного антитела 1A7.

Последовательности легкой и тяжелой цепей 1A7 Легкая цепь:

1. QIVLTQSPAI MSASPGEKVT MTCSAS SSV SYMHWYQQKS GTSPKRWLYD

50

51. TSKLASGVPA RFSSGSGSGTS YSLTISSMEA EDAATYYCQO WSSNPFTFGS

100

101. GTKLEIK (SEQ ID NO: 283)

Тяжелая цепь:

1. QVQLVQSGPE LKKPGETVKI SCKASGYTFT NYGMNWVKQA

PGKGLKWMGW 50

Выделено жирным шрифтом и подчеркнуто: остатки CDR по Kabat.

Выделено курсивом и подчеркнуто: остатки CDR по Chothia.

Черным фоном выделены канонические остатки.

Нумерацию приводят согласно схеме Kabat.

Анализ мышиных вариабельных областей.

Участки, определяющие комплементарность (CDRs), включают остатки, с наибольшей вероятностью связывающие антиген, и они должны быть сохранены в новой форме антитела. CDRs определяют по последовательности согласно работе Kabat et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest. (Последовательности белков, представляющих иммунологический интерес), 5 изд., U.S. Dept. Health and Human Services. U.S. Govt. Printing Office, которая включена в данном контексте в виде ссылки в своей полноте. CDRs входят в канонические классы (см. статью Chothia, C, Lesk, A.M., Tramontano, A., Levitt, M., Smith-Gill, S.J., Air, G., Sheriff, S., Padlan, E.A., Davies, D., Tulip, W.R., Colman, P.M., Spinelli, S., Alzari, P.M. and Poljak, R.J. (1989) Nature 342:877- 883, которая включена в данном контексте в виде ссылки в своей полноте.), где ключевые остатки в значительной степени определяют структурную конформацию петли CDR. Данные остатки почти всегда остаются в новой форме антитела. CDRs тяжелой и легкой цепи разделяют на канонические классы следующим образом:

Легкая цепь		Тяжелая цепь		
L1: 10 остатков	Класс 1	H1: 5 остатков	Класс 1	
L2: 7 остатков	Класс 1	H2: 17 остатков	Класс 2	
L3: 9 остатков	Класс 1	H3: 7 остатков	Нет	
				канонического
				класса

Канонические остатки, важные для данные CDR, указаны в табл. 10.

Таблица 10

L1 Класс 1 2(1) 25(A) 30(V) 33 (M) 71 (Y)
 L2 Класс 1 48(1) 51(T) 52 (S) 64 (G)
 L3 Класс 1 90 (Q) 95 (P)
 H1 Класс 1 24(A), 26(G), 27(F), 29(F), 34(M), 94 (R)
 H2 Класс 2 52a (T) 55 (G) 71 (L)
 H3 Нет канонического класса

Вариабельные легкие и тяжелые цепи сравнивают с консенсусными последовательностями (см. работу Kabat et al., 1991) последовательностями зародышевой линии (см. статьи Brensing-Kuppers J, Zocher I, Thiebe R, Zachau HG. (1997). Gene. 191(2): 173-81 и Matsuda F, Ishii K, Bourvagnet P, Kuma K, Hayashida H, Miyata T, Honjo T.(1998) J Exp Med. 188(11):2151-62, которые включены в виде ссылки в своей полноте) мышинной и человеческой подгрупп, используя программу BLAST и внутренние сводные базы данных консенсусных последовательностей и последовательностей зародышевой линии белка blast.

Вариабельная легкая цепь является членом мышинной подгруппы каппа 6 с идентичностью 94% в перекрывании 109 аминокислот и происходит из мышинной зародышевой линии kk4 (100% ID) (см. ниже). > mukk4

Запрос: 1

QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMHYQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVPA R 60

QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMHYQKSGTSPKRWIYDTSKI-ASGVPA R

Объект: 1

QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMHYQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVPA R 60

Запрос: 61 FSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSNP 94 (SEQ ID NO: 451) FSGSGSGT-SYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSNP (SEQ ID NO: 451)

Объект: 61 FSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSNP 94 (SEQ ID NO: 451)

Вариабельная тяжелая цепь является членом мышинной подгруппы HVMS с идентичностью 55% в перекрывании 132 аминокислот и происходит из мышинной зародышевой линии VGK6 (92% ID) (см. ниже) > muVGK6

Запрос: 1

QVQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNWVKQAPGKGLKWMGWINTDTGE PTY 60

Q+QLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNWVKQAPGKGLKWMGWINT+TGE PTY

Объект: 1

QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNWVKQAPGKGLKWMGWINTETGE PTY 60

Запрос: 61

TEDFQGRFAFSLETSASTVYLQFNNLKNEDTATYFC 96 (SEQ ID NO: 452)
 +DF+GRFAFSLETSAST YLQ NNLKNEDTATYFC (SEQ ID NO: 453)

Объект: 61 ADDFKGRFAFSLETSASTAYLQINNLLKNEDTATYFC 96 (SEQ ID NO: 454)

Вариабельная легкая цепь соответствует человеческой подгруппе каппа 3 с идентичностью 67% в перекрывании 109 аминокислот и является наиболее близкой к человеческой зародышевой линии L6 (64% K) (см. ниже) > huL6

Запрос: 1

QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVS-YMHYQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVPA 59
 +IVLTQSPA +S SPGE+ T++C AS SVS Y+ WYQQK G +P+ IYD S A+G+PA

Объект: 1

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPA 60

Запрос: 60

RFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSNP 94 (SEQ ID NO: 455) RFSGSGSGT ++LTISS+E
 ED A YYCQQ S+ P (SEQ ID NO: 456)

Объект: 61

RFSGSGSGTDFLTLSLEPEDFAVYYCQQRSNWP 95 (SEQ ID NO: 457)

Вариабельная тяжелая цепь соответствует человеческой подгруппе MHV1 с идентичностью 59% в перекрывании 129 аминокислот и является наиболее близкой к человеческой зародышевой линии huVH7-81 (70% ID) (см. ниже) > huVH7-81

Запрос: 1

QVQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNWVKQAPGKGLKWMGWINTDTGE PTY 60
QVQLVQSG E+K+PG +VK+SCKASGY+FT YGMNWV QAPG+GL+WMGW NT TG PTY

Объект: 1

QVQLVQSGHEVKQPGASVKVSCASGYSFTTYGMNWVPQAPGQGLEWMGWENTYTG NPTY 60

Запрос: 61

TEDFQGRFAFSLETSASTVYLQFNNLKNEDTATYFCAR 98 (SEQ ID NO: 458) + F GRF
FS++TSAST YLQ ++LK ED A Y+CAR (SEQ ID NO: 459)

Объект: 61

AQGFTGRFVFSMDTSASTAYLQISSLKAEDMAMYYCAR 98 (SEQ ID NO: 460)

Моделирование структуры переменных областей

Для данной гуманизации строят модель переменных областей P1A7, основываясь на кристаллических структурах антител OKT3 (PDB ED 1SY6 - используют для моделирования легкой цепи) и TE33 (PDB ED ITET - используют для моделирования тяжелой цепи).

Анализ переменных областей измененной формы.

Авторы делают попытку найти наиболее близкие последовательности человеческих экспрессируемых антител, для которых не требуются обратные мутации в положениях (L4,38,43,44,58,62,65-69,73,85,98 и H2,4,36,39,43,45,69,70,74,92) (см., например, патент США № 6407213, который включен в виде ссылки в своей полноте), и использовать их в качестве скелетов антител. Используют базу данных внутренне излученных последовательностей антител и инструменты запроса для идентификации подходящих матриц, которые имеют самую высокую степень близости к мышинным последовательностям P1A7 в остатках канонических, пограничных и маскирующих зон для минимизации числа обратных мутаций. Последовательности зародышевой линии, заполненные консенсусными остатками на участке FR4 рассматривают отдельно. После рассмотрения множества скелетов последовательности зародышевой линии huL6 и VH7-81 выбирают как акцепторные скелеты для тяжелой и легкой цепей соответственно. Конструируют три варианта переменной легкой цепи измененной формы и три варианта переменной тяжелой цепи измененной формы. Первый вариант включает минимальное число обратных мутаций, и третий вариант включает наибольшее число (т.е. по меньшей мере "гуманизировано").

Обратные мутации в V_L измененной формы.

huL6.

E1Q Точка Q1 в отношении антигена и изменения заряда может изменить связывание. Присутствует в варианте 2 и 3.

L46R R46 представляет собой необычный остаток на границе V_H/V_L, который поддерживает CDR-L1 и CDR-H3. Присутствует во всех вариантах.

L47W - W47 находится в кластере ниже CDR-L2. Присутствует только в варианте 3.

I58V - V58 находится в кластере ниже CDR-L2. Присутствует только в варианте 3.

F71Y - Y71 представляет собой канонический остаток для поддержки CDR-L1 и CDR-L3. Присутствует во всех вариантах.

Обратные мутации в V_H измененной формы huVH7-81.

P38K K38 поддерживает CDR-H2. Присутствует в вариантах 2 и 3.

E46K K46 поддерживает CDR-H2. Присутствует в вариантах 2 и 3.

M71L L71 представляет собой канонический остаток, поддерживающий CDR-H1. Присутствует во всех вариантах.

A78V V78 получен гипермутацией из зародышевой линии A и поддерживает CDR-H1.

I82F F82 представляет собой остаток упаковки кора. Присутствует только в варианте 1.

Y91F F91 представляет собой остаток на границе V_H/V_L. Присутствует только в варианте 3.

Конструкции гуманизации для P1A7.

Скелет, взятый из последовательностей:

Легкая цепь: huL6.

Тяжелая цепь: huVH7-81.

Обратные мутации показаны строчными буквами жирным шрифтом.

CDRs подчеркнуты.

Вариант легкой цепи 1

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMH~~WY~~QKPGQAPRrLIYDTSKLASGIPAR

FSGSGSGTDyTLTISSLEPEDFAVYYCQOWSSNPFTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:430)

Вариант легкой цепи 2

qIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMH~~WY~~QKPGQAPRrLIYDTSKLASGIPAR

FSGSGSGTDyTLTISSLEPEDFAVYYCQOWSSNPFTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:431)

Вариант легкой цепи 3

qIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMHWYQQKPGQAPRrWIYDTSKLASGvPAR

FSGSGSGTDyTLTISSLEPEDFAVYYCQQWSSNPFTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:471)

Вариант тяжелой цепи 1

QVQLVQSGHEVKQPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWVPQAPGQGLEWMGWINTDTGEPTY

TEDFQGRFVFSIDTSASTvYLQISSLKAEDMAMYYCAREGVHFDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:472)

Вариант тяжелой цепи 2

QVQLVQSGHEVKQPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWVQAPGQGLKWMGWINTDTGEPTY

TEDFQGRFVFSIDTSASTvYLQISSLKAEDMAMYYCAREGVHFDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:432)

Вариант тяжелой цепи 3

QVQLVQSGHEVKQPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWVQAPGQGLKWMGWINTDTGEPTY

TEDFQGRFVFSIDTSASTvYLQISSLKAEDMAMYYCAREGVHFDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:473)

Последовательность полипептида и полинуклеотида полной длины тяжелой цепи для тяжелого варианта 2.

Последовательность ДНК тяжелой цепи huP1A7-IgG1 H2 (pXW465)

1 ATGGA CTGGA CCTGGAGGGT CTCTGCTTG CTGGCTGTAG CACCAGGTGC

51 CCACTCCAG GTCCA ACTGG TACAGTCTGG ACACGAGGTG AAGCAGCCTG
101 GAGCATCAGT CAAGGTCTCC TGCAAGGCCT CTGGGTATAC CTTCACAAAC

151 TATGGAATGA ACTGGGTGAA GCAGGCTCCT GGACAAGGTT TAAAGTGGAT

201 GGGCTGGATA AACACCGACA CTGGAGAGCC AACATATACT GAAGATTTC

251 AGGGACGGTT TGTCTCTCTT TTGGACACCT CTGCCAGCAC TGTATTATTG

301 CAGATCAGCA GCCTCAAAGC TGAGGACATG GCAATGTATT ACTGTGCAAG

351 AGAGGGGGTC CACTTTGACT ACTGGGGCCA AGGGACCCCT GTCACCGTCT

401 CCTCAGCCTC CACCAAGGGC CCATCGGTCT TCCCCCTGGC ACCCTCCTCC

451 AAGAGCACCT CTGGGGGCAC AGCGGCCCTG GGCTGCCTGG TCAAGGACTA

501 CTTCCTCCGAA CCGGTGACGG TGTCGTGGAA CTCAGGCGCC CTGACCAGCG

551 GCGTGACAC CTTCCTGGCT GTCCTACAGT CCTCAGGACT CTA CTCCCTC

601 AGCAGCGTGG TGACCGTGCC CTCCAGCAGC TTGGGCACCC AGACCTACAT

651 CTGCAACGTG AATCACAAGC CCAGCAACAC CAAGGTGGAC AAGAAAGTTG

701 AGCCCAAATC TTGTGACAAG ACTCACACAT GCCCACCCTG CCCAGCACCT

751 GAACTCCTGG GGGGACCGTC AGTCTTCTC TCCCCCCTAA AACCAAGGA

801 CACCCTCATG ATCTCCCGGA CCCCTGAGGT CACATGCGTG GTGGTGGACG

851 TGAGCCACGA AGACCCTGAG GTCAAGTTCA ACTGGTACGT GGACGCGCTG

901 GAGGTGCATA ATGCCAAGAC AAAGCCGCGG GAGGAGCAGT ACAACAGCAC

951 GTACCGTGTG GTCAGCGTCC TCACCGTCCT GCACCAGGAC TGGCTGAATG

1001 GCAAGGAGTA CAAGTGCAAG GTCTCCAACA AAGCCCTCCC AGCCCCCATC

1051 GAGAAAACCA TCTCCAAAGC CAAAGGGCAG CCCCAGAGAAC CACAGGTGTA

1101 CACCCTGCCC CCATCCCGGG ATGAGCTGAC CAAGAACCAG GTCAGCCTGA

1151 CTGCCTGGT CAAAGGCTTC TATCCAGCG ACATCGCCGT GGAGTGGGAG

1201 AGCAATGGGC AGCCGGAGAA CAACTACAAG ACCACGCCTC CCGTGTGGGA

1251 CTCCGACGGC TCCTTCTTCC TCTACAGCAA GTCACCGTG GACAAGAGCA

1301 GGTGGCAGCA GGGGAACGTC TTCTCATGCT CCGTGATGCA TGAGGCTCTG

1351 CACAACCACT ACACGCAGAA GAGCCTCTCC CTGTCTCCCG GTTGA (SEQ ID NO:461)

Предсказанная последовательность белка тяжелой цепи huP1A7 H2 (сигнальная последовательность подчеркнута)

1 MDWTWRVFCL LAVAPGAHSQ VQLVQSGHEV KPGASVKVS CKASGYTFTN

51 YGMNWVKQAP GQGLKWMGWI NTDTEPTYT EDFQGRFVFS LDTSASTVYL

101 QISSLKAEDM AMYYCAREGV HFDYWGQGLTVTVSSASTKG PSVFPLAPSS

151 KSTSGGTAAL GCLVKDYFPE PVTVSWNSGA LTSGVHTFPA VLQSSGLYSL
 201 SSWTVPSSS LGTQTYICNV NHKPSNTKVD KKVEPKSCDK THTCPPCPAP
 251 ELLGGPSVFL FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV WDVSHEDPE VKFNWYVDGV
 301 EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPAPI
 351 EKTISKAKGQ PREPQVYTLPSRDELTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE
 401 SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRRWQQGNV FSCSVMHEAL
 451 HNHYTQKSLS LSPG* (SEQ ID NO:462)

Последовательность полипептида и полинуклеотида полной длины тяжелой цепи для легкого варианта 1

Последовательность ДНК каппа-легкой цепи huP1A7 L1 (pXW480)

1 ATGGATTTTC AGGTTTCAGAT TTTCAGCTTC CTGCTAATCA GTGCCTCAGT
 51 CATAATATCC AGAGGAGAAA TTGTCTCAC CCAGTCTCCA GCAACCTTGT
 101 CTTTATCTCC AGGGGAGAGA GCCACCTTGT CCTGCAGTGC CAGCTCAAGT
 151 GTAAGTTACA TGCACTGGTA CCAGCAGAAG CCAGGCCAAG CGCCAGAGAAG
 201 ACTGATTTAT GACACATCCA AACTGGCTTC TGGAATCCCT GCTCGCTTCA
 251 GTGGCAGTGG GTCTGGGACC GATTACACTC TCACCATCAG CAGCTTGGAG
 301 CCTGAAGATT TCGCCGTTTA TTAAGTCCAG CAGTGGAGTA GTAACCCATT
 351 CACGTTCCGC CAGGGGACAA AGGTGGAAT AAAACGTACG GTGGCTGCAC
 401 CATCTGTCTT CATCTTCCCG CCATCTGATG AGCAGTTGAA ATCTGGAAGT
 451 GCCTCTGTTG TGTGCCTGCT GAATAACTTC TATCCCAGAG AGGCCAAAGT
 501 ACAGTGGAAG GTGGATAACG CCCTCCAATC GGGTAACTCC CAGGAGAGTG
 551 TCACAGAGCA GGACAGCAAG GACAGCACCT ACAGCCTCAG CAGCACCTG
 601 ACGCTGAGCA AAGCAGACTA CGAGAAACAC AAAGTCTACG CCTGCGAAGT
 651 CACCCATCAG GGCCTGAGCT CGCCCGTCAC AAAGAGCTTC AACAGGGGAG
 701 AGTGTTAG (SEQ ID NO:463)

Предсказанная последовательность легкой цепи huP1A7 L1 (сигнальная последовательность подчеркнута)

1 MDFOVOIFSF LLISASVIIS RGEIVLTQSP ATLSLSPGER ATLSCSASSS
 51 VSYMHWYQQK PGQAPRRLIY DTSKLASGIP ARFSGSGSGT DYTLTISSLE
 101 PEDFAVYYCQ QWSSNPFTFG QGTKVEKRT VAAPSVFIFP PSDEQLKSGT
 151 ASWCLLNNF YPREAKVQWK VДНKLQSGNS QESVTEQDSK DSTYLSSTL
 201 TLSKADYEKH KVVACEVTHQ GLSSPVTKSF NRGEC* (SEQ ID NO:464)

Последовательность полипептида и полинуклеотида полной длины тяжелой цепи для легкого варианта 2.

Последовательность ДНК каппа-легкой цепи huP1A7 L2 (pXW476)

1 ATGGATTTTC AGGTTTCAGAT TTTCAGCTTC CTGCTAATCA GTGCCTCAGT
 51 CATAATATCC AGAGGACAAA TTGTCTCAC CCAGTCTCCA GCAACCTTGT
 101 CTTTATCTCC AGGGGAGAGA GCCACCTTGT CCTGCAGTGC CAGCTCAAGT
 151 GTAAGTTACA TGCACTGGTA CCAGCAGAAG CCAGGCCAAG CGCCCAGAAG
 201 ACTGATTAT GACACATCCA AACTGGCTTC TGGAAATCCCT GCTCGCTTCA
 251 GTGGCAGTGG GTCTGGGACC GATTACACTC TCACCATCAG CAGCTTGGAG
 301 CCTGAAGATT TCGCCGTTTA TTA CTGCCAG CAGTGGAGTA GTAACCCATT
 351 CACGTTCCGC CAGGGGACAA AGGTGGAAAT AAAACGTACG GTGGCTGCAC
 401 CATCTGTCTT CATCTTCCCG CCATCTGATG AGCAGTTGAA ATCTGGAAC T
 451 GCCTCTGTTG TGTGCCTGCT GAATAACTTC TATCCCAGAG AGGCCAAAGT
 501 ACAGTGGAAG GTGGATAACG CCCTCCAATC GGGTAACTCC CAGGAGAGTG
 551 TCACAGAGCA GGACAGCAAG GACAGCACCT ACAGCCTCAG CAGCACCTG
 601 ACGCTGAGCA AAGCAGACTA CGAGAAACAC AAAGTCTACG CCTGCGAAGT
 651 CACCCATCAG GGCCTGAGCT CGCCCGTCAC AAAGAGCTTC AACAGGGGAG
 701 AGTGTTAG (SEQ BD NO:465)

Предсказанная последовательность белка легкой цепи huP1A7 L2 (сигнальная последовательность подчеркнута)

1 MDFOVOIFSF LLISASVIHS RQIVLTOSP ATLSLSPGER ATLSCSASSS
 51 VSYMHWYQQK PGQAPRRLIY DTSKLAGIP ARFSGSGSGT DYTLTISSLE
 101 PEDFAVYYCQ QWSSNPFTFG QGTKVEIKRT VAAPSVFIFP PSDEQLKSGT
 151 ASWCLLNNF YPBREAKVQWK VДНKLQSGNS QES VTEQDSK DSTYSLSSTL
 201 TLSKADYEKH KVYACEVTHQ GLSSPVTKSF NRGEC* (SEQ ID NONO:466)

Последовательность полипептида и полинуклеотида тяжелой и легкой цепи из мышиного и человеческого химерного антитела 1A7 следующая:

Последовательность ДНК каппа-легкой цепи chP1A7 (pEAG2110)

1 ATGGATTTTC AGGTGCAGAT TTTCAGCTTC CTGCTAATCA GTGCCTCAGT
 51 CATAATATCC AGAGGACAAA TTGTCTCAC CCAGTCTCCA GCAATCATGT
 101 CTGCATCTCC AGGGGAGAAG GTCACCATGA CCTGCAGTGC CAGCTCAAGT
 151 GTAAGTTACA TGCACTGGTA CCAGCAGAAG TCAGGCACCT CCCCCAAAAG
 201 ATGGATTAT GACACATCCA AACTGGCTTC TGGAGTCCCT GCTCGCTTCA
 251 GTGGCAGTGG GTCTGGGACC TCTTACTCTC TCACAATCAG CAGCATGGAG
 301 GCTGAAGATG CTGCCACTTA TTA CTGCCAG CAGTGGAGTA GTAACCCATT
 351 CACGTTCCGC TCGGGGACAA AGTTGGAAAT AAAACGTACG GTGGCTGCAC
 401 CATCTGTCTT CATCTTCCCG CCATCTGATG AGCAGTTGAA ATCTGGAAC T
 451 GCCTCTGTTG TGTGCCTGCT GAATAACTTC TATCCCAGAG AGGCCAAAGT
 501 ACAGTGGAAG GTGGATAACG CCCTCCAATC GGGTAACTCC CAGGAGAGTG
 551 TCACAGAGCA GGACAGCAAG GACAGCACCT ACAGCCTCAG CAGCACCTG
 601 ACGCTGAGCA AAGCAGACTA CGAGAAACAC AAAGTCTACG CCTGCGAAGT
 651 CACCCATCAG GGCCTGAGCT CGCCCGTCAC AAAGAGCTTC AACAGGGGAG
 701 AGTGTTAG (SEQ ID NO:467)

Предсказанная последовательность белка легкой цепи chP1A7 (сигнальная последовательность подчеркнута)

1 MDFOVQIFSF LLISASVIIS RGQIVLTQSP AIMSASPGEK VTMTCSASSS
 51 VSYMHWYQQK SGTSPKRWIY DTSKLSGVP ARFSGSGSGT SYSLTISSME
 10 AEDAATYYCQ QWSSNPFTFG SGTKLEIKRT VAAPSVF?FP PSDEQLKSGT
 151 ASWCLLNNF YPREAKVQWK VДНKLQSGNS QESVTEQDSK DSTYSLSSSTL
 201 TLSKADYEKH KVYACEVTHQ GLSSPVTKSF NRGEC* (SEQ ID NO:468)
 Последовательность ДНК тяжелой цепи chP1A7 huIgG1 (pEAG2112)
 1 ATGGACTGGA CCTGGAGGGT CTTCTGCTTG CTGGCTGTAG CACCAGGTGC
 51 CCACTCCCAG GTCCAACCTG TACAGTCTGG ACCTGAGCTG AAGAAGCCTG
 101 GAGAGACAGT CAAGATCTCC TGCAAGGCCT CTGGGTATAC CTTCAAAAC
 151 TATGGAATGA ACTGGGTGAA GCAGGCTCCA GAAAGGGTT TAAAGTGGAT
 201 GGGCTGGATA AACACCGACA CTGGAGAGCC AACATATACT GAAGATTTC
 251 AGGGACGGTT TGCCTTCTCT TTGGAAACCT CTGCCAGCAC TGTTTATTTG
 301 CAGTTCAACA ACCTCAAAAA TGAGGACACG GCTACATATT TCTGTGCAAG
 351 AGAGGGGGTC CACTTTGACT ACTGGGGCCA AGGGACCACG GTCACCGTCT
 401 CCTCAGCCTC CACCAAGGGC CCATCGGTCT TCCCCTGGC ACCCTCCTCC
 451 AAGAGCACCT CTGGGGGCAC AGCGGCCCTG GGCTGCCTGG TCAAGGACTA
 501 CTTCCCCGAA CCGGTGACGG TGTCGTGGAA CTCAGGCGCC CTGACCAGCG
 551 GCGTGCACAC CTTCCCGGCT GTCCTACAGT CCTCAGGACT CTACTCCCTC
 601 AGCAGCGTGG TGACCGTGCC CTCCAGCAGC TTGGGCACCC AGACCTACAT
 651 CTGCAACGTG AATCACAAGC CCAGCAACAC CAAGGTGGAC AAGAAAGTTG
 701 AGCCCAAATC TTGTGACAAG ACTCACACAT GCCCACCCTG CCCAGCACCT
 751 GAACTCCTGG GGGGACCGTC AGTCTTCCTC TTCCCCCAA AACCCAAGGA
 801 CACCCTCATG ATCTCCCGGA CCCCTGAGGT CACATGCGTG GTGGTGGACG
 851 TGAGCCACGA AGACCCTGAG GTCAAGTTCA ACTGGTACGT GGACGGCGTG
 901 GAGGTGCATA ATGCCAAGAC AAAGCCGCGG GAGGAGCAGT ACAACAGCAC
 951 GTACCGTGTG GTCAGCGTCC TCACCGTCT GCACCAGGAC TGGCTGAATG
 1001 GCAAGGAGTA CAAGTGCAAG GTCTCAAACA AAGCCCTCCC AGCCCCATC
 1051 GAGAAAACCA TCTCCAAAGC CAAAGGGCAG CCCCAGAGAAC CACAGGTGTA
 1101 CACCCTGCCC CCATCCCGGG ATGAGCTGAC CAAGAACCAG GTCAGCCTGA
 1151 CCTGCCTGGT CAAAGGCTTC TATCCAGCG ACATCGCCGT GGAGTGGGAG
 1201 AGCAATGGGC AGCCGAGAGAA CAACTACAAG ACCACGCCTC CCGTGTGGA
 1251 CTCCGACGGC TCCTTCTTCC TCTACAGCAA GCTCACCGTG GACAAGAGCA
 1301 GGTGGCAGCA GGGGAACGTC TTCTCATGCT CCGTGATGCA TGAGGCTCTG
 1351 CACAACCACT ACACGCAGAA GAGCCTCTCC CTGTCTCCCG GTTGA (SEQ ID NO:469)

Предсказанная последовательность белка тяжелой цепи chP1A7 (сигнальная последовательность подчеркнута)

1 MDWTWRVFECL LAVAPGAHSQ VOLVOSGPEL KKPGETVKIS CKASGYTFTN
 51 YGMNWKQAP GKGLKWMGWI NTDGTEPTYT EDFQGRFAFS LETSASTVYL
 101 QFNNLKNEDT ATYFCAREGV HFDYWGQGT VTVSSASTKG PSVFPLAPSS
 151 KSTSGGTAAL GCLVKDYFPE PVTVSWNSGA LTSGVHTFPA VLQSSGLYSL
 201 SSWTVPSSS LGTQTYICNV NHKPSNTKVD KKVEPKSCDK THTCPPCPAP
 251 ELLGGPSVFL FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV WDVSHEDPE VKFNWYVDGV
 301 EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNKEYKCK VSNKALPAPI
 351 EKTISKAKGQ PREPQVYTLPSRDELTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE
 401 SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCVMHEAL
 451 HNHYTQKSL SLPG* (SEQ ID NO:470)

Пример 18.

Повторное конструирование Li33Ig2 для снижения эффекторной функции, гликирования и агрегации.

Осуществляют различные мутации в Li33 с целью потенциального снижения эффекторной функции, гликирования и агрегации. Определяют эффект каждой из данных мутаций на экспрессию белка, растворимость, активность антитела в анализе сокультуры олигодендроцитов-DRG и гликирования или связывания CD32. Результаты суммируют ниже в табл. 11.

Таблица 11

Повторное конструирование LI33IG2

Эффекторная функция	Экспрессируемая конструкция	Растворимость (мг/мл)	IC50 связывания CD32 (мкг/мл)	Анализ активности (сокультура)
Li22Ig2wt	Y	> 20	4,3	+
Li33Ig2 agly	Y	0,3	25	+
Li33Ig2 Rinat	Y	> 5	9,5	+
Li33Ig2 PDL	Y	5,8	> 100	+
Li33Ig2 Alexion	Underway		НО	НО
Гликирование	Экспрессируемая конструкция	Растворимость (мг/мл)	% гликирования	Анализ активности (сокультура)
Li33wt	Y	> 20	25	+
Li33Ig2 PDL	Y	5,8	15(5)	+
Li33Ig2 PDLW94G	Y	НО	>2	-
Li33Ig2 PDLW94V	Y	НО	<2	+
Li33Ig2 PDLW94Q	Y	НО	<2	-
Li33Ig2 PDLW93N	Y	НО	<2	-

Эффекторная функция	Экспрессируемая конструкция	Растворимость (мг/мл)	IC50 связывания CD32 (мкг/мл)	Анализ активности (сокультура)
Li33Ig2 PDLK93R	Y	0,4	<2	+
Агрегация	Экспрессируемая конструкция	Растворимость (мг/мл)	% гликирования	Анализ активности (сокультура)
Li33Ig1a94V 157P	Y	НО	НО	+
Li33Ig1a94V 157S	Y	НО	НО	+
Li33Ig1a94V 157T	Y	НО	НО	-
Li33Ig1a94V 157V	Y	НО	НО	+
Li33Ig2PDL94V 157S	Y	НО	НО	+
Li33Ig2PDL94V 157A	Y	НО	НО	+
Li33Ig2PDL94V W103Q	Y	НО	НО	-
Эффекторная функция	Экспрессируемая конструкция	Растворимость (мг/мл)	IC50 связывания CD32 (мкг/мл)	Анализ активности (сокультура)
Li33Ig2PDL94V W103A	Y	НО	НО	-
Li33Ig2PDL94V 103Q57S	Y	НО	<2	+
Li33Ig2PDL94V 103Q57A	Y	НО	<2	+

* - не определяют.

Пример 19.

Конструирование варианта Li81.

Антитело Li81 представляет собой аффино зрелый вариант антитела Li13. Агликозилированный вариант антитела Li81 создают изменением одной аминокислоты в последовательности тяжелой цепи Li81.

Следующее представляет собой последовательность аминокислот вариабельной тяжелой цепи (V_H) агликозилированного варианта.

MDWTWRVFCLLAVAPGAHSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASG
FTFSAYEMKWVRQAPGKGLEWVS**VIGPSGGFTFYADSVKGRFTISR**
 NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCATE**EGDNDAFDI**WGOGTTVTVSSA
 STKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG
 VHITPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK
 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
 VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS**AYRVVSVLTVL**
 HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSRDE
 LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFF
 LYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID
 NO: 474)

Лидерная последовательность (первые 19 аминокислоты), которая не будет присутствовать в зрелом белке, показана жирным шрифтом и CDRs подчеркнуты. Замена одной аминокислоты по сравнению с последовательностью вариабельной тяжелой цепи Li81 (SEQ ID NO: 433) показана жирным шрифтом и двойным подчеркиванием. Следующее представляет собой последовательность нуклеотидов вариабельной тяжелой цепи (V_H) агликозилированного варианта.

GAAGTACAATTGTTAGAGTCTGGTGGCGGTCTTGTTACGCCTGGTG
 GTTCTTTACGTCCTTTCTTGCGTGCTTCCGGATTCACTTTCTCTGCTT
 ACGAGATGAAGTGGGTTCCGAAGCTCCTGGTAAAGGTTTGGAGT
 GGGTTTCTGTTATCGGTCTTCTGGTGGCTTTACTTTTTATGCTGAC
 TCCGTTAAAGGTCGCTTCACTATCTCTAGAGACAACCTAAGAATA
 CTCTCTACTTGACAGATGAACAGCTTAAGGGCTGAGGACACGGCCGT
 GTATTACTGTGCAACAGAGGGTGATAATGATGCTTTTGATATCTGG
 GGCCAAGGGACACGGTCACCGTCTCAAGCGCCTCCACCAAGGGC
 CCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCTCAAGAGCACCTCTGGGG
 GCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACC
 GGTGACGGTGTCGTGGAACCTAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCA
 CACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGC
 AGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTAC
 ATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAG
 AAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAGACTCACACATGCCACCGT
 GCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCC
 CCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTC
 ACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAG
 TTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGAGGTGCATAATGCCAAGACA
 AAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCGGTACCGTGTGGTCAGC
 GTCCTCACCGTCTGCACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC
 AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAA
 ACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTAC
 ACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGC
 CTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGG
 AGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACG

CCTCCCGTGTTGGACTCCGACGGCTCCTTCTCCTCTACAGCAAGCT
 CACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATG
 CTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAG
 CCTCTCCCTGTCTCCCGGTTGAGGATCCCTGCCCGG (SEQ ID

NO-450).

Настоящее изобретение не следует ограничивать в объеме описанными специфическими вариантами осуществления, которые предназначены для отдельных иллюстраций характерных аспектов изобретения, и любые композиции или способы, которые являются функционально эквивалентными, входят в объем данного изобретения. В действительности различные модификации изобретения в дополнение к показанным и описанным в данном контексте станут очевидными для компетентных специалистов в области техники из предшествующего описания и сопровождающих чертежей. Предусматривают, что данные модификации входят в объем прилагаемой формулы изобретения.

Все публикации и патентные заявки, упомянутые в данном описании, включены в данном контексте в виде ссылки в той же самой степени, как если бы для каждой отдельной публикации или патентной заявки было специально и отдельно указано, что она включена в виде ссылки.

Перечень последовательностей

<110> Байоджен Айдек эМЭй Инк

<120> Выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (варианты), выделенный полинуклеотид (варианты), выделенный полипептид (варианты), клетка-хозяин, композиция (варианты) и способ лечения заболеваний или нарушений цнс животного организма (варианты)

<130> 2159 128PC01

<150> US 60/879,324

<151> 2007-01-09

<160> 474

<170> PatentIn Версия 3.3

<210> 1

<211> 1845

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 1

atgctggcgg ggggcgtgag gagcatgcc agcccccctcc tggcctgctg gcagcccatc	60
ctcctgctgg tgctgggctc agtgcgtca ggcctggcca cgggctgccc gccccgctgc	120
gagtgctccg cccaggaccg cgtgtgtctg tgccaccgca agagctttgt ggagtcctcc	180
gagggaatcc ccaccgagac gcgcctgctg gacctaggca agaacagcat caaaacgctc	240
aaccaggacg agttcgccag ctcccgccac ctggaggagc tggagctcaa cgagaacatc	300
gtgagcgccg tggagacagg cgccttcaac aacctctca acctccgac gctgggtctc	360
cgcagcaacc gactgaagat catcccgcta ggagctttaa ttggcctcag caacctgacc	420
aagctggaca taagagagaa caagattgtt atactgatgg actacatgtt tcaggacctg	480
tacaacctca agtcactgga ggttggcgac aatgacctcg tctacatctc tcaccgcgcc	540
ttcagcggcc tcaacagcct ggagcagctg aagctggaga aatgaaaact gacctccatc	600
cccaccgagg cgtgttccca cctgcacggc ctcatcgctc tgaggctccg gcacctcaac	660
ataaatgaca taagggacta ctcctcaag aggcctctacc gactcaaggt ctggagatc	720
tcccactggc cctacttga caccatgaca cccaactgcc tctacggcct caacctgacg	780
tcctgtcca tcacacactg caatctgacc gctgtgcctt acctggccgt ccgccacctc	840
gtctatctcc gcttctcaa cctctctac aaccccatca gcacattga gggtccatg	900
ttgaatgaga tgctccggtt gcaggagatc cagctgggtg gagggcagat ggccgtggtg	960
gagacctatg ccttcgcggg cctcaactac ctgcgcgtgc tcaatgtctc tggcaaccag	1020
ctgaccacac tggaggaaac agtcttcac tcgggtggca acctggagac actcatcctg	1080
gactccaacc cgtggcctg agactgtagg ctcctgtggg tgtccggcg ccgctggcgg	1140

ctcaacttca accggcagca gcccacgtgc gccacgccc agtttgtcca gggcaaggag 1200
 ttaaggact tccctgatgt gctactgcc aactacttca cctgccgcg cggccgcac 1260
 cgggaccgca aggcccagca ggtgtttgtg gacgagggcc acacggtgca gtttgtgtc 1320
 cgggcccgatg ggcacccgcc gcccgccatc ctctgctct caccgccaaa gcacctggtc 1380
 tcagccaaga gcaatgggcg gctcacagtc ttccctgatg gcacgtgga ggtgcgtac 1440
 gccaggtac aggacaacgg cagttacctg tgcacggcg ccaacgggg cggaacgac 1500
 tccatgccc cccacctgca tgtgcgcag tactcgccc actggccca tcagccaac 1560
 aagaccttg ctttcatct caaccagcc ggcgaggag aggccaacag caccgcgcc 1620
 actgtgcct tcccttcca catcaagacc ctcatcatc ccaccacat gggttcatc 1680
 tcttctgg gctgctct cttctgctg gtgctgctg ttcttgag ccggggcaag 1740
 ggcaacaaa agcacaacat cgatcgag tatgtgccc gaaagtcgga cgcaggcatc 1800
 agctccgcc acgcgccc caagttcaac atgaatga tatga 1845

<210> 2

<211> 614

<212> NPPT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Met Leu Ala Gly Gly Val Arg Ser Met Pro Ser Pro Leu Leu Ala Cys

1 5 10 15

Trp Gln Pro Ile Leu Leu Val Leu Gly Ser Val Leu Ser Gly Ser

20 25 30

Ala Thr Gly Cys Pro Pro Arg Cys Glu Cys Ser Ala Gln Asp Arg Ala

35 40 45

Val Leu Cys His Arg Lys Arg Phe Val Ala Val Pro Glu Gly Ile Pro

50 55 60

Thr Glu Thr Arg Leu Leu Asp Leu Gly Lys Asn Arg Ile Lys Thr Leu

65 70 75 80

Asn Gln Asp Glu Phe Ala Ser Phe Pro His Leu Glu Glu Leu Glu Leu

85 90 95

Asn Glu Asn Ile Val Ser Ala Val Glu Pro Gly Ala Phe Asn Asn Leu

100 105 110

Phe Asn Leu Arg Thr Leu Gly Leu Arg Ser Asn Arg Leu Lys Leu Ile

036660

115 120 125
 Pro Leu Gly Val Phe Thr Gly Leu Ser Asn Leu Thr Lys Leu Asp Ile
 130 135 140
 Ser Glu Asn Lys Ile Val Ile Leu Leu Asp Tyr Met Phe Gln Asp Leu
 145 150 155 160
 Tyr Asn Leu Lys Ser Leu Glu Val Gly Asp Asn Asp Leu Val Tyr Ile
 165 170 175
 Ser His Arg Ala Phe Ser Gly Leu Asn Ser Leu Glu Gln Leu Thr Leu
 180 185 190
 Glu Lys Cys Asn Leu Thr Ser Ile Pro Thr Glu Ala Leu Ser His Leu
 195 200 205
 His Gly Leu Ile Val Leu Arg Leu Arg His Leu Asn Ile Asn Ala Ile
 210 215 220
 Arg Asp Tyr Ser Phe Lys Arg Leu Tyr Arg Leu Lys Val Leu Glu Ile
 225 230 235 240
 Ser His Trp Pro Tyr Leu Asp Thr Met Thr Pro Asn Cys Leu Tyr Gly
 245 250 255
 Leu Asn Leu Thr Ser Leu Ser Ile Thr His Cys Asn Leu Thr Ala Val
 260 265 270
 Pro Tyr Leu Ala Val Arg His Leu Val Tyr Leu Arg Phe Leu Asn Leu
 275 280 285
 Ser Tyr Asn Pro Ile Ser Thr Ile Glu Gly Ser Met Leu His Glu Leu
 290 295 300
 Leu Arg Leu Gln Glu Ile Gln Leu Val Gly Gly Gln Leu Ala Val Val
 305 310 315 320
 Glu Pro Tyr Ala Phe Arg Gly Leu Asn Tyr Leu Arg Val Leu Asn Val
 325 330 335
 Ser Gly Asn Gln Leu Thr Thr Leu Glu Glu Ser Val Phe His Ser Val
 340 345 350
 Gly Asn Leu Glu Thr Leu Ile Leu Asp Ser Asn Pro Leu Ala Cys Asp
 355 360 365
 Cys Arg Leu Leu Trp Val Phe Arg Arg Arg Trp Arg Leu Asn Phe Asn

370 375 380
 Arg Gln Gln Pro Thr Cys Ala Thr Pro Glu Phe Val Gln Gly Lys Glu
 385 390 395 400
 Phe Lys Asp Phe Pro Asp Val Leu Leu Pro Asn Tyr Phe Thr Cys Arg
 405 410 415
 Arg Ala Arg Ile Arg Asp Arg Lys Ala Gln Gln Val Phe Val Asp Glu
 420 425 430
 Gly His Thr Val Gln Phe Val Cys Arg Ala Asp Gly Asp Pro Pro Pro
 435 440 445
 Ala Ile Leu Trp Leu Ser Pro Arg Lys His Leu Val Ser Ala Lys Ser
 450 455 460
 Asn Gly Arg Leu Thr Val Phe Pro Asp Gly Thr Leu Glu Val Arg Tyr
 465 470 475 480
 Ala Gln Val Gln Asp Asn Gly Thr Tyr Leu Cys Ile Ala Ala Asn Ala
 485 490 495
 Gly Gly Asn Asp Ser Met Pro Ala His Leu His Val Arg Ser Tyr Ser
 500 505 510
 Pro Asp Trp Pro His Gln Pro Asn Lys Thr Phe Ala Phe Ile Ser Asn
 515 520 525
 Gln Pro Gly Glu Gly Glu Ala Asn Ser Thr Arg Ala Thr Val Pro Phe
 530 535 540
 Pro Phe Asp Ile Lys Thr Leu Ile Ile Ala Thr Thr Met Gly Phe Ile
 545 550 555 560
 Ser Phe Leu Gly Val Val Leu Phe Cys Leu Val Leu Leu Phe Leu Trp
 565 570 575
 Ser Arg Gly Lys Gly Asn Thr Lys His Asn Ile Glu Ile Glu Tyr Val
 580 585 590
 Pro Arg Lys Ser Asp Ala Gly Ile Ser Ser Ala Asp Ala Pro Arg Lys
 595 600 605
 Phe Asn Met Lys Met Ile
 610

<210> 3

<211> 6

<212> ПРТ

<213> Homo sapiens

<400> 3

Met Gln Val Ser Lys Arg

1 5

<210> 4

<211> 29

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический праймер, используемый для определения легкой цепи P1E11 3B7

<400> 4

gcgtctagaa ctggatgggtg ggagatgga

29

<210> 5

<211> 15

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Li1O, которая кодирует VH-CDR1

<400> 5

acttaccta tgggt

15

<210> 6

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Li1O, которая кодирует VH-CDR1

<400> 6

Thr Tyr Pro Met Val

1 5

<210> 7

<211> 51

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L11O, которая кодирует VH-CRD2

<400> 7

tggaagggtc cttctgggtg cgttactgct tatgctgact ccgttaaagg t

51

<210> 8

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L11O, которая кодирует VH-CDR2

<400> 8

Trp Ile Gly Pro Ser Gly Gly Val Thr Ala Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 9

<211> 33

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L11O, которая кодирует VH-CDR3

<400> 9

ccctatagca gtggctgggtg ggacttcgat etc

33

<210> 10

<211> 11

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L11O, которая кодирует VH-CDR3

<400> 10

Pro Tyr Ser Ser Gly Trp Trp Asp Phe Asp Leu

1 5 10

<210> 11

<211> 15

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO7, которая кодирует VH-CDR1

<400>11

atgtacttta tgggt

15

<210> 12

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO7, которая кодирует VH-CDR1

<400> 12

Met Tyr Phe Met Gly

1 5

<210> 13

<211> 51

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO7, которая кодирует VH-CDR2

<400> 13

tctatctctc cttctgggtgg ctttacttct tatgctgact ccgttaaagg t

51

<210> 14

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO7, которая кодирует VH-CDR2

<400> 14

Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gly Phe Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1	5	10	15
Gly			
<210> 15			
<211> 21			
<212> ДНК			
<213> Искусственная последовательность			
<220>			
<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO7, которая кодирует VH-CDR3			
<400> 15			
gateggcatg cttttgatat c			21
<210> 16			
<211> 7			
<212> ПРТ			
<213> Искусственная последовательность			
<220>			
<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO7, которая кодирует VH-CDR3			
<400> 16			
Asp Arg His Ala Phe Asp Ile			
1	5		
<210> 17			
<211> 14			
<212> ДНК			
<213> Искусственная последовательность			
<220>			
<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO5, которая кодирует VH-CDR1			
<400> 17			
cttacgctat gggt			14
<210> 18			
<211> 5			
<212> ПРТ			
<213> Искусственная последовательность			
<220>			
<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO5, которая кодирует VH-CDR1			

<400> 18

Ala Tyr Ala Met Gly

1 5

<210> 19

<211> 51

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO5, которая кодирует VH-CDR2

<400> 19

tctatcgttt cttctgggtgg ctatactgat tatgctgact ccgttaaagg t

51

<210> 20

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO5, которая кодирует VH-CDR2

<400> 20

Ser Ile Val Ser Ser Gly Gly Tyr Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 21

<211> 27

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO5, которая кодирует VH-CDR3

<400> 21

gagggtgacc ataatgcttt tgatac

27

<210> 22

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L1O5, которая кодирует VH-CDR3

<400> 22

Glu Gly Asp His Asn Ala Phe Asp Ile

1 5

<210> 23

<211> 15

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L1II, которая кодирует VH-CDR1

<400> 23

tcttacgcta tgtat

15

<210> 24

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L1II, которая кодирует VH-CDR1

<400> 24

Ser Tyr Ala Met Tyr

1 5

<210> 25

<211> 51

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L1II, которая кодирует VH-CDR2

<400> 25

tctatctcta cttctgggtgg ctatactggg tatgctgact ccgttaaagg t

51

<210> 26

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L111, которая кодирует VH-CDR2

<400> 26

Ser Ile Ser Thr Ser Gly Gly Tyr Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 27

<211> 36

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L111, которая кодирует VH-CDR3

<400> 27

gataccagcg ataatgacta ctactacatg gacgtc

36

<210> 28

<211> 12

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L111, которая кодирует VH-CDR3

<400> 28

Asp Thr Ser Asp Asn Asp Tyr Tyr Tyr Met Asp Val

1 5 10 15

<210> 29

<211> 15

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L101, которая кодирует VH-CDR1

<400> 29

aagtaccaga tgact

15

<210> 30

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L1O1, которая кодирует VH-CDR1

<400> 30

Lys Tyr Gln Met Thr

1 5

<210> 31

<211> 51

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L1O1, которая кодирует VH-CDR2

<400> 31

tctatctatc cttctgggtgg caatactgtt tatgctgact ccgttaaagg t

51

<210> 32

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L1O1, которая кодирует VH-CDR2

<400> 32

Ser Ile Tyr Pro Ser Gly Gly Asn Thr Val Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 33

<211> 27

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L1O1, которая кодирует VH-CDR3

<400> 33

gggactacag aggcagtcctt tgactcc

27

<210> 34

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO1, которая кодирует VH-CDR3

<400> 34

Gly Thr Thr Glu Ala Val Phe Asp Tyr

1

5

<210> 35

<211> 15

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiI2, которая кодирует VH-CDR1

<400> 35

cagtacaata tggtt

15

<210> 36

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiI2, которая кодирует VH-CDR1

<400> 36

Gln Tyr Asn Met Phe

1

5

<210> 37

<211> 51

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiI2, которая кодирует VH-CDR2

<400> 37

cgtatctctt ctcttggtgg catgactatg tatctgact ccgtaaagg t

51

<210> 38

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L1l2, которая кодирует VH-CDR2

<400> 38

Arg Ile Ser Ser Ser Gly Gly Met Thr Met Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 39

<211> 69

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L1l2, которая кодирует VH-CDR3

<400> 39

gaagcggtac ggccttattg tagtggtggt agctgctact ccgactacta ctactacggt

60

atggacgtc

69

<210> 40

<211> 23

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L1l2, которая кодирует VH-CDR3

<400> 40

Glu Ala Leu Arg Pro Tyr Cys Ser Gly Gly Ser Cys Tyr Ser Asp Tyr

1 5 10 15

Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val

20

<210> 41

<211> 15

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO6, которая кодирует VH-CDR1

<400> 41

gagtagcccta tggat

15

<210> 42

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO6, которая кодирует VH-CDR1

<400> 42

Glu Tyr Pro Met Asp

1 5

<210> 43

<211> 51

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO6, которая кодирует VH-CDR2

<400> 43

tctatctatt cttctgtgg cttctactgt tatgctgact ccattaaagg t

51

<210> 44

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO6, которая кодирует VH-CDR2

<400> 44

Ser Ile Tyr Ser Ser Gly Gly Ser Thr Val Tyr Ala Asp Ser Ile Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 45

<211> 27

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO6, которая кодирует VH-CDR3

<400> 45

gagggtgact ctgatgcttt tgataac

27

<210> 46

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO6, которая кодирует VH-CDR3

<400> 46

Glu Gly Asp Ser Asp Ala Phe Asp Ile

1 5

<210> 47

<211> 15

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO8, которая кодирует VH-CDR1

<400> 47

cattacgaga tgggt

15

<210> 48

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO8, которая кодирует VH-CDR1

<400> 48

His Tyr Glu Met Val

1 5

<210> 49

<211> 51

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO8, которая кодирует VH-CDR2

<400> 49

tctatccgtt cttctgggtgg cgctactaag tatgctgact ccgttaaagg t 51

<210> 50

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO8, которая кодирует VH-CDR2

<400> 50

Ser Ile Arg Ser Ser Gly Gly Ala Thr Lys Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 51

<211> 27

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO8, которая кодирует VH-CDR3

<400> 51

gagtcgccag acgactactt tgactcc 27

<210> 52

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L1O8, которая кодирует VH-CDR3

<400> 52

Glu Ser Pro Asp Asp Tyr Phe Asp Tyr

1 5

<210> 53

<211> 15

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L1O3, которая кодирует VH-CDR1

<400> 53

cagtaccccta tggag

15

<210> 54

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L1O3, которая кодирует VH-CDR1

<400> 54

Gln Tyr Pro Met Glu

1 5

<210> 55

<211> 51

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L1O3, которая кодирует VH-CDR2

<400> 55

ggatctatc ctctgtgtgg ctctactgtt tatgtctgact ccgttaaagg t

51

<210> 56

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO3, которая кодирует VH-CDR2

<400> 56

Gly Ile Tyr Pro Ser Gly Gly Ser Thr Val Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 57

<211> 30

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO3, которая кодирует VH-CDR3

<400> 57

gcggggcagt ggctggggga ctttgactcc

30

<210> 58

<211> 10

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO3, которая кодирует VH-CDR3

<400> 58

Ala Gly Gln Trp Leu Gly Asp Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 59

<211> 15

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO9, которая кодирует VH-CDR1

<400> 59

atgtactcta tgggt

15

<210> 60

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO9, которая кодирует VH-CDR1

<400> 60

Met Tyr Ser Met Val

1 5

<210> 61

<211> 51

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO9, которая кодирует VH-CDR2

<400> 61

tatatctctc cttctgggtgg caagactatg tatgctgact ccgttaaagg t

51

<210> 62

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO9, которая кодирует VH-CDR2

<400> 62

Tyr Ile Ser Pro Ser Gly Gly Lys Thr Met Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 63

<211> 69

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO9, которая кодирует VH-CDR3

<400> 63

gattcgagac gccggtatta cgatttttgg agtggttacc acaactacta ctactactac

60

atggacgtc

69

<210> 64

<211> 23

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L109, которая кодирует VH-CDR3

<400> 64

Asp Ser Arg Arg Arg Tyr Tyr Asp Phe Trp Ser Gly Tyr His Asn Tyr

1 5 10 15

Tyr Tyr Tyr Tyr Met Asp Val

20

<210> 65

<211> 15

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L104, которая кодирует VH-CDR1

<400> 65

cggtacaata tgggt

15

<210> 66

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L104, которая кодирует VH-CDR1

<400> 66

Arg Tyr Asn Met Gly

1 5

<210> 67

<211> 51

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO4, которая кодирует VH-CDR2

<400> 67

gttatctatc cttctggtgg cggctactcat tatgctgact ccgttaaagg t

51

<210> 68

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO4, которая кодирует VH-CDR2

<400> 68

Val Ile Tyr Pro Ser Gly Gly Gly Thr His Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 69

<211> 27

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO4, которая кодирует VH-CDR3

<400> 69

tctatagcag atgatgcttt tgatatac

27

<210> 70

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO4, которая кодирует VH-CDR3

<400> 70

Ser Ile Ala Asp Asp Ala Phe Asp Ile

1 5

<210> 71

<211> 15

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO₂, которая кодирует VH-CDR1

<400> 71

acttacgaga tgatt

15

<210> 72

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO₂, которая кодирует VH-CDR1

<400> 72

Thr Tyr Glu Met Ile

1 5

<210> 73

<211> 48

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO₂, которая кодирует VH-CDR2

<400> 73

tctatcggtc ctctgggtgg ccttacttgg tatgctgact ccgttaaa

48

<210> 74

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO₂, которая кодирует VH-CDR2

<400> 74

Ser Ile Gly Pro Ser Gly Gly Leu Thr Trp Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 75

<211> 51

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO₂, которая кодирует VH-CDR3

<400> 75

atgtattact ggtacggat tgatgatagt agtgggtggg ctttgatat c

51

<210> 76

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO₂, которая кодирует VH-CDR3

<400> 76

Met Tyr Tyr Cys Val Arg Ile Asp Asp Ser Ser Gly Trp Ala Phe Asp

1

5

10

15

Ile

<210> 77

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела 1A7, которая кодирует VH-CDR1

<400> 77

Asn Tyr Gly Met Asn

1

5

<210> 78

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела 1A7, которая кодирует VH-CDR2

<400> 78

Trp Ile Asn Thr Asp Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Thr Glu Asp Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 79

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела 1A7, которая кодирует VH-CDR3

<400> 79

Glu Gly Val His Phe Asp Tyr

1 5

<210> 80

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела 2F3, которая кодирует VH-CDR1

<400> 80

Phe Ser Asp Ala Trp Leu Asp

1 5

<210> 81

<211> 19

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела 2F3, которая кодирует VH-CDR2

<400> 81

Glu Ile Arg Ser Lys Ala Asn Asn His Ala Thr Asn Tyr Ala Glu Ser

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 82

<211> 4

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела 2F3, которая кодирует VH-CDR3

<400> 82

Ser Phe Ala Tyr

1

<210> 83

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела 3P1D10.2C3 или 3P1E11.3B7, которая кодирует VH-CDR1

<400> 83

Ser Ser Trp Thr Gln

1

5

<210> 84

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела 3P1D10.2C3 или 3P1E11.3B7, которая кодирует VH-CDR2

<400> 84

Ala Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Arg Tyr Thr Gln Lys Phe Lys

1

5

10

15

Gly

<210> 85

<211> 8

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела 3P1D10.2C3 или 3P1E11.3B7, которая кодирует VH-CDR3

<400> 85

His Asn Ser Tyr Gly Met Asp Tyr

1 5

<210> 86

<211> 33

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L1O, которая кодирует VL-CDR1

<400> 86

cgggcgagtc aggtattgg caactggta gcc

33

<210> 87

<211> 11

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L1O, которая кодирует VL-CDR1

<400> 87

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Gly Asn Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 88

<211> 21

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L1O, которая кодирует VL-CDR2

<400> 88

gctgcatcca gtttgaaag t

21

<210> 89

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L1O, которая кодирует VL-CDR2

<400> 89

Ala Ala Ser Ser Leu Glu Ser

1 5

<210> 90

<211> 27

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L1O, которая кодирует VL-CDR3

<400> 90

caacaggtc agactttccc gctcacc

27

<210> 91

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L1O, которая кодирует VL-CDR3

<400> 91

Gln Gln Ala Gln Thr Phe Pro Leu Thr

1 5

<210> 92

<211> 33

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L1O7, которая кодирует VL-CDR1

<400> 92

tctggagatc agttgggtga caaacatgtg gat

33

<210> 93

<211> 11

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L1O7, которая кодирует VL-CDR1

<400> 93

Ser Gly Asp Gln Leu Gly Asp Lys His Val Ala

1 5 10

<210> 94

<211> 21

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L1O7, которая кодирует VL-CDR2

<400> 94

ctagacatta agagggccgc a

21

<210> 95

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L1O7, которая кодирует VL-CDR2

<400> 95

Leu Asp Ile Lys Arg Pro Ala

1 5

<210> 96

<211> 24

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L1O7, которая кодирует VL-CDR3

<400> 96

caggcgtggg acatcaagac ggtc

24

<210> 97

<211> 8

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L1O7, которая кодирует VL-CDR3

<400> 97

Gln Ala Trp Asp Ile Lys Thr Val

1 5

<210> 98

<211> 33

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L1O5, которая кодирует VL-CDR1

<400> 98

gggggagaca acattggaag taagagtgtc cac

33

<210> 99

<211> 11

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L1O5, которая кодирует VL-CDR1

<400> 99

Gly Gly Asp Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val His

1 5 10

<210> 100

<211> 21

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L1O5, которая кодирует VL-CDR2

<400> 100

gatgattatg accggccctc a

21

<210> 101

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO5, которая кодирует VL-CDR2

<400> 101

Asp Asp Tyr Asp Arg Pro Ser

1 5

<210> 102

<211> 33

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO5, которая кодирует VL-CDR3

<400> 102

caggtgaggg acagccgtac tgaggaacgg gtc

33

<210> 103

<211> 11

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO5, которая кодирует VL-CDR3

<400> 103

Gln Val Arg Asp Ser Arg Thr Glu Glu Arg Val

1 5 10

<210> 104

<211> 33

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Li11, которая кодирует VL-CDR1

<400> 104

cggcgagtc aggagattgc caactactta gcc

33

<210> 105

<211> 11

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L111, которая кодирует VL-CDR1

<400> 105

Arg Ala Ser Gln Glu Ile Ala Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 106

<211> 21

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L111, которая кодирует VL-CDR2

<400> 106

gatacataca ctttgcagac t

21

<210> 107

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L111, которая кодирует VL-CDR2

<400> 107

Asp Thr Tyr Thr Leu Gln Thr

1 5

<210> 108

<211> 27

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L111, которая кодирует VL-CDR3

<400> 108

caacaggctg acattttccc gctctct

27

<210> 109

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L111, которая кодирует VL-CDR3

<400> 109

Gln Gln Ala Asp Ile Phe Pro Leu Ser

1 5

<210> 110

<211> 32

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L101, которая кодирует VL-CDR1

<400> 110

caggcgagtc aggacattag caactattta aa

32

<210> 111

<211> 11

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L101, которая кодирует VL-CDR1

<400> 111

Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 112

<211> 21

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L101, которая кодирует VL-CDR2

<400> 112

gatgcaccca atttggaac a

21

<210> 113

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO1, которая кодирует VL-CDR2

<400> 113

Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr

1

5

<210> 114

<211> 30

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO1, которая кодирует VL-CDR3

<400> 114

caacaggetg acaggtccc tgcggtcact

30

<210> 115

<211> 10

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO1, которая кодирует VL-CDR3

<400> 115

Gln Gln Ala Asp Arg Phe Pro Ala Val Thr

1

5

10

<210> 116

<211> 33

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO6, которая кодирует VL-CDR1

<400> 116

cgggccagtc agagtattag tagctgggtg gcc

33

<210> 117

<211> 11

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO6, которая кодирует VL-CDR1

<400> 117

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 118

<211> 21

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO6, которая кодирует VL-CDR2

<400> 118

gtgcatcca gttacgaac t

21

<210> 119

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO6, которая кодирует VL-CDR2

<400> 119

Ala Ala Ser Ser Leu Arg Thr

1 5

<210> 120

<211> 27

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L106, которая кодирует VL-CDR3

<400> 120

ctacaagatt acagttaccc tctcact

27

<210> 121

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L106, которая кодирует VL-CDR3

<400> 121

Leu Gln Asp Tyr Ser Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 122

<211> 33

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L108, которая кодирует VL-CDR1

<400> 122

caggcgagtc aggacattag ttactattta aat

33

<210> 123

<211> 11

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L108, которая кодирует VL-CDR1

<400> 123

Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Tyr Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 124

<211> 21

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L1O8, которая кодирует VL-CDR2

<400> 124

gatgtatcca atttgcaaac a

21

<210> 125

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L1O8, которая кодирует VL-CDR2

<400> 125

Asp Val Ser Asn Leu Gln Thr

1 5

<210> 126

<211> 27

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L1O8, которая кодирует VL-CDR3

<400> 126

caacagtctg ataatctccc tctcact

27

<210> 127

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L1O8, которая кодирует VL-CDR3

<400> 127

Gln Gln Ser Asp Asn Leu Pro Leu Thr

1 5

<210> 128

<211> 32

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO3, которая кодирует VL-CDR1

<400> 128

gggcaagtca gagcattagc agctatttaa at

32

<210> 129

<211> 11

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO3, которая кодирует VL-CDR1

<400> 129

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 130

<211> 21

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO3, которая кодирует VL-CDR2

<400> 130

gctgcatcca gtttgcaaag t

21

<210> 131

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO3, которая кодирует VL-CDR2

<400> 131

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 132

<211> 27

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO3, которая кодирует VL-CDR3

<400> 132

caacagagtt acagtacccc gggacg

27

<210> 133

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO3, которая кодирует VL-CDR3

<400> 133

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Trp Thr

1 5

<210> 134

<211> 33

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO9, которая кодирует VL-CDR1

<400> 134

cgcgcaagtc agagcatcga cacctattta aat

33

<210> 135

<211> 11

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO9, которая кодирует VL-CDR1

<400> 135

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asp Thr Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 136

<211> 21

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO9, которая кодирует VL-CDR2

<400> 136

gctgcatcca agttggaaga c

21

<210> 137

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO9, которая кодирует VL-CDR2

<400> 137

Ala Ala Ser Lys Leu Glu Asp

1 5

<210> 138

<211> 26

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO9, которая кодирует VL-CDR3

<400> 138

caacagagtt acagtcacac tctcac

26

<210> 139

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела LiO9, которая кодирует VL-CDR3

<400> 139

Gln Gln Ser Tyr Ser Pro Pro Leu Thr

1 5

<210> 140

<211> 33

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L1O₂, которая кодирует VL-CDR1

<400> 140

tctggagata aattggggga taaattgct tcc

33

<210> 141

<211> 11

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L1O₂, которая кодирует VL-CDR1

<400> 141

Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Phe Ala Ser

1 5 10

<210> 142

<211> 21

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L1O₂, которая кодирует VL-CDR2

<400> 142

caagatagga agcgtctctc a

21

<210> 143

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L1O₂, которая кодирует VL-CDR2

<400> 143

Gln Asp Arg Lys Arg Leu Ser

1 5

<210> 144

<211> 27

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L1O₂, которая кодирует VL-CDR3

<400> 144

caggcgtggg acaccaaac tgtggtc 27

<210> 145

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L1O₂, которая кодирует VL-CDR3

<400> 145

Gln Ala Trp Asp Thr Asn Thr Val Val

1 5

<210> 146

<211> 10

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела 1A7, которая кодирует VL-CDR1

<400> 146

Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His

1 5 10

<210> 147

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела 1A7, которая кодирует VL-CDR2

<400> 147

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser

1 5

<210> 148

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела 1A7, которая кодирует VL-CDR3

<400> 148

Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Phe Thr

1 5

<210> 149

<211> 11

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела 2F3, которая кодирует VL-CDR1

<400> 149

Arg Ala Ser Gly Asn Ile Tyr Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 150

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела 2F3, которая кодирует VL-CDR2

<400> 150

Asn Ala Lys Thr Leu Pro Asp

1 5

<210> 151

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела 2F3, которая кодирует VL-CDR3

<400> 151

Gln His Phe Trp Ala Ile Pro Tyr Thr

1 5

<210> 152

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела 3P1D10.2C3, которая кодирует VL-CDR1

<400> 152

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu

1 5 10 15

Thr

<210> 153

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела 3P1D10.2C3, которая кодирует VL-CDR2

<400> 153

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser

1 5

<210> 154

<211> 10

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела 3P1D10.2C3, которая кодирует

VL-CDR3

<400> 154

Gln Asn Asp Tyr Ser Tyr Pro Leu Phe Thr

1 5 10

<210> 155

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела 3P1E11.3B7, которая кодирует VL-CDR1

<400> 155

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Gly Asn Gln Lys Ser Tyr Leu

1 5 10 15

Thr

<210> 156

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела 3P1E11.3B7, которая кодирует VL-CDR2

<400> 156

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser

1 5

<210> 157

<211> 10

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела 3P1E11.3B7, которая кодирует VL-CDR3

<400> 157

Gln Asn Asp Tyr Ser Tyr Pro Leu Phe Thr

1 5 10

<210> 158

<211> 133

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области тяжелой цепи L102

<400> 158

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr

20 25 30

Glu Met Ile Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Ser Ile Gly Pro Ser Gly Gly Leu Thr Trp Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

Val Arg Ile Asp Asp Ser Ser Gly Trp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

115 120

Phe Pro Leu Ala Pro

130

<210> 159

<211> 145

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области тяжелой цепи L109

<400> 159

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Met Tyr

036660

20 25 30
 Ser Met Val Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Tyr Ile Ser Pro Ser Gly Gly Lys Thr Met Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Phe Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Ser Arg Arg Arg Tyr Tyr Asp Phe Trp Ser Gly Tyr His
 100 105 110
 Asn Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val
 115 120
 Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
 130 135 140

Pro

145

<210> 160

<211> 131

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области тяжелой цепи L106

<400> 160

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Glu Tyr
 20 25 30
 Pro Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ser Ile Tyr Ser Ser Gly Gly Ser Thr Val Tyr Ala Asp Ser Ile
 50 55 60

036660

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Glu Gly Asp Ser Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120
Leu Ala Pro
130

<210> 161

<211> 131

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области тяжелой цепи L105

<400> 161

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

115 120
 Leu Ala Pro
 130
 <210> 162
 <211> 131
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Синтетическая последовательность вариабельной области тяжелой цепи L104
 <400> 162
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr
 20 25 30
 Asn Met Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Val Ile Tyr Pro Ser Gly Gly Gly Thr His Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ser Ser Ile Ala Asp Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
 115 120
 Leu Ala Pro
 130
 <210> 163
 <211> 131
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области тяжелой цепи L108

<400> 163

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser His Tyr

20 25 30

Glu Met Val Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Ser Ile Arg Ser Ser Gly Gly Ala Thr Lys Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Lys Glu Ser Pro Asp Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro

115 120

Leu Ala Pro

130

<210> 164

<211> 134

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области тяжелой цепи L111

<400> 164

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

036660

Ala Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Ser Ile Ser Thr Ser Gly Gly Tyr Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Asp Thr Ser Asp Asn Asp Tyr Tyr Tyr Met Asp Val Trp Gly

100 105 110

Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser

115 120

Val Phe Pro Leu Ala Pro

130

<210> 165

<211> 133

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области тяжелой цепи L110

<400> 165

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr

20 25 30

Pro Met Val Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Trp Ile Gly Pro Ser Gly Gly Val Thr Ala Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

036660

	85	90	95
Ala Arg Pro Tyr Ser Ser Gly Trp Trp Asp Phe Asp Leu Trp Gly Arg			
	100	105	110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val			
	115	120	
Phe Pro Leu Ala Pro			
130			
<210> 166			
<211> 131			
<212> ПРТ			
<213> Искусственная последовательность			
<220>			
<223> Синтетическая последовательность вариабельной области тяжелой цепи L101			
<400> 166			
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly			
1 5 10 15			
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Lys Tyr			
20 25 30			
Gln Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			
35 40 45			
Ser Ser Ile Tyr Pro Ser Gly Gly Asn Thr Val Tyr Ala Asp Ser Val			
50 55 60			
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr			
65 70 75 80			
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
85 90 95			
Ala Ser Gly Thr Thr Glu Ala Val Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr			
100 105 110			
Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro			
115 120			
Leu Ala Pro			
130			

<210> 167

<211> 129

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области тяжелой цепи L107

<400> 167

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Met Tyr

20 25 30

Phe Met Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gly Phe Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Asp Arg His Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala

115 120

Pro

<210> 168

<211> 132

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области тяжелой цепи L103

<400> 168

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

036660

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

130

<210> 169

<211> 145

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области тяжелой цепи L112

<400> 169

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gln Tyr
 20 25 30
 Asn Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Arg Ile Ser Ser Ser Gly Gly Met Thr Met Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Glu Ala Leu Arg Pro Tyr Cys Ser Gly Gly Ser Cys Tyr Ser

100 105 110

Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val

115 120

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala

130 135 140

Pro

145

<210> 170

<211> 116

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области тяжелой цепи 1A7

<400> 170

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu

1 5 10 15

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr

20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Asp Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Thr Glu Asp Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Val Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Phe Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys

85 90 95

Ala Arg Glu Gly Val His Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val

100 105 110
 Thr Val Ser Ser
 115
 <210> 171
 <211> 115
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Синтетическая последовательность вариабельной области тяжелой цепи 2F3
 <400> 171
 Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Met Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Ala
 20 25 30
 Trp Leu Asp Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Glu Ile Arg Ser Lys Ala Asn Asn His Ala Thr Asn Tyr Ala Glu
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ser
 65 70 75 80
 Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Gly Ile Tyr
 85 90 95
 Phe Cys Thr Pro Ser Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser
 115
 <210> 172
 <211> 117
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Синтетическая последовательность вариабельной области тяжелой цепи 3P1D10.2C3 и 3P1E11.3B7

<400> 172

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Ser

20 25 30

Trp Thr Gln Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Arg Tyr Thr Gln Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Ala Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg His Asn Ser Tyr Gly Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 173

<211> 399

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность варибельной области тяжелой цепи L102

<400> 173

gaagtcaat tgtagagtc tggtagcggt ctgttcagc ctggtgggtc ttacgtctt 60

tcttcgctg ctccggatt cactttctct acttacgaga tgattgggt tcgccaagct 120

cctggtaaag gttggagtg ggtttctct atcggtcctt ctggtggcct tacttggtat 180

gtgactccg ttaaagtcg cttcactatc tctagagaca actctaagaa tactctctac 240

ttgcagatga acagctaaag ggctgaggac accgccatgt attactgtgt acggattgat 300

gatatagtg gttgggcttt tgatatctgg ggccaaggga ccacggtcac cgtctcaagc 360

gctccacca agggcccatc ggtcttcccg ctacaccc 399

<210> 174

<211> 435

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области тяжелой цепи L109

<400> 174

gaagttcaat tgtagagtc tggtagcggt ctgttcagc ctggtggtc ttacgtctt	60
tctgcgctg ctccggatt cactttctct atgtactcta tggttgggt tcgccaagct	120
cctggtaaag gtttgagtg ggtttcttat atctctctt ctggtggcaa gactatgtat	180
gctgactccg ttaaaggcgc ctccactatc tctagagaca actctaagaa tactttctac	240
ttgcagatga acagcttaag ggctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagattcg	300
agacgccggg attacgatt ttggagtgt tatcacaact actactacta ctacatggac	360
gtctggggca aaggggaccac ggtcacgcgc tcaagcgct ccaccaaggg cccatcggtc	420
ttcccgctag cacc	435

<210> 175

<211> 393

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области тяжелой цепи L106

<400> 175

gaagttcaat tgtagagtc tggtagcggt ctgttcagc ctggtggtc ttacgtctt	60
tctgcgctg ctccggatt cactttctct gactacccta tggattgggt tcgccaagct	120
cctggtaaag gtttgagtg ggtttctct atctattctt ctggtggctc tactgtttat	180
gctgactcca ttaaaggcgc ctccactatc tctagagaca actctaagaa tactctctac	240
ttgcagatga acagcttaag ggctgaggac acggccgtgt attactgtgc cagagagggt	300
gactctgatg cttttgatat ctggggccaa gggacaatgg tcaccgtctc aagcgctcc	360
accaagggcc catcggtctt cccgctagca ccc	393

<210> 176

<211> 393

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области тяжелой цепи L105

<400> 176

gaagtcaat tgtagagtc tggtagcggt ctgttcagc ctgtgggtc ttacgtctt	60
tctgcgctg ctccggatt cactttctt gttacgcta tgggtgggt tcgcaagct	120
cctggtaaag gttggagtg ggtttctct atcgtttct ctggggcta tactgattt	180
gtgactccg ttaaaggctg ctctactat tctagagaca actctaagaa tactctctac	240
ttgcagatga acagcttaag ggctgaggac acggccgtgt attactgtgc cagagagggt	300
gaccataatg cttttgatat ctggggccaa gggacaatgg tcaccgtctc aagcgctcc	360
accaagggcc catcggtctt cccgctagca ccc	393

<210> 177

<211> 393

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области тяжелой цепи L104

<400> 177

gaagtcaat tgtagagtc tggtagcggt ctgttcagc ctgtgggtc ttacgtctt	60
tctgcgctg ctccggatt cactttctt cgtacaata tgggtgggt tcgcaagct	120
cctggtaaag gttggagtg ggtttctgt atctatcct ctgtggggg tactcattt	180
gtgactccg ttaaaggctg ctctactat tctagagaca actctaagaa tactctctac	240
ttgcagatga acagcttaag ggctgaggac acggccgtgt attactgtgc gattctata	300
gcagatgatg cttttgatat ctggggccaa gggacaatgg tcaccgtctc aagcgctcc	360
accaagggcc catcggtctt cccgctagca ccc	393

<210> 178

<211> 393

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области тяжелой цепи L108

<400> 178

gaagtcaat tgtagagtc tggtagcggt ctgttcagc ctgtgggtc ttacgtctt	60
tctgcgctg ctccggatt cactttctt cattacgaga tgggtgggt tcgcaagct	120

cctggtaaag gtttgagtg ggtttcttct atccgttctt ctggtggcgc tactaagtat 180
 gctgactccg ttaaaggteg cttactatc tctagagaca actctaagaa tactctctac 240
 ttgcagatga acagcttaag ggctgaggac acggccgtgt attactgtgc gaaagagtgc 300
 ccagacgact actttgacta ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc aagcgcctcc 360
 accaaggggc catcggtctt cccgctagca ccc 393

<210> 179

<211> 402

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области тяжелой цепи L11

<400> 179

gaagtcaat tgtagagtc tggtagcggt ctgttcagc ctggtggtc ttacgtctt 60
 tctgcgtg cttccggatt cactttctt tctacgta tgtattgggt tcgccaagct 120
 cctggtaaag gtttgagtg ggtttcttct atctctact ctggtggcta tactggtat 180
 gctgactccg ttaaaggteg cttactatc tctagagaca actctaagaa tactctctac 240
 ttgcagatga acagcttaag ggctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatacc 300
 agcgataatg actactacta catggacgtc tggggcaaag ggaccacggt caccgtctca 360
 agcgcctcca ccaagggccc atcggtcttc ccgctagcac cc 402

<210> 180

<211> 399

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области тяжелой цепи L10

<400> 180

gaagtcaat tgtagagtc tggtagcggt ctgttcagc ctggtggtc ttacgtctt 60
 tctgcgtg cttccggatt cactttctt acttaacctt tggttgggt tcgccaagct 120
 cctggtaaag gtttgagtg ggtttcttgg atcggtcctt ctggtggcgt tactgctat 180
 gctgactccg ttaaaggteg cttactatc tctagagaca actctaagaa tactctctac 240
 ttgcagatga acagcttaag ggctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagacctat 300
 agcagtggtt ggtgggactt cgatctctgg ggccgtggca cccgtgtcac cgtctcaagc 360

gcctccacca agggcccatc ggtcttcccg ctaccaccc 399

<210> 181

<211> 393

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области тяжелой цепи L101

<400> 181

gaagtccaat tgtagagtc tggtagcggt ctgttcagc ctggtggtc ttacgtctt 60

tcctgcgctg ctccggatt cactttctct aagtaaccaga tgaattgggt tcgccaagct 120

cctggtaaag gtttgagtg ggtttctct atctatcct ctggtggca tactgttat 180

gctgactccg ttaaaggctg ctccactatc tctagagaca actctaagaa tactctctac 240

ttgcagatga acagcttaag ggctgaggac acggccgtgt attactgtgc gaggggact 300

acagaggcag tccttgacta ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc aagcgctcc 360

accaagggcc catcggtctt cccgctagca ccc 393

<210> 182

<211> 387

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области тяжелой цепи L107

<400> 182

gaagtccaat tgtagagtc tggtagcggt ctgttcagc ctggtggtc ttacgtctt 60

tcctgcgctg ctccggatt cactttctct atgtacttta tgggtgggt tcgccaagct 120

cctggtaaag gtttgagtg ggtttctct atctatcct ctggtggctt tactcttat 180

gctgactccg ttaaaggctg ctccactatc tctagagaca actctaagaa tactctctac 240

ttgcagatga acagcttaag ggctgaggac actgcagtct actattgtgc gagagatcgg 300

catgcttttg atatctgggg ccaagggaca atggtcaccg tcctaagcgc ctccaccaag 360

ggcccatcgg tcctcccgct agcaacc 387

<210> 183

<211> 396

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность варибельной области тяжелой цепи L103

<400> 183

gaagtccaat tgtagagtc tggggcggt ctgttcagc ctggtggtc ttacgtctt	60
tcttgcgctg ctccggatt cactttctct cagtaacctg tgagtggtg tcgccaagct	120
cctggtaaag gtttgagtg ggtttctgt atctatctt ctggtggct tactgttat	180
gctgactcgc taaaggcgc ctccactatc tctagagaca actctaagaa tactctctac	240
ttgcagatga acagcttaag ggctgaggac acggcctgt attactgtgc gagagcgggg	300
cagtggctgg gggacttga ctactgggac cagggaacct tggcaccgt ctcaagcgcc	360
tccaccaagg gcccatcggt ctcccgcta gcacct	396

<210> 184

<211> 435

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность варибельной области тяжелой цепи L112

<400> 184

gaagtccaat tgtagagtc tggggcggt ctgttcagc ctggtggtc ttacgtctt	60
tcttgcgctg ctccggatt cactttctct cagtacaata tgtttgggt tcgccaagct	120
cctggtaaag gtttgagtg ggtttctgt atctttctt ctggtggcat gactatgat	180
gctgactcgc taaaggcgc ctccactatc tctagagaca actctaagaa tactctctac	240
ttgcagatga acagcttaag ggctgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagaagcg	300
ttacggcctt atttagtgg tggtagctgc tactccgact actactacta cggtagggac	360
gtctggggcc aaggaccac ggtcaccgt tcaagcgct ccaccaagg ccacatggtc	420
ttcccgctag cacc	435

<210> 185

<211> 357

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность варибельной области легкой цепи L102

<400> 185

ttctattctc acagtgcaca gtacgaattg actcagccac cctcagtgtc cgtgtccca	60
--	----

ggacagacag ccagcatcac ctgctctgga gataaattgg gggataaatt tgcctcctgg 120
 tatcagcaga aggcaggcca gtcccctgtg ctggcatctt ttcaagatag gaagcgtctc 180
 tcagggtacc ctgagcgatt ctctggctcc aactctggga acacagccac tctgaccatc 240
 agcggggacc aggctatgga tgaggctgac tattactgtc aggcgtggga caccaacact 300
 gtggctctcg gcggagggac caagctgacc gtcctaggtc agcccaaggc tgcctccc 357

<210> 186

<211> 360

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность варибельной области легкой цепи L109

<400> 186

ttctatttc acagtgcaca agacatccag atgacccagt ctccatctc cctgtctgca 60
 ttgtgggag acagagtcgc catcacttgc cgcgcaagtc agagcatcga cacctattta 120
 aattggtatc agcagaaacc agggaaagcc cctaaactcc tgatctatgc tgcaccaag 180
 ttggaagacg gggctccatc aagattcagt ggcagtggaa ctgggacaga ttactctc 240
 accatcagaa gctcgaacc tgaagatttt ggaacttact actgtcaaca gagttacagt 300
 cccctctca ctctggcgg agggaccaag gtggagatca aacgaactgt ggctgcacca 360

<210> 187

<211> 360

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность варибельной области легкой цепи L106

<400> 187

ttctatttc acagtgcaca agacatccag atgacccagt ctcttccac cctgtctgca 60
 tctgtaggag acagagtcac catcacttgc cgggccagtc agagtattag tagctggtg 120
 gcctggtatc agcagaaacc agggaaagcc cctaactcc tgatctatgc tgcaccagt 180
 ttacgaactg gggctccatc aagattcagg ggcagtggat ctggcacaga ttactctc 240
 accatcagca gcctgcagcc tgaagatttt gcaacgtatt actgtctaca agattacagt 300
 taccctctca ctctggcca ggggaccaag ctggagatca aacgaactgt ggctgcacca 360

<210> 188

<211> 363

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области легкой цепи L105

<400> 188

tctattctc acagtgcaca gagcgtcttg actcagccac cctcgggtgc agtgccccca	60
ggccagacgg ccaggatttc ctgtggggga gacaacattg gaagtaagag tgccactgg	120
taccagcaga ggccaggcca ggcccctgtc ctggctgtgt atgatgatta tgaccggccc	180
tcagggatcc ctgagcgatt ctctggctcc aactctgggg acacggccat cctgaccatc	240
accagggtgc aagtcgggga tgaggccgac tttatgttc aggtgaggga cagccgtact	300
gaggaacggg tgttcggcgg agggaccaag gtgaccgtct taggtcagcc caaggctgcc	360
ccc	363

<210> 189

<211> 360

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области легкой цепи L108

<400> 189

tctattctc acagtgcaca agacatccag atgaccagct ctccatcttc cctgtctgca	60
tctgtaggag acagagtcac catcacttgc caggcgagtc aggacattag ttactatita	120
aattgtatc agcagaagcc agggaaagcc cctaaggctc tgatctacga tgatccaat	180
ttgcaaacag gggccccatc aagggtcagt ggaagtgcgt ctgcgacaga tttactctc	240
accatcagca gcctgcagcc tgaagatatt gcgacatatt actgtcaaca gtctgataat	300
ctccctctca ctctcggcgg agggaccaag gtggagatta aacgaactgt ggctgcacca	360

<210> 190

<211> 360

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области легкой цепи L111

<400> 190

ttctattctc acagtgcaca agacatccag atgaccacgt ctccatcttc tgtgtctgca 60
 cctataggag acagagtcac catcacttgt cgggcgagtc aggagattgc caactactta 120
 gcctggatc agcagaaaacc agggaaagcc cctaagctcc tgatctatga tacatacact 180
 ttgcagactg acgtcccacc gaggttcagc ggcaagtgggt cggggacaga ttctactctc 240
 actatcagca gcctgcagcc tgaagatact gcaacttact ttgtcaaca ggctgacatt 300
 ttcccgtctc ctttcggcgg agggaccaag gtggagatca aacgaactgt ggctgcacca 360

<210> 191

<211> 366

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области легкой цепи L110

<400> 191

ttctattctc acagtgcaca agacatccag atgaccacgt ctccatcttc catgtctgct 60
 tctgtaggag acacagtcac catcacttgt cgggcgagtc agggatttgg caactggta 120
 gcctggatc agcagaaaacc agggaaagcc ccaactctcc tgatctatgc tgcattcagt 180
 ttggaaagtg gggcccacc aaggttcacc ggcagcggca gttcctctgg gatagatttc 240
 actctacca tcagcgacct gcacctgaa gatttggcaa ctactattg tcaacaggct 300
 cagacttcc cgtcacctt cggcggaggg accagggtgg acctcaagg aactgtggct 360
 gcacca 366

<210> 192

<211> 363

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области легкой цепи L101

<400> 192

ttctattctc acagtgcaca agacatccag atgaccacgt ctccatcttc cctgtctgca 60
 tctgtaggag acagagtcac catcacttgc caggcgagtc aggacattag caactattta 120
 aattgtatc agcagaaaacc agggaaagcc cctaagctcc tgatctacga tgcattcaat 180
 ttggaaacag gggcccacc aaggttcagc ggcagtggat ctgggacaga ttctactctc 240
 accatcagca gcctgcagcc tgaagatttt gcaacttact attgtcaaca ggctgacagg 300

ttccctgcgg tcacttccgg cggaggagacc aaggtggaga tcaaacgaac tgtggctgca	360
cca	363
<210> 193	
<211> 354	
<212> ДНК	
<213> Искусственная последовательность	
<220>	
<223> Синтетическая последовательность вариабельной области легкой цепи L107	
<400> 193	
ttctattctc acagtgcaca gagcgaattg actcagccac cctcagtgic cgtgtcccca	60
ggacagacac ccatcatcac ctgctctgga gatcagttgg gtgacaaaca tgttgcttgg	120
tatcaacaga agccaggcca gtccctgtg ctggctatct atctagacat taaggagccc	180
gcagggattt ctgagcgatt ctctggctcc aactctggaa atacagccac tctgaccatc	240
agagggaccc aggctatgga tgaagctgac tattactgtc aggcgtggga catcaagacg	300
gtcttcggcg gggggaccaa gctgaccgtc ctgagtcagc ccaaggctgc cccc	354
<210> 194	
<211> 360	
<212> ДНК	
<213> Искусственная последовательность	
<220>	
<223> Синтетическая последовательность вариабельной области легкой цепи L103	
<400> 194	
ttctattctc acagtgcaca agacatccag atgaccagct ctccatcttc cctgtctgca	60
tctgtaggag acagagtcac catcacttgc cgggcaagtc agagcattag cagctattta	120
aattggatc agcagaaacc agggaaagcc cctaagctcc tgatctatgc tgcaccagt	180
ttgcaaaagt ggggtccatc aaggttcagt ggcaagtgat ctgggacaga tttaactctc	240
accatcagca gtctgcaacc tgaagatttt gcaacttact actgtcaaca gagttacagt	300
accccgctga cgttcggcca agggaccaag gtggaaatca aacgaactgt ggctgcacca	360
<210> 195	
<211> 10	
<212> ПРТ	
<213> Искусственная последовательность	
<220>	

<223> Синтетическая последовательность из антитела L1a.01, которая кодирует VH-CDR1

<400> 195

Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr Trp Ile Gly

1 5 10

<210> 196

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L1a.01, которая кодирует VH-CDR2

<400> 196

Ile Ile Asp Pro Asp Ser Tyr Thr Thr Tyr Ser Pro Ser Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 197

<211> 10

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L1a.01, которая кодирует VH-CDR3

<400> 197

Ala Glu Phe Tyr Trp Gly Ala Tyr Asp Gly

1 5 10

<210> 198

<211> 10

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L1a.02, которая кодирует VH-CDR1

<400> 198

Gly Gly Ser Ile Arg Gly Asn Tyr Trp Ser

1 5 10

<210> 199

<211> 14

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.02, которая кодирует VH-CDR2

<400> 199

Ser Ile Asn Tyr Ser Gly Phe Thr Asn Pro Ser Leu Lys Gly

1 5 10

<210> 200

<211> 8

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.02, которая кодирует VH-CDR3

<400> 200

Val Arg His Trp Tyr Phe Asp Val

1 5

<210> 201

<211> 10

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.03, которая кодирует VH-CDR1

<400> 201

Gly Tyr Thr Phe Asn Gly Phe Asp Met His

1 5 10

<210> 202

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.03, которая кодирует VH-CDR2

<400> 202

Trp Ile Asp Pro Tyr Asn Gly Ser Thr Thr Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 203

<211> 13

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.03, которая кодирует VH-CDR3

<400> 203

Asp Phe Tyr Met Asp Gly His Tyr Tyr Ile Phe Asp Val

1 5 10

<210> 204

<211> 10

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.04, которая кодирует VH-CDR1

<400> 204

Gly Tyr Ser Phe Ser Asn Tyr Tyr Ile His

1 5 10

<210> 205

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.04, которая кодирует VH-CDR2

<400> 205

Ile Ile Asp Pro Gly Asp Ser Phe Thr Ser Tyr Ser Pro Ser Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 206

<211> 11

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.04, которая кодирует VH-CDR3

<400> 206

Asp Leu Ala Trp Ile Asp Tyr Gly Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 207

<211> 10

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.05, которая кодирует VH-CDR1

<400> 207

Gly Phe Thr Phe Thr Ser His Thr Val Ser

1 5 10

<210> 208

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.05, которая кодирует VH-CDR2

<400> 208

Ser Ile Thr Gly Asn Gly Ser Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 209

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.05, которая кодирует VH-CDR3

<400> 209

Phe Tyr Gly Asp Phe Asp Ser

1 5

<210> 210

<211> 10

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.06, которая кодирует VH-CDR1

<400> 210

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Asn Trp Met Ser

1 5 10

<210> 211

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.06, которая кодирует VH-CDR2

<400> 211

Thr Ile Phe Tyr Ser Gly Ser Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 212

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.06, которая кодирует VH-CDR3

<400> 212

Asp Leu Pro Met Lys Gly Phe Ile Gln Gln Arg Tyr Gly Phe Asp Asp

1 5 10 15

Val

<210> 213

<211> 10

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.07, которая кодирует VH-CDR1

<400> 213

Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr Ala Ile Ser

1 5 10

<210> 214

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.07, которая кодирует VH-CDR2

<400> 214

Thr Ile Trp Gly Ser Gly Ser Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 215

<211> 11

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.07, которая кодирует VH-CDR3

<400> 215

Glu Tyr Trp Tyr Tyr Asp Gln Phe Thr Ala Val

1 5 10

<210> 216

<211> 12

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.08, которая кодирует VH-CDR1

<400> 216

Gly Asp Ser Val Ser Ser Asn Ser Ala Ala Trp Ser

1 5 10

<210> 217

<211> 18

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.08, которая кодирует VH-CDR2

<400> 217

Arg Ile Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn Asp Tyr Ala Val Ser Val

1 5 10 15

Lys Ser

<210> 218

<211> 10

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.08, которая кодирует VH-CDR3

<400> 218

Glu Val Tyr Ser Ala Gly Ile Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 219

<211> 10

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.09, которая кодирует VH-CDR1

<400> 219

Gly Tyr Ser Phe Thr Asn His Trp Ile Gly

1 5 10

<210> 220

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.09, которая кодирует VH-CDR2

<400> 220

Ile Ile Asp Pro Ser Asp Ser Asp Thr Asn Tyr Ser Pro Ser Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 221

<211> 11

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.09, которая кодирует VH-CDR3

<400> 221

Gly Phe Tyr Gly Ile Ala Asp Thr Phe Asp Val

1 5 10

<210> 222

<211> 10

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.10, которая кодирует VH-CDR1

<400> 222

Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr Trp Ile Ala

1 5 10

<210> 223

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.10, которая кодирует VH-CDR2

<400> 223

Met Ile Tyr Pro Asp Asp Ser Asn Thr Asn Tyr Ser Pro Ser Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 224

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.10, которая кодирует VH-CDR3

<400> 224

Thr Asn Tyr Leu Gly Phe Tyr Asp Ser

1 5

<210> 225

<211> 10

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.II, которая кодирует VH-CDR1

<400> 225

Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Gly Ile Ser

1 5 10

<210> 226

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.II, которая кодирует VH-CDR2

<400> 226

Asn Ile Leu Tyr Asp Gly Ser Glu Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 227

<211> 11

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.11, которая кодирует VH-CDR3

<400> 227

Gly Tyr Pro Thr Asp Asp Tyr Ser Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 228

<211> 12

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.12, которая кодирует VH-CDR1

<400> 228

Gly Asp Ser Val Ser Asp Asn Ser Ala Ala Trp Gly

1 5 10

<210> 229

<211> 18

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.12, которая кодирует VH-CDR2

<400> 229

Arg Ile Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn Asp Tyr Ala Val Ser Val

1 5 10 15

Lys Ser

<210> 230

<211> 16

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.12, которая кодирует VH-CDR3

<400> 230

Gly Arg His Glu Tyr Gly Gly Leu Gly Tyr Ala Glu Ala Met Asp His

1	5	10	15
---	---	----	----

<210> 231

<211> 10

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.13, которая кодирует VH-CDR1

<400> 231

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser

1	5	10
---	---	----

<210> 232

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.13, которая кодирует VH-CDR2

<400> 232

Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1	5	10	15
---	---	----	----

Gly

<210> 233

<211> 10

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.13, которая кодирует VH-CDR3

<400> 233

His Tyr Thr Tyr Met His Phe Glu Asp Tyr

1	5	10
---	---	----

<210> 234

<211> 11

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.01, которая кодирует VL-CDR1

<400> 234

Ser Gly Asp Ser Leu Pro Ser Lys Phe Val His

1 5 10

<210> 235

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.01, которая кодирует VL-CDR2

<400> 235

Arg Asp Asn Asn Arg Pro Ser

1 5

<210> 236

<211> 8

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.01, которая кодирует VL-CDR3

<400> 236

Ser Ser Tyr Asp Ala Leu Thr Asp

1 5

<210> 237

<211> 12

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.02, которая кодирует VL-CDR1

<400> 237

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Thr Asn Ser Tyr Leu Gly

1 5 10

<210> 238

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.02, которая кодирует VL-CDR2

<400> 238

Asp Ala Ser Ser Arg Ala Thr

1 5

<210> 239

<211> 8

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.02, которая кодирует VL-CDR3

<400> 239

Gln Gln Ala Ser Asp Ala Pro Glu

1 5

<210> 240

<211> 11

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.03, которая кодирует VL-CDR1

<400> 240

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Asn Phe Trp Leu Asn

1 5 10

<210> 241

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.03, которая кодирует VL-CDR2

<400> 241

Ala Gly Ser Asn Leu Gln Ser

1 5

<210> 242

<211> 8

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.03, которая кодирует VL-CDR3

<400> 242

Met Gln Asp Ser Asp Phe Pro Phe

1 5

<210> 243

<211> 14

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.04, которая кодирует VL-CDR1

<400> 243

Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly Tyr Asp Val Ser

1 5 10

<210> 244

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.04, которая кодирует VL-CDR2

<400> 244

Arg Asn Asn Asn Arg Pro Ser

1 5

<210> 245

<211> 8

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.04, которая кодирует VL-CDR3

<400> 245

Gln Thr Tyr Asp Asn Ser Thr Asp

1 5

<210> 246

<211> 11

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.05, которая кодирует VL-CDR1

<400> 246

Ser Gly Asp Asn Ile Arg Ser Tyr Tyr Val His

1 5 10

<210> 247

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.05, которая кодирует VL-CDR2

<400> 247

Glu Asp Ser Asn Arg Pro Ser

1 5

<210> 248

<211> 10

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.05, которая кодирует VL-CDR3

<400> 248

Gln Ser Tyr Asp Ser Ala Ile Leu Leu His

1 5 10

<210> 249

<211> 16

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.06, которая кодирует VL-CDR1

<400> 249

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Leu Arg Thr Gly Tyr Thr Tyr Leu Asn

1 5 10 15

<210> 250

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.06, которая кодирует VL-CDR2

<400> 250

Leu Val Ser Asn Arg Ala Ser

1 5

<210> 251

<211> 8

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.06, которая кодирует VL-CDR3

<400> 251

Gln Gln Tyr Tyr Gly Met Pro Leu

1 5

<210> 252

<211> 12

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.07, которая кодирует VL-CDR1

<400> 252

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Tyr Gln Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 253

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.07, которая кодирует VL-CDR2

<400> 253

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr

1 5

<210> 254

<211> 8

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.07, которая кодирует VL-CDR3

<400> 254

Gln Gln Tyr Gly Ser Val Pro Arg

1 5

<210> 255

<211> 11

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.08, которая кодирует VL-CDR1

<400> 255

Ser Gly Asp Ser Leu Gly Ser Tyr Tyr Val His

1 5 10

<210> 256

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.08, которая кодирует VL-CDR2

<400> 256

Asp Asp Asn Asp Arg Pro Ser

1 5

<210> 257

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.08, которая кодирует VL-CDR3

<400> 257

Ser Ala Tyr Asp Tyr Ser Ala Arg Thr

1 5

<210> 258

<211> 11

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.09, которая кодирует VL-CDR1

<400> 258

Ser Gly Asp Asn Leu Gly Ser Lys Tyr Val Ser

1 5 10

<210> 259

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.09, которая кодирует VL-CDR2

<400> 259

Asp Asp Asp Asp Arg Pro Ser

1 5

<210> 260

<211> 10

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.09, которая кодирует VL-CDR3

<400> 260

Ser Ser Tyr Asp Phe Leu Asn Ile Gly Leu

1 5 10

<210> 261

<211> 11

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.10, которая кодирует VL-CDR1

<400> 261

Ser Gly Asp Ser Leu Gly Lys Lys Ser Val His

1 5 10

<210> 262

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.10, которая кодирует VL-CDR2

<400> 262

Glu Asp Ser Glu Arg Pro Ser

1 5

<210> 263

<211> 8

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.10, которая кодирует VL-CDR3

<400> 263

Ser Ser Tyr Thr Asn Ser Val Asp

1 5

<210> 264

<211> 11

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.II, которая кодирует VL-CDR1

<400> 264

Ser Gly Asp Asn Leu Gly Lys Lys Tyr Val Gly

1 5 10

<210> 265

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.II, которая кодирует VL-CDR2

<400> 265

Asp Asp Asp Asn Arg Pro Ser

1 5

<210> 266

<211> 8

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.II, которая кодирует VL-CDR3

<400> 266

Gln Ser Tyr Asp Asp Thr Ser Ile

1 5

<210> 267

<211> 11

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.12, которая кодирует VL-CDR1

<400> 267

Ser Gly Asp Ser Leu Gly Asn Lys Tyr Val His

1 5 10

<210> 268

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.12, которая кодирует VL-CDR2

<400> 268

Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser

1 5

<210> 269

<211> 8

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.12, которая кодирует VL-CDR3

<400> 269

Gln Thr Trp Asp Tyr Val Gly Tyr

1 5

<210> 270

<211> 14

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla.13, которая кодирует VL-CDR1

<400> 270

Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser

1 5 10

<210> 271

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla 13, которая кодирует VL-CDR2

<400> 271

Asp Val Ser Asn Arg Pro Ser

1 5

<210> 272

<211> 10

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Lla 13, которая кодирует VL-CDR3

<400> 272

Gln Ser Tyr Asp Arg Tyr Arg Leu Lys Asn

1 5 10

<210> 273

<211> 119

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области легкой цепи L102

<400> 273

Phe Tyr Ser His Ser Ala Gln Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val

1 5 10 15

Ser Val Ser Pro Gly Gln Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys

20 25 30

Leu Gly Asp Lys Phe Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Ala Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Val Leu Val Ile Phe Gln Asp Arg Lys Arg Leu Ser Gly Ile Pro

50 55 60

036660

Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile

65 70 75 80

Ser Gly Thr Gln Ala Met Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp

85 90 95

Asp Thr Asn Thr Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105 110

Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro 115

<210> 274

<211> 120

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области легкой цепи L109

<400> 274

Phe Tyr Ser His Ser Ala Gln Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser

1 5 10 15

Ser Leu Ser Ala Phe Val Gly Asp Arg Val Ala Ile Thr Cys Arg Ala

20 25 30

Ser Gln Ser Ile Asp Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly

35 40 45

Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Lys Leu Glu Asp Gly

50 55 60

Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Gly Thr Asp Phe Thr Leu

65 70 75 80

Thr Ile Arg Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Gly Thr Tyr Tyr Cys Gln

85 90 95

Gln Ser Tyr Ser Pro Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu

100 105 110

Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro

115 120

<210> 275

<211> 120

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области легкой цепи L106

<400> 275

Phe Tyr Ser His Ser Ala Gln Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser

1 5 10 15

Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala

20 25 30

Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly

35 40 45

Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Arg Thr Gly

50 55 60

Val Pro Ser Arg Phe Arg Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu

65 70 75 80

Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu

85 90 95

Gln Asp Tyr Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu

100 105 110

Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro

115 120

<210> 276

<211> 121

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области легкой цепи L105

<400> 276

Phe Tyr Ser His Ser Ala Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val

1 5 10 15

Ser Val Ala Pro Gly Gln Thr Ala Arg Ile Ser Cys Gly Gly Asp Asn

20 25 30

Ile Gly Ser Lys Ser Val His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ala

35 40 45

Pro Val Leu Val Val Tyr Asp Asp Tyr Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro

50 55 60

Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asp Thr Ala Ile Leu Thr Ile

65 70 75 80

Thr Arg Val Glu Val Gly Asp Glu Ala Asp Phe Tyr Cys Gln Val Arg

85 90 95

Asp Ser Arg Thr Glu Glu Arg Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr

100 105 110

Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro

115 120

<210> 277

<211> 120

<212> PPT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области легкой цепи L₁₀₈

<400> 277

Phe Tyr Ser His Ser Ala Gln Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser

1 5 10 15

Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala

20 25 30

Ser Gln Asp Ile Ser Tyr Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly

35 40 45

Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile Tyr Asp Val Ser Asn Leu Gln Thr Gly

50 55 60

Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Ala Ser Ala Thr Asp Phe Thr Leu

65 70 75 80

Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln

85 90 95

Gln Ser Asp Asn Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu

100 105 110
 Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 115 120
 <210> 278
 <211> 120
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Синтетическая последовательность вариабельной области легкой цепи L11
 <400> 278
 Phe Tyr Ser His Ser Ala Gln Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser
 1 5 10 15
 Ser Val Ser Ala Pro Ile Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala
 20 25 30
 Ser Gln Glu Ile Ala Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
 35 40 45
 Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Thr Tyr Thr Leu Gln Thr Asp
 50 55 60
 Val Pro Pro Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
 65 70 75 80
 Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Gln
 85 90 95
 Gln Ala Asp Ile Phe Pro Leu Ser Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu
 100 105 110
 Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 115 120
 <210> 279
 <211> 122
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Синтетическая последовательность вариабельной области легкой цепи L10

<400> 279

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

<210> 280

<211> 121

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области легкой цепи L101

<400> 280

Phe Tyr Ser His Ser Ala Gln Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser
 1 5 10 15
 Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala
 20 25 30
 Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
 35 40 45
 Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly
 50 55 60

036660

Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu

65 70 75 80

Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln

85 90 95

Gln Ala Asp Arg Phe Pro Ala Val Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val

100 105 110

Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro

115 120

<210> 281

<211> 118

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области легкой цепи L107

<400> 281

Phe Tyr Ser His Ser Ala Gln Ser Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val

1 5 10 15

Ser Val Ser Pro Gly Gln Thr Ala Ile Ile Thr Cys Ser Gly Asp Gln

20 25 30

Leu Gly Asp Lys His Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Val Leu Val Ile Tyr Leu Asp Ile Lys Arg Pro Ala Gly Ile Ser

50 55 60

Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile

65 70 75 80

Arg Gly Thr Gln Ala Met Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp

85 90 95

Asp Ile Lys Thr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser

100 105 110

Gln Pro Lys Ala Ala Pro

115

<210> 282

<211> 120

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области легкой цепи L103

<400> 282

Phe Tyr Ser His Ser Ala Gln Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser

1 5 10 15

Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala

20 25 30

Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly

35 40 45

Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly

50 55 60

Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu

65 70 75 80

Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln

85 90 95

Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu

100 105 110

Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro

115 120

<210> 283

<211> 106

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области легкой цепи 1A7

<400> 283

Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met

036660

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

<210> 284

<211> 108

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области легкой цепи 2F3

<400> 284

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

<210> 285

<211> 114

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области легкой цепи 3P1D10.2C3

<400> 285

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val Thr Ala Gly

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser

20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65 70 75 80

Ile Asn Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn

85 90 95

Asp Tyr Ser Tyr Pro Leu Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu

100 105 110

Ile Arg

<210> 286

<211> 114

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области легкой цепи 3P1E11.3B7

<400> 286

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val Thr Ala Gly

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser

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

Ile Arg

<210> 287

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (3).. (5)

<223> Хаа может представлять собой лизин, аргинин, гистидин, глутамин или аспарагин

<400> 287

Ile Thr Хаа Хаа Хаа

1 5

<210> 288

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (3).. (5)

<223> Хаа может представлять собой лизин, аргинин, гистидин, глутамин или аспарагин

<400> 288

Ala Cys Хаа Хаа Хаа

1 5

<210> 289

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (3).. (5)

<223> Хаа может представлять собой лизин, аргинин, гистидин, глутамин или аспарагин

<400> 289

Val Cys Хаа Хаа Хаа

1 5

<210> 290

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (3) .. (5)

<223> Хаа может представлять собой лизин, аргинин, гистидин, глутамин или аспарагин

<400> 290

Ser Pro Хаа Хаа Хаа

1 5

<210> 291

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<400> 291

Ser Pro Arg Lys His

1 5

<210> 292

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<400> 292

Ser Pro Arg Lys Lys

1 5

<210> 293

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<400> 293

Ser Pro Arg Lys Arg

1 5

<210> 294

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<400> 294

Ser Pro Lys Lys His

1 5

<210> 295

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<400> 295

Ser Pro His Lys His

1 5

<210> 296

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<400> 296

Ser Pro Arg Arg His

1 5

<210> 297

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<400> 297

Ser Pro Arg His His

1 5

<210> 298

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<400> 298

Ser Pro Arg Arg Arg

1 5

<210> 299

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<400> 299

Ser Pro His His His

1 5

<210> 300

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<400> 300

Ser Pro Lys Lys Lys

1 5

<210> 301

<211> 6

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<400> 301

Leu Ser Pro Arg Lys His

1 5

<210> 302

<211> 6

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<400> 302

Leu Ser Pro Arg Lys Lys

1 5

<210> 303

<211> 6

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<400> 303

Leu Ser Pro Arg Lys Arg

1 5

<210> 304

<211> 6

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<400> 304

Leu Ser Pro Lys Lys His

1 5

<210> 305

<211> 6

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<400> 305

Leu Ser Pro His Lys His

1 5

<210> 306

<211> 6

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<400> 306

Leu Ser Pro Arg Arg His

1 5

<210> 307

<211> 6

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<400> 307

Leu Ser Pro Arg His His

1 5

<210> 308

<211> 6

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<400> 308

Leu Ser Pro Arg Arg Arg

1 5

<210> 309

<211> 6

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<400> 309

Leu Ser Pro His His His

1 5

<210> 310

<211> 6

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<400> 310

Leu Ser Pro Lys Lys Lys

1 5

<210> 311

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<400> 311

Trp Leu Ser Pro Arg Lys His

1 5

<210> 312

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<400> 312

Trp Leu Ser Pro Arg Lys Lys

1 5

<210> 313

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<400> 313

Trp Leu Ser Pro Arg Lys Arg

1 5

<210> 314

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<400> 314

Trp Leu Ser Pro Lys Lys His

1 5

<210> 315

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<400> 315

Trp Leu Ser Pro His Lys His

1 5

<210> 316

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<400> 316

Trp Leu Ser Pro Arg Arg His

1 5

<210> 317

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<400> 317

Trp Leu Ser Pro Arg His His

1 5

<210> 318

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<400> 318

Trp Leu Ser Pro Arg Arg Arg

1 5

<210> 319

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<400> 319

Trp Leu Ser Pro His His His

1 5

<210> 320

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<400> 320

Trp Leu Ser Pro Lys Lys Lys

1 5

<210> 321

<211> 6

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<400> 321

Ile Thr Pro Lys Arg Arg

1 5

<210> 322

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<400> 322

Ala Cys His His Lys

1 5

<210> 323

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<400> 323

Val Cys His His Lys

1 5

<210> 324

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (1)..(2)

<223> Хаа может представлять собой любую аминокислоту

<400> 324

Хаа Хаа Arg Lys His

1 5

<210> 325

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (1) . . (2)

<223> Хаа может представлять собой любую аминокислоту

<400> 325

Хаа Хаа Arg Arg Arg

1 5

<210> 326

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (1)..(2)

<223> Хаа может представлять собой любую аминокислоту

<400> 326

Хаа Хаа Lys Lys Lys

1 5

<210> 327

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (1)..(2)

<223> Хаа может представлять собой любую аминокислоту

<400> 327

Хаа Хаа His His His

1 5

<210> 328

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (1) . . (2)

<223> Хаа может представлять собой любую аминокислоту

<400> 328

Хаа Хаа Arg Lys Lys

1 5

<210> 329

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (1)..(2)

<223> Хаа может представлять собой любую аминокислоту

<400> 329

Хаа Хаа Arg Lys Arg

1 5

<210> 330

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (1)..(2)

<223> Хаа может представлять собой любую аминокислоту

<400> 330

Хаа Хаа Lys Lys His

1 5

<210> 331

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (1)..(2)

<223> Хаа может представлять собой любую аминокислоту

<400> 331

Хаа Хаа His Lys His

1 5

<210> 332

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (1)..(2)

<223> Хаа может представлять собой любую аминокислоту

<400> 332

Хаа Хаа Arg Arg His

1 5

<210> 333

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (1)..(2)

<223> Хаа может представлять собой любую аминокислоту

<400> 333

Хаа Хаа Arg His His

1 5

<210> 334

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (3) . . (3)

<223> Хаа может представлять собой лизин, аргинин, гистидин, глутамин или аспарагин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (4) . . (4)

<223> Хаа может представлять собой любую аминокислоту

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (5) . . (5)

<223> Хаа может представлять собой лизин, аргинин, гистидин, глутамин или аспарагин

<400> 334

Pe Thr Хаа Хаа Хаа

1

5

<210> 335

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (3) . . (3)

<223> Хаа может представлять собой лизин, аргинин, гистидин, глутамин или аспарагин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (4) . . (4)

<223> Хаа может представлять собой любую аминокислоту

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (5)..(5)

<223> Хаа может представлять собой лизин, аргинин, гистидин, глутамин или аспарагин

<400> 335

Ala Cys Xaa Xaa Xaa

1 5

<210> 336

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (3) .. (3)

<223> Хаа может представлять собой лизин, аргинин, гистидин, глутамин или аспарагин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (4)..(4)

<223> Хаа может представлять собой любую аминокислоту

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (5) .. (5)

<223> Хаа может представлять собой лизин, аргинин, гистидин, глутамин или аспарагин

<400> 336

Val Cys Xaa Xaa Xaa

1 5

<210> 337

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (3)..(3)

<223> Хаа может представлять собой лизин, аргинин, гистидин, глутамин или аспарагин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (4)..(4)

<223> Хаа может представлять собой любую аминокислоту

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (5)..(5)

<223> Хаа может представлять собой лизин, аргинин, гистидин, глутамин или аспарагин

<400> 337

Ser Pro Хаа Хаа Хаа

1 5

<210> 338

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<400> 338

Ser Pro Arg Leu His

1 5

<210> 339

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<400> 339

Arg Arg Ala Arg Ile Arg Asp Arg Lys

1 5

<210> 340

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<400> 340

Lys Lys Val Lys Val Lys Glu Lys Arg

1 5

<210> 341

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<400> 341

Arg Arg Leu Arg Leu Arg Asp Arg Lys

1 5

<210> 342

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<400> 342

Arg Arg Gly Arg Gly Arg Asp Arg Lys

1 5

<210> 343

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический фрагмент пептида Sp35

<400> 343

Arg Arg Ile Arg Ala Arg Asp Arg Lys

1 5

<210> 344

<211> 19

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический прямой праймер, используемый для того, чтобы показать экспрессию Sp35

<400> 344

agagacatgc gattggtga

19

<210> 345

<211> 21

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический обратный праймер, используемый для того, чтобы показать экспрессию Sp35

<400> 345

agagatgtag acgaggtcat t

21

<210> 346

<211> 55

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический нуклеотид РНК₁ Sp35

<400> 346

tgatcgtcat cctgctagac ttcaagagag tctagcagga tgacgatctt tticc

55

<210> 347

<211> 59

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический нуклеотид РНК₁ Sp35

<400> 347

tcgagaaaa agatcgatcat cctgctagac tctcttgaag tctagcagga tgacgatca	59
<210> 348	
<211> 59	
<212> ДНК	
<213> Искусственная последовательность	
<220>	
<223> Синтетический нуклеотид РНК1 Sp35	
<400> 348	
tgatcctcat ccttcatac ttcaagagag tgtagcagga tgacgatctt ttcttcga	59
<210> 349	
<211> 59	
<212> ДНК	
<213> Искусственная последовательность	
<220>	
<223> Синтетический нуклеотид РНК1 Sp35	
<400> 349	
tcgagaaaa agatcgatcat cctgctagac tctcttgaag tatagaagga tgacgatca	59
<210> 350	
<211> 41	
<212> ДНК	
<213> Искусственная последовательность	
<220>	
<223> Синтетический праймер, используемый для амплификации Sp35 полной длины	
<400> 350	
gaggatctcg acgcgccgcg atggagacag acacactct g	41
<210> 351	
<211> 41	
<212> ДНК	
<213> Искусственная последовательность	
<220>	
<223> Синтетический праймер, используемый для амплификации Sp35 полной длины	
<400> 351	
ggggcggaat tggatcctca cagatcctct tctgagatga g	41

<210> 352

<211> 41

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический праймер, используемый для амплификации доминантного отрицательного Sp35

<400> 352

gaggatctcg acgcggccgc atggagacag acacactct g

41

<210> 353

<211> 42

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический праймер, используемый для амплификации доминантного отрицательного Sp35

<400> 353

gatacggatc ctacgccttt gccccggctc catagaaaca gc

42

<210> 354

<211> 37

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический праймер, используемый для получения частичной кодирующей последовательности человеческого Sp35

<400> 354

cagcaggtcg acgcggccgc atgctggcgg ggggcgt

37

<210> 355

<211> 59

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический праймер, используемый для получения частичной кодирующей последовательности человеческого Sp35

<400> 355

cagcaggctgc acctcgcccc gctggttggc caaccagccg ggcgaggctg acctcgagg

59

<210> 356

<211> 39

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический праймер, используемый для определения

последовательности легкой цепи P1E11.3B7

<400> 356

ggggatatcc accatggatt ttcaggtgca gatattcag

39

<210> 357

<211> 40

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический праймер, используемый для определения последовательности легкой цепи P1E11.3B7

<400> 357

ggggatatcc accatgragt cacakacyca ggtcttyrta

40

<210> 358

<211> 37

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический праймер, используемый для определения последовательности легкой цепи P1E11.3B7

<400> 358

ggggatatcc accatgaagt tgcctgtag gctgttg

37

<210> 359

<211> 40

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический праймер, используемый для определения последовательности легкой цепи P1E11.3B7

<400> 359

ggggatatcc accatgaggk ccccwgetca gtyctkgga

40

<210> 360

<211> 39

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический праймер, используемый для определения последовательности тяжелой цепи P1E11.3B7

<400> 360

ggggatatcc accatggrat gsagctgkgt matsctctt

39

<210> 361

<211> 39

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический праймер, используемый для определения последовательности тяжелой цепи P1E11.3B7

<400> 361

ggggatatcc accatgract tcgggytgag ctkggtttt

39

<210> 362

<211> 38

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический праймер, используемый для определения последовательности тяжелой цепи P1E11.3B7

<400> 362

ggggatatcc accatggctg tcttggggct gctcttct

38

<210> 363

<211> 39

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический праймер, используемый для определения последовательности тяжелой цепи P1E11.3B7

<400> 363

aggctctagaa yctccacaca caggrtccag tggatagac	39
<210> 364	
<211> 22	
<212> ДНК	
<213> Искусственная последовательность	
<220>	
<223> Синтетический универсальный праймер тяжелой цепи	
<400> 364	
aggtsmarct gcagsagtcw gg	22
<210> 365	
<211> 34	
<212> ДНК	
<213> Искусственная последовательность	
<220>	
<223> Синтетический универсальный праймер тяжелой цепи	
<400> 365	
tgaggagacg gtgaccgtgg tcccttgccc ccag	34
<210> 366	
<211> 28	
<212> ДНК	
<213> Искусственная последовательность	
<220>	
<223> Синтетический праймер вырожденной сигнальной последовательности	
<220>	
<221> нестандартная особенность	
<222> (21)..(21)	
<223> n может представлять собой любой нуклеотид	
<220>	
<221> нестандартная особенность	
<222> (24) .. (24)	
<223> n может представлять собой любой нуклеотид	
<400> 366	
atggartgya aytggathct nccnttya	28

<210> 367	
<211> 39	
<212> ДНК	
<213> Искусственная последовательность	
<220>	
<223> Синтетический праймер константного домена	
<400> 367	
aggtctagaa yctccacaca caggtccag tggatagac	39
<210> 368	
<211> 66	
<212> ДНК	
<213> Искусственная последовательность	
<220>	
<223> Синтетический праймер, используемый для амплификации крысиного MOG	
<400> 368	
ggggtatctc tcgagaaaag agagcatcat catcatcatc atatgggaca gttcagagtg	60
ataggg	66
<210> 369	
<211> 40	
<212> ДНК	
<213> Искусственная последовательность	
<220>	
<223> Синтетический праймер, используемый для амплификации крысиного MOG	
<400> 369	
ttcgcggccg ctattagcca ggggtgatcc agtagaagg	40
<210> 370	
<211> 354	
<212> ДНК	
<213> Искусственная последовательность	
<220>	
<223> Синтетическая последовательность переменной области тяжелой цепи L13	
<400> 370	
gaagtcaat tggtagagtc tggtagcggt ctgttcagc ctggtgggtc ttacgtctt	60

cttgcgctg cttccggatt cactttctct cattacaga tgtattgggt tcgccaagct 120
 cctggtaaag gtttggagtg gggttctcgt atcgtttctt ctggtggctt tactaagtat 180
 gctgactccg ttaaaggteg cttcactatc tctagagaca actctaagaa tactctctac 240
 ttgcagatga acagcttaag ggctgaggac acggccgtgt attactgtgc aacagagggt 300
 gataatgatg cttttgatat ctggggccaa gggaccacgg tcaccgtctc aagc 354

<210> 371

<211> 324

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области легкой цепи L13

<400> 371

gacatccaga tgaccagtc tccagccacc ctgtcttftg ctccagggga aagagccacc 60
 ctctctgca ggccagtcga gagtgttagc agctacttag cctggtacca acagaaacct 120
 ggccaggtgc ccaggctcct catctatgat gcatccaaca ggccactgg catccagcc 180
 aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttcacttca ccatcagcag cctagagcct 240
 gaagatttg cagtttatta ctgtcagcag cgtagcaact ggccgatgta cacttttggc 300
 caggggacca agctggagat caaa 324

<210> 372

<211> 118

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области тяжелой цепи L13

<400> 372

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser His Tyr

20 25 30

Glu Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Arg Ile Val Ser Ser Gly Gly Phe Thr Lys Tyr Ala Asp Ser Val

036660

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

115

<210> 373

<211> 108

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области легкой цепи L13

<400> 373

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

<210> 374

<211> 354

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области тяжелой цепи L132

<400> 374

gaagtcaat tgtiagagtc tgggtggcggc cttgttcagc ctggtgggtc ttacgtctt	60
tcttgcgtg ctcccgatt cactttctct gcttacatga tgcagtgggt tcgccaagct	120
ccgtgtaaag gtttgagtg ggtttctct atctctctt ctggtggcaa tactaagtat	180
gctgactcgc ttaagggtcg ctccactatc tctagagaca actctaagaa tactctctac	240
ttgcagatga acagcttaag ggctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggagat	300
tatggatact ggttcgaccc ctggggccag ggcaccctgg tcaccgtctc aagc	354

<210> 375

<211> 321

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области легкой цепи L132

<400> 375

gacatccaga tgaccagtc tccagactcc ctgtctgcat ctgttgaga cagagtcacc	60
atcacttccc aggcgagtc agacattagc tactatttaa attggtatca gcagaaacca	120
gggatggccc ctaaactct catctacgat gccttcattt tggaaggagg ggccccatca	180
cgttcagtg ggagcggctc tgggacagat ttttttca ccatcagcaa tctacagcct	240
gaggatattg caactattt ctgtcaacag tctgatcaac tgcccgtgac cttcggccaa	300
gggaccaagg tggaaatcag a	321

<210> 376

<211> 118

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области тяжелой цепи L132

<400> 376

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1	5	10	15
---	---	----	----

036660

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

<210> 377

<211> 107

<212> ППТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области легкой цепи L132

<400> 377

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

85	90	95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Arg		
100	105	
<210> 378		
<211> 357		
<212> ДНК		
<213> Искусственная последовательность		
<220>		
<223> Синтетическая последовательность вариабельной области тяжелой цепи L133		
<400> 378		
gaagttcaat tgtagagtc tggtagcggt ctgttcagc ctggtggtc ttacgtctt	60	
tctgcgctg ctccggatt cactttctct attacccta tgtttgggt tcccaagct	120	
cctgtaaaag gtttgagtg ggtttcttg atcggtcctt ctggtggcat tactaagtat	180	
gctgactccg ttaaaggctg ctccactatc tctagagaca actctaagaa tactctctac	240	
ttgcagatga acagcttaag ggctgaggac acagccacat attactgtgc gagagagggg	300	
cataacgact ggtacttcca tctctggggc cgtggcaccc tggtcaccgt ctcaagc	357	
<210> 379		
<211> 321		
<212> ДНК		
<213> Искусственная последовательность		
<220>		
<223> Синтетическая последовательность вариабельной области легкой цепи L133		
<400> 379		
gacatccaga tgaccagtc tccaggcacc ctgtcttgt ctcaggggga aagagccacc	60	
ctctctgca gggccagtc gagtgtagc agctacttag cctggtacca acagaaacct	120	
ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gcatccaaca ggccactgg catccagacc	180	
aggttcagtg gcagtggttc tgggacagag ttactctca ccatcagcag cctgcagtct	240	
gaggattttg cagtttatta ctgtcagcag tatgataagt ggccgctcac ttccggcgga	300	
gggaccaagg tggagatcaa a	321	
<210> 380		
<211> 119		
<212> ПРТ		
<213> Искусственная последовательность		

<220>

<223> Синтетический последовательность вариабельной области тяжелой цепи L133

<400> 380

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ile Tyr

20 25 30

Pro Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Trp Ile Gly Pro Ser Gly Gly Ile Thr Lys Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Glu Gly His Asn Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 381

<211> 107

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области легкой цепи L133

<400> 381

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Lys Trp Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 382

<211> 357

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области тяжелой цепи L134

<400> 382

gaagtcaat tgttagagtc tggtagcggt cttgttcagc ctggtgggtc ttacgtctt 60

tcttgcgctg ctcccgatt cactttctct aattacgaga tgtattgggt tcgccaagct 120

cctggtaaag gtttgagtg ggtttctggt atctattctt ctggtggcat tactgtttat 180

gctgactcgg ttaaaggcgc cttcactatc tctagagaca actctaagaa tactctctac 240

ttgcagatga acagcttaag ggctgaggac acggccgtgt attactgtgc tagggcagcc 300

atcctcgact ggtacttcca tctctggggc cgtggcaccc tggcacccgt ctcaagc 357

<210> 383

<211> 321

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области легкой цепи L134

<400> 383

gacatccaga tgaccagtc tccatccctc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc atcgagtcga ggacattagc aactatttaa gttggtatca gcagaaacca 120

ggtaaagccc ctaaactcct gatctacgat gtttcaatt tggagacagg agtcccatcg 180

aggttcagtg gaagtggatc tggcacagat ttacattca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagatttg caacataata ctgtcagcac tatgataatc tccattcac ttteggccct 300

gggaccagag tggcgatcag a 321

<210> 384

<211> 119

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области тяжелой цепи L134

<400> 384

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr

20 25 30

Glu Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Gly Ile Tyr Ser Ser Gly Gly Ile Thr Val Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Ala Ala Ile Leu Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 385

<211> 107

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области легкой цепи L134

<400> 385

036660

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr

20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Asp Ala Phe Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Asp Asn Leu Pro Phe

85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Arg Val Ala Ile Arg

100 105

<210> 386

<211> 11

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L113, которая кодирует VL-CDR1

<400> 386

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 387

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L113, которая кодирует VL-CDR2

<400> 387

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr

1 5

<210> 388

<211> 10

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L113, которая кодирует VL-CDR3

<400> 388

Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Met Tyr Thr

1 5 10

<210> 389

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L113, которая кодирует VH-CDR1

<400> 389

His Tyr Glu Met Tyr

1 5

<210> 390

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L113, которая кодирует VH-CDR2

<400> 390

Arg Ile Val Ser Ser Gly Gly Phe Thr Lys Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 391

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L113, которая кодирует VH-CDR3

<400> 391

Glu Gly Asp Asn Asp Ala Phe Asp Ile

1 5

<210> 392

<211> 11

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L132, которая кодирует VL-CDR1

<400> 392

Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Tyr Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 393

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L132, которая кодирует VL-CDR2

<400> 393

Asp Ala Phe Ile Leu Glu Gly

1 5

<210> 394

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L132, которая кодирует VL-CDR3

<400> 394

Gln Gln Ser Asp Gln Leu Pro Val Thr

1 5

<210> 395

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L132, которая кодирует VH-CDR1

<400> 395

Ala Tyr Met Met Gln

1 5

<210> 396

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L132, которая кодирует VH-CDR2

<400> 396

Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gly Asn Thr Lys Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 397

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L132, которая кодирует VH-CDR3

<400> 397

Gly Asp Tyr Gly Tyr Trp Phe Asp Pro

1 5

<210> 398

<211> 11

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L133, которая кодирует VL-CDR1

<400> 398

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 399

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L133, которая кодирует VL-CDR2

<400> 399

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr

1 5

<210> 400

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L133, которая кодирует VL-CDR3

<400> 400

Gln Gln Tyr Asp Lys Trp Pro Leu Thr

1 5

<210> 401

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L133, которая кодирует VH-CDR1

<400> 401

Ile Tyr Pro Met Phe

1 5

<210> 402

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L133, которая кодирует VH-CDR2

<400> 402

Trp Ile Gly Pro Ser Gly Gly Ile Thr Lys Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 403

<211> 10

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L133, которая кодирует VH-CDR3

<400> 403

Glu Gly His Asn Asp Trp Tyr Phe Asp Leu

1 5 10

<210> 404

<211> 11

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L134, которая кодирует VL-CDR1

<400> 404

His Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Ser

1 5 10

<210> 405

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L134, которая кодирует VL-CDR2

<400> 405

Asp Ala Phe Asn Leu Glu Thr

1 5

<210> 406

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L134, которая кодирует VL-CDR3

<400> 406

Gln His Tyr Asp Asn Leu Pro Phe Thr

1 5

<210> 407

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L134, которая кодирует VH-CDR1

<400> 407

Asn Tyr Glu Met Tyr

1 5

<210> 408

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223>

<400> 408

Gly Ile Tyr Ser Ser Gly Gly Ile Thr Val Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 409

<211> 10

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L134, которая кодирует VH-CDR3

<400> 409

Ala Ala Ile Leu Asp Trp Tyr Phe Asp Leu

1 5 10

<210> 410

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела 3B5 2, которая кодирует VH-CDR1

<400> 410

Ser Tyr Trp Met His

1 5

<210> 411

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела 3B5 2, которая кодирует VH-CDR2

<400> 411

Val Ile Asp Pro Ser Asp Ser Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Arg

1 5 10 15

Gly

<210> 412

<211> 11

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела 3B5 2, которая кодирует VH-CDR3

<400> 412

Pro Tyr Tyr Gly Ser His Trp Phe Phe Asp Val

1 5 10

<210> 413

<211> 10

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела 3B5.2, которая кодирует VL-CDR1

<400> 413

Ser Ala Ser Ser Arg Val Ser Tyr Val His

1 5 10

<210> 414

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела 3B5.2, которая кодирует VL-CDR2

<400> 414

Asp Thr Ser Asn Leu Ala Ser

1 5

<210> 415

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела 3B5.2, которая кодирует VL-CDR3

<400> 415

Gln Gln Trp Ser Thr Asn Pro Pro Thr

1 5

<210> 416

<211> 120

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области тяжелой цепи 3B5.2

<400> 416

Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Thr

1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Arg 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 Val Ile Asp Pro Ser Asp Ser Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

Arg Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr 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

Ala Arg Pro Tyr Tyr Gly Ser His Trp Phe Phe Asp Val Trp Gly Thr

100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 417

<211> 106

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области легкой цепи 3B5.2

<400> 417

Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Arg Val Ser Tyr Val

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Leu Tyr

35 40 45

Asp Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Gly Gly Asn

50 55 60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu

65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Thr Asn Pro Pro Thr

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 418

<211> 6

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая консенсусная последовательность человеческой и мышиной каппа-легкой цепи

<400> 418

Ser Gly Ser Gly Ser Gly

1 5

<210> 419

<211> 106

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность мутантной вариабельной области легкой цепи 3B5.2

<400> 419

Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Arg Val Ser Tyr Val

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Leu Tyr

35 40 45

Asp Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu

65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Thr Asn Pro Pro Thr

85

90

95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100

105

<210> 420

<211> 1404

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность мышинного и человеческого химерного антитела 3B5.2

<400> 420

atgggatgga gctgtgtaat gctcttgga tcaacagcta caggtgtcca ctcccaggtc	60
caactgcagc agcctggggc tgagctggg aggcctggga cttcagtgaa gttgtcctgc	120
agggctcttg gctacacctt caccagctac tggatgcact gggtaaagca gaggcctgga	180
caaggccttg agtggatcgg agtgattgat cctctgata gttatactaa ctacaatcaa	240
aagttcaggg gcaaggccac attgactgta gacacatcct ccagcacagc ctacatgcag	300
ctcagcagcc tgacatctga ggactctcgg gctctattact gtgcaagacc ttactacggt	360
agtcactggt tcttcgatgt ctggggcaca gggaccacgg tcacctctc ctcagcctcc	420
accaaggggc catcggtctt ccccttgga cccctctcca agagcacctc tgggggcaca	480
gcgggcctgg gctgcctggt caaggactac ttcccgaac cgggtgacggt gtcgtggaac	540
tcaggcgccc tgaccagcgg cgtgcacacc ttcccggctg tcttacagtc ctcaggactc	600
tactccctca gcagcgtgtt gaccgtgccc tccagcagct tgggcaccca gacctacatc	660
tgcaacgtga atcacaagcc cagcaacacc aagggtggaca agaaagtga gcccaaatct	720
tgtgacaaga ctacacatg cccaccgtgc ccagcacctg aactcctggg gggaccgtca	780
gtcttctct tcccccaaa acccaaggac accctcatga tctccggac cctgagggtc	840
acatgcgtgg tggggagct gagccacgaa gacctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg	900
gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccgcggg aggagcagta caacagcacg	960
taccgtgtgg tcagctcct caccgtcctg caccaggact ggctgaatgg caaggagtac	1020
aagtgaagg tctccaacaa agccctccca gcccccatcg agaaaacat ctccaaagcc	1080
aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catcccgga tgagctgacc	1140
aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggttct atcccagcga catgcctgtg	1200
gagtgaggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgttgga	1260

tccgacggct ccttcttct ctacagcaag ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag 1320
 gggaaactgt tctcatgctc cgtgatgcat gaggtctgc acaaccacta cagcagaag 1380
 agcctctccc tgtctcccg ttga 1404

<210> 421

<211> 708

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность мышиного и человеческого химерного антитела 3B5.2

<400> 421

atggatttc aggtgcagat tttagcttc ctgctaata gtgcctcagt cataataacc 60
 agaggacaaa ttgtctcac ccatgtcca gcaatcatgt ctgcatctcc aggggagaag 120
 gtcaccatga cctgcagtgc cagctcacgt gtaagttac tgcactggtt ccagcagaag 180
 tcaggcacct cccccaaaag atggctttat gacacatcca acctggcttc tggagtccct 240
 gctcgtctgc gtggcaatgg gtctgggacc tcttactctc tcacaatcag cagcatggag 300
 gctgaagatg ctgccactta ttactgccag cagtggagta ctaaccacc cagcttcgga 360
 ggggggacca agctggaat aaaacgtacg gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 420
 ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tctgcctgct gaataacttc 480
 tatccagag agggccaaagt acagtggag gtggataacg cctccaatc gggtactcc 540
 caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcacctg 600
 acgtgagca aagcagacta cgagaacac aaagtctacg cctcggaagt caccatcag 660
 ggctgagct cggccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtggttag 708

<210> 422

<211> 360

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области тяжелой цепи 3B5.2

<400> 422

caggccaac tgcagcagcc tggggctgag ctggtaggc ctgggacttc agtgaagtig 60
 tctgcaggg cttctggcta cacttcacc agctactgga tgcactgggt aaagcagagg 120
 cctggacaag gccttgagtg gatcggagtg attgatctt ctgatagta tactaactac 180

aatcaaaagt tcaggggcaa ggccacattg actgtagaca catcctccag cacagcctac	240
atgcagctca gcagcctgac atctgaggac tctgcggctt attactgtgc aagaccttac	300
tacggtagtc actgggtctt cgatgtctgg ggcacaggga ccacggtcac cgtctcctca	360
<210> 423	
<211> 318	
<212> ДНК	
<213> Искусственная последовательность	
<220>	
<223> Синтетическая последовательность вариабельной области легкой цепи 3B5.2	
<400> 423	
caaattgttc tcaccagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga gaagtcacc	60
atgacctgca gtgccagtc acgtgtaagt tacgtgcact ggtaccagca gaagtcaggc	120
acctccccc aaagatggct ttatgacaca tccaacctgg cttctggagt cctctctcgc	180
ttcgggtggca atgggtctgg gacctcttac tctctcaca tcagcagcat ggaggctgaa	240
gatgtgccca cttattactg ccagcagtggt agtactaacc caccacgtt cggagggggg	300
accaagctgg aaataaaa	318
<210> 424	
<211> 15	
<212> ДНК	
<213> Искусственная последовательность	
<220>	
<223> Синтетическая последовательность из антитела 3B5.2, которая кодирует VH-CDR1	
<400> 424	
agctactgga tgcac	15
<210> 425	
<211> 51	
<212> ДНК	
<213> Искусственная последовательность	
<220>	
<223> Синтетическая последовательность из антитела 3B5.2, которая кодирует VH-CDR2	
<400> 425	
gtgattgac cttctgatag ttatactaac tacaatcaaa agtcagggg c	51
<210> 426	

<211> 33	
<212> ДНК	
<213> Искусственная последовательность	
<220>	
<223> Синтетическая последовательность из антитела 3B5.2, которая кодирует VH-CDR3	
<400> 426	
ccttactacg gtagtcactg gttcttcgat gtc	33
<210> 427	
<211> 30	
<212> ДНК	
<213> Искусственная последовательность	
<220>	
<223> Синтетическая последовательность из антитела 3B5.2, которая кодирует VL-CDR1	
<400> 427	
agtgccagct cacgtgtaag ttacgtgcac	30
<210> 428	
<211> 21	
<212> ДНК	
<213> Искусственная последовательность	
<220>	
<223> Синтетическая последовательность из антитела 3B5.2, которая кодирует VL-CDR2	
<400> 428	
gacacatcca acctggcttc t	21
<210> 429	
<211> 27	
<212> ДНК	
<213> Искусственная последовательность	
<220>	
<223> Синтетическая последовательность из антитела 3B5.2, которая кодирует VL-CDR3	
<400> 429	
cagcagtgga gtactaaccc acccacg	27
<210> 430	
<211> 106	

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический вариант легкой цепи 1

<400> 430

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Arg Leu Ile Tyr

35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu

65 70 75 80

Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Phe Thr

85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 431

<211> 106

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический вариант легкой цепи 2

<400> 431

Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Arg Leu Ile Tyr

35 40 45

036660

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

<210> 432

<211> 116

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический вариант тяжелой цепи 2

<400> 432

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

<210> 433

<211> 447

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области тяжелой цепи L181

<400> 433

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ala Tyr

20 25 30

Glu Met Lys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Val Ile Gly Pro Ser Gly Gly Phe Thr Phe Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Thr Glu Gly Asp Asn Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro

115 120

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly

130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn

145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln

165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser

180 185 190

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser

195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
 210 215 220
 His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
 225 230 235 240
 Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 245 250 255
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 260 265 270
 Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 275 280 285
 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
 290 295 300
 Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 305 310 315 320
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 325 330 335
 Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 340 345 350
 Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 355 360 365
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 370 375 380
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 385 390 395 400
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
 405 410 415
 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 420 425 430
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445
 <210> 434
 <211> 215

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области легкой цепи L181

<400> 434

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Met

85 90 95

Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala

100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser

115 120

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu

130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser

145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu

165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val

180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys

195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215
 <210> 435
 <211> 447
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Синтетическая последовательность вариабельной области гликозилированной тяжелой цепи L181
 <400> 435
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ala Tyr
 20 25 30
 Glu Met Lys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Val Ile Gly Pro Ser Gly Gly Phe Thr Phe Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Thr Glu Gly Asp Asn Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
 115 120
 Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
 130 135 140
 Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
 145 150 155 160
 Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
 165 170 175
 Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
 180 185 190

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

<210> 436

<211> 5

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L181, которая кодирует VH-CDR1

<400> 436

Ala Tyr Glu Met Lys

1 5

<210> 437

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L181, которая кодирует VH-CDR2

<400> 437

Val Ile Gly Pro Ser Gly Gly Phe Thr Phe Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 438

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L181, которая кодирует VH-CDR3

<400> 438

Glu Gly Asp Asn Asp Ala Phe Asp Ile

1 5

<210> 439

<211> 15

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L181, которая кодирует VH-CDR1

<400> 439

gcttacgaga tgaag

15

<210> 440

<211> 51

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L181, которая кодирует VH-CDR2

<400> 440

gttatcggtc cttctgggtg cttactttt tatgtgact ccgttaaagg t

51

<210> 441

<211> 27

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L181, которая кодирует VH-CDR3

<400> 441

gagggtgata atgatgcttt tgatatac

27

<210> 442

<211> 11

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L181, которая кодирует VL-CDR1

<400> 442

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala

1

5

10

<210> 443

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Li81, которая кодирует VL-CDR2

<400> 443

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr

1 5

<210> 444

<211> 10

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Li81, которая кодирует VL-CDR3

<400> 444

Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Met Tyr Thr

1 5 10

<210> 445

<211> 33

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Li81, которая кодирует VL-CDR1

<400> 445

agggccagtc agagtgttag cagctactta gcc

33

<210> 446

<211> 21

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела Li81, которая кодирует VL-CDR2

<400> 446

gatgcatcca acagggccac t

21

<210> 447

<211> 30

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность из антитела L181, которая кодирует VL-CDR3

<400> 447

cagcagcgta gcaactggcc gatgtacact

30

<210> 448

<211> 1341

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области тяжелой цепи L181

<400> 448

gaagtacaat tgtagagtc tggteggcgt ctgttcagc ctggtggtc ttacgtctt

60

tcctgcctg ctccggatt cactttctt gttacgaga tgaagtgggt tcgccaagct

120

cctggtaaag gtttgagtg ggtttctgt atcggctct ctggtggctt tactttttt

180

gtgactccg ttaaaggctg ctactatc tctagagaca actctaaga tactctctac

240

ttgcagatga acagcttaag ggctgaggac acggccgtgt attactgtgc aacagagggt

300

gataatgat cttttgatal ctggggccaa gggaccacgg tcaccgtct aagcgctcc

360

accaagggcc catcggtct cccctggca cctcctcca agagcacctc tgggggcaca

420

ggggccctgg gctgcctggt caaggactac ttcccgaac cgtgacggt gtcgtggaac

480

tcaggcggcc tgaccagcgg cgtgcacacc ttccggctg tctacagtc ctcaggactc

540

tactccctca gcagcgtggt gaccgtgccc tcacagcgt tgggcacca gacctatc

600

tgcaacgtga atcacaagcc cagcaacacc aaggteggaca agaaagtga gcccaaatct

660

tgtgacaaga ctcacacatg cccaccgtgc ccagcacctg aactcctggg gggaccgtca

720

gtcttctct tcccccaaa acccaaggac acctcatga tctcccgac ccctgaggtc

780

acatgcgtgg tggteggcgt gagccacgaa gacctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg

840

gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccgcggg aggagcagta caacagcacg

900

taccgtgtgg tcacgtctct caccgtctg caccaggact ggctgaatgg caaggagtac

960

aagtgaagg tctccaaca agccctcca gcccctcag agaaaacct ctccaaagcc

1020

aaaggcagc cccgagaacc acaggtgtac acctgcccc catccggga ttagctgacc

1080

aagaaccagg tcagcctgac ctgectgtc aaaggctct atccagcga catgcccgtg

1140

gagtgaggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgttgac

1200

tcgacggct ctttctct ctacagcaag ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag

1260

gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggctctgc acaaccacta caccgagaag 1320
agcctctccc tgtctcccg t 1341

<210> 449

<211> 648

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области легкой цепи L181

<400> 449

gatatccaga tgaccagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtc gagtgtagc agctacttag cctggtagca acagaaacct 120
ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gcatccaaca gggccactgg catccagcc 180
aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttactctca ccatcagcag cctagagcct 240
gaagattitg cagtttatta ctgtcagcag cgtagcaact ggccgatgta cacttttggc 300
caggggacca agctggagat caaacgtacg gtggctgcac catctgtctt catctcccg 360
ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgtt gtgcctgct gaataactc 420
tatccagag aggccaaagt acagtgaag gtggataacg cctccaatc gggtactcc 480
caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccccg 540
acgtcgagca aagcagacta cgagaacac aaagtctacg cctcggaagt caccatcag 600
ggcctgagct cggccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtggttag 648

<210> 450

<211> 1341

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области гликозилированной тяжелой цепи L181

<400> 450

gaagtacaat tgtagagtc tggtagcggt ctgttcagc ctggtggtc ttacgtctt 60
tcttcgctg ctccggatt cactttctc gcttacgaga tgaagtgggt tcgccaagct 120
cctggtaaaag gtttgagtg ggtttctgtt atcggtcctt ctggtggctt tacttttat 180
gtgactccg ttaaaggtcg ctactatc tctagagaca actctaagaa tactctctac 240
ttgcagatga acagcttaag ggctgaggac acggccgtgt attactgtgc aacagagggt 300

gataatgatg cttttgatal ctggggccaa gggaccacgg tcaccgtctc aagcgctcc 360
 accaagggcc catcggtctt cccctggca cctcctcca agagcacctc tgggggcaca 420
 gcggccctgg gctgcctggt caaggactac ttcccgaac cggtgacggt gtcgtggaac 480
 tcaggcgccc tgaccagegg cgtgcacacc ttccgggtg tctacagtc ctcaggactc 540
 tactccctca gcagcgtggt gaccgtgcc tccagcagct tgggcacca gacctacatc 600
 tgcaacgtga atcacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agaaagtga gcccaaatct 660
 tgtgacaaga ctcacacatg cccaccgtgc ccagcacctg aactcctggg gggaccgtca 720
 gtcttctct tcccccaaa acccaaggac acctcatga tctccggac cctgaggtc 780
 acatgcgtgg tgggtgacgt gagccacgaa gacctgagg tcaagtcaa ctggtacgtg 840
 gagcggtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccgcggg aggagcagta caacagcgcg 900
 taccgtgtgg tcacgtcct caccgtctg caccaggact ggctgaatgg caaggagtac 960
 aagtgaagg tctcaacaa agccctcca gcccctatg agaaaacct ctcгааaggc 1020
 aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac acctgcccc catccggga tgagtgacc 1080
 aagaaccagg tcagcctgac ctgectggtc aaaggttct atcccagca catcgccgtg 1140
 gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgttgac 1200
 tccagcggt ccttctct ctacagcaag ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag 1260
 gggaaagtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggtctgc acaaccacta cagcagaag 1320
 agcctctccc tgtctccgg t 1341

<210> 451

<211> 94

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность мышинной вариабельной области легкой цепи подгруппы каппа 6

<400> 451

Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly

1	5	10	15
---	---	----	----

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met

20	25	30
----	----	----

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr

35	40	45
----	----	----

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr lie Ser Ser Met Glu Ala Glu
 65 70 75 80
 Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gin Gin Trp Ser Ser Asn Pro
 85 90 95
 <210> 452
 <211> 96
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Синтетическая последовательность мышинной вариабельной области тяжелой цепи подгруппы HVMS
 <400> 452
 Gin Val Gin Leu Val Gin Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu
 1 5 10 15
 Thr Val Lys lie Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
 20 25 30
 Gly Met Asn Trp Val Lys Gin Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp lie Asn Thr Asp Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Thr Glu Asp Phe
 50 55 60
 Gin Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gin Phe Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys
 85 90 95
 <210> 453
 <211> 96
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Синтетическая мышинная консенсусная последовательность
 <220>
 <221> Нестандартная особенность

<222> (2).. (2)

<223> Хаа представляет собой либо изолейцин либо валин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (54) . . (54)

<223> Хаа представляет собой либо аспартат, либо глутамат

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (61)..(61)

<223> Хаа представляет собой либо треонин, либо аланин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (62) . . (62)

<223> Хаа представляет собой либо глутамат либо аспартат

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (65) . . (65)

<223> Хаа представляет собой либо глутамин либо лизин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (79)..(79)

<223> Хаа представляет собой либо валин либо аланин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (83) . . (83)

<223> Хаа представляет собой либо фенилаланин либо изолейцин

<400> 453

Gln Xaa Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu

1 5 10 15

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr

20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Xaa Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Xaa Xaa Asp Phe

50 55 60

Xaa Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Xaa Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Xaa Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys

85 90 95

<210> 454

<211> 96

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Мышиная зародышевая линия VGK6

<400> 454

Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu

1 5 10 15

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr

20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Glu Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys

85 90 95

<210> 455

<211> 94

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность человеческой вариабельной области легкой цепи подгруппы каппа 3

<400> 455

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

<210> 456

<211> 95

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая консенсусная последовательность

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (1)..(1)

<223> Хаа может представлять собой либо глутамин либо глутамат

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (10)..(10)

<223> Хаа может представлять собой либо изолейцин либо треонин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (11)..(11)

<223> Хаа может представлять собой либо метионин либо лейцин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (13) .. (13)

<223> Хаа может представлять собой либо аланин либо лейцин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (18) .. (18)

<223> Хаа может представлять собой либо лизин либо аргинин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (19)..(19)

<223> Хаа может представлять собой либо валин либо аланин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (21)..(21)

<223> Хаа может представлять собой либо метионин либо лейцин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (22)..(22)

<223> Хаа может представлять собой либо треонин либо серин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (24)..(24)

<223> Хаа может представлять собой либо серин либо аргинин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (27)..(27)

<223> Хаа может представлять собой либо серин либо глутамин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (31)..(31)

<223> Хаа может либо представлять собой серин либо отсутствовать

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (33) .. (33)

<223> Хаа может представлять собой либо метионин либо лейцин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (34) . . (34)

<223> Хаа может представлять собой либо гистидин либо аланин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (40)..(40)

<223> Хаа может представлять собой либо серин либо пролин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (42) . . (42)

<223> Хаа может представлять собой либо треонин или глутамин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (43)..(43)

<223> Хаа может представлять собой либо серин либо аланин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (45)..(45)

<223> Хаа может представлять собой либо лизин либо аргинин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (46)..(46)

<223> Хаа может представлять собой либо аргинин либо лейцин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (47)..(47)

<223> Хаа может представлять собой либо триптофан либо лейцин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (51)..(51)

<223> Хаа может представлять собой либо треонин либо аланин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (53) . . (53)

<223> Хаа может представлять собой либо лизин либо аспарагин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (54) . . (54)

<223> Хаа может представлять собой либо лейцин либо аргинин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (56) . (56)

<223> Хаа может представлять собой либо серин либо треонин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (58) . (58)

<223> Хаа может представлять собой либо валин либо изолейцин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (70) . . (70)

<223> Хаа может представлять собой либо серин либо аспарат

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (71) . (71)

<223> Хаа может представлять собой либо тирозин либо фенилаланин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (72) . . (72)

<223> Хаа может представлять собой либо серин либо треонин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (78) . (78)

<223> Хаа может представлять собой либо метионин либо лейцин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (80) . . (80)

<223> Хаа может представлять собой либо аланин либо пролин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (83) . . (83)

<223> Хаа может представлять собой либо аланин либо фенилаланин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (85) . (85)

<223> Хаа может представлять собой либо треонин либо валин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (91) . (91)

<223> Хаа может представлять собой либо триптофан либо аргинин

<220>

<221> MISC особенность

<222> (93) . . (93)

<223> Хаа может представлять собой либо серин либо аспарагин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (94) . (94)

<223> Хаа может представлять собой либо аспарагин либо триптофан

<400> 456

Xaa Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Xaa Xaa Ser Xaa Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Xaa Xaa Thr Xaa Xaa Cys Xaa Ala Ser Xaa Ser Val Ser Xaa Tyr

20 25 30

Xaa Xaa Trp Tyr Gln Gln Lys Xaa Gly Xaa Xaa Pro Xaa Xaa Xaa Ile

35 40 45

Tyr Asp Xaa Ser Xaa Xaa Ala Xaa Gly Xaa Pro Ala Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Xaa Xaa Xaa Leu Thr Ile Ser Ser Xaa Glu Xaa

65 70 75 80

Glu Asp Xaa Ala Xaa Tyr Tyr Cys Gln Gln Xaa Ser Xaa Xaa Pro

85

90

95

<210> 457

<211> 95

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Человеческая зародышевая линия L6

<400> 457

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1

5

10

15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr

20

25

30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile

35

40

45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly

50

55

60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro

65

70

75

80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro

85

90

95

<210> 458

<211> 98

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность человеческой вариабельной области тяжелой цепи подгруппы MHV1

<400> 458

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu

1

5

10

15

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr

20

25

30

Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met

35

40

45

Gly Trp Ile Asn Thr Asp Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Thr Glu Asp Phe

50

55

60

Gln Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Val Tyr

65

70

75

80

Leu Gln Phe Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys

85

90

95

Ala Arg

<210> 459

<211> 98

<212> PPT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая консенсусная последовательность

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (9)..(9)

<223> Хаа может представлять собой либо пролин либо гистидин

<220>

<221> MISC особенность

<222> (11)..(11)

<223> Хаа может представлять собой либо лейцин либо валин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (13) .. (13)

<223> Хаа может представлять собой либо лизин либо глутамин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (16) .. (16)

<223> Хаа может представлять собой либо глутамат либо аланин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (17)..(17)

<223> Хаа может представлять собой либо треонин либо серин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (20) .. (20)

<223> Хаа может представлять собой либо изолейцин либо валин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (28) .. (28)

<223> Хаа может представлять собой либо треонин либо серин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (31) .. (31)

<223> Хаа может представлять собой либо аргинин либо треонин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (38)..(38)

<223> Хаа может представлять собой либо лизин либо пролин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (43) .. (43)

<223> Хаа может представлять собой либо лизин либо глутамин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (46) .. (46)

<223> Хаа может представлять собой либо лизин либо глутамат

<220>

<221> MISC_FEATXJRE

<222> (51)..(51)

<223> Хаа может представлять собой либо изолейцин либо фенилаланин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (54) .. (54)

<223> Хаа может представлять собой либо аспаргат либо тирозин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (57)..(57)

<223> Хаа может представлять собой либо глутамат либо аргинин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (61)..(61)

<223> Хаа может представлять собой либо треонин либо аланин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (62) .. (62)

<223> Хаа может представлять собой либо глутамат либо глутамин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (63)..(63)

<223> Хаа может представлять собой либо аспаргат либо глицин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (65) .. (65)

<223> Хаа может представлять собой либо глутамин либо треонин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (69) .. (69)

<223> Хаа может представлять собой либо аланин либо валин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (72) .. (72)

<223> Хаа может представлять собой либо лейцин либо метионин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (73) .. (73)

<223> Хаа может представлять собой либо глутамат либо аспартат

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (79)..(79)

<223> Хаа может представлять собой либо валин либо аланин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (83)..(83)

<223> Хаа может представлять собой либо фенилаланин либо изолейцин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (84) . . (84)

<223> Хаа может представлять собой либо аргинин либо серин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (85)..(85)

<223> Хаа может представлять собой либо аргинин либо серин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (88)..(88)

<223> Хаа может представлять собой либо аргинин либо аланин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (91)..(91)

<223> Хаа может представлять собой либо треонин либо метионин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (93)..(93)

<223> Хаа может представлять собой либо треонин либо метионин

<220>

<221> Нестандартная особенность

<222> (95) . . (95)

<223> Хаа может представлять собой либо фенилаланин либо тирозин

036660

<400> 459

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Xaa Glu Xaa Lys Xaa Pro Gly Xaa

1 5 10 15

Xaa Val Lys Xaa Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Xaa Phe Thr Xaa Tyr

20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Xaa Gln Ala Pro Gly Xaa Gly Leu Xaa Trp Met

35 40 45

Gly Trp Xaa Asn Thr Xaa Thr Gly Xaa Pro Thr Tyr Xaa Xaa Xaa Phe

50 55 60

Xaa Gly Arg Phe Xaa Phe Ser Xaa Xaa Thr Ser Ala Ser Thr Xaa Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Xaa Xaa Xaa Leu Lys Xaa Glu Asp Xaa Ala Xaa Tyr Xaa Cys

85 90 95

Ala Arg

<210> 460

<211> 98

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Человеческая зародышевая линия ImVH7-81

<400> 460

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly His Glu Val Lys Gln Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Thr Tyr

20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Pro Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Phe Asn Thr Tyr Thr Gly Asn Pro Thr Tyr Ala Gln Gly Phe

50 55 60

Thr Gly Arg Phe Val Phe Ser Met Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Met Ala Met Tyr Tyr Cys

85

90

95

Ala Arg

<210> 461

<211> 1395

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Человеческая последовательность тяжелой цепи H2 huP1A7-IgG1

<400> 461

atggactgga cctggagggt ctctgcttg ctggcttag caccaggtgc ccactcccag	60
gtccaactgg tacagtctgg acacgagtg aagcagcctg gagcatcagt caaggtctcc	120
tgcaagccct ctgggtatac ctccacaac tatggaatga actgggtgaa gcaggctcct	180
ggacaagggt taaagtggat gggctggata aacaccgaca ctggagagcc aacatatact	240
gaagattcc agggacgggt tgtctctct ttggacacct ctgccagcac tgtttatttg	300
cagatcagca gcctcaaac tgaggacatg gcaatgtatt actgtgcaag agagggggtc	360
cacttgact actggggcca agggaccctt gtcaccgtct cctcagcctc caccaagggc	420
ccatgggtct tccccctgg accctctctc aagagcacct ctgggggcac agcggccctg	480
ggctgccttg tcaaggacta ctccccgaa ccggtgacgg tgcgtggaa ctcaggcgcc	540
ctgaccagcg gcgtgcacac ctcccggtt gtcctacagt cctcaggact ctactcctc	600
agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc ttgggcaccc agacctacat ctgcaacgtg	660
aatcacaagc ccagcaaac caaggtggac aagaaagtg agcccaatc ttgtgacaag	720
actcacacat gccaccgtg cccagcacct gaactcctgg ggggaccgtc agttctctc	780
ttcccccaa aacccaagga caccctcatg atctccgga cccctgaggt cacatgcgtg	840
gtggtggacg tgagccacga agacctgag gtcaagtca actgtgtact ggacggcgtg	900
gaggtgcata atgccaagac aaagccgagg gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg	960
gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaatg gcaaggagta caagtgcaag	1020
gtctcaaca aagccctccc agccccatc gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag	1080
ccccgagaa cacaggtgta caccctgccc ccatccggg atgagctgac caagaaccag	1140
gtcagcctga cctgcctggt caaaggcttc tatccagcg acatcgccgt ggagtgggag	1200
agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgcctc cgtgttgga ctccgacggc	1260
tcttcttcc tctacagaa gctcaccgtg gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc	1320
ttctcatgt ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc	1380

ctgtctcccg gttga

1395

<210> 462

<211> 464

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Человеческая последовательность тяжелой цепи H2 hmP1A7 H2

<400> 462

Met Asp Trp Thr Trp Arg Val Phe Cys Leu Leu Ala Val Ala Pro Gly

1 5 10 15

Ala His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly His Glu Val Lys Gln

20 25 30

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe

35 40 45

Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu

50 55 60

Lys Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Asp Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Thr

65 70 75 80

Glu Asp Phe Gln Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Ala Ser

85 90 95

Thr Val Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Met Ala Met

100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Gly Val His Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

115 120

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

130 135 140

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

145 150 155 160

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

165 170 175

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

180 185 190

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

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

450 455 460

<210> 463

<211> 708

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Человеческая последовательность капта-легкой цепи L1 huP1A7

<400> 463

atggatttc aggttcagat tticagcttc ctgctaata gtcctcagt cataatatcc	60
agaggagaaa ttgtctcac ccagctcca gcaacctgt cttatctcc aggggagaga	120
gccacctgt cctgagtcg cagctcaagt gtaagtaca tgcactgga ccagcagaag	180
ccaggccaag cgcaccaga actgattat gacacatcca aactgcttc tggaatccct	240
gtcgtctca gtggcagtgg gtctgggacc gattacactc tcaccatcag cagcttgag	300
cctgaagatt tcgcgttta ttactccag cagtggagta gtaaccatt caggttcggc	360
caggggacaa aggtggaaat aaaacgtacg gtggctgcac catctgtct catctcccg	420
ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgtg tgtcctgct gaataactc	480
tatcccagag agggcaaagt acagtgaag gtggataacg cctccaatc gggtactcc	540
caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcacctg	600
acgtgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgagaagt caccatcag	660
ggcctgagct cgcctgtcac aaagagcttc aacaggggag agtggttag	708

<210> 464

<211> 235

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Человеческая последовательность легкой цепи L1huP1A7

<400> 464

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser

1 5 10 15

Val Ile Ile Ser Arg Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr

20 25 30

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

<210> 465

<211> 708

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Человеческая последовательность капта-легкой цепи L1 Human huP1A7

<400> 465

```

atggatttc aggttcagat tticagcttc ctgctaata gtgcctcagt cataataacc      60
agaggacaaa ttgtctcac ccagtcacca gcaaccttgt cttatctcc aggggagaga      120
gccaccttgt cctgcagtcg cagctcaagt gtaagttaca tgcactggta ccagcagaag      180
ccaggccaag cgcccagaag actgatttat gacacatcca aactggcttc tggaatccct      240
gtctgcttca gtggcagtggt gtctgggacc gattacactc tcaccatcag cagcttgagg      300
cctgaagatt tcgccgttta ttactgccag cagtgaggta gtaaccatt cacgttcggc      360
caggggacaa aggtggaaat aaaacgtacg gtggctgcac catctgtctt catctcccg      420
ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc      480
tatccacag aggccaaaagt acagtggaag gtggataacg cctccaatc gggtaactcc      540
caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg      600
acgtcgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag      660
ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtggttag      708

```

<210> 466

<211> 235

<212> ППТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Человеческая последовательность легкой цепи L2 huP1A7

<400> 466

```

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

```


Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp

100 105 110

Ser Ser Asn Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

115 120

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu

130 135 140

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe

145 150 155 160

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln

165 170 175

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser

180 185 190

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu

195 200 205

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser

210 215 220

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

225 230 235 240

<210> 467

<211> 708

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Мышиная и человеческая последовательность каппа-легкой цепи химерного chP1A7

<400> 467

atggatttc aggtgcagat tticagcttc ctgctaata gtcctcagt cataatatcc 60

agaggacaaa ttgtttcac ccagttcca gcaatcatgt ctgcatctcc aggggagaag 120

gtcaccatga cctgcagtgc cagctcaagt gtaagttaca tgcactggta ccagcagaag 180

tcaggcacct cccccaaaag atggatttat gacacatcca aactggcttc tggagtcct 240

gtctgcttca gtggcagtggt gtctgggacc tcttactctc tcacaatcag cagcatggag 300

gtcgaagatg ctgccactta ttactgccag cagtggagta gtaaccatt cagttcggc 360

tcggggacaa agttggaat aaaacgtacg gtggctgcac catctgtctt catctcccg 420

ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tctgcctgct gaataacttc 480
 tatcccagag aggccaaaagt acagtggaag gtggataacg cctccaatc gggtaactcc 540
 caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcacctg 600
 acgtgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt caccatcag 660
 ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtggttag 708

<210> 468

<211> 235

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Мышиная и человеческая последовательность легкой цепи химерного chP1A7

<400> 468

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser

1 5 10 15

Val Ile Ile Ser Arg Gly Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile

20 25 30

Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser

35 40 45

Ser Ser Val Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser

50 55 60

Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro

65 70 75 80

Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile

85 90 95

Ser Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp

100 105 110

Ser Ser Asn Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

115 120

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu

130 135 140

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe

145 150 155 160

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln

165 170 175

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser

180 185 190

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu

195 200 205

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser

210 215 220

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

225 230 235

<210> 469

<211> 1395

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Мышиная и человеческая последовательность тяжелой цепи химерного chP1A7 huIgG1

<400> 469

atggactgga cctggagggt ctctgcttg ctggctgtag caccagggtgc ccactccag	60
gtccaactgg tacagtctgg acctgagctg aagaagcctg gagagacagt caagatctcc	120
tgcaaggcct ctgggtatag ctgcacaaac tatggaatga actgggtgaa gcaggctcca	180
ggaaagggtt taaagtggat gggctggata aacaccgaca ctggagagcc aacatatact	240
gaagatttcc agggacgggt tgccttctct ttggaaacct ctgccagcac tgtttatttg	300
cagttcaaca acctcaaaaa tgaggacagc gctacatatt tctgtgcaag agaggggggc	360
cactttgact actggggcca agggaccacg gtcaccgtct cctcagcctc caccaagggc	420
ccatcggtct tccccctggc accctectcc aagagcacct ctggggggcac agcggccctg	480
ggctgccttg tcaaggacta ctccccgaa ccggtgacgg tctcgtggaa ctcaggcgcc	540
ctgaccagcg gcgtgcacac ctccccggct gtctacagt cctcaggact ctactccctc	600
agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc ttgggcaccc agacctacat ctgcaacgtg	660
aatcacaagc ccagcaacac caaggtggac aagaaagtg agcccaaatc ttgtgacaag	720
actcacacat gccaccgtg occagcacct gaactcctgg ggggaccgtc agtcttctc	780
ttcccccaaa aaccaagga caccctcatg atctcccgga cccctgaggt cacatgcgtg	840
gtggtgacg tgagccacga agaccctgag gtcaagtta actggtacgt ggacggcggtg	900

gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg 960
gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaatg gcaaggagta caagtccaag 1020
gtctccaaca aagccctccc agcccccata gagaaaacca tctccaagc caaagggcag 1080
ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc ccatcccggg atgagctgac caagaaccag 1140
gtcagcctga cctgectggt caaaggcttc tateccagcg acatcgccgt ggagtgggag 1200
agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgcctc ccgtgttggg ctccgacggc 1260
tctcttctc tctacagcaa gctcaccgtg gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc 1320
ttctcatgct ccgtgatgca tgaggtctg cacaaccact acacgcagaa gagctctcc 1380
ctgtctccc gtga 1395

<210> 470

<211> 464

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Мышиная и человеческая последовательность тяжелой цепи химерного chP1A7

<400> 470

Met Asp Trp Thr Arg Val Phe Cys Leu Leu Ala Val Ala Pro Gly

1 5 10 15

Ala His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys

20 25 30

Pro Gly Glu Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe

35 40 45

Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu

50 55 60

Lys Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Asp Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Thr

65 70 75 80

Glu Asp Phe Gln Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser

85 90 95

Thr Val Tyr Leu Gln Phe Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr

100 105 110

Tyr Phe Cys Ala Arg Glu Gly Val His Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

115 120

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

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 385 390 395 400
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 405 410 415
 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 420 425 430
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 435 440 445
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 450 455 460
 <210> 471
 <211> 106
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Синтетический вариант легкой цепи 3
 <400> 471
 Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Arg Trp Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Phe Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105
 <210> 472

<211> 116

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический вариант тяжелой цепи 1

<400> 472

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly His Glu Val Lys Gln Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr

20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Pro Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Asp Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Thr Glu Asp Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Ala Ser Thr Val Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Met Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Glu Gly Val His Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 473

<211> 116

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический вариант тяжелой цепи 3

<400> 473

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly His Glu Val Lys Gln Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr

036660

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

115

<210> 474

<211> 466

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая последовательность вариабельной области агликозильированной тяжелой цепи L181

<400> 474

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

036660

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
 100 105 110
 Tyr Tyr Cys Ala Thr Glu Gly Asp Asn Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly
 115 120
 Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 130 135 140
 Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
 145 150 155 160
 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 165 170 175
 Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 180 185 190
 Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 195 200 205
 Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 210 215 220
 Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 225 230 235 240
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 245 250 255
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 260 265 270
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 275 280 285
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 290 295 300
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Ala Tyr
 305 310 315 320
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 325 330 335
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 340 345 350

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

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение выделенного антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, специфически связывающегося с Sp35, для приготовления лекарственного средства для лечения субъекта, представляющего собой человека, у которого присутствует заболевание или нарушение, выбранное из группы, состоящей из инсульта, неврита оптического нерва и повреждения спинного мозга, причем указанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит

область VH, содержащую аминокислотные последовательности VH CDR1, CDR2 и CDR3, представленные последовательностями SEQ ID NO: 436, SEQ ID NO: 437 и SEQ ID NO: 438 соответственно; и

область VL, содержащую аминокислотные последовательности VL CDR1, CDR2 и CDR3, представленные последовательностями SEQ ID NO: 442, SEQ ID NO: 443 и SEQ ID NO: 444 соответственно.

2. Применение по п.1, отличающееся тем, что указанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит область VL, которая входит в состав аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 434.

3. Применение по п.1, отличающееся тем, что указанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит область VH, которая входит в состав аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 435.

4. Применение по п.1, отличающееся тем, что указанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит область VL, которая входит в состав аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 434, и область VH, которая входит в состав аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 435.

5. Применение по п.1, отличающееся тем, что указанное антитело содержит аминокислотную последовательность лёгкой цепи SEQ ID NO: 434 и аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 435.

6. Выделенное антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела, которое может специфически связываться с полипептидом Sp35 человека (SEQ ID NO: 2), при этом указанное антитело содержит (i) легкую цепь, имеющую последовательность аминокислот SEQ ID NO: 434, и (ii) тяжелую цепь, имеющую последовательность аминокислот SEQ ID NO: 435.

7. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п.6, где указанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент присоединены к группе, которая обеспечивает направленную доставку в головной мозг.

8. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п.7, отличающееся тем, что указанная группа, которая обеспечивает направленную доставку в головной мозг, выбрана из группы, состоящей из одноклонового антитела FC5, моноклонового антитела mAb 83-14 к рецептору инсулина человека, пептида B2, который связывается с рецептором трансферрина человека, пептида B6, который связывается с рецептором трансферрина человека, и пептида B8, который связывается с рецептором трансферрина человека, антитела к Fc-рецептору, трансферрина и антитела к рецептору инсулина.

9. Фармацевтическая композиция для лечения заболевания или нарушения, связанного с демиелинизацией или дисмиелинизацией, содержащая антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по лю-

бому из пп.6-8 и фармацевтически приемлемый носитель.

10. Фармацевтическая композиция по п.9, отличающаяся тем, что указанная композиция приготовлена для парентерального введения.

11. Применение выделенного антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп.6-8 для получения лекарственного средства для лечения рассеянного склероза у субъекта, представляющего собой человека.

12. Применение фармацевтической композиции по п.9 или 10 для получения лекарственного средства для лечения рассеянного склероза у субъекта, представляющего собой человека.

13. Применение выделенного антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп.6-8 для получения лекарственного средства для лечения неврита оптического нерва у субъекта, представляющего собой человека.

14. Применение фармацевтической композиции по п.9 или 10 для получения лекарственного средства для лечения неврита оптического нерва у субъекта, представляющего собой человека.

15. Применение выделенного антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп.6-8 для получения лекарственного средства для лечения острой ишемической невропатии оптического нерва у субъекта, представляющего собой человека.

16. Применение фармацевтической композиции по п.9 или 10 для получения лекарственного средства для лечения острой ишемической невропатии оптического нерва у субъекта, представляющего собой человека.

17. Применение выделенного антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп.6-8 для получения лекарственного средства для лечения повреждения центральной нервной системы (ЦНС) у субъекта, представляющего собой человека.

18. Применение фармацевтической композиции по п.9 или 10 для получения лекарственного средства для лечения повреждения центральной нервной системы (ЦНС) у субъекта, представляющего собой человека.

19. Применение выделенного антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп.6-8 для получения лекарственного средства для лечения заболевания или нарушения, связанного с демиелинизацией или дисмиелинизацией, у субъекта, представляющего собой человека.

20. Применение фармацевтической композиции по п.9 или 10 для получения лекарственного средства для лечения заболевания или нарушения, связанного с демиелинизацией или дисмиелинизацией, у субъекта, представляющего собой человека.

21. Одноцепочечное антитело, которое может специфически связывать полипептид Sp35 человека (SEQ ID NO: 2), при этом указанное одноцепочечное антитело содержит

область VH, содержащую последовательности VH CDR1, CDR2 и CDR3, представленные в SEQ ID NO: 436, SEQ ID NO: 437 и SEQ ID NO: 438 соответственно; и

область VL, содержащую последовательности VL CDR1, CDR2 и CDR3, представленные в SEQ ID NO: 442, SEQ ID NO: 443 и SEQ ID NO: 444 соответственно.

22. Одноцепочечное антитело, которое может специфически связывать полипептид Sp35 человека (SEQ ID NO: 2), при этом указанное одноцепочечное антитело содержит область VL, которая входит в состав последовательности SEQ ID NO: 434, и область VH, которая входит в состав последовательности SEQ ID NO: 433.

23. Одноцепочечное антитело по п.21 или 22, отличающееся тем, что указанное одноцепочечное антитело представляет собой scFv.

24. Выделенный полинуклеотид, кодирующий антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п.6.

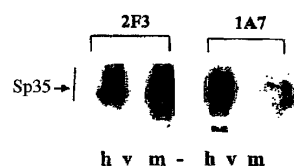
25. Вектор, содержащий полинуклеотид по п.24.

26. Выделенная клетка-хозяин для получения антитела к Sp35 или его антигенсвязывающего фрагмента по п.6, содержащая вектор по п.25.

27. Способ получения антитела к Sp35 или его антигенсвязывающего фрагмента по п.6, включающий

культивирование клетки-хозяина по п.26 в культуре клеток и

выделение антитела указанного антитела или его антигенсвязывающего фрагмента из указанной культуры клеток.



h: человеческий Sp35

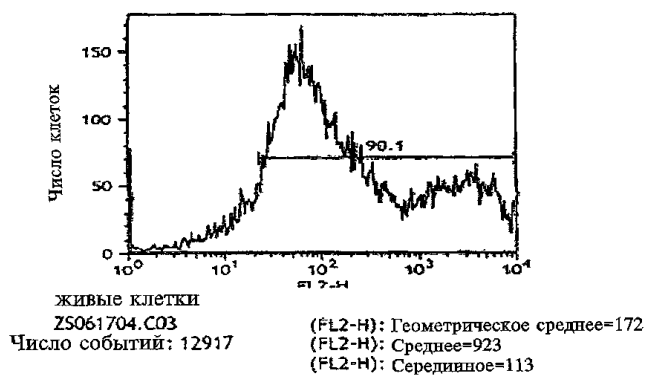
m: мышинный Sp35

v: Вектор

Фиг. 1

Данные сортировки клеток по активации флуоресценции (проточной цитометрии) по человеческим клеткам 293, трансфицированным Sp35

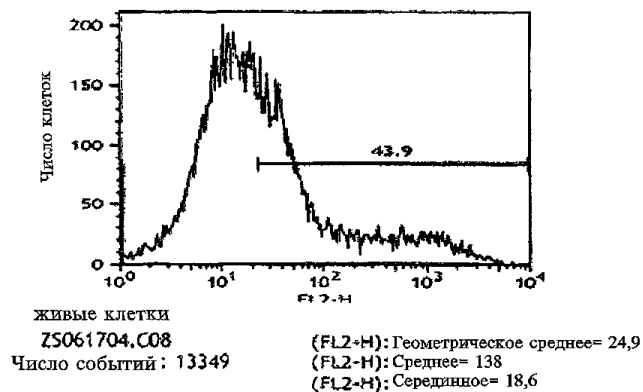
1A7



Фиг. 2a

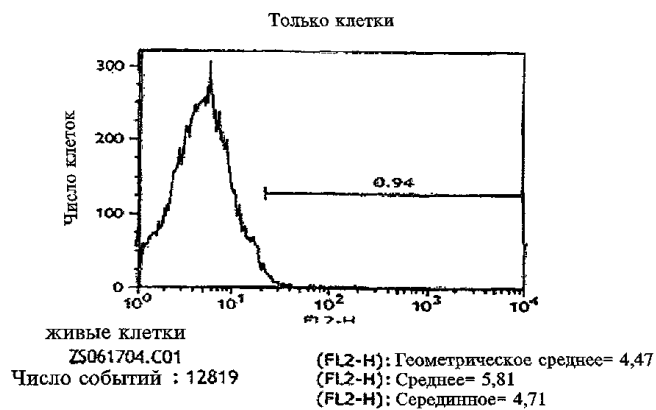
Данные сортировки клеток по активации флуоресценции (проточной цитометрии) по человеческим клеткам 293, трансфицированным Sp35

2F3



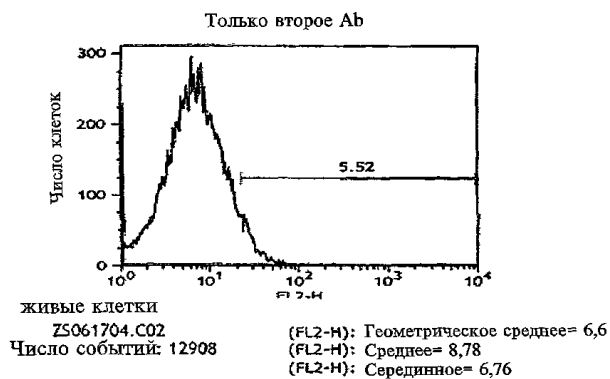
Фиг. 2b

Данные сортировки клеток по активации
флуоресценции (проточной цитометрии)
по человеческим клеткам 293, трансфицированным Sp35



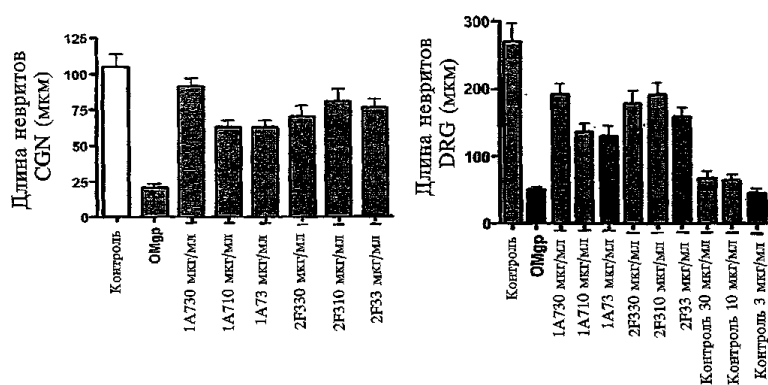
Фиг. 2с

Данные сортировки клеток по активации
флуоресценции (проточной цитометрии)
по человеческим клеткам 293, трансфицированным Sp35



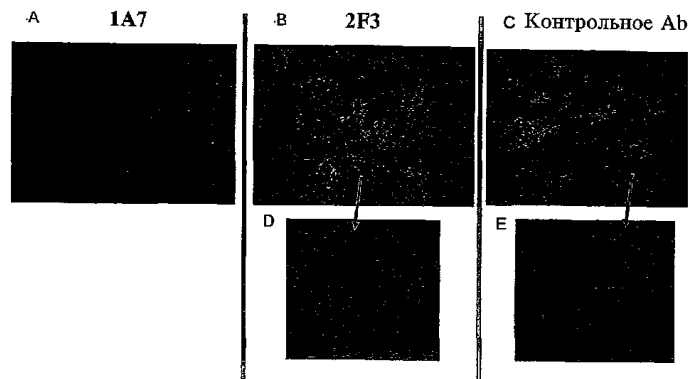
Фиг. 2d

1A7 и 2F3 способствуют отращиванию
невритов CGN и DRG

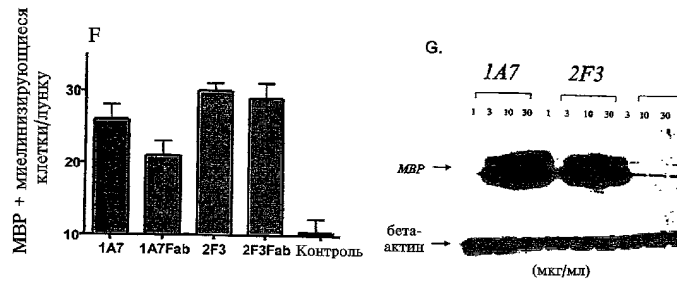


Фиг. 3

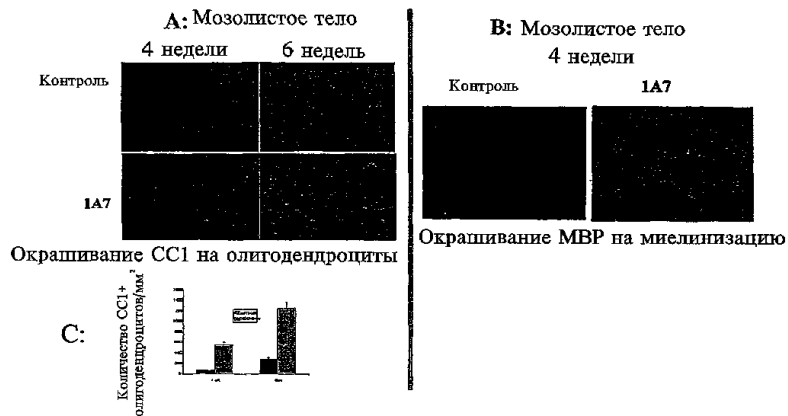
mAbs к Sp35 способствуют миелинизации
в сокультуре



Антитела к Sp35 способствуют
миелинизации в сокультуре



1A7 способствует выживаемости и ремиелинизации
олигодендроцитов в модели с использованием купризона

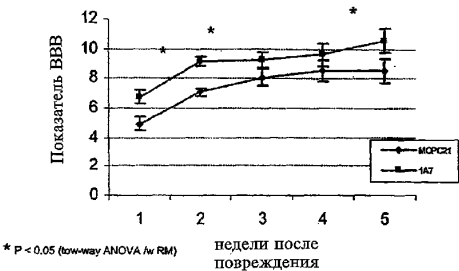


1A7 способствует выживаемости нейронов PGC

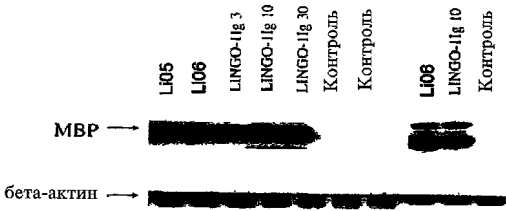


Фиг. 6

Восстановление двигательной функции после повреждения спинного мозга

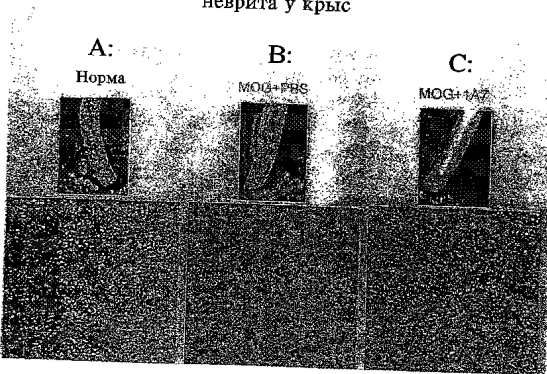


Фиг. 7



Фиг. 8

Обработка 1A7 способствует ремиелинизации и восстановлению на модели ретроорбитального неврита у крыс

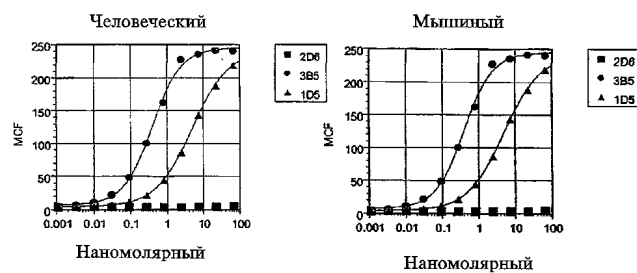


Фиг. 9



Фиг. 10

Данные сортировки клеток по активации
флуоресценции (проточной цитометрии) по стабильному
прямому связыванию клеток CHO Sp35



Фиг. 11

