

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **047634**

(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2024.08.16

(21) Номер заявки
202092457

(22) Дата подачи заявки
2019.05.08

(51) Int. Cl. **C12N 15/86** (2006.01)
C07K 16/24 (2006.01)
A61K 48/00 (2006.01)
A61P 25/02 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)

(54) ДОСТАВКА АНТИТЕЛ К FАM19A5 С ПОМОЩЬЮ АДЕНОАССОЦИИРОВАННОГО ВИРУСА (AAV)

(31) 62/668,634

(32) 2018.05.08

(33) US

(43) 2021.08.10

(86) PCT/IB2019/053791

(87) WO 2019/215644 2019.11.14

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
НЬЮРАКЛ САЙЕНС КО., ЛТД.;
НЬЮРАКЛ ДЖЕНЕТИКС (KR)

(72) Изобретатель:
Ким Чон-Мук, Ким Тон Сик, Сим
Чувон, Квон Сун-Ку (KR)

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(56) US-A1-20150118230
WO-A1-2012115980
KOREA UNIVERSITY, "Discovery and functional characterization of novel peptidome", Brain Science Source Technology Development Project Final Report, 13 November 2017, pp. 1-46, See pages 3, 4, 9, 20 and 21
US-A1-20090221670
US-B2-9074002
WO-A1-2018083538

(57) В изобретении предложены векторы на основе аденоассоциированного вируса (AAV) и варианты их применения. В некоторых вариантах воплощения векторы AAV содержат нуклеиновую кислоту, которая кодирует антагонист против белка члена A5 семейства со сходством последовательностей 19 (FAM19A5), например антитело к FAM19A5, например scFv к FAM19A5.

B1

047634

047634

B1

Ссылка на перечень последовательностей представлена в электронном виде

Содержание перечня последовательностей, представленного в электронном виде в текстовом файле ASCII (Название: 3763_010PC01_SeqListing_ST25.txt; размер: 261 643 байта; и дата создания: 8 мая 2019), поданного в настоящей заявке, включено в данный документ посредством ссылки в полном объеме.

Область техники

Настоящее изобретение относится к векторам на основе рекомбинантного аденоассоциированного вируса (AAV) и к вариантам их применения. Более конкретно, настоящее изобретение относится к векторам AAV, содержащим нуклеиновую кислоту, которая кодирует антагонист против белка члена A5 семейства со сходством последовательностей 19 (FAM19A5). В некоторых аспектах антагонист FAM19A5 представляет собой одноцепочечный варибельный фрагмент, нацеленный на белок FAM19A5.

Уровень техники

FAM19A5 является членом подсемейства белков TAFA, которое состоит из пяти очень гомологичных малых белков; Tang T.Y. et al., *Genomics* 83(4):727-34 (2004). Эти белки содержат консервативные остатки цистеина в фиксированных положениях и отдаленно связаны с макрофагальным белком воспаления 1-альфа (MIP-1-альфа), членом семейства CC-хемокинов. Как и многие другие белки TAFA, FAM19A5 преимущественно экспрессируется в определенных областях головного и спинного мозга. Считается, что он играет важную роль не только в развитии, дифференциации и формировании полноценной центральной нервной системы, но и в патогенезе многих заболеваний, связанных с центральной нервной системой. Соответственно, было показано, что введение антитела к FAM19A5 *in vivo* улучшает симптомы, связанные с поражением или заболеваниями центральной нервной системы; патент США № 9579398.

Терапевтические антитела успешно применялись для лечения различных заболеваний. Ecker D.M., et al., *MAbs* 7: 9-14 (2015). Однако, несмотря на их эффективность, существуют известные ограничения для антител, которые ограничивают их широкое терапевтическое применение. Например, многие антитела были описаны как обладающие неадекватной фармакокинетической и тканевой доступностью, а также нарушением взаимодействия с иммунной системой. Chames P., et al., *Br J Pharmacol* 157(2): 220-223 (2009). Кроме того, для достижения клинической эффективности антитела часто приходится вводить в больших количествах, что приводит к большим затратам на производство. Соответственно, существует потребность в альтернативном способе, который является как эффективным, так и экономичным, для доставки терапевтических антител, например антител к FAM19A5, субъекту для лечения заболеваний.

Краткое описание изобретения

В настоящем изобретении предложен вектор на основе аденоассоциированного вируса (AAV), содержащий нуклеиновую кислоту, которая кодирует антагонист против белка члена A5 семейства со сходством последовательностей 19 (FAM19A5). В некоторых вариантах воплощения, вектор AAV дополнительно содержит интрон, сигнальный пептид и/или один или более инвертированных концевых повторов (ITR) аденоассоциированного вируса.

В некоторых вариантах воплощения, антагонист FAM19A5 представляет собой антитело к FAM19A5. Соответственно, в некоторых вариантах воплощения, вектор AAV содержит нуклеиновую кислоту, которая кодирует антитело к FAM19A5. В некоторых вариантах воплощения, антитело к FAM19A5 содержит Fab, Fab', F(ab')₂, Fv или одноцепочечный Fv (scFv). В некоторых вариантах воплощения, антитело к FAM19A5 представляет собой scFv.

В некоторых вариантах воплощения, вектор AAV содержит нуклеиновую кислоту, кодон которой оптимизирован. В некоторых вариантах воплощения, нуклеиновая кислота содержит нуклеотидную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 204, SEQ ID NO: 205, SEQ ID NO: 206 или SEQ ID NO: 301. В некоторых вариантах воплощения, scFv содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 201, SEQ ID NO: 202, SEQ ID NO: 203 или SEQ ID NO: 256. В некоторых вариантах воплощения, антитело к FAM19A5 проявляет свойство, выбранное из следующего: (а) связывается с растворимым человеческим FAM19A5 с KD 10 нМ или менее, измеренной с помощью иммуноферментного анализа (ELISA); (б) связывается с мембраносвязанным человеческим FAM19A5 с KD 10 нМ или менее, измеренной с помощью ELISA; или (в) как (а), так и (б).

В некоторых вариантах воплощения, антитело к FAM19A5 перекрестно конкурирует за связывание с эпитопом человеческого FAM19A5 с референсным антителом, содержащим CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи и CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи: (i) где CDR1 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 17, CDR2 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 18, CDR3 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 19, CDR1 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 29, CDR2 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 30 и CDR3 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 31; (ii) где CDR1 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 14, CDR2 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, ука-

но, CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи содержат SEQ ID NO: 29, 30 и 31, соответственно; (ii) CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи содержат SEQ ID NO: 14, 15 и 16, соответственно, CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи содержат SEQ ID NO: 26, 27 и 28, соответственно; (iii) CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи содержат SEQ ID NO: 11, 12 и 13, соответственно, CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи содержат SEQ ID NO: 23, 24 и 25, соответственно; или (iv) CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи содержат SEQ ID NO: 212, 213 и 16, соответственно, CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи содержат SEQ ID NO: 222, 225 и 224, соответственно.

В некоторых вариантах воплощения, антитело к FAM19A5 содержит переменный домен тяжелой цепи, содержащий SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 35 или SEQ ID NO: 236 и/или переменный домен легкой цепи, содержащий SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 39 или SEQ ID NO: 245. В некоторых вариантах воплощения, антитело к FAM19A5 содержит переменный домен тяжелой цепи, содержащий SEQ ID NO: 37 и переменный домен легкой цепи, содержащий SEQ ID NO: 41. В других вариантах воплощения, антитело к FAM19A5 содержит переменный домен тяжелой цепи, содержащий SEQ ID NO: 36 и переменный домен легкой цепи, содержащий SEQ ID NO: 40. В некоторых вариантах воплощения, антитело к FAM19A5 содержит переменный домен тяжелой цепи, содержащий SEQ ID NO: 35 и переменный домен легкой цепи, содержащий SEQ ID NO: 39. В некоторых вариантах воплощения, антитело к FAM19A5 содержит переменный домен тяжелой цепи, содержащий SEQ ID NO: 236 и переменный домен легкой цепи, содержащий SEQ ID NO: 245. В некоторых вариантах воплощения, антитело к FAM19A5 содержит переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи, где переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, которая является по меньшей мере на приблизительно 80%, по меньшей мере на приблизительно 85%, по меньшей мере на приблизительно 90%, по меньшей мере на приблизительно 95%, по меньшей мере на приблизительно 96%, по меньшей мере на приблизительно 97%, по меньшей мере на приблизительно 98%, по меньшей мере на приблизительно 99% или на приблизительно 100% идентичной аминокислотной последовательности, указанной в SEQ ID NO: 37, 36, 35 или 236. В некоторых вариантах воплощения, антитело к FAM19A5 содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, где переменная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, которая является по меньшей мере на приблизительно 80%, по меньшей мере на приблизительно 85%, по меньшей мере на приблизительно 90%, по меньшей мере на приблизительно 95%, по меньшей мере на приблизительно 96%, по меньшей мере на приблизительно 97%, по меньшей мере на приблизительно 98%, по меньшей мере на приблизительно 99% или на приблизительно 100% идентичной аминокислотной последовательности, указанной в SEQ ID NO: 41, 40, 39 или 245. В некоторых вариантах воплощения, антитело к FAM19A5 содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, где переменная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, которая является по меньшей мере на приблизительно 80%, по меньшей мере на приблизительно 85%, по меньшей мере на приблизительно 90%, по меньшей мере на приблизительно 95%, по меньшей мере на приблизительно 96%, по меньшей мере на приблизительно 97%, по меньшей мере на приблизительно 98%, по меньшей мере на приблизительно 99% или на приблизительно 100% идентичной аминокислотной последовательности, указанной в SEQ ID NO: 37, 36, 35 или 236; и где переменная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, которая является по меньшей мере на приблизительно 80%, по меньшей мере на приблизительно 85%, по меньшей мере на приблизительно 90%, по меньшей мере на приблизительно 95%, по меньшей мере на приблизительно 96%, по меньшей мере на приблизительно 97%, по меньшей мере на приблизительно 98%, по меньшей мере на приблизительно 99% или на приблизительно 100% идентичной аминокислотной последовательности, указанной в SEQ ID NO: 41, 40, 39 или 245. В некоторых вариантах воплощения, антитело к FAM19A5 ингибирует связывание референсного антитела с человеческим FAM19A5 по меньшей мере на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или на 100%, измеренное с помощью анализа ингибирования связывания. В некоторых вариантах воплощения, антитело к FAM19A5 снижает концентрацию белка FAM19A5 в культуральной среде, содержащей линию клеток астроцитов (например, C8-D1A), по меньшей мере на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или на 100%, измеренную с помощью ELISA.

В настоящем документе также описан способ получения частицы рекомбинантного аденоассоциированного вируса (AAV), включающий (а) культивирование клетки-хозяина, трансфицированной вектором AAV, описанным в настоящем документе, для получения культуры клеток, и (б) выделение частицы рекомбинантного AAV из супернатанта культуры клеток. В настоящем изобретении также предложен способ доставки *in vivo* антагониста белка FAM19A5 субъекту, нуждающемуся в этом, включающий введение субъекту вектора AAV, описанного в настоящем документе. В настоящем изобретении дополнительно предложен способ лечения заболевания или состояния у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту вектора AAV, как раскрыто в данном документе. В настоящем документе также раскрывается способ лечения невропатической боли у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту вектора AAV согласно настоящему изобретению. В некоторых вариантах воплощения, невропатическая боль представляет собой периферическую невропатическую боль.

В настоящем изобретении предложен способ увеличения порога или задержки внешнего раздражителя у субъекта, который в этом нуждается, включающий введение субъекту вектора AAV, раскрытого в

данном документе. В некоторых вариантах воплощения, внешний раздражитель представляет собой механический раздражитель. В других вариантах воплощения, внешний раздражитель представляет собой тепловой раздражитель.

В некоторых вариантах воплощения, вектор AAV по настоящему изобретению вводят внутривенно, перорально, парентерально, интратекально, внутричерепноventрикулярно, легочно, внутримышечно, подкожно, внутрибрюшинно, интравитреально, эпидурально, субретинально или внутрь желудочков. В некоторых вариантах воплощения, субъект является человеком.

Краткое описание чертежей

На фиг. 1 представлена карта конструкции pscAAV, которую использовали для создания конструкций scFv AAV к FAM19A5, описанных в Примерах. Как показано на фиг. 1 конструкция pscAAV содержит следующие ключевые элементы: (i) человеческий бета-глобин под промотором CMV; (ii) трансген, кодирующий 3-2, 1-65 или 2-13 scFv, и (iii) левый и правый инвертированные концевые повторы (ITR).

На фиг. 2A-2C показан уровень экспрессии scFv к FAM19A5 после трансдукции клеток HEK293 одной из следующих конструкций AAV: (i) scAAV8-CMV-3-2-ScFv; (ii) scAAV9-CMV-3-2-ScFv; (iii) scAAV9-CMV-1-65-ScFv; или (iv) scAAV9-2-13-ScFv. На фиг. 2A клетки HEK293 трансдуцировали scAAV8-CMV-3-2-ScFv с двумя разными MOI: 5×10^4 (белый столбец) или 1×10^5 (черный столбец). Уровни антител измеряли на 1,4 и 8 день после трансдукции. На фиг. 2B, клетки HEK293 трансдуцировали scAAV9-CMV-3-2-ScFv (белый столбец: MOI= 1×10^5 ; черный столбец= 2×10^5). Уровни антител измеряли в единственной временной точке, то есть на 8-й день после трансдукции. На фиг. 2C, клетки HEK293 трансдуцировали либо scAAV9-CMV-1-65-ScFv (белый столбец: MOI= 1×10^5 ; черный столбец= 2×10^5), либо scAAV9-2-13-ScFv (белый столбец с точками: MOI= 1×10^5 ; черный столбец с точками= 2×10^5).

На фиг. 3A-3C показана средняя интенсивность флуоресценции (MFI) связывания человеческого FAM19A5-Fc с клетками U87MG в присутствии или в отсутствие супернатанта от клеток, трансдуцированных различными конструкциями AAV к FAM19A5. На фиг. 3A показаны данные для scAAV9-CMV-1-65-ScFv. Цифра "1" указывает на контроль (GFP), а цифра "2" указывает на 1-65 scFv. На фиг. 3B показаны данные для scAAV9-2-13-ScFv. Цифра "1" указывает на контроль (GFP), а цифра "2" указывает на 2-13 scFv. На фиг. 3C показаны данные для scAAV8-CMV-3-2-ScFv. Цифра "1" указывает на контроль (PBS), а цифра "2" указывает на 3-2 scFv. На фиг. 4A и 4B показан уровень белка FAM19A5 человека в культуре клеток C8-D1A после обработки супернатантом из клеток, трансдуцированных различными конструкциями AAV к FAM19A5.

На фиг. 4A показано сравнение уровней белка FAM19A5, когда клетки C8-D1A культивировали либо с супернатантом из клеток, трансдуцированных scAAV8-CMV-3-2-ScFv, либо только с PBS. На фиг. 4B показано сравнение уровней FAM19A5, когда клетки C8-D1A культивировали с scAAV9-2-13-ScFv, scAAV9-CMV-1-65-ScFv или контрольной конструкцией (scAAV9-CMV-GFP). На фиг. 4A и 4B, "Наивные" обозначают клетки C8-D1A, которые не были активированы и, следовательно, продуцировали минимальное количество белка FAM19A5 в культуре.

На фиг. 5 показана экспрессия scFv к FAM19A5 (3-2) в головном мозге через одну неделю (верхний ряд) и 2 недели (нижний ряд) после интратекального введения scAAV8-CMV-3-2-ScFv мышам C57BL/6. Изображения слева получены от наивных животных (без введения). Изображения справа получены от мышей, получивших конструкцию AAV. Стрелка на верхнем правом изображении указывает на положительное окрашивание.

На фиг. 6A и 6B показано влияние введения scAAV8-CMV-3-2-ScFv на механическую аллодинию (фиг. 6A) и термическую гипералгезию (фиг. 6B) после повреждения периферического нерва. На фиг. 6A влияние на механическую аллодинию показано как частота, с которой животные реагировали болью на стимуляцию микроволокном Фон Фрея. На фиг. 6B влияние на термическую гипералгезию показано как задержка отдергивания лапы (сколько времени потребовалось животным, чтобы отскочить от источника тепла). "*" обозначает статистическую значимость p меньше 0,05 по сравнению с контрольной группой.

На фиг. 7A и 7B показано влияние введения scAAV9-CMV-3-2-ScFv на механическую аллодинию (фиг. 7A) и термическую гипералгезию (фиг. 7B) после повреждения периферического нерва. На фиг. 7A влияние на механическую аллодинию показано как частота, с которой животные реагировали болью на стимуляцию микроволокном Фон Фрея. На фиг. 7B влияние на термическую гипералгезию показано как задержка отдергивания лапы (сколько времени потребовалось животным, чтобы отскочить от источника тепла). "*" обозначает статистическую значимость p меньше 0,05 по сравнению с контрольной группой.

На фиг. 8A и 8B показано влияние введения scAAV1-CMV-3-2-ScFv на механическую и термическую гипералгезию, соответственно. На фиг. 8A влияние на механическую аллодинию показано как частота, с которой животные реагировали болью на стимуляцию микроволокном Фон Фрея (из 10 стимулов). На фиг. 8B влияние на термическую гипералгезию показано как задержка отдергивания лапы (сколько времени потребовалось животным, чтобы отскочить от источника тепла). "*" обозначает статистическую значимость p меньше 0,05 по сравнению с контрольной группой.

На фиг. 9A и 9B показано влияние введения scAAV9-CMV-2-13-ScFv на механическую и термическую гипералгезию, соответственно. На фиг. 9A влияние на механическую аллодинию показано как час-

тота, с которой животные реагировали болью на стимуляцию микроволокном Фон Фрея (из 10 стимулов). На фиг. 9В влияние на термическую гипералгезию показано как задержка отдергивания лапы (сколько времени потребовалось животным, чтобы отскочить от источника тепла). "*" обозначает статистическую значимость p меньше 0,05 по сравнению с контрольной группой.

На фиг. 10А и 10В показано влияние введения scAAV9-CMV-1-30-ScFv на механическую и термическую гипералгезию, соответственно. На фиг. 10А влияние на механическую аллолинию показано как частота, с которой животные реагировали болью на стимуляцию микроволокном Фон Фрея (из 10 стимулов). На фиг. 10В влияние на термическую гипералгезию показано как задержка отдергивания лапы (сколько времени потребовалось животным, чтобы отскочить от источника тепла). "*" обозначает статистическую значимость p меньше 0,05 по сравнению с контрольной группой.

На фиг. 11А-11С приводится сравнение эффекта различных конструкций AAV scFv к FAM19A5 отдельно или в комбинации с другим терапевтическим средством. На фиг. 11А, животные получали одно из следующего: (i) scAAV1-CMV-GFP (незакрашенный кружок); (ii) scAAV1-CMV-3-2-ScFv (закрашенный кружок); (iii) scAAV9-CMV-mIL-10 (незакрашенный квадрат); (iv) scAAV1-CMV-3-2-ScFv + scAAV9-CMV-mIL-10 (закрашенный квадрат). На фиг. 11В, животные получали одно из следующего: (i) scAAV9-CMV-GFP (незакрашенный кружок); (ii) scAAV9-CMV-2-13-ScFv (закрашенный кружок); (iii) scAAV9-CMV-mIL-10 (незакрашенный квадрат); (iv) scAAV9-CMV-2-13-ScFv+scAAV9-CMV-mIL-10 (закрашенный квадрат). На фиг. 11С, животные получали одно из следующего: (i) scAAV9-CMV-GFP (незакрашенный кружок); (ii) scAAV9-CMV-1-30-ScFv (закрашенный кружок); (iii) scAAV9-CMV-mIL-10 (незакрашенный квадрат); (iv) scAAV9-CMV-1-30-ScFv + scAAV9-CMV-mIL-10 (закрашенный квадрат). "*" обозначает статистическую значимость p меньше 0,05 по сравнению с контрольной группой.

Подробное описание изобретения

В настоящем документе раскрыты композиции, например, вектор на основе аденоассоциированного вируса (AAV), содержащий нуклеиновую кислоту, которая кодирует антагонист против белка члена A5 семейства со сходством последовательностей 19 (FAM19A5). В настоящем документе также предусмотрены способы использования таких композиций в качестве генной терапии для лечения заболевания или нарушения, например, невропатической боли.

Для облегчения понимания настоящего изобретения, предусмотренного в данном документе, представлен ряд терминов и фраз. Дополнительные определения приведены в подробном описании.

I. Определения.

На протяжении всего данного описания термин в форме единственного числа сущности относится к одному или более таких сущностей; например, "антитело" понимают как одно или более антител. Как такие, термины в форме единственного числа, "одно или более" и "по меньшей мере одно" могут быть использованы взаимозаменяемо в данном документе.

Кроме того, "и/или" в том смысле, в котором они используются в данном документе, следует понимать как конкретное раскрытие каждого из двух указанных признаков или компонентов с другим или без него. Таким образом предполагается, что термин "и/или", используемый во фразе, такой как "А и/или В", в данном документе включает "А и В", "А или В", "А" (отдельно) и "В" (отдельно). Также предполагается, что термин "и/или", используемый во фразе, такой как "А, В и/или С", охватывает каждый из следующих аспектов: А, В и С; А, В или С; А или С; А или В; В или С; А и С; А и В; В и С; А (отдельно); В (отдельно); и С (отдельно). Понятно, что везде, где аспекты описаны в данном документе с формулировкой "содержащий", в других случаях также предусмотрены аналогичные аспекты, описанные в терминах "состоящий из" и/или "состоящий практически из".

Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в данном документе, имеют такое же значение, как общедоступное обычному специалисту в области техники, к которой относится данное изобретение. Например, the Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 2nd ed., 2002, CRC Press; The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 3rd ed., 1999, Academic Press and the Oxford Dictionary Of Biochemistry and Molecular Biology, Revised, 2000, Oxford University Press предоставляют специалисту общий словарь многих терминов, используемых в данном описании.

Единицы, префиксы и символы обозначаются в принятой форме Международной системы единиц (SI). Числовые диапазоны включают числа, определяющие диапазон. Если не указано иное, аминокислотные последовательности пишутся слева направо в аминокарбоксо-ориентации. Заголовки, предусмотренные в данном документе, не являются ограничениями различных аспектов изобретения, которые могут быть получены со ссылкой на описание в целом. Соответственно, термины, определенные непосредственно ниже, более полно определены посредством ссылки на описание во всей его полноте.

Термин "приблизительно" используется в данном документе для обозначения приблизительно, ориентировочно, приблизительно или в области. Когда термин "приблизительно" используется в сочетании с числовым диапазоном, он изменяет этот диапазон, расширяя границы выше и ниже изложенных числовых значений. Как правило, термин "приблизительно" может изменять числовое значение выше и ниже заявленного значения с отклонением, например, на 10 процентов, вверх или вниз (выше или ниже).

Как используется в данном документе термин "аденоассоциированный вирус" или "AAV" относится ко всем аденоассоциированным вирусам, которые используются в генной терапии, включая их произ-

водные, подтипы вирусов, а также встречающиеся в природе и рекомбинантные формы. Различные серотипы AAV можно использовать в качестве рекомбинантных вирусов-переносчиков генов для трансдукции многих различных типов клеток. Неограничивающие примеры серотипов AAV включают AAV типа 1 (AAV-1), AAV типа 2 (AAV-2), AAV типа 3 (AAV-3), AAV типа 4 (AAV-4), AAV типа 5 (AAV-5), AAV типа 6 (AAV-6), AAV типа 7 (AAV-7), AAV типа 8 (AAV-8), AAV типа 9 (AAV-9), AAV птицы, AAV крупного рогатого скота, AAV собаки, AAV лошади, AAV приматов, AAV неприматов и AAV овец. В некоторых вариантах воплощения, AAV представляет собой AAV типа 8 (AAV-8) или AAV типа 9 (AAV-9). Геномная организация всех известных серотипов AAV очень похожа. Геном AAV представляет собой линейную одноцепочечную молекулу ДНК, длина которой составляет менее приблизительно 5000 нуклеотидов (нт). Геном включает три гена: гер (репликация), сар (капсид) и аар (сборка). Эти три гена дают начало по меньшей мере девяти генным продуктам за счет использования трех промоторов, альтернативных сайтов старта трансляции и дифференциального сплайсинга. Векторы AAV по настоящему изобретению могут включать дополнительные элементы, которые функционируют в цис-или транс-конфигурации. В конкретных вариантах воплощения, вектор AAV, который содержит векторный геном, также имеет одну или более последовательностей инвертированных концевых повторов (ITR), фланкирующих 5' или 3' конец донорной последовательности; элемент контроля экспрессии, который управляет транскрипцией (например, промотор или энхансер) донорной последовательности, такой как конститутивный или регулируемый элемент контроля, тканеспецифический элемент контроля экспрессии, последовательность интрона, последовательность полинуклеотида-вкладки или наполнителя; и/или полиадениновую последовательность, расположенную на 3'-позиции донорной последовательности.

AAV обладает уникальными свойствами, которые делают его привлекательным в качестве вектора для доставки чужеродной ДНК в клетки. Заражение AAV клеток в культуре обычно не является цитопатическим, а естественное инфицирование людей и других животных протекает незаметно и бессимптомно. Более того, AAV инфицирует множество различных типов клеток млекопитающих, что дает возможность воздействовать на многие различные ткани *in vivo*. AAV также обладают дополнительными преимуществами, которые делают его особенно привлекательной вирусной системой для доставки генов, включая стимулирование более мягкого иммунного ответа по сравнению с другими формами доставки генов и устойчивую экспрессию как в делящихся, так и в покоящихся клетках в качестве неинтегрирующегося вектора. Кроме того, AAV выдерживает условия, используемые для инактивации аденовируса (от 56° до 65°C в течение нескольких часов), что делает холодную консервацию вакцин на основе гAAV менее критичной. В некоторых вариантах воплощения, AAV по настоящему изобретению содержит одну или более из этих функций. Термин "вектор AAV", используемый в данном документе, относится к любому вектору, который включает или происходит из компонентов аденоассоциированного вируса (AAV) и подходит для инфицирования клеток млекопитающих, включая клетки человека, любого из ряда типов тканей, таких как мозг, сердце, легкие, скелетные мышцы, печень, почки, селезенка или поджелудочная железа, *in vitro* или *in vivo*. Термин "вектор AAV" может использоваться для обозначения вирусной частицы (или вириона) типа AAV, содержащей по меньшей мере молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую представляющий интерес белок. В некоторых вариантах воплощения, вектор AAV представляет собой "рекомбинантный вектор AAV", который относится к вектору AAV, содержащему полинуклеотидную последовательность, которая происходит не от AAV (т.е. полинуклеотид, гетерологичный AAV, например, антитело к FAM19A5), при этом обычно последовательность представляет интерес для генетической трансформации клетки. Как правило, гетерологичный полинуклеотид фланкирован по меньшей мере одной, а в общем двумя последовательностями инвертированных концевых повторов AAV (ITR). Термин "вектор AAV" охватывает как векторные частицы AAV, так и векторные плазмиды AAV.

В контексте данного документа, термин "ITR" относится к инвертированным концевым повторам. Как правило, ITR участвуют в репликации ДНК парвовируса (например, AAV) и освобождении или вырезании из прокариотических плазмид (Daya, S., et al., Clin Microbiol Rev 21 (4): 583-593 (2008)). Кроме того, ITR обычно считаются минимальными последовательностями, необходимыми для интеграции про-вирусов AAV и для упаковки ДНК AAV в вирионы. Соответственно, эти элементы необходимы для эффективного размножения генома парвовируса.

В контексте данного документа, термин "серотип" относится к подтипу AAV, который идентифицируется способами серологического или ДНК-секвенирования и может отличаться по его антигенному характеру. Кроме того, термин "изолят", когда он используется по отношению к AAV, означает конкретный серотип AAV, полученный из определенного источника. Квалифицированный специалист легко распознает разницу между "выделенным AAV", который относится к относительной чистоте образца AAV, и "изолятом AAV", который относится к клонально полученному препарату определенного серотипа AAV, на основе контекста, в котором термин используется.

Термин "без капсида" или "не содержащий капсида" (или их варианты) вектор или молекула нуклеиновой кислоты относится к векторной конструкции без капсида. В некоторых вариантах воплощения, вектор, не содержащий капсида, или молекула нуклеиновой кислоты не содержит последовательностей, кодирующих, например, белок Rep AAV. В некоторых вариантах воплощения, AAV, описанный в настоящем документе, реплицируется с использованием вспомогательного вируса. Используемый в данном

документе термин "вирус-помощник" для AAV относится к вирусу, который позволяет AAV (например, AAV дикого типа) реплицироваться и упаковываться клеткой млекопитающего. В данной области техники известно множество таких вспомогательных вирусов для AAV, включая аденовирусы, герпесвирусы и поксвирусы, такие как вирус коровьей оспы. Аденовирусы включают ряд различных подгрупп, хотя чаще всего используется аденовирус 5 типа из подгруппы С. Известно множество аденовирусов человека, млекопитающих, не являющихся человеком, и птиц, которые доступны в депозитариях, таких как АТСС. К вирусам семейства герпеса относятся, например, вирусы простого герпеса (HSV) и вирусы Эпштейна-Барра (EBV), а также цитомегаловирусы (CMV) и вирусы псевдобешенства (PRV); которые также доступны в депозитариях, таких как АТСС.

В некоторых вариантах воплощения, AAV по настоящему изобретению обладает различными способностями нацеливания на ткани (например, тканевые тропизмы). В некоторых вариантах воплощения, AAV дополнительно демонстрируют повышенную трансдукцию или тропизм в одном или более типах стволовых клеток человека по сравнению с невариантными родительскими полипептидами капсида. В некоторых вариантах воплощения, типы стволовых клеток человека включают, но не ограничиваются ими, эмбриональные стволовые клетки, стволовые клетки взрослой ткани (т.е. соматические стволовые клетки), костный мозг, клетки-предшественники, индуцированные плюрипотентные стволовые клетки и репрограммированные стволовые клетки. В некоторых вариантах воплощения, зрелые стволовые клетки могут включать органоидные стволовые клетки (т.е. стволовые клетки, полученные из любого интересующего органа или системы органов в организме). В некоторых вариантах воплощения, целевая ткань AAV представляет собой гонаду, диафрагму, сердце, желудок, печень, селезенку, поджелудочную железу или почки. В некоторых вариантах воплощения, целевые органы тела для AAV включают, без ограничения, кожу, волосы, ногти, сенсорные рецепторы, потовую железу, слюнные железы, кости, мышцы, головной мозг, спинной мозг, нерв, гипофиз, шишковидную железу, гипоталамус, щитовидную железу, паращитовидную железу, тимус, надпочечники, поджелудочную железу (островковая ткань), сердце, кровеносные сосуды, лимфатические узлы, лимфатические сосуды, тимус, селезенку, миндалины, нос, глотку, гортань, трахею, бронхи, легкие, рот, глотку, пищевод, желудок, тонкий кишечник, толстый кишечник, прямую кишку, анальный канал, зубы, слюнные железы, язык, печень, желчный пузырь, поджелудочную железу, аппендикс, почки, мочеточники, мочевой пузырь, уретру, яички, проток (семявыносящие протоки), уретру, простату, половой член, мошонку, яичники, матку, маточные (фаллопиевы) трубы, влагалище, вульву и молочные железы (груди). Системы органов тела включают, но не ограничиваются ими, систему кровеносных сосудов, скелетную систему, мышечную систему, нервную систему, эндокринную систему, сердечно-сосудистую систему, лимфатическую систему, дыхательную систему, пищеварительную систему, мочевыделительную систему и репродуктивную систему. В некоторых вариантах воплощения, трансдукция и/или тропизм увеличиваются на приблизительно 5%, приблизительно 10%, приблизительно 15%, приблизительно 20%, приблизительно 25%, приблизительно 30%, приблизительно 35%, приблизительно 40%, приблизительно 45%, приблизительно 50%, приблизительно 55%, приблизительно 60%, приблизительно 65%, приблизительно 70%, приблизительно 75%, приблизительно 80%, приблизительно 85%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 99% или приблизительно 100%. В некоторых вариантах воплощения, трансдукция и/или тропизм увеличиваются на от приблизительно 5% до приблизительно 80%, от приблизительно 10% до приблизительно 70%, от приблизительно 20% до приблизительно 60% или от приблизительно 30% до приблизительно 60%.

Фразы "тропизм" и "трансдукция" взаимосвязаны, но есть различия. Используемый в данном документе термин "тропизм" относится к способности вектора или вириона AAV инфицировать один или более определенных типов клеток, но также может охватывать то, как вектор функционирует для трансдукции клетки в одном или более определенных типов клеток; т.е. тропизм относится к предпочтительному проникновению вектора или вириона AAV в определенные клетки или типы тканей и/или предпочтительному взаимодействию с поверхностью клетки, которое облегчает проникновение в определенные типы клеток или тканей, необязательно и предпочтительно с последующей экспрессией (например, транскрипция и, необязательно, трансляция) последовательностей, переносимых вектором AAV или вирионом в клетке, например, для рекомбинантного вируса, экспрессия гетерологичной нуклеотидной последовательности (ей). Используемый в данном документе термин "трансдукция" относится к способности вектора или вириона AAV инфицировать один или более конкретных типов клеток; т.е. трансдукция относится к проникновению вектора или вириона AAV в клетку и переносу генетического материала, содержащегося в векторе AAV или вирионе, в клетку для получения экспрессии из генома вектора. В некоторых случаях, но не во всех, трансдукция и тропизм могут коррелировать. В контексте данного документа, термин "множественность инфекции" или "МОИ" относится к соотношению интегрирующих векторов: клеткам-хозяевам, используемым во время трансфекции или трансдукции клеток-хозяев. Например, если 1 000 000 векторов используются для трансдукции 100 000 клеток-хозяев, множественность инфекции составляет 10. Использование этого термина не ограничивается событиями, включающими трансдукцию, но вместо этого охватывает введение вектора в хозяина такими способами, как липофекция, микроинъекция, осаждение фосфатом кальция и электропорация. Термин "невропатическая боль" относится к боли из-за повреждения, поражения и/или неправильной функции, влияющей на любой уро-

вень центральной нервной системы (ЦНС) и/или периферической нервной системы. Термин "невропатическая боль" включает любой и все типы невропатической боли независимо от причины и любые без исключения симптомы невропатической боли.

Невропатическая боль включает центральную невропатическую боль и периферическую невропатическую боль. Используемый в данном документе термин "центральная невропатическая боль" относится к боли, возникающей в результате нарушения, врожденного дефекта или повреждения центральной нервной системы (то есть головного или спинного мозга). Используемый в данном документе термин "периферическая невропатическая боль" относится к боли, возникающей в результате повреждения или инфекции периферических сенсорных нервов.

Симптомы невропатической боли могут включать постоянную/хроническую боль, спонтанную боль, а также аллодинию (например, болезненный ответ на раздражитель, который обычно не является болезненным), гипералгезию (например, усиленный ответ на болезненный раздражитель, который обычно вызывает только легкий дискомфорт, такой как укол булавки), гиперестезия (например, чрезмерная физическая чувствительность к раздражителям, особенно кожи) или гиперпатия (например, когда кратковременный дискомфорт превращается в продолжительную сильную боль). В некоторых вариантах воплощения, симптомы могут быть длительными и сохраняться после устранения основной причины, если она присутствовала. Руководство Merck Manual, Neuropathic Pain, доступно по адресу merckmanuals.com/professional/neurologic-disorders/pain/neuropathic-pain; Campbell J.N. and Meyer R.A. Neuron 52(1): 77-92 (2006).

В некоторых вариантах воплощения, типы невропатической боли могут включать: (1) невралгию, (2) болевой синдром деафферентации, (3) комплексный региональный болевой синдром (CRPS) и (4) нейропатию (центральную или периферическую).

В некоторых вариантах воплощения, невропатическая боль представляет собой невралгию, которая относится к боли, которая исходит по ходу одного или более конкретных нервов (например, черепных нервов), обычно без каких-либо видимых патологических изменений в структуре нервов. Невралгия включает, без ограничения, невралгию тройничного нерва (TN), атипичную невралгию тройничного нерва (ATN), затылочную невралгию, языкоглоточную невралгию, постгерпетическую невралгию (вызванную опоясывающим лишаем или герпесом), боль при повреждении периферического нерва, радикулит, боль в пояснице и атипичную лицевую боль. Химическое раздражение, хроническое заболевание почек, диабет, воспаление, травма (включая хирургическое вмешательство), сдавление нервов соседними структурами (например, опухолью), некоторые лекарства (например, цисплатин, паклитаксел или винкристин), порфирия (заболевание крови), и инфекции [например, герпес зостер (опоясывающий лишай), ВИЧ/СПИД, болезнь Лайма или сифилис] могут привести к невралгии. В некоторых вариантах воплощения, невропатическая боль представляет собой болевой синдром деафферентации, который может быть результатом потери сенсорного ввода от части тела (например, вызванного прерыванием либо периферических сенсорных волокон, либо нервов центральной нервной системы). Болевой синдром деафферентации включает, без ограничения, повреждение головного или спинного мозга, постинсультную боль, фантомную боль, параплегию, повреждение разрыва плечевого сплетения и поясничные радикулопатии.

В некоторых вариантах воплощения, невропатическая боль представляет собой "комплексный регионарный болевой синдром" (CRPS), который представляет собой состояние хронической боли, которое наиболее часто поражает руку или ногу. В некоторых вариантах воплощения, CRPS развивается после повреждения, хирургического вмешательства, инсульта или инфаркта миокарда. В некоторых вариантах воплощения, CRPS представляет собой CRPS типа I (CRPS-I) (также известный как синдром рефлекторной симпатической дистрофии). Лица без подтвержденного повреждения нерва часто классифицируются как страдающие CRPS-I. В других вариантах воплощения, CRPS представляет собой CRPS типа II (CRPS-II) (также известный как каузалгия), который связан с подтвержденным повреждением нерва.

В некоторых вариантах воплощения, невропатическая боль представляет собой невропатию, которая относится к боли, возникающей в результате функционального или патологического изменения (например, заболевания или поражения) в нерве. Клинически невропатия часто характеризуется аномалиями сенсорных или двигательных нейронов. В некоторых вариантах воплощения, невропатия представляет собой центральную невропатию (например, функциональное или патологическое изменение центральной нервной системы). В других вариантах воплощения, невропатия представляет собой периферическую невропатию (например, функциональное или патологическое изменение одного или более периферических нервов, включая двигательный нерв, сенсорный нерв, вегетативный нерв или их комбинацию). В некоторых вариантах воплощения, периферическая невропатия включает функциональное или патологическое изменение одного нерва или нервной группы (то есть мононевропатию). В некоторых вариантах воплощения, периферическая невропатия включает функциональное или патологическое изменение, затрагивающее несколько нервов (локально или системно) (т.е. полинейропатию). В некоторых вариантах воплощения, периферическая невропатия приблизительно одинаково влияет на обе стороны тела (т.е. симметричная полинейропатия). В некоторых вариантах воплощения, периферическая невропатия влияет на разные участки тела (например, множественный мононеврит, мультифокальная мононевропатия или множественная мононевропатия). В контексте данного документа, термин "мононевропа-

тия" представляет собой периферическую невропатию, включающую потерю движения или чувствительности в области, вызванную поражением или разрушением одного периферического нерва или группы нервов. Мононевропатия чаще всего вызвана повреждением или травмой локального участка, что, например, приводит к длительному давлению/сжатию одного нерва. Однако некоторые системные заболевания (например, множественный мононеврит) также могут вызывать мононевропатию. В определенном варианте воплощения, повреждение или травма локального участка вызывает разрушение миелиновой оболочки (покрытия) нерва или части нервной клетки (аксона), что может замедлять или препятствовать прохождению импульсов по нерву. В определенном варианте воплощения, мононевропатия может поражать любую часть тела. Примеры мононевропатической боли включают: без ограничения, дисфункцию седалищного нерва, общую дисфункцию малоберцового нерва, дисфункцию лучевого нерва, дисфункцию локтевого нерва, черепную мононевропатию VI, черепную мононевропатию VII, краниальную мононевропатию III (компрессионного типа), черепную мононевропатию III (диабетический тип), дисфункцию подмышечного нерва, синдром запястного канала, дисфункцию бедренного нерва, дисфункцию большеберцового нерва, паралич Белла, синдром грудного выхода, синдром запястного канала и паралич шестого (отводящего) нерва. Finnerup N. B. et al., Pain 157(8): 1599-1606 (2016); National Institute of Neurological Disorders and Stroke, Peripheral Neuropathy Fact Sheet, доступно по адресу ninds.nih.gov/disorders/peripheralneuropathy/detail_peripheralneuropathy.htm. В некоторых вариантах воплощения, мононевропатическая боль представляет собой ишиас.

Используемый в данном документе термин "полиневропатия" представляет собой периферическую невропатию, включающую потерю движения или чувствительности в области, вызванную поражением или разрушением нескольких периферических нервов. Полинейропатическая боль включает, без ограничения, постполиомиелитный синдром, постмастэктомический синдром, диабетическую невропатию, алкогольную невропатию, амилоид, токсины, СПИД, гипотиреоз, уремию, дефицит витаминов, боль, вызванную химиотерапией, лечением 2',3'-дидексоцитидином (ddC), синдром Гийена-Барре или болезнь Фабри. Finnerup N. B. et al., Pain 157(8): 1599-1606 (2016); National Institute of Neurological Disorders and Stroke, Peripheral Neuropathy Fact Sheet, доступно по адресу ninds.nih.gov/disorders/peripheralneuropathy/detail_peripheralneuropathy.htm. В некоторых вариантах воплощения, полинейропатия представляет собой диабетическую периферическую нейропатию. В некоторых вариантах воплощения, диабетическая периферическая нейропатия вызвана высоким уровнем глюкозы в крови (сахар в крови) и/или высоким уровнем жира (например, триглицеридов) в крови диабетических субъектов, что вызывает поражение периферических нервов субъекта.

В некоторых вариантах воплощения, описанная в данном документе периферическая невропатия может быть классифицирована на основе части нервной клетки, которая поражена или затронута (например, аксон, миелиновая оболочка или тело клетки). В некоторых вариантах воплощения, периферическая невропатия представляет собой дистальную аксонопатию, которая возникает в результате метаболического или токсического нарушения аксонов. В некоторых вариантах воплощения, метаболическое нарушение включает диабет, почечную недостаточность, синдромы дефицита, такие как недоедание и алкоголизм. В некоторых вариантах воплощения, метаболическое нарушение представляет собой диабет, а дистальная аксонопатия представляет собой диабетическую невропатию. В некоторых вариантах воплощения, периферическая невропатия представляет собой миелинопатию, которая возникает в результате первичной атаки на миелин или миелинизирующие шванновские клетки, вызывая острую недостаточность проведения импульса. Наиболее частой причиной является острая воспалительная демиелинизирующая полинейропатия (AIDP; он же синдром Гийена-Барре), хотя другие причины включают хронический воспалительный демиелинизирующий синдром (CIDP), генетические нарушения обмена веществ (например, лейкодиетрофию) или токсины. В некоторых вариантах воплощения, периферическая невропатия представляет собой нейронопатию, которая возникает из-за разрушения нейронов периферической нервной системы (ПНС). В некоторых вариантах воплощения, нейронопатия вызвана заболеваниями двигательных нейронов, сенсорными нейропатиями (например, опоясывающим герпесом), токсинами или вегетативной дисфункцией. В некоторых вариантах воплощения, нейронопатия вызвана нейротоксинами, такими как химиотерапевтическое средство винкристин.

Невропатическая боль может быть результатом или быть связана с различной этиологией (например, физическим повреждением (например, травмой или повторяющимся стрессом), заболеванием или нарушением, воздействием токсичного средства или их комбинацией). В некоторых вариантах воплощения, невропатическая боль возникает в результате или связана с травматическим повреждением или поражением, таким как, например, повреждение со сдавливанием нерва (например, разможнение нерва, растяжение нерва, ущемление нерва или неполное рассечение нерва); повреждение спинного мозга (например, гемисекция спинного мозга); повреждение или поражение периферического нерва (например, двигательного нерва, сенсорного нерва или вегетативного нерва, или их комбинация), ампутация конечности; ушиб; воспаление (например, воспаление спинного мозга); или хирургическая процедура. В некоторых вариантах воплощения, невропатическая боль возникает в результате повторяющегося стресса или связана с ним, включая, например, повторяющиеся, неловкие и/или принудительные действия, требующие движения любой группы суставов в течение продолжительных периодов времени. Не привязываясь

к какой-либо теории, возникающее в результате раздражение может вызвать воспаление и отек связок, сухожилий и мышц, сужая узкие каналы, по которым проходят нервы (например, локтевая невропатия и синдром запястного канала, которые представляют собой невропатию из-за защемления или сжатия нервов в локте или запястье). В некоторых вариантах воплощения, невропатическая боль является результатом или связана с заболеванием или нарушением, включая, например, ишемическое событие (например, инсульт или инфаркт миокарда), рассеянный склероз, метаболическое и/или эндокринное заболевание или нарушение (например, сахарный диабет, метаболическое заболевание и акромегалию, состояние, вызванное чрезмерной выработкой гормона роста и характеризующееся аномальным увеличением частей скелета, включая суставы, что приводит к защемлению нерва и боли), заболевание мелких сосудов, которое вызывает снижение поступления кислорода к периферическим нервам, что приводит к поражению нервной ткани (например, васкулит, а именно воспаление кровеносных сосудов), аутоиммунное заболевание (например, синдром Шегрена, волчанка, ревматоидный артрит и острая воспалительная демиелинизирующая невропатия, также известная как синдром Гийена-Барре), нарушение почек, рак или опухоль (например, неопластическая опухоль, невриномы, паранеопластические синдромы и токсичность химиотерапевтических средств и облучение при раковых заболеваниях), инфекцию (например, инфекции, вызываемые такими вирусами, как герпес ветряной оспы (опоясывающий лишай), вирус Эпштейна-Барра, вирус Западного Нила, цитомегаловирус и вирусы простого герпеса, синдром приобретенного иммунодефицита (СПИД) или бактериями, такими как болезнь Лайма, дифтерия и проказа), воспалительное нарушение, нарушение периферических нервов (например, неврома), генетическое нарушение, наследственное или возникающее *de novo* (например, расстройства Шарко-Мари-Тута включают крайнее ослабление и истощение мышц в голени и ступни, аномалии походки, потерю сухожильных рефлексов и онемение нижних конечностей), мононевропатию или полинейропатию. В некоторых вариантах воплощения, невропатическая боль возникает в результате или связана с инфекционным агентом (например, клещевой инфекцией, герпесом ветряной оспы, вирусом Эпштейна-Барра, вирусом Западного Нила, цитомегаловирусом, вирусами простого герпеса, СПИДом). В некоторых вариантах воплощения, невропатическая боль возникает в результате или связана с воздействием токсичного агента, включая, например, лекарство, алкоголь, тяжелый металл (например, свинец, мышьяк, ртуть), промышленный агент (например, растворитель, пары клея) или закись азота.

Термин "невропатическая боль, связанная с" заболеванием или нарушением относится к невропатической боли, которая сопровождает заболевание или нарушение (например, описанные в данном документе), или вызвана или является результатом заболевания или нарушения (например, описанных в данном документе).

Термины "лечить", "лечение" и "терапия", используемые в данном документе, относятся к любому типу вмешательства или выполняемого процесса, или вводимого активного средства субъекту с целью устранить, облегчить, улучшить, ингибировать или же замедлить либо предотвратить прогрессирование, развитие, тяжесть или рецидив симптома, осложнения, состояния или биохимических признаков, связанных с заболеванием. Лечение может быть лечением субъекта, имеющего заболевание, или субъекта, у которого нет заболевания (например, для профилактики). В контексте данного документа, термин "введение" относится к физическому введению терапевтического средства или композиции, содержащей терапевтическое средство, субъекту с использованием любого из различных способов и систем доставки, известных специалистам в данной области техники. Предпочтительные пути введения антител, описанные в данном документе, включают внутривенный, внутрибрюшинный, внутримышечный, подкожный, спинальный, интравитреальный или другие парентеральные пути введения, например, путем инъекции или инфузии. Фраза "парентеральное введение", используемая в данном документе, означает способы введения, отличные от энтерального и местного введения, обычно путем инъекции, и включает, без ограничения, внутривенную, внутрибрюшинную, внутримышечную, внутриартериальную, интратекальную, внутрилимфатическую, внутриочаговую, внутрикапсулярную, интраорбитальную, внутрисердечную, внутрикожную, транстрахеальную, подкожную, субкутикулярную, интравитреальную, внутрисуставную, субкапсулярную, субарахноидальную, интраспинальную, эпидуральную и интрастернальную инъекцию и инфузию, а также электропорацию *in vivo*. В качестве альтернативы антителу, описанное в данном документе, может быть введено непарентеральным путем, таким как местный, эпидермальный путь или путь введения через слизистую, например, интраназально, перорально, вагинально, ректально, сублингвально или местно. Введение также может быть выполнено, например, один раз, множество раз и/или в течение одного или более продолжительных периодов. В контексте данного документа, термин "терапевтически эффективное количество" относится к количеству лекарственного средства, отдельно или в комбинации с другим терапевтическим средством, эффективным для "лечения" заболевания или нарушения у субъекта или уменьшения риска, потенциала, возможности или возникновения заболевания или нарушения (например, невропатической боли). "Терапевтически эффективное количество" включает количество лекарственного средства или терапевтического средства, которое обеспечивает некоторое улучшение или пользу субъекту, имеющему или подверженному риску иметь заболевание или нарушение (например, невропатическую боль, описанную в данном документе). Таким образом, "терапевтически эффективное" количество представляет собой количество, которое уменьшает риск, потенциал, веро-

ятность или возникновение заболевания, или предусматривает облегчение, смягчение нарушения или подобного состояния и/или уменьшает по меньшей мере один показатель (например, невропатическую боль), и/или уменьшает по меньшей мере один клинический симптом заболевания или расстройства. Используемый в данном документе термин "субъект" включает как человека, так и животного, не являющегося человеком. Термин "животное, не являющееся человеком" включает всех позвоночных животных, например млекопитающих и не млекопитающих, таких как приматы, не являющиеся человеком, овцы, собаки, коровы, цыплята, земноводные, рептилии и т.д. Термин "член A5 семейства со сходством последовательностей 19" или "FAM19A5" относится к белку, который принадлежит семейству TAFAs (также известному как семейство FAM19) из пяти высокоомологичных белков и преимущественно экспрессируется в головном и спинном мозге. FAM19A5 также известен как TAFAs или хемокин-подобный белок TAFAs-5. У людей ген, кодирующий FAM19A5, находится на хромосоме 22. Существует несколько человеческих изоформ FAM19A5 (UniProt: Q7Z5A7), которые предположительно образуются путем альтернативного сплайсинга: изоформа 1 (UniProt: Q7Z5A7-1), которая состоит из 132 аминокислот, изоформа 2 (UniProt: Q7Z5A7-2), которая состоит из 125 аминокислот, и изоформа 3 (UniProt: Q7Z5A7-3), которая состоит из 53 аминокислот. Предполагают, что человеческий белок FAM19A5 существует в виде как мембраносвязанных, так и растворимых (секретируемых) форм. Предполагают, что изоформа 1 является мембраной с одной трансмембранной областью. Изоформа 2, о которой сообщалось в Tang T.Y. et al., Genomics 83(4):727-34 (2004) в виде секретируемого белка (растворимого), содержит сигнальный пептид в положениях аминокислот 1-25. Предполагают, что изоформа 1 является мембраносвязанным белком. Ниже приведены аминокислотные последовательности трех известных человеческих изоформ FAM19A5.

(I) Изоформа 1 (UniProt: Q7Z5A7-1, трансмембранный белок): эта изоформа была выбрана в качестве канонической последовательности. MAPSPRTGSR QDATAALPSMS STFWAFMILA SLLIAYCSQL AAGTCEIVTL DRDSSQPRRT IARQTARCAC RKGQIAGTTR ARPACVDARI IKTKQWCDML PCLEGECDL LINRSGWTCT QPGGRIKTTT VS (SEQ ID NO: 1).

(II) Изоформа 2 (UniProt: Q7Z5A7-2, растворимый белок): MQLLKALWAL AGAALCCFLV LVIHAQFLKE GQLAAGTCEI VTLDRDSSQP RRTIARQTAR CACRKGQIAG TTRARPACVD ARIIKTKQWC DMLPCLEGECDLLINRSGW TCTQPGGRIK TTTVS (SEQ ID NO: 2).

(III) Изоформа 3 (UniProt: Q7Z5A7-3): MYNHREWPAR IKTKQWCDM LPCLEGECD LLINRSGWTC TQPGGRIKTT TVS (SEQ ID NO: 3).

Термин "FAM19A5" включает любые варианты или изоформы FAM19A5, которые в естественных условиях экспрессируются клетками. Соответственно, антитела, описанные в данном документе, могут перекрестно реагировать с разными изоформами одного и того же вида (например, разные изоформы человеческого FAM19A5) или перекрестно реагировать с FAM19A5 видов, отличных от человека (например, мышинный FAM19A5). В качестве альтернативы антитела могут быть специфичными для человеческого FAM19A5 и не могут проявлять перекрестную реактивность с другими видами. FAM19A5 или любые варианты и его изоформы могут быть выделены из клеток или тканей, которые их экспрессируют в естественных условиях, или могут быть получены рекомбинантно. Полинуклеотид, кодирующий человеческий FAM19A5, имеет номер доступа GenBank BC039396 и следующую последовательность.

Таблица 1А

Полинуклеотидная последовательность человеческого FAM19A5	
Полинуклеотидная последовательность (SEQ ID NO: 4)	
FAM19A5 (Номер доступа GenBank BC039396)	<pre> ggcggcggag gatggcgcgc gcggggcccg cacgtggagg ccggcgcggg ggcgcgggca gggccggctg ctgagacgcg ctgctgcccc ccgcgcgggc ggcgcggctt caatggcgcc atcgcccagg accggcagcc ggcgaagatgc gaccgcctcg cccagcatgt cctcaacttt ctggggcgttc atgatcctgg ccagcctgct catcgcctac tgcagtcagc tggccgcggg cacctgtgag atgtgacct tggaccggga cagcagccag cctcggagga cgatcgcccg gcagaccgcc cgctgtgctg gtagaaagg gcatatcgcc ggcaccacga gagcccgccc cgcctgtgtg gacgcaagaa tcatcaagac caagcagtgg tgtgacatgc ttccgtgtct ggagggggaa ggctgcgact tghtaatcaa ccgggtcaggc tggacgtgca cgcagcccgg cgggaggata aagaccacca cggctctcctg acaaacacag cccctgaggg gcccccggga gtggccttgg tcctctggag agcccacgtc tcagccacag ttctccactc gcctcggagt tcacccgctt tctgcccggc gcccaactccg ttccctctgt gtcctgtaag gacggcctca ggccttgcca tctctgagctt cggctctgtcc agccgaccgg aggaggcccg actcagacac ataggcgggg ggcggcacct ggcacatagca atacgcagtc tgtgggagcc cggccgcggc cagccccccg cgaccgtggc gttggccctg ctgtcctcag aggaggagga ggaggaggca gctccggcag ccacagaagg ctgcagccca gcccgctgga gacacgacgc ctgccccagg ggactgtcag gcaacagaagc ggcctcctcc cgtgccccag actgtcccga ttgcttttat tttcttatac tttcagtata ctccatagac caaagagcaa aatctatctg aacctggacg caccctcact gtcagggtcc ctgggggtcg ttgtgcgggc gggaggggcaa tgggtggcaga gacatgctgg tggccccggc ggagcggaga gggcggccgt ggtggaggcc tccaccccag gagcaccgcc cacaccctcg gaggacgggc ttccgctgcg cggaggccgt ggcacactcg cgggaggcag cgcagggccc cagcagacg ccgggaacgc agggcgcttt attcctctgt acttagatca acttgaccgt actaaatcc cttctgtttt taaccagtta aacatgcctc ttctacagct ccatttttga tagttggata atccagtatc tgccaagagc atgttgggtc tcccgtgact gctgcctcat cgatacccca tttagctcca gaaagcaaag aaaactcgag taacacttgt ttgaaagaga tcattaaatg tattttgcaa agcccaaaaa aaaaaaaaaa a </pre>

Термин "антагонист против белка FAM19A5" относится ко всем антагонистам, которые подавляют экспрессию белка FAM19A5. Такой антагонист может быть пептидом, нуклеиновой кислотой или соединением. Конкретнее, антагонист может быть антисмысловым олигонуклеотидом, миРНК, короткошпилечной РНК, микроРНК, двухцепочечной РНК, аптамером, PNA (пептидная нуклеиновая кислота), нацеленными на FAM19A5, или вектором, включающим то же самое. В некоторых вариантах воплощения, антагонист может представлять собой антитело или его антигенсвязывающую часть, которая специфически связывается с белком FAM19A5.

Термины "антитело" и "антитела" являются терминами уровня техники и могут использоваться в данном документе взаимозаменяемо и относятся к молекуле с антигенсвязывающим сайтом, который специфически связывает антиген. Используемые в данном документе термины включают цельные антитела и любые антигенсвязывающие фрагменты (то есть "антигенсвязывающие части") или их отдельные цепи. "Антитело", в некоторых вариантах воплощения, относится к гликопротеину, содержащему по меньшей мере две тяжелые (H) цепи и две легкие (L) цепи, связанные между собой дисульфидными связями, или их антигенсвязывающую часть. В других вариантах воплощения, "антитело" относится к отдельной цепи антитела, содержащей единственный вариабельный домен, например, домен VH. Каждая тяжелая цепь состоит из вариабельной области тяжелой цепи (сокращенно в данном документе как VH) и константной области тяжелой цепи. В некоторых антителах природного происхождения константная область тяжелой цепи состоит из трех доменов, CH1, CH2 и CH3. В некоторых антителах природного происхождения каждая легкая цепь состоит из вариабельной области легкой цепи (сокращенно в данном документе обозначено VL) и константной области легкой цепи. Константная область легкой цепи состоит из одного домена, CL.

Области VH и VL могут быть дополнительно подразделены на области гипервариабельности, называемые областями, определяющими комплементарность (CDR), чередующиеся с областями, которые являются более консервативными, называемыми каркасными областями (FR). Каждый VH и VL состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных от аминоконца до карбоксиконца в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 и FR4. Вариабельные области тяжелой и легкой цепей содержат связывающий домен, который взаимодействует с антигеном. Константные области антител могут опосредовать связывание иммуноглобулина с тканями или факторами хозяина, включая различные клетки иммунной системы (например, эффекторные клетки) и первый компонент (C1q) классической системы комплемента.

Термин "нумерация по Кабату" и подобные термины известны в данной области техники и относятся к системе нумерации аминокислотных остатков в вариабельных областях тяжелой и легкой цепи антитела или его антигенсвязывающей части. В определенных аспектах CDR антитела могут быть определены в соответствии с системой нумерации по Кабату (смотрите, например, Kabat E.A. & Wu T.T. (1971)

Ann NY Acad Sci 190: 382-391 and Kabat E.A. et al., (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242). Используя систему нумерации по Кабату, CDR в молекуле тяжелой цепи антитела обычно присутствуют в положениях аминокислот 31-35, которые необязательно могут включать одну или две дополнительные аминокислоты, следующие за 35 (упоминается в схеме нумерации по Кабату как 35A и 35B) (CDR1), положениях аминокислот 50-65 (CDR2) и положениях аминокислот 95-102 (CDR3). Используя систему нумерации по Кабату, CDR в молекуле легкой цепи антитела обычно присутствуют в положениях аминокислот 24-34 (CDR1), положениях аминокислот 50-56 (CDR2) и положениях аминокислот 89-97 (CDR3). В конкретном варианте воплощения, CDR антител, описанных в данном документе, были определены в соответствии со схемой нумерации по Кабату.

Фразы "нумерация аминокислотных положений, как по Кабату", "положение по Кабату" и их грамматические варианты относятся к системе нумерации, используемой для переменных доменов тяжелой цепи или переменных доменов легкой цепи компиляции антител в Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991). Используя эту систему нумерации, фактическая линейная аминокислотная последовательность может содержать меньше аминокислот или дополнительные аминокислоты, соответствующие укорочению или вставке в FW или CDR переменного домена. Например, переменный домен тяжелой цепи может включать одну аминокислотную вставку (остаток 52a по Кабату) после остатка 52 из H2 и вставленные остатки (например, остатки 82a, 82b и 82c и т.д. по Кабату) после остатка 82 тяжелой цепи FW; см. табл. 1B.

Таблица 1B

Петля	по Кабату	AbM	По Чотиа
L1	L24-L34	L24-L34	L24-L34
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L56
L3	L89-L97	L89-L97	L89-L97
H1	H31-H35B	H26-H35B	H26-H32...34
<u>(Нумерация по Кабату)</u>			
H1	H31-H35	H26-H35	H26-H32
<u>(Нумерация по Чотиа)</u>			
H2	H50-H65	H50-H58	H52-H56
H3	H95-H102	H95-H102	H95-H102

Нумерация остатков по Кабату может быть определена для данного антитела путем выравнивания в областях гомологии последовательности антитела со "стандартной" нумерацией по Кабату. Вместо этого Чотиа ссылается на расположение структурных петель (Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)). Конец петли CDR-H1 по Чотиа при нумеровании с использованием соглашения о нумерации по Кабату варьирует между H32 и H34 в зависимости от длины петли (это связано с тем, что схема нумерации по Кабату размещает вставки в H35A и H35B; если ни 35A, ни 35B не присутствуют, то петля заканчивается на 32, если присутствует только 35A, то петля заканчивается на 33; если присутствуют как 35A, так и 35B, петля заканчивается на 34). Гипервариабельные области AbM представляют собой компромисс между CDR по Кабату и структурными петлями по Chothia и используются программным обеспечением для моделирования антител AbM от Oxford Molecular. IMGT (ImMunoGeneTics) также предусматривает систему нумерации переменных областей иммуноглобулина, включая CDR. См., например, Lefranc, M.P. et al., Dev. Comp. Immunol. 27: 55-77(2003), что включено в данный документ в качестве ссылки. Система нумерации IMGT была основана на выравнивании более 5000 последовательностей, структурных данных и характеристики гипервариабельных петель и позволяет легко сравнивать переменные области и области CDR для всех видов. Согласно схеме нумерации IMGT VH-CDR1 находится в положениях 26-35, VH-CDR2 находится в положениях 51-57, VH-CDR3 находится в положениях 93-102, VL-CDR1 находится в положениях 27-32, VL-CDR2 находится в положениях 50-52 и VL-CDR3 находится в положениях 89-97.

Для всех положений аминокислот константной области тяжелой цепи, обсуждаемых в настоящем описании, нумерация соответствует индексу EU, впервые описанному в Edelman et al., 1969, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 63(1):78-85, который описывает аминокислотную последовательность белка миеломы EU, являющегося первым человеческим отсеквенированным IgG1. EU индекс по Edelman et al. также изложен в Kabat et al., 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed., United States Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda. Таким образом, фразы "индекс EU как изложено по Кабату" или "индекс EU по Кабату" и "позиция ... в соответствии с индексом EU как изложено по Кабату" и их

грамматические варианты относятся к системе нумерации остатков на основе человеческого антитела IgG1 EU по Edelman et al. как изложено в Kabat 1991.

Система нумерации, используемая для переменных доменов (как тяжелой цепи, так и легкой цепи) и аминокислотной последовательности константной области легкой цепи, представлена в Kabat 1991. Антитела могут быть молекулой иммуноглобулина любого типа (например, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA или IgY), любого класса (например, IgD, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 или IgA2), или любого подкласса (например, IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4 у людей, и IgG1, IgG2a, IgG2b и IgG3 у мышей). Иммуноглобулины, например, IgG1, существуют в нескольких аллотипах, которые отличаются друг от друга не более чем несколькими аминокислотами. Антитело, раскрытое в данном документе, может быть из любого из широко известных изотипов, классов, подклассов или аллотипов. В определенных вариантах воплощения, антитела, описанные в данном документе, являются антителами субкласса IgG1, IgG2, IgG3, или IgG4, или любым их гибридом. В определенных вариантах воплощения, антитела являются антителами подкласса IgG2, IgG4 или IgG2/IgG4.

"Антитело" включает, в качестве примера, антитела, как природного происхождения, так и неприродного происхождения; моноклональные и поликлональные антитела; химерные и гуманизированные антитела; человеческие и не человеческие антитела; полностью синтетические антитела; одноцепочечные антитела; моноспецифические антитела;

мультиспецифические антитела (включая биспецифические антитела); тетрамерные антитела, содержащие две молекулы тяжелой цепи и две молекулы легкой цепи; мономер легкой цепи антитела; мономер тяжелой цепи антитела; димер легкой цепи антитела, димер тяжелой цепи антитела; пару легкая цепь антитела-тяжелая цепь антитела; внутриклеточные антитела; гетероконъюгатные антитела; моновалентные антитела; верблюжьи антитела; аффитела; антиидиотипические (анти-Id) антитела (включая, например, анти-анти-Id антитела) и однодоменные антитела (sdAb), которые содержат молекулы связывания, состоящие из одного мономерного переменного домена антитела, которые полностью способны связываться с антигеном (например, домен VH или домен VL). Harmen M.M. and Haard H.J. *Appl Microbiol Biotechnol.* 77(1): 13-22 (2007)).

Термины "антигенсвязывающая часть" и "антигенсвязывающий фрагмент" антитела, используемые в данном документе, взаимозаменяемы и относятся к одному или более фрагментам антитела, которые сохраняют способность специфически связываться с антигеном (например, человеческий FAM19A5). Такие "фрагменты" составляют, например, между приблизительно 8 и приблизительно 1500 аминокислот в длину, подходящим образом между приблизительно 8 и приблизительно 745 аминокислот в длину, подходящим образом от приблизительно 8 до приблизительно 300, например, от приблизительно 8 до приблизительно 200 аминокислот или от приблизительно 10 до приблизительно 50 или 100 аминокислот в длину. Было показано, что антигенсвязывающая функция антитела может быть реализована фрагментами полноразмерного антитела. Примеры связывающих фрагментов, охватываемых термином "антигенсвязывающая часть" антитела, например антитела к FAM19A5, описанного в данном документе, включают (i) фрагмент Fab, моновалентный фрагмент, состоящий из VL, VH, доменов CL и CH1; (ii) фрагмент F(ab')₂, бивалентный фрагмент, содержащий два фрагмента Fab, связанных дисульфидным мостиком в шарнирной области; (iii) фрагмент Fd, состоящий из доменов VH и CH1; (iv) фрагмент Fv, состоящий из доменов VL и VH одного плеча антитела, и дисульфид-связанные Fv (sdFv); (v) фрагмент dAb (Ward et al., (1989) *Nature* 341: 544-546), который состоит из домена VH; и (vi) выделенную область, определяющую комплементарность (CDR), или (vii) комбинацию двух или более выделенных CDR, которые могут быть необязательно соединены синтетическим линкером. Кроме того, хотя два домена фрагмента Fv, VL и VH, кодируются отдельными генами, они могут быть объединены с использованием рекомбинантных способов с помощью синтетического линкера, который позволяет им быть в виде единой белковой цепи, в которой области VL и VH объединяются в пару с образованием моновалентных молекул (известных как одноцепочечные Fv (scFv)); см., например, Bird et al., (1988) *Science* 242:423-426; и Huston et al., (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883). Такие одноцепочечные антитела также рассматриваются как охваченные термином "антиген-связывающая часть" антитела. Эти фрагменты антител получают с использованием общепринятых техник, известных специалистам в данной области техники, и фрагменты проверяют на пригодность таким же образом, как и интактные антитела. Антиген-связывающие части могут быть получены методами рекомбинантной ДНК или путем ферментативного или химического расщепления интактных иммуноглобулинов.

В контексте данного документа, термины "вариабельная область" и "вариабельный домен" использованы взаимозаменяемо и являются общими в данной области техники. Вариабельная область обычно относится к части антитела, как правило, к части легкой или тяжелой цепи, обычно к аминоконцу от 110 до 120 аминокислот в зрелой тяжелой цепи и от приблизительно 90 до 115 аминокислот в зрелой легкой цепи, которые сильно различаются по последовательности среди антител и используются для связывания и специфичности конкретного антитела для его конкретного антигена. Вариабельность в последовательности сконцентрирована в тех областях, которые называются областями, определяющими комплементарность (CDR), в то время как более высоко консервативные области в вариабельном домене называются каркасными областями (FR).

Не желая быть связанными каким-либо конкретным механизмом или теорией, полагают, что CDR легкой и тяжелой цепей главным образом ответственны за взаимодействие и специфичность антитела с антигеном. В определенных вариантах воплощения, варибельная область является человеческой варибельной областью. В определенных вариантах воплощения, варибельная область содержит CDR грызунов или мыши и человеческие каркасные области (FR). В конкретных вариантах воплощения, варибельная область является варибельной областью примата (например, примата, не являющегося человеком). В определенных вариантах воплощения, варибельная область содержит CDR грызунов или мыши и каркасные области (FR) примата (например, примата, не являющегося человеком). В контексте данного документа, термин "тяжелая цепь" при использовании в отношении антитела может относиться к любому отдельному типу, например, альфа (α), дельта (δ), эпсилон (ϵ), гамма (γ) и мю (μ) на основе аминокислотной последовательности константного домена, которая присуща антителам классов IgA, IgD, IgE, IgG и IgM соответственно, включая подклассы IgG, например, IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4.

В контексте данного документа, термин "легкая цепь" (LC) при использовании в отношении антитела может относиться к любому конкретному типу, например, каппа (κ) или лямбда (λ) на основе аминокислотной последовательности константных доменов. Аминокислотные последовательности легкой цепи хорошо известны в данной области техники. В конкретных вариантах воплощения, легкая цепь представляет собой человеческую легкую цепь.

Термины "VL" и "домен VL" использованы взаимозаменяемо для обозначения варибельной области легкой цепи антитела. Термины "VH" и "домен VH" использованы взаимозаменяемо для обозначения варибельной области тяжелой цепи антитела. В контексте данного документа, термины "константная область" и "константный домен" взаимозаменяемы и имеют общее значение в данной области техники. Константная область представляет собой часть антитела, например карбоксильную концевую часть легкой и/или тяжелой цепи, которая непосредственно не участвует в связывании антитела с антигеном, но которая может проявлять различные эффекторные функции, такие как взаимодействие с Fc-рецептором. Константная область молекулы иммуноглобулина обычно имеет более консервативную аминокислотную последовательность относительно варибельного домена иммуноглобулина.

"Область Fc" (фрагмент кристаллизуемой области) или "домен Fc" или "Fc" относится к C-концевой области тяжелой цепи антитела, которая опосредует связывание иммуноглобулина с тканями или факторами хозяина, включая связывание с Fc рецепторами, расположенными на различных клетках иммунной системы (например, эффекторных клетках) или на первом компоненте (C1q) классической системы комплемента. Таким образом, область Fc содержит константную область антитела исключая первую константную область домена иммуноглобулина (например, CH1 или CL). В изотипах антител IgG, IgA и IgD область Fc содержит два идентичных фрагмента белка, полученных из второго (CH2) и третьего (CH3) константных доменов двух тяжелых цепей антитела; области Fc IgM и IgE содержат три константных домена тяжелой цепи (домены CH 2-4) в каждой полипептидной цепи. Для IgG область Fc содержит домены иммуноглобулина C γ 2 и C γ 3 и шарнир между C γ 1 и C γ 2. Хотя границы области Fc тяжелой цепи иммуноглобулина могут варьировать, область Fc тяжелой цепи человеческого IgG обычно определяется как протяженность от аминокислотного остатка в положении C226 или P230 (или аминокислоты между этими двумя аминокислотами) до карбоксиконца тяжелой цепи, где нумерация соответствует индексу EU, как по Кабату. Домен CH2 области Fc человеческого IgG простирается от приблизительно 231 аминокислоты до приблизительно 340 аминокислоты, тогда как домен CH3 расположен на C-концевой стороне домена CH в области Fc, то есть он простирается от приблизительно 341 аминокислоты до приблизительно 447 аминокислоты IgG. Используемая в данном документе область Fc может быть нативной последовательностью Fc, включая любой аллотипичный вариант или вариант Fc (например, Fc не природного происхождения). Fc также может относиться к этой области изолированно или в контексте Fc-содержащего полипептида белка, такого как "связывающий белок, содержащий область Fc", также называемого "Fc слитый белок" (например, антитело или иммуноадгезия). "Область Fc с нативной последовательностью" или "Fc с нативной последовательностью" включает аминокислотную последовательность, которая идентична аминокислотной последовательности области Fc, встречающейся в природе. Нативные последовательности Fc областей человека включают нативную последовательность области Fc человеческого IgG1; нативную последовательность области Fc человеческого IgG2; нативную последовательность области Fc человеческого IgG3; и нативную последовательность области Fc человеческого IgG4, а также ее варианты природного происхождения. Нативная последовательность Fc включает различные аллотипы Fc (см., например, Jefferis et al., (2009) mAbs 1:1; Vidarsson G. et al. Front Immunol. 5:520 (опубликовано онлайн 20 октября 2014 года)). "Fc-рецептор" или "FcR" представляет собой рецептор, который связывается с областью Fc иммуноглобулина. FcR, которые связываются с антителом IgG, включают рецепторы семейства Fc γ R, включая аллельные варианты и альтернативно сплайсированные формы этих рецепторов.

Семейство Fc γ R состоит из трех активирующих (Fc γ RI, Fc γ RIII и Fc γ RIV у мышей; Fc γ RIA, Fc γ RIIA и Fc γ RIIA у людей) и одного ингибирующего (Fc γ RIIB) рецептора. Человеческий IgG1 связывается с большинством человеческих Fc-рецепторов и вызывает самые сильные эффекторные функции Fc. Он

считается эквивалентным мышиному IgG2a в отношении типов активирующих Fc-рецепторов, с которыми он связывается. С другой стороны, человеческий IgG4 вызывает наименьшие Fc-эффекторные функции. Vidarsson G. et al., *Front Immunol.* 5:520 (опубликовано онлайн 20 октября 2014 года).

Константной областью можно манипулировать, например, с помощью рекомбинантной технологии, чтобы устранить одну или более эффекторных функций. "Эффекторная функция" относится к взаимодействию области Fc антитела с Fc-рецептором или лигандом или к биохимическому событию, которое возникает в результате этого. Типичные "эффекторные функции" включают связывание C1q, комплемент-зависимую цитотоксичность (CDC), связывание с Fc-рецептором, FcγR-опосредованные эффекторные функции, такие как ADCC и антитело-зависимый клеточно-опосредованный фагоцитоз (ADCP), и подавляющую регуляцию рецептора на клеточной поверхности (например, рецептора В-клеток; BCR). Такие эффекторные функции обычно требуют, чтобы область Fc была объединена со связывающим доменом (например, варибельным доменом антитела). Соответственно, термин "константная область без Fc функции" включает константные области со сниженными или без одной или более эффекторных функций, опосредованных областью Fc.

Эффекторные функции антитела можно снизить или избежать их с помощью разных подходов. Эффекторные функции антитела можно снизить или избежать, используя фрагменты антитела без области Fc (например, такие как Fab, F(ab')₂, одноцепочечный Fv (scFv) или sdAb, состоящий из мономерного домена VH или VL). В качестве альтернативы так называемые агликозилированные антитела могут быть получены путем удаления сахаров, которые связаны с конкретными остатками в области Fc, для снижения эффекторных функций антитела при сохранении других ценных признаков области Fc (например, продолжительного периода полужизни и гетеродимеризации). Агликозилированные антитела могут быть получены, например, путем удаления или изменения остатка, к которому присоединен сахар, ферментативного удаления сахаров, образования антител в клетках, культивируемых в присутствии ингибитора гликозилирования или путем экспрессии антител в клетках, неспособных к гликозилированию белков (например, бактериальных клетках-хозяевах); см., например, публикацию патента США № 20120100140. Другой подход заключается в использовании областей Fc из подкласса IgG, которые имеют пониженную эффекторную функцию, например, антитела IgG2 и IgG4 характеризуются более низким уровнем эффекторных функций Fc, чем IgG1 и IgG3. Остатки, наиболее проксимальные к шарнирной области, в домене CH2 области Fc отвечают за эффекторные функции антител, поскольку он содержит в значительной степени перекрывающийся сайт связывания для C1q (комплемента) и рецепторов Fc IgG (FcγR) на эффекторных клетках врожденной иммунной системы. Vidarsson G. et al., *Front Immunol.* 5:520 (опубликовано онлайн 20 октября 2014 года). Соответственно, антитела со сниженными или без Fc-эффекторных функций могут быть получены путем создания, например, химерной области Fc, которая содержит домен CH2 из антитела IgG изотипа IgG4 и домен CH3 из антитела IgG изотипа IgG1, или химерной области Fc, которая содержит шарнирную область из IgG2 и область CH2 из IgG4 (см., например, Lau C. et al., *J. Immunol.* 191:4769-4777 (2013)), или области Fc с мутациями, которые приводят в результате к измененным Fc-эффекторным функциям, например, сниженным или отсутствующим Fc-функциям. Такие области Fc с мутациями известны в данной области техники. См., например, публикацию патента США № 20120100140 и РСТ заявки на патент США, процитированные там, и An et al., *mAbs* 1:6, 572-579 (2009); раскрытие которых включено посредством ссылки во всей их полноте.

"Шарнир", "шарнирный домен", "шарнирная область" или "шарнирная область антитела" относятся к домену константной области тяжелой цепи, которая соединяет домен CH1 с доменом CH2 и включает верхнюю, среднюю и нижнюю части шарнира (Roux et al., *J. Immunol.* 1998 161:4083). Шарнир обеспечивает различные уровни гибкости между связывающим и эффекторным областями антитела, а также обеспечивает сайты межмолекулярной дисульфидной связи между двумя константными областями тяжелой цепи. Используемый в данном документе шарнир начинается на Glu216 и заканчивается на Gly237 для всех изотипов IgG (Roux et al., 1998 *J Immunol* 161:4083). Последовательности шарниров IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4 дикого типа известны в данной области техники; см., например, Kabat E.A. et al., (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242*; Vidarsson G. et al., *Front Immunol.* 5:520 (опубликовано онлайн 20 октября 2014 года).

Термин "домен CH1" относится к константной области тяжелой цепи, связывающей варибельный домен с шарниром в константной области тяжелой цепи. Используемый в данном документе домен CH1 начинается на A118 и заканчивается на V215. Термин "домен CH1" включает домены CH1 дикого типа, а также их существующие в природе варианты (например, аллотипы). В данной области техники известны последовательности домена CH1 IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4 (включая дикий тип и аллотипы); см., например, Kabat E.A. et al., (1991) выше и Vidarsson G. et al., *Front Immunol.* 5:520 (опубликовано онлайн 20 октября 2014 года). Типичные домены CH1 включают домены CH1 с мутациями, которые модифицируют биологическую активность антитела, например, период полураспада, например, описанный в публикации патента США № 20120100140, и патентах, и публикациях США, и публикациях РСТ, цитируемых там.

Термин "домен СН2" относится к константной области тяжелой цепи, связывающей шарнир с доменом СН3 в константном домене тяжелой цепи.

Используемый в данном документе домен СН2 начинается на Р238 и заканчивается на К340. Термин "домен СН2" включает домены СН2 дикого типа, а также их существующие в природе варианты (например, аллотипы). В данной области техники известны последовательности домена СН2 IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4 (включая дикий тип и аллотипы); см., например, Kabat E.A. et al., (1991) выше и Vidarsson G. et al., *Front Immunol.* 5:520 (опубликовано онлайн 20 октября 2014 года). Типичные домены СН2 включают домены СН2 с мутациями, которые модифицируют биологическую активность антитела, например, период полураспада, и/или снижают Fc-эффекторную функцию, например, описанные в публикации патента США № 20120100140, и патентах, и публикациях США, и публикациях PCT, цитируемых там. Термин "домен СН3" относится к константной области тяжелой цепи, которая является С-концевой по отношению к домену СН2 в константном домене тяжелой цепи. Используемый в данном документе домен СН3 начинается на G341 и заканчивается на K447. Термин "домен СН3" включает домены СН3 дикого типа, а также их существующие в природе варианты (например, аллотипы). В данной области техники известны последовательности домена СН3 IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4 (включая дикий тип и аллотипы); см., например, Kabat E.A. et al., (1991) выше и Vidarsson G. et al., *Front Immunol.* 5:520 (опубликовано онлайн 20 октября 2014 года). Типичные домены СН3 включают домены СН3 с мутациями, которые модифицируют биологическую активность антитела, например, период полураспада, например, описанный в публикации патента США № 20120100140, и патентах, и публикациях США, и публикациях PCT, цитируемых там. В контексте данного документа, термин "изотип" относится к классу антител (например, антител IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD и IgE), которые кодируются генами константной области тяжелой цепи. "Аллотип" относится к вариантам природного происхождения в пределах определенной группы изотипов, причем эти варианты отличаются по нескольким аминокислотам (см., например, Jefferis et al., (2009) mAbs 1:1).

Антитела, описанные в данном документе, могут быть любого аллотипа. В данной области техники известны аллотипы IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4; см., например, Kabat E.A. et al., (1991) выше; Vidarsson G. et al., *Front Immunol.* 5:520 (опубликовано онлайн 20 октября 2014 года); и Lefranc MP, mAbs 1:4, 1-7(2009).

Фразы "антитело, распознающее антиген" и "антитело, специфичное к антигену" в данном документе используются взаимозаменяемо с термином "антитело, которое специфически связывается с антигеном". "Выделенное антитело", как используется в данном документе, предназначено для обозначения антитела, которое по существу не содержит других антител, имеющих различные антигенные специфичности (например, выделенное антитело, которое специфически связывается с FAM19A5, практически не содержит антител, которые специфически связывают антигены, отличные от FAM19A5). Однако выделенное антитело, которое специфически связывается с эпитопом FAM19A5, может иметь перекрестную реактивность с другими белками FAM19A5 из разных видов. "Аффинность связывания" обычно относится к силе суммарного количества нековалентных взаимодействий между одним сайтом связывания молекулы (например, антителом) и ее связывающим партнером (например, антигеном). Если не указано иное, как используется в данном документе, "аффинность связывания" относится к истинной аффинности связывания, которая отражает взаимодействие 1:1 между членами пары связывания (например, антителом и антигеном). Аффинность молекулы X для ее партнера Y обычно может быть представлена константой диссоциации (KD). Аффинность может быть измерена и/или выражена несколькими способами, известными в данной области техники, включая, но не ограничиваясь этим, константу равновесной диссоциации (KD) и константу равновесной ассоциации (KA). KD рассчитывается по коэффициенту koff/kon и выражается как молярная концентрация (M), тогда как KA рассчитывается по коэффициенту kon/koff. kon относится к константе скорости ассоциации, например, антитела с антигеном, а koff относится к диссоциации, например, антитела от антигена. kon и koff могут быть определены методами, известными специалисту в данной области техники, такими как иммуноанализы (например, иммуноферментный анализ (ELISA)), BIACORE® или анализ кинетического исключения (KinExA).

Используемые в данном документе термины "специфически связывает", "специфически распознает", "специфическое связывание", "селективное связывание" и "селективно связывает" являются аналогичными терминами в контексте антител и относятся к молекулам (например, антителам), которые связываются с антигеном (например, эпитопом или иммунным комплексом), так как такое связывание понятно специалисту в данной области техники. Например, молекула, которая специфически связывается с антигеном, может связываться с другими пептидами или полипептидами, как правило, с более низкой аффинностью, как определено, например, с помощью иммуноанализов, BIACORE®, прибора KinExA® 3000 (Sapidyne Instruments, Бойсе, Айдахо) или других анализов, известных в данной области техники. В конкретном варианте воплощения, молекулы, которые специфически связываются с антигеном, связываются с антигеном с KA, которая по меньшей мере составляет 2 логарифма, 2,5 логарифма, 3 логарифма, 4 логарифма или более, чем KA, когда молекулы связываются с другим антигеном.

Антитела обычно специфически связываются со своим родственным антигеном с высокой аффин-

ностью, отражаемой константой диссоциации (KD) от 10^{-5} до 10^{-11} М или менее. Обычно считается, что любой KD, превышающий 10^{-4} М, указывает на неспецифическое связывание. Используемое в данном документе антитело, которое "специфически связывается" с антигеном, относится к антителу, которое связывается с антигеном и практически идентичными антигенами с высокой аффинностью, что означает, что KD составляет 10^{-7} М или менее, предпочтительно 10^{-8} М или менее, даже более предпочтительно 10^{-9} М или менее и наиболее предпочтительно между 10^{-8} М и 10^{-10} М или менее, когда определяется, например, с помощью иммуноанализов (например, ELISA) или технологии поверхностного плазмонного резонанса (SPR) на приборе BIACORE 2000, используя заранее определенный антиген, но который не связывается с высокой аффинностью с неродственными антигенами.

В контексте данного документа, термин "антиген" относится к любому природному или синтетическому иммуногенному веществу, такому как белок, пептид или гаптен. Антигеном может быть FAM19A5 или его фрагмент. В контексте данного документа, термин "эпитоп" является термином в данной области техники и относится к локализованной области антигена, с которой антитело может специфически связываться. Эпитоп может представлять собой, например, смежные аминокислоты полипептида (линейный или непрерывный эпитоп) или эпитоп может, например, объединяться из двух или более несмежных областей полипептида или полипептидов (конформационный, нелинейный, прерывистый или несмежный эпитоп). Эпитопы, образованные из смежных аминокислот, обычно, но не всегда, сохраняются при воздействии денатурирующих растворителей, тогда как эпитопы, образованные третичной укладкой обычно разрушаются при обработке денатурирующими растворителями. Эпитоп обычно содержит по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 20 аминокислот в уникальной пространственной конформации. Способы определения того, какие эпитопы связаны с данным антителом (т.е. картирование эпитопов), хорошо известны в данной области техники и включают, например, анализы иммуноблоттинг и иммунопреципитацию, в которых перекрывающиеся или смежные пептиды из (например, из FAM19A5) тестируют на реактивность с данным антителом (например, антителом к FAM19A5). Способы определения пространственной конформации эпитопов включают методы в данной области техники и методы, описанные в данном документе, например, рентгеновская кристаллография, 2-мерный ядерный магнитный резонанс и HDX-MS (см., например, Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, Vol. 66, G.E.Morris, Ed. (1996)).

В определенных вариантах воплощения, эпитоп, с которым связывается антитело, может быть определен, например, с помощью ЯМР-спектроскопии, исследований рентгеновской дифракционной кристаллографии, анализов ELISA, масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена (например, масс-спектрометрии с жидкостной хроматографией с электрораспылением), сканирующего анализа олигопептидов на основе массива и/или картирования мутагенеза (например, картирование сайт-направленного мутагенеза). Для рентгеновской кристаллографии кристаллизация может быть выполнена с использованием любого из известных в данной области техники способов (например, Giege R. et al., (1994) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 50(Pt 4): 339-350; McPherson A. (1990) Eur J Biochem 189: 1-23; Chayen N.E. (1997) Structure 5: 1269-1274; McPherson A. (1976) J Biol Chem 251: 6300-6303). Кристаллы антитело:антиген могут быть изучены с использованием хорошо известных методов дифракции рентгеновских лучей и могут быть уточнены с использованием компьютерного программного обеспечения, такого как X-PLOR (Йельский университет, 1992, распространяемого в Molecular Simulations, Inc.; см., например, Meth Enzymol (1985) volumes 114 & 115, eds Wyckoff H.W. et al.; U.S. 2004/0014194) и BUSTER (Bricogne G. (1993) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 49(Pt 1): 37-60; Bricogne G. (1997) Meth Enzymol 276A: 361-423, ed Carter C.W.; Roversi P et al., (2000) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 56(Pt 10): 1316-1323). Исследования картирования мутагенеза могут быть выполнены с использованием любого способа, известного специалисту в данной области техники. См., например, Champe M. et al., (1995) J Biol Chem 270: 1388-1394 и Cunningham B.C. & Wells J.A. (1989) Science 244: 1081- 1085 для описания методов мутагенеза, включая методы мутагенеза путем аланинового сканирования.

Термин "картирование эпитопа" относится к процессу идентификации молекулярных детерминант для распознавания антитело-антигена. Термин "связывается с одним и тем же эпитопом" со ссылкой на два или более антител означает, что антитела связываются с одним и тем же сегментом аминокислотных остатков, как определено данным способом. Методы определения того, связываются ли антитела с "тем же эпитопом на FAM19A5", что и антитела, описанные в данном документе, включают, например, способы картирования эпитопов, такие как рентгеноструктурный анализ кристаллов комплексов антиген:антитело, который обеспечивает атомное разделение эпитопа, и масс-спектрометрию водородно-дейтериевого обмена (HDX-MS). Другие способы контролируют связывание антитела с фрагментами антигена или мутированными вариациями антигена, где потеря связывания из-за модификации аминокислотного остатка в последовательности антигена часто считается показателем эпитопного компонента. Кроме того, для картирования эпитопов также могут быть использованы вычислительные комбинаторные способы. Эти способы основаны на способности антитела, представляющего интерес, по аффинности отделять специфические короткие пептиды из комбинаторных библиотек пептидных фаговых дисплеев. Предполагается, что антитела, имеющие одинаковые VH и VL или одинаковые последовательности CDR 1, 2 и 3, будут связываться с одним и тем же эпитопом.

Антитела, которые "конкурируют с другим антителом за связывание с мишенью", относятся к антителам, которые ингибируют (частично или полностью) связывание другого антитела с мишенью. Конкурируют ли два антитела друг с другом за связывание с мишенью и в какой степени одно антитело ингибирует связывание другого антитела с мишенью, можно определить с помощью известных конкурентных экспериментов. В определенных вариантах воплощения, антитело конкурирует с другим антителом и ингибирует связывание другого антитела с мишенью по меньшей мере на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 100%. Уровень ингибирования или конкуренции может быть различным в зависимости от того, какое антитело является "блокирующим антителом" (то есть, Холодовым антителом, которое сначала инкубируется с мишенью). Анализы конкуренции могут проводиться, как описано, например, в Ed Harlow and David Lane, *Cold Spring Harb Protoc*; 2006; doi: 10.1101/pdb.prot4277 или в Главе 11 "Using Antibodies" от Ed Harlow and David Lane, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, USA 1999. Конкурирующие антитела связываются с одним и тем же эпитопом, перекрывающимся эпитопом или смежными эпитопами (например, о чем свидетельствует стерическое несоответствие). Другие конкурентные анализы связывания включают: твердофазный прямой или непрямой радиоиммуноанализ (RIA), твердофазный прямой или непрямой иммуоферментный анализ (EIA), сэндвич анализ конкуренции (см. Stahl et al., *Methods in Enzymology* 9: 242 (1983)); твердофазный прямой EIA с биотин-авидином (см. Kirkland et al., *J. Immunol.* 137: 3614 (1986)); твердофазный прямой анализ с меткой, твердофазный прямой сэндвич анализ с меткой (см. Harlow and Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press (1988)); твердофазный прямой RIA анализ с меткой с использованием метки 1-125 (см. Morel et al., *Mol. Immunol.* 25(1):7 (1988)); твердофазный прямой EIA анализ с биотин-авидином (Cheung et al., *Virology* 176:546 (1990)); и прямой RIA анализ с меткой (Moldenhauer et al., *Scand. J. Immunol.* 32:77 (1990)).

Термин "одноцепочечный Fv" или "scFv" относится к одноцепочечному Fv ("вариабельный фрагмент") антитела, в котором вариабельные домены тяжелой цепи и легкой цепи традиционного двухцепочечного антитела соединены, чтобы образовать одну цепь. "Биспецифичное" или "бифункциональное антитело" представляет собой искусственное гибридное антитело, имеющее две разные пары тяжелой/легкой цепи и два разных сайта связывания. Биспецифичные антитела могут быть получены различными способами, включая слияние гибридом или объединение фрагментов Fab'; см., например, Songvilai & Lachmann, *Clin. Exp. Immunol.* 79:315-321 (1990); Kostelny et al., *J. Immunol.* 148, 1547-1553 (1992). Термин "моноклональное антитело", используемый в данном документе, относится к антителу, которое проявляет единственную специфичность и аффинность связывания для конкретного эпитопа, или композиции антител, в которой все антитела проявляют единственную специфичность и аффинность связывания для конкретного эпитопа. Соответственно, термин "человеческое моноклональное антитело" относится к антителу или композиции антител, которые проявляют единственную специфичность связывания и которые имеют вариабельные и необязательные константные области, производные от последовательностей иммуноглобулина зародышевой линии человека. В некоторых вариантах воплощения, моноклональные антитела человека продуцируются гибридомой, которая включает В-клетку, полученную от трансгенного животного, не являющегося человеком, например, трансгенной мыши, имеющей геном, содержащий трансген тяжелой цепи человека и трансген легкой цепи, слитую с иммортализованной клеткой.

Термин "рекомбинантное человеческое антитело", используемый в данном документе, включает все человеческие антитела, которые получены, экспрессированы, созданы или выделены с помощью рекомбинантных способов, такие как: (а) антитела, выделенные из животного (например, мыши), которое является трансгенным или трансхромосомным для генов человеческого иммуноглобулина, или гибридомы, полученной из них, (б) антитела, выделенные из клетки-хозяина, трансформированной для экспрессии антитела, например, из трансфектомы, (в) антитела, выделенные из рекомбинантной, комбинаторной библиотеки антител человека и (г) антитела, полученные, экспрессированные, созданные или выделенные любыми другими способами, которые включают сплайсинг последовательностей гена иммуноглобулина человека с другими последовательностями ДНК. Такие рекомбинантные человеческие антитела содержат вариабельные и константные области, в которых используются определенные последовательности иммуноглобулина зародышевой линии человека, которые кодируются генами зародышевой линии, но включают последующие реаранжировки и мутации, которые происходят, например, во время созревания антитела. Как известно в данной области техники (см., например, Lonberg (2005) *Nature Biotech.* 23(9): 1117-1125), вариабельная область содержит антигенсвязывающий домен, который кодируется различными генами, которые реаранжируются с образованием антитела, специфичного к чужеродному антигену. В дополнение к реаранжировке вариабельная область может быть дополнительно модифицирована путем множественных изменений одной аминокислоты (называемых соматической мутацией или гипермутацией) для увеличения аффинности антитела к чужеродному антигену. Константная область будет изменяться при дополнительном ответе на антиген (то есть, переключение изотипа). Следовательно, реаранжированные и соматически мутированные молекулы нуклеиновой кислоты, которые кодируют полипептиды легкой цепи и тяжелой цепи иммуноглобулина в ответ на антиген, не могут иметь идентичность последовательности с исходными молекулами нуклеиновой кислоты, но вместо этого будут

практически идентичными или сходными (т.е. иметь по меньшей мере 80% идентичности).

"Человеческое антитело" (HuMAb) относится к антителу, имеющему переменные области, в которых как каркасные, так и CDR-области происходят от последовательностей иммуноглобулина зародышевой линии человека. Кроме того, если антитело содержит константную область, константная область также происходит из последовательностей иммуноглобулина зародышевой линии человека. Антитела, описанные в данном документе, могут включать аминокислотные остатки, не кодируемые последовательностями иммуноглобулина зародышевой линии человека (например, мутации, введенные путем случайного или сайт-специфического мутагенеза *in vitro* или соматической мутацией *in vivo*). Однако, термин "человеческое антитело", как используется в данном документе, не предназначен для включения антител, в которых последовательности CDR, полученные из зародышевой линии другого вида млекопитающих, таких как мышь, были пересажены на каркасные последовательности человека. Термины "человеческие" антитела и "полностью человеческие" антитела используются как синонимы.

"Гуманизированное" антитело относится к антителу, в котором некоторые, большинство или все аминокислоты вне доменов CDR не человеческого антитела заменены соответствующими аминокислотами, полученными из иммуноглобулинов человека. В некоторых вариантах воплощения, гуманизированной формы антитела некоторые, большинство или все аминокислоты вне доменов CDR были заменены аминокислотами из иммуноглобулинов человека, тогда как некоторые, большинство или все аминокислоты в одной или более областях CDR являются неизменными. Небольшие добавления, делеции, вставки, замены или модификации аминокислот допустимы, если они не отменяют способность антитела связываться с конкретным антигеном. "Гуманизированное" антитело сохраняет антигенную специфичность, сходную со специфичностью исходного антитела.

"Химерное антитело" относится к антителу, в котором переменные области получены из одного вида, а константные области получены из другого вида, такого как антитело, в котором переменные области получены от мышинного антитела, а константные области получены от человеческого антитела.

Термин "перекрестная реакция", используемый в данном документе, относится к способности антитела, описанного в данном документе, связываться с FAM19A5 от другого вида. Например, антитело, описанное в данном документе, которое связывается с человеческим FAM19A5, также может связываться с FAM19A5 других видов (например, мышинным FAM19A5). Как используется в данном документе, перекрестная реактивность может быть измерена путем определения специфической реактивности с очищенным антигеном в анализах связывания (например, SPR, ELISA) или связывания с или иного функционального взаимодействия с клетками, физиологически экспрессирующими FAM19A5. Способы определения перекрестной реактивности включают стандартные анализы связывания, как описано в данном документе, например, с помощью анализа поверхностного плазмонного резонанса (SPR) от BIACORE™, используя прибор BIACORE™ 2000 SPR (Biacore AB, Упсала, Швеция), или методов проточной цитометрии. Термин "природного происхождения" применительно к объекту, раскрытому в данном документе, относится к тому факту, что объект можно найти в природе. Например, полипептидная или полинуклеотидная последовательность, которая присутствует в организме (включая вирусы), которая может быть выделена из источника в природе и которая не была преднамеренно изменена человеком в лаборатории, имеет природное происхождение.

"Полипептид" относится к цепи, содержащей по меньшей мере два последовательно связанных аминокислотных остатка, без верхнего предела длины цепи. Один или более аминокислотных остатков в белке могут содержать модификацию, такую как, но не ограничиваясь этим, гликозилирование, фосфорилирование или образование дисульфидной связи. "Белок" может содержать один или более полипептидов. Предполагается, что термин "молекула нуклеиновой кислоты" в данном документе включает молекулы ДНК и молекулы РНК. Молекула нуклеиновой кислоты может быть одноцепочечной или двухцепочечной и может представлять собой кДНК.

Термин "рекомбинантная клетка-хозяин" (или просто "клетка-хозяин"), используемый в данном документе, предназначен для обозначения клетки, которая содержит нуклеиновую кислоту, не природно присутствующую в клетке, и может быть клеткой, в которую встроены рекомбинантный вектор экспрессии. Следует понимать, что такие термины предназначены для обозначения не только конкретной клетки субъекта, но и потомства такой клетки. Поскольку определенные модификации могут происходить в последующих поколениях из-за мутаций или воздействий окружающей среды, такое потомство не может по сути, быть идентичным родительской клетке, но все еще включено в сферу действия термина "клетка-хозяин", используемого в данном документе.

В контексте данного документа, термин "связанный" относится к соединению двух или более молекул. Связь может быть ковалентной или нековалентной. Связь также может быть генетической (то есть, рекомбинантным слиянием). Такие связи могут быть достигнуты с использованием широкого разнообразия известных в данной области техники методов, таких как химическое конъюгирование и получение рекомбинантного белка.

II. Аденоассоциированный вирус (AAV) и производные от него векторы.

Раскрытые в данном документе векторы AAV содержат нуклеиновую кислоту, кодирующую представляющий интерес белок, например, антагонист FAM19A5, например, антитело к FAM19A5. В некото-

рых вариантах воплощения, нуклеиновая кислота также может содержать одну или более регуляторных последовательностей, обеспечивающих экспрессию и, в некоторых вариантах воплощения, секрецию представляющего интерес белка, такую как, например, промотор, энхансер, сигнал полиаденилирования, внутренний сайт входа в рибосомы (IRES), последовательность, кодирующую домен трансдукции белка (PTD) и т.п. Таким образом, в некоторых вариантах воплощения, нуклеиновая кислота может содержать промоторную область, функционально связанную с кодирующей последовательностью, чтобы вызывать или улучшать экспрессию представляющего интерес белка в инфицированных клетках. Такой промотор может быть повсеместным, специфичным для клетки или ткани, сильным, слабым, регулируемым, химерным и т.д., например, для обеспечения эффективного и стабильного продуцирования белка в инфицированной ткани. Промотор может быть гомологичным кодируемому белку или гетерологичным, хотя обычно промоторы, используемые в раскрытых способах, являются функциональными в клетках человека. Примеры регулируемых промоторов включают, без ограничения, промоторы, содержащие элемент Tet on/off, промоторы, индуцируемые рапамицином, промоторы, индуцируемые тамоксифеном, и промоторы металлотронеина. Другие промоторы, которые можно использовать, включают промоторы, которые являются тканеспецифическими для таких тканей, как почка, селезенка, поджелудочная железа, головной или спинной мозг. Примеры повсеместных промоторов включают вирусные промоторы, в частности промотор CMV, промотор RSV, промотор SV40 и т.д., а также клеточные промоторы, такие как промотор PGK (фосфолицераткиназа) и промотор β -актина.

В некоторых вариантах воплощения, в векторах AAV, раскрытых в данном документе, один или более элементов обратной связи могут быть использованы для подавления избыточной экспрессии интересующего белка. Например, в некоторых вариантах воплощения изобретения, вектор AAV содержит одну или более последовательностей миРНК, которые будут нацелены на экзогенный транскрипт. В других вариантах воплощения, вектор AAV содержит один или более дополнительных промоторов, которые могут распознаваться ингибирующими факторами транскрипции. В различных вариантах воплощения, описанные в данном документе векторы AAV содержат конструкцию, которая может создавать петлю гомеостатической обратной связи, которая может поддерживать уровни экспрессии представляющего интерес белка на физиологическом уровне. В некоторых вариантах воплощения изобретения, векторы AAV, раскрытые в настоящем документе, содержат нуклеиновую кислоту, которая включает лидерную последовательность (или сигнальный пептид), обеспечивающую секрецию кодируемого белка. В некоторых вариантах воплощения, слияние интересующего трангена с последовательностью, кодирующей сигнальный пептид секреции (обычно расположенной на N-конце секретируемых полипептидов), позволяет продуцирование терапевтического белка в форме, которая может секретироваться из трансдуцированной клетки. Неограничивающие примеры таких сигнальных пептидов включают человеческий бета-глобин, альбумин, β -глюкуронидазу, щелочную протеазу или сигнальные пептиды секреции фибронектина. В некоторых вариантах воплощения, мРНК, экспрессируемая из вектора AAV по настоящему изобретению, содержит сайт связывания микроРНК для микроРНК, которая предпочтительно экспрессируется в ткани, не связанной с ЦНС. В некоторых вариантах воплощения, сайт связывания микроРНК представляет собой сайт связывания для miR-122. В некоторых вариантах воплощения, сайт связывания микроРНК представляет собой сайт связывания для miR-1. В некоторых вариантах воплощения, мРНК, экспрессируемая из гена, ассоциированного с ЦНС, не содержит сайт связывания микроРНК для микроРНК, которая предпочтительно экспрессируется в ткани ЦНС.

AAV, член семейства Parvoviridae, представляет собой небольшой икосаэдрический вирус без оболочки с геномами одноцепочечной линейной ДНК размером от 4,7 килобаз (kb) до 6 kb. Goncalves, M., *Virology* 2: 43 (2005). Это семейство можно разделить на два подсемейства: Parvovirinae, заражающие позвоночных, и Densovirinae, заражающие насекомых. Члены подсемейства Parvovirinae в данном документе называются парвовирусами и включают род Dependovirus. Как можно заключить из названия их рода, представители Dependovirus уникальны тем, что для продуктивного инфицирования в культуре клеток обычно требуется совместное инфицирование вспомогательным вирусом, таким как аденовирус или вирус герпеса. Род Dependovirus включает AAV, который обычно инфицирует людей (например, серотипы 1, 2, 3A, 3B, 4, 5 и 6) или приматов (например, серотипы 1 и 4), а также родственные вирусы, которые инфицируют других теплокровных животных (например, аденоассоциированные вирусы крупного рогатого скота, собак, лошадей и овец). Дополнительная информация о парвовирусах и других представителях Parvoviridae описана в Kenneth I. Berns, "Parvoviridae: The Viruses and Their Replication," Chapter 69 in *Fields Virology* (3d Ed. 1996).

Репликация, капсид и сборка генов AAV.

Одноцепочечный геном AAV включает три гена: гер (репликация), сар (капсид) и аар (сборка). Эти три гена дают начало по меньшей мере девяти генным продуктам за счет использования трех промоторов, альтернативных сайтов старта трансляции и дифференциального сплайсинга. Ген гер кодирует четыре белка (Rep78, Rep68, Rep52 и Rep40), которые необходимы для репликации и упаковки вирусного генома. Экспрессия гена сар дает начало вирусным капсидным белкам (VP1; VP2; VP3), которые образуют внешнюю оболочку капсида, которая защищает вирусный геном, а также активно участвует в свя-

зывании клеток и интернализации. Подсчитано, что вирусная оболочка состоит из 60 белков, расположенных в икосаэдрическую структуру. Ген аар кодирует белок, активирующий сборку (AAP), в альтернативной рамке считывания, перекрывающей ген сар. Считается, что этот ядерный белок обеспечивает функцию каркаса для сборки капсида и играет роль в ядрышковой локализации белков VP в некоторых серотипах AAV.

В некоторых вариантах воплощения изобретения, вектор AAV, раскрытый в настоящем документе, представляет собой рекомбинантный AAV и лишен одного или более из гена гер, гена сар и гена аар. В некоторых вариантах воплощения, gAAV модифицируется таким образом, что один или более из гена гер, гена сар и гена аар мутируют так, что изменяется экспрессия одного или более генов AAV. В некоторых вариантах воплощения, один или более из генов гер, сар или аар встречаются в природе, например гены гер, сар или аар содержат все или часть генов гер, сар или аар парвовируса. В некоторых вариантах воплощения, один или более генов гер, сар или аар содержат синтетическую последовательность.

Следует понимать, что конкретный описанный в данном документе геном AAV может иметь гены из разных геномов AAV (например, геномы из AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11). Таким образом, в данном документе раскрыты векторы AAV, которые содержат любую возможную пермутацию гер, сар или аар.

Инвертированные концевые повторы.

Некоторые аспекты настоящего изобретения относятся к молекуле нуклеиновой кислоты, содержащей первый ITR, например, 5' ITR, и второй ITR, например, 3' ITR. В некоторых вариантах воплощения, ITR включает встречающийся в природе, например ITR включает всю или часть ITR парвовируса. В некоторых вариантах воплощения, ITR содержит синтетическую последовательность.

В некоторых вариантах воплощения, ITR содержит ITR из генома AAV. В некоторых вариантах воплощения, ITR представляет собой ITR генома AAV, выбранного из AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11 и любой их комбинации. В некоторых вариантах воплощения, ITR представляет собой ITR генома AAV8 или AAV9. В других вариантах воплощения, ITR представляет собой синтетическую последовательность, созданную с помощью генной инженерии, которая включает на своих 5'- и 3'-концах ITR, происходящие из одного или более геномов AAV. В некоторых вариантах воплощения, ITR происходят из одного и того же генома, например, из генома одного и того же вируса, или из разных геномов, например, из геномов двух или более разных геномов AAV. В некоторых вариантах воплощения, ITR происходят из того же генома AAV. В других вариантах воплощения, два ITR, присутствующие в молекуле нуклеиновой кислоты по настоящему изобретению, являются одинаковыми и могут быть, в частности, ITR AAV2. В некоторых вариантах воплощения, первый ITR и второй ITR идентичны.

В некоторых вариантах воплощения, ITR представляет собой синтетическую последовательность, созданную с помощью генной инженерии и включающую на своих 5'- и 3'-концах ITR, полученные не из генома AAV. В некоторых вариантах воплощения, последовательность ITR содержит одну или более палиндромных последовательностей. Палиндромная последовательность ITR, раскрытая в настоящем документе, включает, но не ограничивается ими, нативные палиндромные последовательности (т.е. последовательности, встречающиеся в природе), синтетические последовательности (т.е. последовательности, не встречающиеся в природе), такие как псевдопалиндромные последовательности, и комбинации или модифицированные их формы. "Псевдопалиндромная последовательность" представляет собой палиндромную последовательность ДНК, включая несовершенную палиндромную последовательность, которая разделяет менее 80%, включая менее 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10 или 5%, или отсутствие идентичности последовательности нуклеиновой кислоты с последовательностями в нативной палиндромной последовательности AAV, которые образуют вторичную структуру. Нативные палиндромные последовательности могут быть получены или происходить из любого раскрытого в данном документе генома. Синтетическая палиндромная последовательность может быть основана на любом раскрытом в данном документе геноме. Палиндромная последовательность может быть непрерывной или прерывистой. В некоторых вариантах воплощения, палиндромная последовательность прерывается, причем палиндромная последовательность содержит вставку второй последовательности. В некоторых вариантах воплощения, вторая последовательность включает промотор, энхансер, сайт интеграции интегразы (например, сайты для рекомбиназы Cre или Flp), открытую рамку считывания для продукта гена или их комбинацию. В некоторых вариантах воплощения, ITR образуют петлевые шпилечные структуры. В одном варианте воплощения, первый ITR образует шпилечную структуру. В другом варианте воплощения, второй ITR образует шпилечную структуру. Еще в другом варианте воплощения, как первый ITR, так и второй ITR образуют шпилечные структуры.

В некоторых вариантах воплощения, ITR в молекуле нуклеиновой кислоты, описанной в данном документе, может быть транскрипционно активированным ITR. ITR, активированный транскрипцией, может включать весь ITR дикого типа или его часть, который был активирован транскрипцией путем включения по меньшей мере одного транскрипционно активного элемента. В этом контексте подходят различные типы транскрипционно активных элементов. В некоторых вариантах воплощения, транскрипционно активный элемент является конститутивным транскрипционно активным элементом. Конститу-

тивные транскрипционно активные элементы обеспечивают постоянный уровень транскрипции гена и предпочтительны, когда желательно, чтобы трансген экспрессировался на постоянной основе. В других вариантах воплощения, транскрипционно активный элемент представляет собой индуцибельный транскрипционно активный элемент. Индуцируемые транскрипционно активные элементы обычно проявляют низкую активность в отсутствие индуктора (или индуцирующего условия) и активируются в присутствии индуктора (или переключаются в индуцирующее состояние). Индуцируемые транскрипционно активные элементы могут быть предпочтительными, когда экспрессия желательна только в определенное время или в определенных местах, или когда желательно титровать уровень экспрессии с использованием индуцирующего агента. Транскрипционно активные элементы также могут быть тканеспецифичными; то есть они проявляют активность только в определенных тканях или типах клеток. Транскрипционно активные элементы могут быть включены в ITR множеством способов. В некоторых вариантах воплощения, транскрипционно активный элемент включен 5' в любую часть ITR или 3' в любую часть ITR. В других вариантах воплощения, транскрипционно активный элемент активированной транскрипцией ITR находится между двумя последовательностями ITR. Если транскрипционно активный элемент содержит два или более элементов, которые должны быть разнесены, эти элементы могут чередоваться с частями ITR. В некоторых вариантах воплощения, шпильчатая структура ITR удаляется и заменяется инвертированными повторами транскрипционного элемента. Эта последняя расстановка создаст шпильку, имитирующую удаленную часть в структуре. Множественные тандемные транскрипционно активные элементы могут также присутствовать в активированной транскрипцией ITR, и они могут быть смежными или разнесенными. Кроме того, сайты связывания белков (например, сайты связывания Rep) могут быть введены в транскрипционно активные элементы транскрипционно-активируемых ITR. Транскрипционно активный элемент может содержать любую последовательность, обеспечивающую контролируемую транскрипцию ДНК с помощью РНК-полимеразы с образованием РНК, и может содержать, например, транскрипционно активный элемент, как определено ниже. Активированные транскрипцией ITR обеспечивают как активацию транскрипции, так и функции ITR для молекулы нуклеиновой кислоты с относительно ограниченной длиной нуклеотидной последовательности, которая эффективно максимизирует длину трансгена, который может переноситься и экспрессироваться из молекулы нуклеиновой кислоты. Встраивание транскрипционно активного элемента в ITR можно осуществить множеством способов. Сравнение последовательности ITR и требований к последовательности транскрипционно активного элемента может дать представление о способах кодирования элемента в пределах ITR. Например, транскрипционная активность может быть добавлена к ITR посредством внесения определенных изменений в последовательность ITR, которая реплицирует функциональные элементы транскрипционно активного элемента. В данной области техники существует ряд методов для эффективного добавления, удаления и/или изменения конкретных нуклеотидных последовательностей в определенных сайтах (см., например, Deng and Nickoloff (1992) Anal. Biochem. 200:81-88). Другой способ создания ITR, активируемых транскрипцией, включает введение сайта рестрикции в желаемое место ITR. Кроме того, множественные транскрипционно активные элементы могут быть встроены в ITR, активируемую транскрипцией, с использованием способов, известных в данной области техники. В качестве иллюстрации, ITR, активируемые транскрипцией, могут быть получены путем включения одного или более транскрипционно активных элементов, таких как: ТАТА бокс, GC бокс, ССААТ бокс, сайт Spl, область Inr, сайт CRE (регуляторный элемент цАМФ), сайт ATF-1/CRE, APB β бокс, APB α бокс, CArG бокс, ССАС бокс или любой другой элемент, участвующий в транскрипции, как известно в данной области техники.

Антагонисты FAM19A5.

Векторы AAV по настоящему изобретению содержат нуклеиновую кислоту, которая кодирует один или более антагонистов белка FAM19A5. В некоторых вариантах воплощения, антагонист FAM19A5 представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с белком FAM19A5. В некоторых вариантах воплощения, антитело к FAM19A5 содержит Fab, Fab¹, F(ab')₂, Fv или одноцепочечный Fv (scFv). В некоторых вариантах воплощения, антитело к FAM19A5 представляет собой scFv.

В некоторых вариантах воплощения, антитело к FAM19A5 (например, scFv к FAM19A5), экспрессируемое векторами AAV согласно настоящему изобретению, характеризуется конкретными функциональными особенностями или свойствами. Например, антитела специфически связывают человеческий FAM19A5, включая растворимый FAM19A5 и мембраносвязанный FAM19A5. В дополнение к специфическому связыванию с растворимым и/или мембраносвязанным FAM19A5, антитела, описанные в данном документе, проявляют одно или более из следующих функциональных свойств:

- (а) уменьшают, устраняют и/или предотвращают фиброз; уменьшают образование избыточного внеклеточного матрикса (ECM);
- (б) задерживают рост или прогрессирование опухоли;
- (в) связываются с растворимым человеческим FAM19A5 с K_D 10 нМ или менее, измеренной с помощью иммуноферментного анализа (ELISA);
- (г) связываются с мембраносвязанным человеческим FAM19A5 с K_D 10 нМ или менее, измеренной с помощью ELISA;

- (д) уменьшают, устраняют, задерживают и/или предотвращают развитие реактивного глиоза;
- (е) подавляют избыточную пролиферацию реактивных астроцитов;
- (ж) уменьшают экспрессию протеогликанов хондроитинсульфата, включая нейрокан и нейрон-глиальный антиген 2 (NG2);
- (з) увеличивают экспрессию c-fos и pERK в ядре нейронов; (и) способствуют выживанию нейронов;
- (к) увеличивают экспрессию GAP43 в нейронах; и (л) способствуют отрастанию аксона.

В некоторых вариантах воплощения, антитело к FAM19A5 (например, scFv) специфически связывается с растворимым человеческим FAM19A5 или мембраносвязанным человеческим с высокой аффинностью, например, с K_D 10^{-7} М или менее, 10^{-8} М или менее, 10^{-9} М (1 нМ) или менее, 10^{-10} М (0,1 нМ) или менее, 10^{-11} М или менее или 10^{-12} М или менее, например, от 10^{-12} М до 10^{-7} М, от 10^{-11} М до 10^{-7} М, от 10^{-10} М до 10^{-7} М или от 10^{-9} М до 10^{-7} М, например, 10^{-12} М, 5×10^{-12} М, 10^{-11} М, 5×10^{-11} М, 10^{-10} М, 5×10^{-10} М, 10^{-9} М, 5×10^{-9} М, 10^{-8} М, 5×10^{-8} М, 10^{-7} М или 5×10^{-7} М. Стандартные анализы для оценки способности антитела связываться с человеческим FAM19A5 различных видов известны в данной области техники, включая, например, ELISA, вестерн-блоты и RIA. Кинетика связывания (например, аффинность связывания) антител также может быть оценена с помощью стандартных анализов, известных в данной области техники, таких как ELISA, анализ BIACORE™ или KINEXA®.

В некоторых вариантах воплощения, антитело к FAM19A5 (например, scFv) связывается с растворимым человеческим FAM19A5 с K_D , например, как определено с помощью ELISA, 10^{-7} М или менее, 10^{-8} М (10 нМ) или менее, 10^{-9} М (1 нМ) или менее, 10^{-10} М или менее, от 10^{-12} М до 10^{-7} М, от 10^{-11} М до 10^{-7} М, от 10^{-10} М до 10^{-7} М, от 10^{-9} М до 10^{-7} М или от 10^{-8} М до 10^{-7} М. В некоторых вариантах воплощения, антитело к FAM19A5 (например, scFv) связывается с растворимым FAM19A5 с K_D 10 нМ или менее, например, от 0,1 до 10 нМ, от 0,1 до 5 нМ, от 0,1 до 1 нМ, от 0,5 до 10 нМ, от 0,5 до 5 нМ, от 0,5 до 1 нМ, от 1 до 10 нМ, от 1 до 5 нМ или от 5 до 10 нМ. В некоторых вариантах воплощения, антитело к FAM19A5 (например, scFv) специфически связывается с растворимым человеческим FAM19A5 с K_D приблизительно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, или 900 пМ или приблизительно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или 9 нМ, или приблизительно 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 или 90 нМ, как определено с помощью ELISA. В некоторых вариантах воплощения, антитело к FAM19A5 (например, scFv) связывается с мембраносвязанным человеческим с K_D , например, как определено с помощью ELISA, 10^{-7} М или менее, 10^{-8} М (10 нМ) или менее, 10^{-9} М (1 нМ) или менее, 10^{-10} М или менее, от 10^{-12} М до 10^{-7} М, от 10^{-11} М до 10^{-7} М, от 10^{-10} М до 10^{-7} М, от 10^{-9} М до 10^{-7} М или от 10^{-8} М до 10^{-7} М. В некоторых вариантах воплощения, антитело к FAM19A5 (например, scFv) специфически связывается с мембраносвязанным человеческим FAM19A5 с K_D 10 нМ или менее как определено с помощью ELISA, например, от 0,1 до 10 нМ, от 0,1 до 5 нМ, от 0,1 до 1 нМ, от 0,5 до 10 нМ, от 0,5 до 5 нМ, от 0,5 до 1 нМ, от 1 до 10 нМ, от 1 до 5 нМ или от 5 до 10 нМ. В некоторых вариантах воплощения, антитело к FAM19A5 (например, scFv) связывается с мембраносвязанным человеческим FAM19A5 с K_D приблизительно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800 или 900 пМ или приблизительно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или 9 нМ или приблизительно 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 или 90 нМ, как определено с помощью ELISA.

В некоторых вариантах воплощения, антитело к FAM19A5 (например, scFv) подходящее для описанных в данном документе способов, перекрестно конкурирует за связывание (или ингибирование связывания) с эпитопом человеческого FAM19A5 с антителом к FAM19A5, содержащим CDR или переменные области, описанные в данном документе.

В некоторых вариантах воплощения, антитела к FAM19A5 (например, scFv) ингибируют связывание с референсным антителом, содержащим CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи и CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи: (i) где CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи референсного антитела содержат аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12 и SEQ ID NO: 13, соответственно и CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи референсного антитела содержат аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24 и SEQ ID NO: 25, соответственно; (ii) где CDR1 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14, CDR2 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15, и CDR3 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16, CDR1 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26, CDR2 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27 и CDR3 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28; (iii) где CDR1 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17, CDR2 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18 и CDR3 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19, CDR1 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29, CDR2 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30 и CDR3 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 31; (iv) где CDR1 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20, CDR2 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21, CDR3 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22, CDR1 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, CDR2 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 33 и CDR3 легкой цепи содержит ами-

36 и 40, соответственно; (в) последовательности вариабельной области тяжелой и легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 37 и 41, соответственно; (г) последовательности вариабельной области тяжелой и легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 38 и 42, соответственно; (д) последовательности вариабельной области тяжелой и легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 155 и 166, соответственно; (е) последовательности вариабельной области тяжелой и легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 156 и 167, соответственно; (ж) последовательности вариабельной области тяжелой и легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 157 и 168, соответственно; (з) последовательности вариабельной области тяжелой и легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 158 и 169, соответственно; (и) последовательности вариабельной области тяжелой и легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 159 и 170, соответственно; (к) последовательности вариабельной области тяжелой и легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 160 и 171, соответственно; (л) последовательности вариабельной области тяжелой и легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 161 и 172, соответственно; (м) последовательности вариабельной области тяжелой и легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 162 и 173, соответственно; (н) последовательности вариабельной области тяжелой и легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 163 и 174, соответственно; (о) последовательности вариабельной области тяжелой и легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 164 и 175, соответственно; или (п) последовательности вариабельной области тяжелой и легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 165 и 176, соответственно. В некоторых вариантах воплощения, референсное антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH) и вариабельную область легкой цепи (VL), где VH содержит аминокислотную последовательность как указано в табл. 4 и VL содержит аминокислотную последовательность как указано в табл. 5.

В некоторых вариантах воплощения, антитело к FAM19A5 (например, scFv) ингибирует связывание такого референсного антитела с человеческим FAM19A5 по меньшей мере на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или на 100%. Конкурирующие антитела связываются с одним и тем же эпитопом, перекрывающимся эпитопом или смежными эпитопами (например, о чем свидетельствует стерическое несоответствие). Конкурируют ли два антитела друг с другом за связывание с мишенью, можно определить с помощью экспериментов по конкуренции, известных в данной области техники, таких как RIA и EIA.

В некоторых вариантах воплощения, антитело к FAM19A5 (например, scFv) связывается с одним и тем же эпитопом FAM19A5, что и референсное антитело, раскрытое в данном документе, содержащее CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи и CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, (i) где CDR1 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11, CDR2 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12 и CDR3 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, CDR1 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 23, CDR2 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24 и CDR3 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 25; (ii) где CDR1 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14, CDR2 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15 и CDR3 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16, CDR1 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26, CDR2 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27 и CDR3 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28; (iii) где CDR1 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17, CDR2 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18 и CDR3 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19, CDR1 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29, CDR2 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30 и CDR3 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 31; (iv) где CDR1 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20, CDR2 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21, CDR3 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22, CDR1 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, CDR2 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 33 и CDR3 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34; (v) где CDR1 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 89, CDR2 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 90, CDR3 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 91, CDR1 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 92, CDR2 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 93 и CDR3 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 94; (vi) где CDR1 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 95, CDR2 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 96, CDR3 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 97, CDR1 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 98, CDR2 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 99 и CDR3 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 100; (vii) где CDR1 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 101, CDR2 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 102, CDR3 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 103, CDR1 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность

ответственно; (о) последовательности вариабельной области тяжелой и легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 164 и 175, соответственно; или (п) последовательности вариабельной области тяжелой и легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 165 и 176, соответственно. В некоторых вариантах воплощения, референсное антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH) и вариабельную область легкой цепи (VL), где VH содержит аминокислотную последовательность как указано в табл. 4 и VL содержит аминокислотную последовательность как указано в табл. 5.

Методы определения того, связываются ли два антитела с одним и тем же эпитопом, включают, например, способы картирования эпитопов, такие как рентгеноструктурный анализ кристаллов комплексов антиген: антитело, который обеспечивает атомное разрешение эпитопа, и масс-спектрометрия водородно-дейтериевого обмена (HDX-MS), способы мониторинга связывания антитела с фрагментами антигена или мутированными вариациями антигена, где потеря связывания вследствие модификации аминокислотного остатка в последовательности антигена часто считается показателем эпитопного компонента, вычислительные комбинаторные методы для картирования эпитопов.

Антитело к FAM19A5 (например, scFv), которое может быть использовано в раскрытых в данном документе способах, может связываться по меньшей мере с одним эпитопом зрелого человеческого FAM19A5, как определено, например, с помощью связывания антител с фрагментами человеческого FAM19A5. В некоторых вариантах воплощения, антитела к FAM19A5 связываются с фрагментом, расположенным в пределах аминокислотной последовательности TLDRDSSQPRRTIARQTARC (SEQ ID NO: 6 или аминокислотных остатков 42-61 SEQ ID NO: 2), например, эпитопом, имеющим по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 аминокислот SEQ ID NO: 6. В некоторых вариантах воплощения, антитела к FAM19A5 связываются с SEQ ID NO: 6 с одной или несколькими аминокислотами, соответствующими аминокислотным остаткам 46-51 (то есть, DSSQPR), например, аминокислотным остаткам 46, 50 и 52 (то есть, D---P-R), например, аминокислотным остаткам 46, 47, 48 и 50 (то есть, DSS-P) SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах воплощения, антитела к FAM19A5 связываются с фрагментом, расположенным в пределах аминокислотной последовательности CDMLPCLEGEGCDLLINRSG (SEQ ID NO: 9 или аминокислот 90-109 SEQ ID NO: 2), например, эпитопом, имеющим по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 аминокислот SEQ ID NO: 9. В некоторых вариантах воплощения, антитела к FAM19A5 связываются с SEQ ID NO: 9 с одним или несколькими аминокислотными остатками 99-107 (то есть, EGCDLLINR), например, аминокислотными остатками 102, 103, 105 и 107 (то есть, DL-I-R), например, аминокислотными остатками 99, 100, 102, 103, 105 и 107 (то есть, EG-DL-I-R), например, аминокислотными остатками 99, 100 и 107 (то есть, EG-----R) SEQ ID NO: 4.

В некоторых вариантах воплощения, по меньшей мере один эпитоп имеет аминокислотную последовательность, которая является по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на приблизительно 95%, по меньшей мере на приблизительно 96%, по меньшей мере на приблизительно 97%, по меньшей мере на приблизительно 98%, по меньшей мере на приблизительно 99% или на приблизительно 100% идентичной к SEQ ID NO: 6. В некоторых вариантах воплощения, по меньшей мере один эпитоп имеет аминокислотную последовательность, которая является по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на приблизительно 95%, по меньшей мере на приблизительно 96%, по меньшей мере на приблизительно 97%, по меньшей мере на приблизительно 98%, по меньшей мере на приблизительно 99% или на приблизительно 100% идентичной к SEQ ID NO: 9.

В некоторых вариантах воплощения, антитело к FAM19A5 (например, scFv) связывается только с человеческим эпитопом FAM19A5, который представляет собой SEQ ID NO: 5, 6, 7, 8, 9 или 10 или фрагмент, расположенный в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 5, 6, 7, 8, 9 или 10, например, эпитопом, имеющим 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 аминокислот SEQ ID NO: 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В некоторых вариантах воплощения, антитело к FAM19A5 по настоящему изобретению связывается с SEQ ID NO: 6 или его фрагментом в его нативной конформации (то есть, не денатурированным). В некоторых вариантах воплощения, антитело к FAM19A5 связывается с SEQ ID NO: 9 или его фрагментом в его нативной конформации (то есть, не денатурированным). В некоторых вариантах воплощения, антитело к FAM19A5 связывается как с гликозилированным, так и негликозилированным человеческим FAM19A5. В некоторых вариантах воплощения, антитело к FAM19A5 (например, scFv) дополнительно связывается с одним или более дополнительными эпитопами FAM19A5. Таким образом, определенные антитела к FAM19A5 связываются с (i) эпитопом SEQ ID NO: 6 и дополнительным эпитопом или (ii) эпитопом SEQ ID NO: 9 и дополнительным эпитопом. Другие антитела к FAM19A5 могут связываться с эпитопом SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 9 и дополнительным эпитопом. В некоторых вариантах воплощения, антитела к FAM19A5 связываются с эпитопом SEQ ID NO: 6, эпитопом SEQ ID NO: 10 и дополнительным эпитопом.

В некоторых вариантах воплощения, один или более дополнительных эпитопов FAM19A5 выбраны из QLAAGTCEIVTLDR (SEQ ID NO: 5, эпитоп F1), TLDRDSSQPRRTIARQTARC (SEQ ID NO: 6, эпитоп F2), TARCACRKGQIAGTTRARPA (SEQ ID NO: 7, эпитоп F3), ARPACVDARIKTKQWCDML (SEQ ID NO: 8, эпитоп F4), CDMLPCLEGEGCDLLINRSG (SEQ ID NO: 9, эпитоп F5) или NRSWTCTQPGRIKTTTVS (SEQ ID NO: 10, эпитоп F6), или фрагмента, расположенного в пределах аминокислотной после-

довательности SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 или SEQ ID NO: 10 или любой их комбинации. Фрагмент, расположенный в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 или SEQ ID NO: 10, содержит фрагмент, имеющий 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 аминокислот любой из SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 и SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 или SEQ ID NO: 10. В некоторых вариантах воплощения, один или более дополнительных эпитопов FAM19A5 выбраны из SEQ ID NO: 5, 6, 7, 8, 9, или 10, или фрагмента, расположенного в пределах аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 5,6,7,8,9 или 10, например, фрагмента, имеющего 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 аминокислот SEQ ID NO: 5, 6, 7, 8, 9 или 10, или любой их комбинации. В некоторых вариантах воплощения, антитело к FAM19A5 по настоящему изобретению связывается с любым одним или более дополнительными эпитопами в их нативной конформации (то есть, не денатурированными). В некоторых вариантах воплощения, антитело к FAM19A5 связывается как с гликозилированными, так и негликозилированными одним или более дополнительными эпитопами FAM19A5.

В некоторых вариантах воплощения, антитела к FAM19A5 по настоящему изобретению (например, scFv) связываются с по меньшей мере одним эпитопом FAM19A5, определенным как EP2, EP4 и/или EP8, где EP2 содержит, практически состоит из или состоит из аминокислот DSSQP (SEQ ID NO: 66), где EP4 содержит, практически состоит из или состоит из аминокислот ARCACRK (SEQ ID NO: 68) и где EP8 содержит, практически состоит из или состоит из аминокислот TCTQPGGR (SEQ ID NO: 72). В некоторых вариантах воплощения, по меньшей мере один эпитоп имеет аминокислотную последовательность, которая является по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на приблизительно 95%, по меньшей мере на приблизительно 96%, по меньшей мере на приблизительно 97%, по меньшей мере на приблизительно 98%, по меньшей мере на приблизительно 99% или на приблизительно 100% идентичной к EP2, EP4 или EP8. В некоторых вариантах воплощения, антитела к FAM19A5 связываются только с EP2. В некоторых вариантах воплощения, антитела к FAM19A5 связываются с EP4 и EP8.

В некоторых вариантах воплощения, антитело к FAM19A5 связывается по меньшей мере с одним эпитопом FAM19A5, определенным как EP6, EP7 или EP8, где EP6 содержит аминокислоты KTKQWCDML (SEQ ID NO: 70), где EP7 содержит аминокислоты GCDLLINR (SEQ ID NO: 71) и где EP8 содержит аминокислоты TCTQPGGR (SEQ ID NO: 72). В некоторых вариантах воплощения, по меньшей мере один эпитоп имеет аминокислотную последовательность, которая является по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на приблизительно 95%, по меньшей мере на приблизительно 96%, по меньшей мере на приблизительно 97%, по меньшей мере на приблизительно 98%, по меньшей мере на приблизительно 99% или на приблизительно 100% идентичной к EP6, EP7 или EP8. В некоторых вариантах воплощения, антитело к FAM19A5 связывается только с EP6, EP7 или EP8. В некоторых вариантах воплощения, антитело к FAM19A5 связывается с EP6, EP7 и EP8. В некоторых вариантах воплощения, антитело к FAM19A5 связывается с EP7 и EP8. В некоторых вариантах воплощения, антитело к FAM19A5 связывается с EP7. В некоторых вариантах воплощения, антитела к FAM19A5 связываются с одним или более эпитопов FAM19A5, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 72 и любых их комбинаций. В некоторых вариантах воплощения, в данном документе предложено антитело, которое связывается с FAM19A5 (например, человеческим FAM19A5) с 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или более высокой аффинности, чем к другому белку в семействе FAM19A, измеренной, например, с помощью иммуноанализа (например, ELISA), поверхностного плазмонного резонанса или анализа кинетического исключения. В конкретном варианте воплощения, в данном документе предложено антитело, которое связывается с FAM19A5 (например, человеческим FAM19A5) без перекрестной реактивности с другим белком семейства FAM19A5, измеренной с помощью, например, иммуноанализа. В некоторых вариантах воплощения, антитела к FAM19A5 не являются нативными антителами или антителами природного происхождения. Например, антитела к FAM19A5 имеют посттрансляционные модификации, которые отличаются от антител природного происхождения, такие как наличие больше, меньше посттрансляционной модификации или посттрансляционной модификации другого типа.

Типичные антитела к FAM19A5.

Конкретными антителами, которые можно экспрессировать с помощью векторов AAV, раскрытых в данном документе, являются антитела, например, scFv, имеющие последовательности CDR и/или вариативной области антител к FAM19A5 1-65,3-2 и 2-13, а также антитела, имеющие по меньшей мере 80% идентичности (например, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 99% идентичности) к их вариативной области или последовательностям CDR; см. патент США № 9579398; Международная заявка № PCT/IB2017/001490. В табл. 2 и 3 представлены типичные последовательности CDR тяжелой цепи и легкой цепи соответственно. CDR для следующих антител были идентифицированы с использованием схемы нумерации по Кабату (см. выше): 1-65, 3-2, 2-13, 1-28, P2-C12, 13B4, 13F7, 15A9, P1-A03, P1-A08, P1-F02, P2-A01, P2-A03, P2-F07, P2-F11, SS01-13, SS01-13-s5 и S5-2.GKNG. CDR для следующих антител были идентифицированы с использованием системы нумерации IMGT (см. выше): 1-7A-IT, Low-PI, 1-30, 1-17, 1-32, 4-11, 6-10, 2-13D, 2-13D-37, 2-13D-37-1.5W-41

и 2-13D-37-3W-16. Аминокислотные последовательности VH и VL разных антител к FAM19A5 по настоящему изобретению представлены в табл. 4 и 5, соответственно.

Таблица 2

Аминокислотные последовательности варибельной CDR тяжелой цепи

Антитело	VH-CDR1	VH-CDR2	VH-CDR3
Anti-FAM19A5 ("1-65")	SYQMG (SEQ ID NO: 17)	VINKSGSDTS (SEQ ID NO: 18)	GSASYITAATIDA (SEQ ID NO: 19)
Anti-FAM19A5 ("3-2")	SFNMF (SEQ ID NO: 14)	QISSSGSSTNYAPAV RG (SEQ ID NO: 15)	SSYDCPYGHCSSG VDSAGE IDA (SEQ ID NO: 16)
Anti-FAM19A5 ("2-13")	SHGMF (SEQ ID NO: 11)	EITNDGSGTNYGSA VKG (SEQ ID NO: 12)	STYECPPGGFSCWG DTGQID A (SEQ ID NO: 13)
Anti-FAM19A5 ("1-28")	GDFDSYDG (SEQ ID NO: 20)	IRSDG SNP (SEQ ID NO: 21)	AKDGNGYCALDA YRSGGYS CGVYPGSIDA (SEQ ID NO: 22)
Anti-FAM19A5 ("P2-C12")	TYAVT (SEQ ID NO: 89)	YINWRGGTSYANW AKG (SEQ ID NO: 90)	DASSGAAFGSYGM DP (SEQ ID NO: 91)
Anti-FAM19A5 ("13B4")	SSNWS (SEQ ID NO: 95)	EIYHGGTTNYP SL KG (SEQ ID NO: 96)	WQLVGGLDV (SEQ ID NO: 97)
Anti-FAM19A5 ("13F7")	GYSWT (SEQ ID NO: 101)	EISHFGSANYNPSL KS (SEQ ID NO: 102)	ALRGTYSRFYGM DV (SEQ ID NO: 103)
Anti-FAM19A5 ("15A9")	SYYS (SEQ ID NO: 107)	YIYPSGSTNYP SL KS (SEQ ID NO: 108)	VNPFGYYYAMDV (SEQ ID NO: 109)
Anti-FAM19A5 ("P1-A03")	SDYMS (SEQ ID NO: 113)	IIPSTTTYASWA KG (SEQ ID NO: 114)	GSNWSSGMNL (SEQ ID NO: 115)
Anti-FAM19A5 ("P1-A08")	TYYS (SEQ ID NO: 119)	IVYPSGTTYANW AKG (SEQ ID NO: 120)	GDSFGYGL (SEQ ID NO: 121)
Anti-FAM19A5 ("P1-F02")	NYYS (SEQ ID NO: 125)	IYASGSTYASWA KG (SEQ ID NO: 126)	IDIGVDYGWAYD RLDL (SEQ ID NO: 127)
Anti-FAM19A5 ("P2-A01")	GYYS (SEQ ID NO: 131)	IYPSGSTDYASWA KG (SEQ ID NO: 132)	VAGYVGYGYETFF DI (SEQ ID NO: 133)
Anti-FAM19A5	NYDMS	FMDTDGSAYYATW	RGSSYYGGIDI

("P2-A03")	(SEQ ID NO: 137)	AKG (SEQ ID NO: 138)	(SEQ ID NO: 139)
Anti-FAM19A5 ("P2-F07")	SYVMN (SEQ ID NO: 143)	IIYPSGTTYAGWA KG (SEQ ID NO: 144)	TVSGYFDI (SEQ ID NO: 145)
Anti-FAM19A5 ("P2-F11")	SYGVS (SEQ ID NO: 149)	YIANNYNPHYASW AKG (SEQ ID NO: 150)	DNYGMDP (SEQ ID NO: 151)
Anti-FAM19A5 ("SS01-13")	SYQMG (SEQ ID NO: 17)	VINKSGSDTS (SEQ ID NO: 18)	GSASYITAATIDA (SEQ ID NO: 19)
Anti-FAM19A5 ("SS01-13- s5")	SYQMG (SEQ ID NO: 17)	AINKSGSDTS (SEQ ID NO: 208)	GSASYITAATIDA (SEQ ID NO: 19)
Anti-FAM19A5 ("S5- 2.GKNG")	SYQMG (SEQ ID NO: 17)	AINKGSDTS (SEQ ID NO: 209)	GSASYITAATIDA (SEQ ID NO: 19)
Anti-FAM19A5 ("1-7A-IT")	GFTFSSFNM (SEQ ID NO: 210)	QISSSGSSTNYAPA VKG (SEQ ID NO: 211)	SSYDCPYGHCSSG VDSAGE IDA (SEQ ID NO: 16)
Anti-FAM19A5 ("Low-PI")	GDFEFNM (SEQ ID NO: 212)	QISSSEEDENYAPA VKG (SEQ ID NO: 213)	SSYDCPYGHCSSG VDSAGE IDA (SEQ ID NO: 16)
Anti-FAM19A5 ("1-30")	GDFEF _H MF (SEQ ID NO: 212)	QISSSEEDENYAPA VKG (SEQ ID NO: 213)	SSYDCPYGHCSSG VDSAGE IDA (SEQ ID NO: 16)
Anti-FAM19A5 ("1-17")	GDFEF _H MF (SEQ ID NO: 212)	QISSSEEDENYAPA VKG (SEQ ID NO: 213)	SSYDCPYGHCSSG VDSAGE IDA (SEQ ID NO: 16)
Anti-FAM19A5 ("1-32")	GDFEF _H MF (SEQ ID NO: 212)	QISSSEEDENYAPA VKG (SEQ ID NO: 213)	SSYDCPYGHCSSG VDSAGE IDA (SEQ ID NO: 16)

Anti-FAM19A5 ("4-11")	GFDFFESF _H MF (SEQ ID NO: 212)	QISSSEEDENYAPA VKG (SEQ ID NO: 213)	SSYDCPYGHCSSG VDSAGE IDA (SEQ ID NO: 16)
Anti-FAM19A5 ("6-10")	GFDFFESFNMF (SEQ ID NO: 212)	QISSSEEDENYAPA VKG (SEQ ID NO: 213)	SSYDCPYGHCSSG VDSAGE IDA (SEQ ID NO: 16)
Anti-FAM19A5 ("2-13D")	GFTFSSHGMF (SEQ ID NO: 214)	EITNDGSGTNYGSA VKG (SEQ ID NO: 12)	STYECPPGGFSCWG DTGQID A (SEQ ID NO: 13)
Anti-FAM19A5 ("2-13D-37")	GFDFFSSHGMF (SEQ ID NO: 215)	EITNDGSGTNYGSA VKG (SEQ ID NO: 12)	STYECPPGGFSCWG DTGQID A (SEQ ID NO: 13)
Anti-FAM19A5 ("2-13D-37- 1.5W-41")	GFDFFSSHGMF (SEQ ID NO: 215)	EITNDGSGTNYGSA VKG (SEQ ID NO: 12)	SSYVCPGGFSCWG DTGQID A (SEQ ID NO: 216)
Anti-FAM19A5 ("2-13D-37- 3W- 16")	GFDFFSSHGMF (SEQ ID NO: 215)	EITNDGSGTNYGSA VKG (SEQ ID NO: 12)	SNYACPPGGFSCWG DTGQID A (SEQ ID NO: 217)

Таблица 3

Аминокислотные последовательности варибельной CDR легкой цепи

Антитело	VL-CDR1	VL-CDR2	VL-CDR3
Anti-FAM19A5 ("1-65")	SGGGSSGYGYG (SEQ ID NO: 29)	WNDKRPS (SEQ ID NO: 30)	GNDDYSSDSGYVG V (SEQ ID NO: 31)
Anti-FAM19A5	SGGGSYAGSYY	ESNKRPS (SEQ ID	GSWDSSNGGI

("3-2")	YG (SEQ ID NO: 26)	NO: 27)	(SEQ ID NO: 28)
Anti-FAM19A5 ("2-13")	SGGSYSYG (SEQ ID NO: 23)	WDDERPS (SEQ ID NO: 24)	GTEDISGTAGV (SEQ ID NO: 25)
Anti-FAM19A5 ("1-28")	GYGYG (SEQ ID NO: 32)	QND (SEQ ID NO: 33)	GSEDSSTLAGI (SEQ ID NO: 34)
Anti-FAM19A5 ("P2-C12")	QASQSISSYLS (SEQ ID NO: 92)	EASKLAS (SEQ ID NO: 93)	QQGYSSTNVWNA (SEQ ID NO: 94)
Anti-FAM19A5 ("13B4")	SGDKLGNVYAS (SEQ ID NO: 98)	QDNKRPS (SEQ ID NO: 99)	QAWDSSTAV (SEQ ID NO: 100)
Anti-FAM19A5 ("13F7")	RSSQSLHNSGY NYLD (SEQ ID NO: 104)	LGSNRAS (SEQ ID NO: 105)	MQARQTPLT (SEQ ID NO: 106)
Anti-FAM19A5 ("15A9")	RASQSISTSLN (SEQ ID NO: 110)	GASTLQS (SEQ ID NO: 111)	QESASIPRT (SEQ ID NO: 112)
Anti-FAM19A5 ("P1-A03")	LASEDIYSGIS (SEQ ID NO: 116)	GASNLES (SEQ ID NO: 117)	LGGYSYSSTGLT (SEQ ID NO: 118)
Anti-FAM19A5 ("P1-A08")	TADTLRSYAS (SEQ ID NO: 122)	RDTSRPS (SEQ ID NO: 123)	ATSDGSGSNYQYV (SEQ ID NO: 124)
Anti-FAM19A5 ("P1-F02")	LASEDIYSGIS (SEQ ID NO: 128)	GASNLES (SEQ ID NO: 129)	LGGYSYSSTIT (SEQ ID NO: 130)
Anti-FAM19A5 ("P2-A01")	LASEDIYSGIS (SEQ ID NO: 134)	GASNLES (SEQ ID NO: 135)	LGGVTYSSTGTHL T (SEQ ID NO: 136)
Anti-FAM19A5 ("P2-A03")	QASQSIGGNLA (SEQ ID NO: 140)	RASTLAS (SEQ ID NO: 141)	QSPAYDPAAAYVGN A (SEQ ID NO: 142)
Anti-FAM19A5 ("P2-F07")	LASEDIYSALA (SEQ ID NO: 146)	GTSNLES (SEQ ID NO: 147)	QGYSSYPLT (SEQ ID NO: 148)
Anti-FAM19A5 ("P2-F11")	QASQSVYNNKN LA (SEQ ID NO: 153)	AASTLAS (SEQ ID NO: 153)	QGEFSCSSADCNA (SEQ ID NO: 154)

	152)		
Anti-FAM19A5 ("SS01-13")	SGGASSGYGYG (SEQ ID NO: 218)	KDDERPS (SEQ ID NO: 219)	GNDDYSSDSGYVGV (SEQ ID NO: 31)
Anti-FAM19A5 ("SS01-13- S5")	SGGASSGYGYG (SEQ ID NO: 218)	KDSERPS (SEQ ID NO: 220)	GNDDYSSDSGYVGV (SEQ ID NO: 31)
Anti-FAM19A5 ("S5- 2.GKNG")	SGGASSGYGYG (SEQ ID NO: 218)	KDSERPS (SEQ ID NO: 220)	GNDDYSSDSGYVGV (SEQ ID NO: 31)
Anti-FAM19A5 ("1-7A-IT")	SGGGSYAGSYY YG (SEQ ID NO: 26)	ENNKRPS (SEQ ID NO: 221)	GSWDSSNGGI (SEQ ID NO: 28)
Anti-FAM19A5 ("Low-PI")	SGGGSEEEQYYY G (SEQ ID NO: 222)	EDEERPS (SEQ ID NO: 223)	GSWDSEDEDH (SEQ ID NO: 223)
Anti-FAM19A5 ("1-30")	SGGGSEEEQYYY G (SEQ ID NO: 222)	QDEERPS (SEQ ID NO: 225)	GSWDSEDEDH (SEQ ID NO: 224)
Anti-FAM19A5 ("1-17")	SGGGSYAGSYY YG (SEQ ID NO: 26)	EDEQRPS (SEQ ID NO: 226)	GSWDSEDEDH (SEQ ID NO: 224)
Anti-FAM19A5 ("1-32")	SGGGSYAGSYY YG (SEQ ID NO: 26)	QDEERPS (SEQ ID NO: 225)	GSWDSEDEDH (SEQ ID NO: 224)
Anti-FAM19A5 ("4-11")	SGGGSYAGSYY YG (SEQ ID NO: 26)	EDHERPS (SEQ ID NO: 227)	GSWDSSDEDH (SEQ ID NO: 228)
Anti-FAM19A5 ("6-10")	SGGGSYAGSYY YG (SEQ ID NO: 26)	QDLLRPS (SEQ ID NO: 229)	GSWDSLSSSH (SEQ ID NO: 230)

Anti-FAM19A5 ("2-13D")	SGGVYSYG (SEQ ID NO: 231)	WDDERPS (SEQ ID NO: 24)	GTEDISGTAGV (SEQ ID NO: 25)
Anti-FAM19A5 ("2-13D-37")	SGGVYSYG (SEQ ID NO: 231)	WDDERPS (SEQ ID NO: 24)	GTEDISGTAGV (SEQ ID NO: 25)
Anti-FAM19A5 ("2-13D-37- 1.5W-41")	SGGVYSYG (SEQ ID NO: 231)	WDDERPS (SEQ ID NO: 24)	GTEDISGTAGV (SEQ ID NO: 25)
Anti-FAM19A5 ("2-13D-37- 3W- 16")	SGGVYSYG (SEQ ID NO: 231)	WDDERPS (SEQ ID NO: 24)	GTEDISGTAGV (SEQ ID NO: 25)

Таблица 4

Аминокислотная последовательность варибельной тяжелой цепи

Антитело	Аминокислотная последовательность VH (SEQ ID NO)
Anti- FAM19A5 ("1-65")	AVTLDESGGGLQTPGGALSLVCKASGFTFSSYQMGWVRQAP GKGLEWVGVINKSGSDTSY GSAVKGRATISRDNQSTVRLQLNNLRAEDTGTYFCAKGSAS YITAATIDAWGHGTEVIV SSTS (SEQ ID NO: 37)
Anti- FAM19A5 ("3-2")	AVTLDESGGGLQTPGGALSLVCKASGFTFSSF _H MF _H WVRQAPG KGL _{EY} VAQISSSGSSTNY APAVRGRATISRDNQSTVRLQLNNPGAEDTGTY _Y CAKSS _Y DCPYGHCSSGVDSAGEIDA WGHGTEVIVSS (SEQ ID NO: 36)
Anti- FAM19A5 ("2-13")	AVTLDESGGGLQTPGGALSLVCKASGFTFSSHG _M F _M WVRQTP GKGL _{EY} VAEITNDGSGTNY GSAVKGRATISRDNQSTVRLQLNNLRAEDTGTYFCARSTYE CPGGFSCWGD _{TG} QIDAWG HGTEVIVSS (SEQ ID NO: 35)
Anti-	AVTLDESGGGLQTPGGALSLVCKASGDFDSYGMGWVRQAP

FAM19A5 ("1-28")	GKGLEWVAAIRSDGSNPSY GSAVKGRATISKDNGRSTVRLQLNNLRAEDTATYYCAKDGN GYCALDAYRSGGYSCGVYP GSIDAWGHGTEVIVSS (SEQ ID NO: 38)
Anti- FAM19A5 ("P2-C12")	QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGFSLSTYAVTWVRQAPGK GLEWIGYINWRGGTSYAN WAKGRFTISKTSSTTVDLKMTSPTTEDTATYFCARDASSGAA FGSYGMDPWGPGTLVTVS S (SEQ ID NO: 155)
Anti- FAM19A5 ("13B4")	QVQLQESG PGLVKPSG TLSLNC AVSGGSISSSNWWSWVRQPP GKGLEWIGEIYHGGTTNY NPSLKGRVTMSVDKTKNQFSLRLSSVTAVDTAVYYCARWQL VGGLDVWGQGT TVTVSS (SEQ ID NO: 156)
Anti- FAM19A5 ("13F7")	QVQLQEWGAGLLKPSETLSLTCAINAESFNGYSWTWIRQTPG KGLEWIGEISHFGSANYN PSLKSRATISADKSKNQFSLKLTAVDTAVYYCARALRGT YSRFYYGMDVWGQGT TVT VSS (SEQ ID NO: 157)
Anti- FAM19A5 ("15A9")	QVQLQESG PGLVKPSETLSL TCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGK GLEWIGYIYPSGSTNYN PSLKSRVTISVDTSKNQFSLNLKSVTAVDTAVYYCARVNPFG YYYAMDVWGQGT TVTVSS (SEQ ID NO: 158)
Anti- FAM19A5 ("P1-A03")	QSVEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGFSLSSDYMSWVRQAPGE GLEWIGIIPSTTTYAS WAKGRFTISKTSSTTVELKMTSLTTEDTATYFCARGSNWSSG MNLWGPGLVTVSS (SEQ ID NO: 159)
Anti- FAM19A5 ("P1-A08")	QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTASGFSLSTYYMSWVRQAPGK GLEWIGIVYPSGTTYAN WAKGRFTISTASTTVDLIMITSPTTEDTATYFCARGDSFGYGL

	WPGGTLVTVSS (SEQ ID NO: 160)
Anti-FAM19A5 ("P1-F02")	QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTASGFSLSNYYMGWVRQAPGE GLEWIGIIYASGSTYYAS WAKGRFTISK TSTTVDLKMTSLTTEDTATYFCARIDIGVGDY GWAYDRLDLWGQGTLLTV SS (SEQ ID NO: 161)
Anti-FAM19A5 ("P2-A01")	QEQLVESGGRLVTPGTPLTLTCTASGFFLSGYYMSWVRQAPG KGLEWIGIIYPSGSTDYASWAKGRFTISK TSTTVDLKITTPTTE DTATYFCARVAGYVGYGYETFFDIWPGGTLVTVSL (SEQ ID NO: 162)
Anti-FAM19A5 ("P2-A03")	QSVEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGFSLNNYDMSWVRQAPG KLEYIGFMDTDGSAYYAT WAKGRFTISRTSTTVDLKMTSPTTEDTATYFCARRGSSYYGG IDIWGPPTVTVSL (SEQ ID NO: 163)
Anti-FAM19A5 ("P2-F07")	QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTASGFSLSSYYMNWVRQAP GKGLEWIGIIYPSGTTYAG WAKGRFTISK TSTTVDLKITSPTSEDATYFCARTVSGYFD IWPGGTLVTVSL (SEQ ID NO: 164)
Anti-FAM19A5 ("P2-F11")	QEQLVESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGFSLSSYGVSWVRQA PGKGLEWIGYIANNYNPHYA SWAKGRFTISKTSSTTVDLKMTSLTTEDTATYFCARDNYG MDPWGPGTLVTVSS (SEQ ID NO: 165)
Anti-FAM19A5 ("SS01-13")	AVTLDESGGGLQTPGGALSLSCKASGFTFSSYQMGWVRQ APGKGLEWVGVINKSGSDTSY GSAVKGRATISRDNQSTLYLQMNNLRAEDTAVYFCAKG

	SASYITAATIDAWGHGTEVIV SS (SEQ ID NO: 232)
Anti-FAM19A5 ("SS01-13-s5")	AVTLDESGGGLQTPGGALRLSCKASGFTFSSYQMGWVRQ APGKGLEWVSAINKSGSDTSY GSAVKGRATISRDNQSTLYLQMNSLRAEDTAVYFCAKG SASYITAATIDAWGHGTEVIV SS (SEQ ID NO: 233)
Anti-FAM19A5 ("S5-2.GKNG")	AVTLDESGGGLQTPGGALRLSCKASGFTFSSYQMGWVRQ APGKGLEWVSAINKGGSDTSY GSAVKGRATISRDNQSTLYLQMNSLRAEDTAVYFCAKG SASYITAATIDAWGHGTEVIV SS (SEQ ID NO: 234)
Anti-FAM19A5 ("1-7A-IT")	AVTLDESGGGLQTPGGALRLSCKASGFTFSS _H MF _H WVRQA PGKGLE _Y V _S Q _I SS _S GSSTNY APAVKGRATISRDNQSTLYLQMNSLRAEDTGTYYCAKS SYDCPYGHCSSGVDSAGEIDA WGHGTEVIVSS (SEQ ID NO: 235)
Anti-FAM19A5 ("Low-PI")	AVTLDESGGGLQTPGGALRLSCKASGDFEF _H MF _H WVRQ APGKGLE _Y V _S Q _I SSSEEDENY APAVKGRATISRDNQSTLYLQMNSLRAEDTGTYYCAKS SYDCPYGHCSSGVDSAGEIDA WGHGTEVIVSS (SEQ ID NO: 236)
Anti-FAM19A5 ("1-30")	AVTLDESGGGLQTPGGALRLSCKASGDFEF _H MF _H WVRQ APGKGLE _Y V _S Q _I SSSEEDENY APAVKGRATISRDNQSTLYLQMNSLRAEDTGTYYCAKS SYDCPYGHCSSGVDSAGEIDA WGHGTEVIVSS (SEQ ID NO: 236)
Anti-FAM19A5 ("1-17")	AVTLDESGGGLQTPGGALRLSCKASGDFEF _H MF _H WVRQ APGKGLE _Y V _S Q _I SSSEEDENY APAVKGRATISRDNQSTLYLQMNSLRAEDTGTYYCAKS SYDCPYGHCSSGVDSAGEIDA WGHGTEVIVSS (SEQ ID NO: 236)

Anti-FAM19A5 ("1-32")	AVTLDESGGGLQTPGGALRLSCKASGFD FESF _H MFWVRQ APGKGGLEYVSQISSSEEDENY APAVKGRATISRDNQSTLYLQMNSLRAEDTGTY YCAKS SYDCPYGHCSSGVDSAGEIDA WGHGTEVIVSS (SEQ ID NO: 236)
Anti-FAM19A5 ("4-11")	AVTLDESGGGLQTPGGALRLSCKASGFD FESF _H MFWVRQ APGKGGLEYVSQISSSEEDENY APAVKGRATISRDNQSTLYLQMNSLRAEDTGTY YCAKS SYDCPYGHCSSGVDSAGEIDA WGHGTEVIVSS (SEQ ID NO: 236)
Anti-FAM19A5 ("6-10")	AVTLDESGGGLQTPGGALRLSCKASGFD FESF _H MFWVRQ APGKGGLEYVSQISSSEEDENY APAVKGRATISRDNQSTLYLQMNSLRAEDTGTY YCAKS SYDCPYGHCSSGVDSAGEIDA WGHGTEVIVSS (SEQ ID NO: 236)
Anti-FAM19A5 ("2-13D")	AVTLDESGGGLQTPGGALRLSCSASGFT FSSHGMFWVRQ APGKGGLEYVSEITNDGSGTNY GSAVKGRATISRDNQSTLYLQMNSLRAEDTGTY FFCARST YECPPGGFSCWGD TGQIDAWG HGTEVIVSS (SEQ ID NO: 237)
Anti-FAM19A5 ("2-13D-37")	AVTLDESGGGLQTPGGALRLSCSASGFD FSSHGMFWVRQ APGKGGLEYVSEITNDGSGTNY GSAVKGRATISRDNQSTLYLQMNSLRAEDTGTY FFCARST YECPPGGFSCWGD TGQIDAWG HGTEVIVSS (SEQ ID NO: 238)
Anti-FAM19A5 ("2-13D-37-1.5W-41")	AVTLDESGGGLQTPGGALRLSCSASGFD FSSHGMFWVRQ APGKGGLEYVSEITNDGSGTNY GSAVKGRATISRDNQSTLYLQMNSLRAEDTGTY FFCARSS YVCPGGFSCWGD TGQIDAWG HGTEVIVSS (SEQ ID NO: 239)
Anti-FAM19A5 ("2-13D-37-3W-16")	AVTLDESGGGLQTPGGALRLSCSASGFD FSSHGMFWVRQ APGKGGLEYVSEITNDGSGTNY GSAVKGRATISRDNQSTLYLQMNSLRAEDTGTY FCARS NYACPPGGFSCWGD TGQIDAWG HGTEVIVSS (SEQ ID NO: 240)

Аминокислотная последовательность варибельной легкой цепи

Антитело	Аминокислотная последовательность VL (SEQ ID NO)
Anti-	ALTQPSSVSVANPGETVKITCSGGSSGYGYGWYQQKSPSSAP LTVIYWNDKRPSDIPSRF
FAM19A5 ("1-65")	SGSKSGSTHTLTITGVQAEDEAVYFCGNDDYSSDSGYVGVFG AGTTLTVL (SEQ ID NO: 41)
Anti- FAM19A5 ("3-2")	ALTQPSSVSVANPGETVKITCSGGSSYAGSYYYGWYQQKAPG SAPVTLIYESNKRPSDIPS RFSGSTSGSTATLTITGVQADDEAIYYCGSWDSSNGGIFGAGT TLTVL (SEQ ID NO: 40)
Anti- FAM19A5 ("2-13")	ALTQPSSVSVANPGETVKITCSGGSSYSYGFQKSPGSALVTVI YWDDERPSDIPSRFSGA LSGSTNTLTITGVQADDEAVYFCGTEDISGTAGVFGAGTTLT VL (SEQ ID NO: 39)
Anti- FAM19A5 ("1-28")	ALTQPSSVSVANLEGTVEITCSGGSGYGYGWYQQKSPGSAPVTV IYQNDKRPSDIPSRFSGS KSGSTGTLTITGVQVEDEAVYYCGSEDSSTLAGIFGAGTTLTV L (SEQ ID NO: 42)
Anti- FAM19A5 ("P2-C12")	ELDMTQTPSSVSAAVGGTVTIKCCQASQSISSYLSWYQQKPGQ PPKLLIYEASKLASGVPS RFSGSGYGTEFTLTISDLECADAAATYYCQQGYSSTNVWNAFG GGTNVEIK (SEQ ID NO: 166)

Anti-FAM19A5 ("13B4")	SYELTQPLSVSVSPGQTASITCSGDKLGNVYASWYQQKPGQS PTLVIYQDNKRPSGIPER FSGSNSGKTATLTISGTQALDEADYYCQAWDSSTA VFGGGTK LTVL (SEQ ID NO: 167)
Anti-FAM19A5 ("13F7")	DIVMTQTPLSLPVAPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYV QKPGQPPQLLIYLGSNRA SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQARQTPLT FGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 168)
Anti-FAM19A5 ("15A9")	DIQMTQSPSSLSASVGDRTISCRASQSISTSLNWYQQTPGKAP RLLIYGASTLQSGVPS RFSGGSGTDFSLTITSLQPEDFATYYCQESASIPRTFGQGTKL DIK (SEQ ID NO: 169)
Anti-FAM19A5 ("P1-A03")	ELVMTQTTPPSLSASVGETVRIRCLASEDIYSGISWYQQKPEKP PTLLISGASNLESGVPP RFSGSGSGTDYTLTIGGVQAEDAATYYCLGGYSYSSTGLTFG AGTNVEIK (SEQ ID NO: 170)
Anti-FAM19A5 ("P1-A08")	ELVLTQSPSVQVNLGQTVSLTCTADTLRSYASWYQQKPGQ APVLLIYRDTSRPSGVPDR FSGSSGNTATLTISGAQAGDEADYYCATSDGSGSNYQYVFG GGTQLTVT (SEQ ID NO: 171)
Anti-FAM19A5 ("P1-F02")	ELDMTQTTPPSLSASVGETVRIRCLASEDIYSGISWYQQKPGKP PTLLIYGASNLESGVPP RFSGSGSGTDYTLTIGGVQAEDAATYYCLGGYSYSSTIFGAG TNVEIK (SEQ ID NO: 172)
Anti-FAM19A5 ("P2-A01")	ELVMTQTTPPSLSASVGETVRIRCLASEDIYSGISWYQQKPGKP PTLLIYGASNLESGVPP RFSGSGSGSDYTLTIGGVQAEDAATYYCLGGVTYSSTGTHLT FGAGTNVEIK (SEQ ID NO: 173)
Anti-	ELDLTQTPASVSEPVGGTVTIKCQASQSIGGNLAWYQQKPGQ

FAM19A5 ("P2-A03")	PPKLLIYRASTLASGVPS RFKGS GSGTDFTLTISDLECADAAATYYCQSPAYDPAAYVGN AFGGGTELEIL (SEQ ID NO: 174)
Anti- FAM19A5 ("P2-F07")	ELDLTQTPPSLSASVGGTVTINCLASEDIYSALAWYQQKPGKP PTLLISGTSNLESGVPP RFSGSGSGTDYTLTIGGVQAEDAATYFCQGYSSYPLTFGAGT NVEIK (SEQ ID NO: 175)
Anti- FAM19A5 ("P2-F11")	ELDLTQTPSSVSAAVGGTVTINCQASQSVYNNKNLAWYQQK PGQPPKLLIYAASTLASGV SSRFKGS GSGTQFTLTISDVQCDDAAATYYCQGEFSCSSADCN AFGGGTELEIL (SEQ ID NO: 176)
Anti- FAM19A5 ("SS01-13")	ALTQPSSVSANPGETVRITCSGGASSGYGYGWYQQKPSSAPL TVIYKDDERPSDIPSRFS GSSSGSTHTLTITGVQAEDEAVYFCGNDDYSSDSGYVGVFGA GTTLTVL (SEQ ID NO: 241)
Anti- FAM19A5 ("SS01-13- s5")	ALTQPSSVSANPGETARITCSGGASSGYGYGWYQQKPSSAPL TVIYKDSERPSDIPSRFS GSSSGSTHTLTISGVQAEDEAVYFCGNDDYSSDSGYVGVFGA GTTLTVL (SEQ ID NO: 242)
Anti- FAM19A5 ("S5- 2.GKNG")	ALTQPSSVSANPGETARITCSGGASSGYGYGWYQQKPSSAPL TVIYKDSERPSDIPSRFS GSSSGSTHTLTISGVQAEDEAVYFCGNDDYSSDSGYVGVFGA GTTLTVL (SEQ ID NO: 242)
Anti- FAM19A5 ("1-7A-IT")	ALTQPSSVSANPGETVKITCSGGGSYAGSYYYGWYQQKPGS APVTLIYENNKRPDIPSR FSGSTSGSTATLTITGVQAGDEADYYCGSWDSSNGGIFGAGT TLTVL (SEQ ID NO: 243)
Anti-	ALTQPSSVSANPGETVKITCSGGGSEEEQYYYGWYQQKPGSA PVTLIYEDEERPSDIPSR

FAM19A5 ("Low-PI")	FSGSTSGSTATLTITGVQAGDEADYYCGSWDSEDEDHFGAGT TLTVL (SEQ ID NO: 244)
Anti- FAM19A5 ("1-30")	ALTQPSSVSANPGETVKITCSGGGSEEEQYYYGWYQKPGSA PVTLIYQDEERPSDIPSR FSGSTSGSTATLTITGVQAGDEADYYCGSWDSEDEDHFGAGT TLTVL (SEQ ID NO: 245)
Anti- FAM19A5 ("1-17")	ALTQPSSVSANPGETVKITCSGGGSYAGSYYYGWYQKPGS APVTLIYEDEQRPSDIPSR FSGSTSGSTATLTITGVQAGDEADYYCGSWDSEDEDHFGAGT TLTVL (SEQ ID NO: 246)
Anti- FAM19A5 ("1-32")	ALTQPSSVSANPGETVKITCSGGGSYAGSYYYGWYQKPGS APVTLIYQDEERPSDIPSR FSGSTSGSTATLTITGVQAGDEADYYCGSWDSEDEDHFGAGT TLTVL (SEQ ID NO: 247)
Anti- FAM19A5 ("4-11")	ALTQPSSVSANPGETVKITCSGGGSYAGSYYYGWYQKPGS APVTLIYEDHERPSDIPSR FSGSTSGSTATLTITGVQAGDEADYYCGSWDSSDEDHFGAGT TLTVL (SEQ ID NO: 248)
Anti- FAM19A5 ("6-10")	ALTQPSSVSANPGETVKITCSGGGSYAGSYYYGWYQKPGS APVTLIYQDLLRPSDIPSR FSGSTSGSTATLTITGVQAGDEADYYCGSWDSLSSSHFGAGT TLTVL (SEQ ID NO: 249)
Anti- FAM19A5 ("2-13D")	ALTQPSSVSANPGETAKITCSGGVYSYGWFQKPGSALVTVI YWDDERPSDIPSRFSGAL SGSTNTLTITGVQAEDEADYYCGTEDISGTAGVFGAGTTLTV L (SEQ ID NO: 250)
Anti- FAM19A5 ("2-13D- 37")	ALTQPSSVSANPGETAKITCSGGVYSYGWFQKPGSALVTVI YWDDERPSDIPSRFSGAL SGSTNTLTITGVQAEDEADYYCGTEDISGTAGVFGAGTTLTV L (SEQ ID NO: 250)
Anti- FAM19A5 ("2-13D-37- 1.5W-41")	ALTQPSSVSANPGETAKITCSGGVYSYGWFQKPGSALVTVI YWDDERPSDIPSRFSGAL SGSTNTLTITGVQAEDEADYYCGTEDISGTAGVFGAGTTLTV L (SEQ ID NO: 250)
Anti- FAM19A5 ("2-13D-37- 3W-16")	ALTQPSSVSANPGETAKITCSGGVYSYGWFQKPGSALVTVI YWDDERPSDIPSRFSGAL SGSTNTLTITGVQAEDEADYYCGTEDISGTAGVFGAGTTLTV L (SEQ ID NO: 250)

(ш) последовательности вариабельной области тяжелой и легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 236 и 248, соответственно;

(щ) последовательности вариабельной области тяжелой и легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 236 и 249, соответственно;

(ы) последовательности вариабельной области тяжелой и легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 237 и 250, соответственно;

(аа) последовательности вариабельной области тяжелой и легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 238 и 250, соответственно;

(бб) последовательности вариабельной области тяжелой и легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 239 и 250, соответственно; или

(вв) последовательности вариабельной области тяжелой и легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 240 и 250, соответственно.

В определенных вариантах воплощения, антитело к FAM19A5 содержит: (i) CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи 1-65 или их комбинации, и/или CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи 1-65 или их комбинации; (ii) CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи 3-2 или их комбинации, и/или CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи 3-2 или любые их комбинации; (iii) CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи 2-13 или их комбинации, и/или CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи 2-13 или любые их комбинации; (iv) CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи 1-28 или их комбинации, и/или CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи 1-28 или любые их комбинации; (v) CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи P2-C12 или их комбинации, и/или CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи P2-C12 или любые их комбинации; (vi) CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи 13B4, или их комбинации, и/или CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи 13B4 или любые их комбинации; (vii) CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи 13F7 или их комбинации, и/или CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи 13F7 или любые их комбинации; (viii) CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи 15A9 или их комбинации, и/или CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи 15A9 или любые их комбинации; (ix) CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи P1-A03 или их комбинации, и/или CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи P1-A03 или любые их комбинации; (x) CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи P1-A08 или их комбинации, и/или CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи P1-A08 или любые их комбинации; (xi) CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи P1-F02 или их комбинации, и/или CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи P1-F02 или любые их комбинации; (xii) CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи P2-A01 или их комбинации, и/или CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи P2-A01 или любые их комбинации; (xiii) CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи P2-A03 или их комбинации, и/или CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи P2-A03 или любые их комбинации; (xiv) CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи P2-F07 или их комбинации, и/или CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи P2-F07 или любые их комбинации; (xv) CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи P2-F11 или их комбинации, и/или CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи F2-F11 или любые их комбинации; (xvi) CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи SS01-13 или их комбинации, и/или CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи SS01-13 или любые их комбинации; (xvii) CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи SS01-13-s5 или их комбинации, и/или CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи SS01-13-s5 или любые их комбинации; (xviii) CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи S5-2.GKNG или их комбинации, и/или CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи S5-2.GKNG или любые их комбинации; (xix) CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи 1-7A-IT или их комбинации, и/или CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи 1-7A-IT или любые их комбинации; (xx) CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи Low-PI или их комбинации, и/или CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи Low-PI или любые их комбинации; (xxi) CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи 1-30 или их комбинации, и/или CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи 1-30 или любые их комбинации; (xxii) CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи 1-17 или их комбинации, и/или CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи 1-17, или любые их комбинации; (xxiii) CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи 1-32 или их комбинации, и/или CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи 1-32 или любые их комбинации; (xxiv) CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи 4-11 или их комбинации, и/или CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи 4-11 или любые их комбинации; (xxv) CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи 6-10 или их комбинации, и/или CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи 6-10 или любые их комбинации; (xxvi) CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи 2-13D или их комбинации, и/или CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи 2-13D или любые их комбинации; (xxvii) CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи 2-13D-37 или их комбинации, и/или CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи 2-13D-37 или любые их комбинации; (xxviii) CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи 2-13D-37-1.5W-41 или их комбинации, и/или CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи 2-13D-37-1.5W-41 или любые их комбинации; или (xxiv) CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи 2-13D-37-3W-16 или их комбинации, и/или CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи 2-13D-37-3W-16 или любые их комбинации. Аминокислотные последовательности VH CDR1, CDR2 и CDR3 для разных антител к FAM19A5, раскрытых в данном документе, представлены в табл.2. Аминокислотные последовательности VL CDR1, CDR2 и CDR3 для разных антител к FAM19A5, раскрытых в данном документе, представлены в табл.3. В некоторых вариантах воплощения, антитело к FAM19A5 содержит:

(а) VH CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17; и/или

(б) VH CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18; и/или

(в) VH CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19.

В некоторых вариантах воплощения, антитело к FAM19A5 содержит одну, две или все три VH CDR, указанных выше.

указанных выше.

В некоторых вариантах воплощения, антитело к FAM19A5 содержит:

- (a) VH CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20;
- (б) VH CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21;
- (в) VH CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22;
- (г) VL CDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32;
- (д) VL CDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 33; и/или
- (е) VL CDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34.

В некоторых вариантах воплощения, антитело к FAM19A5, раскрытое в данном документе, (например, scFv) содержит одну, две, три, четыре, пять или шесть CDR, указанных выше. В некоторых вариантах воплощения, антитело к FAM19A5, раскрытое в данном документе, (например, scFv) содержит одну, две, три, четыре, пять или шесть CDR, приведенные в табл. 2 или 3.

В некоторых вариантах воплощения, домен VH и домен VL, раскрытые в данном документе, могут быть связаны гибким линкером с образованием одноцепочечного антитела Fv. Соответственно, в некоторых вариантах воплощения, антитело к FAM19A5 или его антигенсвязывающая часть, содержит домен VH, выбранный из табл. 4, и домен VL, выбранный из табл. 5, где домен VH и домен VL соединены гибким линкером. В некоторых вариантах воплощения, гибкий линкер содержит последовательность SGGGSSGGGGS (SEQ ID NO: 207). В других вариантах воплощения, гибкий линкер содержит последовательность GQSSRSSGGGSSGGGGS (SEQ ID NO: 300). Аминокислотные последовательности типичных scFv к FAM19A5 приведены в табл.6, ниже (домен VH подчеркнут, домен VL выделен жирным шрифтом, а линкер выделен курсивом).

Аминокислотная последовательность вариабельной тяжелой цепи

Антитело ScFv	Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO)
Anti-FAM19A5 ("1-65")	ALTQPSSVSANPGETVKITCSGGGSSGYGYGWYQQKSP SSAPLTVIYWNDKRPSDIPSRFSGSKSGSTHTLTITGVQ AEDEAVYFCGNDDYSSDSGYVGVFGAGTTLTVLSGGG <i>GSSGGG</i>
Anti-FAM19A5 ("3-2")	ALTQPSSVSANPGETVKITCSGGGSYAGSYYYGWYQQ KAPGSAPVTLIYESNKRPSDIPS RFGSTSGSTATLTITGVQADDEAIYYCGSWDSSNGGIF GAGTTLTVLSGGGGSSGGGGS <u>AVTLDESGGGLQTPGGALSLVCKASGFTFSSF_HMFWVRQ</u> <u>APGKLEYVAQISSGSSTNY</u> <u>APAVRGRATISRDNQSTVRLQLNNPGAEDTGTYCAKS</u> <u>SYDCPYGHCSSGVDSAGEIDA</u> <u>WGHGTEVIVSS</u> (SEQ ID NO: 201)
Anti-FAM19A5 ("2-13")	ALTQPSSVSANPGETVKITCSGGSYSYGWFFQQKSPGSA LVTVIYWDDERPSDIPSRFSGA LSGSTNTLTITGVQADDEAVYFCGTEDISGTAGVFGAG TTLTVLSGGGGSSGGGSAVTL <u>DESGGGLQTPGGALSLVCKASGFTFSSHGMFWVRQTPGK</u> <u>LEYVAEITNDGSGTNYGSAV</u> <u>KGRATISRDNQSTVRLQLNNLRAEDTGTYFCARSTYECF</u> <u>GGFSCWGDGQIDAWGHGTE</u> <u>VIVSS</u> (SEQ ID NO: 203)

Anti-FAM19A5 ("SS01-13") scFv	ALTQPSSVSANPGETVRITCSGGASSGYGYGWYQQKPS SAPLTVIYKDDERPSDIPSRFS GSSSGSTHTLTITGVQAEDEAVYFCGNDDYSSDSGYVG VFGAGTTLTVL <u><i>QSSRSSGGGG</i></u> <u><i>SSGGGSA</i></u> <u>VTLDES</u> <u>GGGLQTPGGALS</u> <u>SCKASGFTFSSYQ</u> <u>MGWVRQAPGKGLEWVGVINK</u> <u>SGSDTSYGSAVKGRATISRDNGQSTLYLQMNNLRAEDTA</u> <u>VYFCAKGSASYITAATIDAWG</u> <u>HGTEVIVSS</u> (SEQ ID NO: 251)
Anti- FAM19A5 ("SS01-13-s5) scFv	ALTQPSSVSANPGETARITCSGGASSGYGYGWYQQKPS SAPLTVIYKDSERPSDIPSRFS GSSSGSTHTLTISGVQAEDEAVYFCGNDDYSSDSGYVG VFGAGTTLTVL <u><i>QSSRSSGGGG</i></u> <u><i>SSGGGSA</i></u> <u>VTLDES</u> <u>GGGLQTPGGALRL</u> <u>SCKASGFTFSSYQ</u> <u>MGWVRQAPGKGLEWVSAINK</u> <u>SGSDTSYGSAVKGRATISRDNGQSTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYFCAKGSASYITAATIDAWG</u> <u>HGTEVIVSS</u> (SEQ ID NO: 252)
Anti- FAM19A5 ("S5-2.GKNG") scFv	ALTQPSSVSANPGETARITCSGGASSGYGYGWYQQKPS SAPLTVIYKDSERPSDIPSRFS GSSSGSTHTLTISGVQAEDEAVYFCGNDDYSSDSGYVG VFGAGTTLTVL <u><i>QSSRSSGGGG</i></u> <u><i>SSGGGSA</i></u> <u>VTLDES</u> <u>GGGLQTPGGALRL</u> <u>SCKASGFTFSSYQ</u> <u>MGWVRQAPGKGLEWVSAINK</u> <u>GGSDTSYGSAVKGRATISRDNGQSTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYFCAKGSASYITAATIDAWG</u> <u>HGTEVIVSS</u> (SEQ ID NO: 253)
Anti-FAM19A5	ALTQPSSVSANPGETVKITCSGGGSYAGSYYYGWYQQ KPGSAPVTLIYENNKRPDIPSR

	FSGSTSGSTATLTITGVQAGDEADYYCGSWDSSNGGIF GAGTTLTVL <u>GQSSRSSGGGGSS</u>
("1-7A-IT") scFv	<u>GGGGS</u> AVTLDES GGGLQTPGGALRLSCKASGFTFSSF_HMF WVRQAPGKGLE YVSQISSG SSTNYAPAVKGRATISR DNGQSTLYLQMNSLRAEDTGT <u>YCAKSSYDCPYGHCSSGVDSA</u> <u>GEIDAWGHGTEVIVSS</u> (SEQ ID NO: 254)
Anti- FAM19A5 ("Low-PI") scFv	ALTQPSSVSANPGETVKITCSGGGSEEEQYYYYGWYQQ KPGSAPVTLIYEDEERPSDIPSR FSGSTSGSTATLTITGVQAGDEADYYCGSWDSEDEDHF GAGTTLTVL <u>GQSSRSSGGGGSS</u> <u>GGGGS</u> AVTLDES GGGLQTPGGALRLSCKASGDFDFESF_HMF WVRQAPGKGLE YVSQISSSE <u>EDENYAPAVKGRATISR</u> DNGQSTLYLQMNSLRAEDTGT <u>YCAKSSYDCPYGHCSSGVDSA</u> <u>GEIDAWGHGTEVIVSS</u> (SEQ ID NO: 255)
Anti- FAM19A5 ("1-30") scFv	ALTQPSSVSANPGETVKITCSGGGSEEEQYYYYGWYQQ KPGSAPVTLIYQDEERPSDIPSR FSGSTSGSTATLTITGVQAGDEADYYCGSWDSEDEDHF GAGTTLTVL <u>GQSSRSSGGGGSS</u> <u>GGGGS</u> AVTLDES GGGLQTPGGALRLSCKASGDFDFESF_HMF WVRQAPGKGLE YVSQISSSE <u>EDENYAPAVKGRATISR</u> DNGQSTLYLQMNSLRAEDTGT <u>YCAKSSYDCPYGHCSSGVDSA</u> <u>GEIDAWGHGTEVIVSS</u> (SEQ ID NO: 256)
Anti- FAM19A5 ("1-17") scFv	ALTQPSSVSANPGETVKITCSGGGSYAGSYYYGWYQQ KPGSAPVTLIYEDEQRPSDIPSR FSGSTSGSTATLTITGVQAGDEADYYCGSWDSEDEDHF GAGTTLTVL <u>GQSSRSSGGGGSS</u> <u>GGGGS</u> AVTLDES GGGLQTPGGALRLSCKASGDFDFESF_HMF

	<u>WVRQAPGKGLEYYVSQISSSE</u> <u>EDENYAPAVKGRATISRDNGQSTLYLQMNSLRAEDTGT</u> <u>YCAKSSYDCPYGHCSSGVDSA</u> <u>GEIDAWGHGTEVIVSS (SEQ ID NO: 257)</u>
Anti- FAM19A5 ("1-32") scFv	ALTQPSSVSANPGETVKITCSGGGSYAGSYYYGWYQQ KPGSAPVTLIYQDEERPSDIPSR FSGSTSGSTATLTITGVQAGDEADYCGSWDSEDEDHF GAGTTLTVLGQSSRSSGGGGSS <u>GGGSAVTLDESGGGLQTPGGALRLSCKASGDFEFES_HMF</u> <u>WVRQAPGKGLEYYVSQISSSE</u> <u>EDENYAPAVKGRATISRDNGQSTLYLQMNSLRAEDTGT</u> <u>YCAKSSYDCPYGHCSSGVDSA</u> <u>GEIDAWGHGTEVIVSS (SEQ ID NO: 258)</u>
Anti- FAM19A5 ("4-11") scFv	ALTQPSSVSANPGETVKITCSGGGSYAGSYYYGWYQQ KPGSAPVTLIYEDHERPSDIPSR FSGSTSGSTATLTITGVQAGDEADYCGSWDSSDEDHF GAGTTLTVLGQSSRSSGGGGSS <u>GGGSAVTLDESGGGLQTPGGALRLSCKASGDFEFES_HMF</u> <u>WVRQAPGKGLEYYVSQISSSE</u> <u>EDENYAPAVKGRATISRDNGQSTLYLQMNSLRAEDTGT</u> <u>YCAKSSYDCPYGHCSSGVDSA</u> <u>GEIDAWGHGTEVIVSS (SEQ ID NO: 259)</u>
Anti- FAM19A5 ("6-10") scFv	ALTQPSSVSANPGETVKITCSGGGSYAGSYYYGWYQQ KPGSAPVTLIYQDLLRPSDIPSR FSGSTSGSTATLTITGVQAGDEADYCGSWDSLSSHF GAGTTLTVLGQSSRSSGGGGSS <u>GGGSAVTLDESGGGLQTPGGALRLSCKASGDFEFES_HMF</u> <u>WVRQAPGKGLEYYVSQISSSE</u> <u>EDENYAPAVKGRATISRDNGQSTLYLQMNSLRAEDTGT</u> <u>YCAKSSYDCPYGHCSSGVDSA</u>

	<u>GEIDAWGHGTEVIVSS (SEQ ID NO: 260)</u>
Anti- FAM19A5 ("2-13D") scFv	ALTQPSSVSANPGETAKITCSGGVYSYGWFQQKPGSAL VTVIYWDDERPSDIPSRFSGAL SGSTNTLTITGVQAEDEADYYCGTEDISGTAGVFGAGT TLTVLGQSSRSSGGGGSSGGGG <u>SAVTLDESGGGLQTPGGALRLSCSASGFTFSSHGMFWVR</u> <u>QAPGKGLE YVSEITNDGSGTN</u> <u>YGS AVKGRATISRDNGQSTLYLQMNSLRAEDTGTYFCAR</u> <u>STYEC PGGFSCW GDTGQIDAW</u> <u>GHGTEVIVSS (SEQ ID NO: 261)</u>
Anti- FAM19A5 ("2-13D-37") scFv	ALTQPSSVSANPGETAKITCSGGVYSYGWFQQKPGSAL VTVIYWDDERPSDIPSRFSGAL SGSTNTLTITGVQAEDEADYYCGTEDISGTAGVFGAGT TLTVLGQSSRSSGGGGSSGGGG <u>SAVTLDESGGGLQTPGGALRLSCSASGDFSSHGMFWVR</u> <u>QAPGKGLE YVSEITNDGSGTN</u> <u>YGS AVKGRATISRDNGQSTLYLQMNSLRAEDTGTYFCAR</u> <u>STYEC PGGFSCW GDTGQIDAW</u> <u>GHGTEVIVSS (SEQ ID NO: 262)</u>
Anti- FAM19A5 ("2-13D-37-1.5W-41") scFv	ALTQPSSVSANPGETAKITCSGGVYSYGWFQQKPGSAL VTVIYWDDERPSDIPSRFSGAL SGSTNTLTITGVQAEDEADYYCGTEDISGTAGVFGAGT TLTVLGQSSRSSGGGGSSGGGG <u>SAVTLDESGGGLQTPGGALRLSCSASGDFSSHGMFWVR</u> <u>QAPGKGLE YVSEITNDGSGTN</u> <u>YGS AVKGRATISRDNGQSTLYLQMNSLRAEDTGTYFCAR</u> <u>SSYVCPGGFSCW GDTGQIDAW</u> <u>GHGTEVIVSS (SEQ ID NO: 263)</u>
Anti-	ALTQPSSVSANPGETAKITCSGGVYSYGWFQQKPGSAL VTVIYWDDERPSDIPSRFSGAL
FAM19A5 ("2-13D-37-3W-16") scFv	SGSTNTLTITGVQAEDEADYYCGTEDISGTAGVFGAGT TLTVLGQSSRSSGGGGSSGGGG <u>SAVTLDESGGGLQTPGGALRLSCSASGDFSSHGMFWVR</u> <u>QAPGKGLE YVSEITNDGSGTN</u> <u>YGS AVKGRATISRDNGQSTLYLQMNSLRAEDTGTYFCAR</u> <u>SNYAC PGGFSCW GDTGQIDAW</u> <u>GHGTEVIVSS (SEQ ID NO: 264)</u>

Домен VH или одна или более его CDR, описанные в данном документе, также могут быть связаны с константным доменом для образования тяжелой цепи, например, тяжелой цепи полной длины. Анало-

гичным образом, домен VL или одна или более его CDR, описанные в данном документе, могут быть связаны с константным доменом для образования легкой цепи, например, легкой цепи полной длины. Тяжелая цепь полной длины и легкая цепь полной длины объединяются для формирования полноразмерного антитела. Соответственно, в конкретных вариантах воплощения, в данном документе предложено антитело, содержащее легкую цепь и тяжелую цепь антитела, например, отдельную легкую цепь и тяжелую цепь, которые используются в раскрытых в данном документе способах. Что касается легкой цепи, в конкретном варианте воплощения, легкая цепь антитела, описанного в данном документе, представляет собой легкую цепь каппа. В другом конкретном варианте воплощения, легкая цепь антитела, описанного в данном документе, представляет собой легкую цепь ламбда. В еще одном конкретном варианте воплощения, легкая цепь антитела, описанного в данном документе, представляет собой легкую цепь каппа человека или легкую цепь ламбда человека. В конкретном варианте воплощения, антитело, используемое в способах, раскрытых в данном документе, которое специфически связывается с полипептидом FAM19A5 (например, человеческим FAM19A5) содержит легкую цепь, которая содержит любые аминокислотные последовательности VL или VL CDR, описанные в данном документе, и где константная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность человеческой константной области легкой цепи каппа. В конкретном варианте воплощения, антитело, описанное используемым в способах, раскрытых в данном документе, которое специфически связывается с полипептидом FAM19A5 (например, человеческим FAM19A5) содержит легкую цепь, которая содержит аминокислотные последовательности VL или VL CDR, описанные в данном документе, и где константная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность человеческой константной области легкой цепи ламбда. Неограничивающие примеры последовательностей человеческой константной области описаны в данной области техники, например, см. патент США № 5693780 и Kabat E.A. et al., (1991) ранее.

Что касается тяжелой цепи, в некоторых вариантах воплощения, тяжелая цепь антитела, описанного в данном документе, может представлять собой тяжелую цепь альфа (α), дельта (δ), эpsilon (ϵ), гамма (γ) или мю (μ). В другом конкретном варианте воплощения, тяжелая цепь описанного антитела может включать человеческую тяжелую цепь альфа (α), дельта (δ), эpsilon (ϵ), гамма (γ) или мю (μ). В некоторых вариантах воплощения, антитело, описанное используемым в способах, раскрытых в данном документе, которое специфически связывается с FAM19A5 (например, человеческим FAM19A5), содержит тяжелую цепь, которая содержит аминокислотную последовательность VH или VH CDR, описанную в данном документе, и где константная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность человеческой константной области тяжелой цепи гамма (γ). В других вариантах воплощения, антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с FAM19A5 (например, человеческим FAM19A5), содержит тяжелую цепь, которая содержит аминокислотную последовательность VH или VH CDR, описанную в данном документе, и где константная область тяжелой цепи содержит аминокислоту человеческой тяжелой цепи, описанной в данном документе или известной в данной области техники. Неограничивающие примеры последовательностей человеческой константной области описаны в данной области техники, например, см. патент США № 5693780 и Kabat E.A. et al., (1991) ранее.

В некоторых вариантах воплощения, антитело, описанное используемым в способах, раскрытых в данном документе, которое специфически связывается с FAM19A5 (например, человеческим FAM19A5), содержит домен VL и домен VH, содержащие VH или VH CDR и VL и VL CDR, описанные в данном документе, и где константные области содержат аминокислотные последовательности константных областей молекулы иммуноглобулина IgG, IgE, IgM, IgD, IgA или IgY или человеческой молекулы иммуноглобулина IgG, IgE, IgM, IgD, IgA или IgY. В другом конкретном варианте воплощения, антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с FAM19A5 (например, человеческим FAM19A5) содержит домен VL и домен VH, содержащие любые аминокислотные последовательности, описанные в данном документе, и где константные области содержат аминокислотные последовательности константных областей молекулы иммуноглобулина IgG, IgE, IgM, IgD, IgA или IgY, любого класса (например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2) молекулы иммуноглобулина. В некоторых вариантах воплощения, константные области содержат аминокислотные последовательности константных областей человеческих IgG природного происхождения, включая подклассы (например, IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4), и аллотипы (например, G1m, G2m, G3m и nG4m), и их варианты; см., например, Vidarsson G. et al. *Front Immunol.* 5:520 (опубликовано онлайн 20 октября 2014 года) и Jefferis R. and Lefranc MP, *mAbs* 1:4, 1-7(2009). В некоторых вариантах воплощения, константные области содержат аминокислотные последовательности константных областей человеческих IgG1, IgG2, IgG3, или IgG4, или их варианты. В определенных вариантах воплощения, антитело к FAM19A5, раскрытое используемым в способах, раскрытых в данном документе, не имеет Fc-эффекторных функций, например, комплемент-зависимую цитотоксичность (CDC) и/или антитело-зависимый клеточно-опосредованный фагоцитоз (ADCP). Эффекторные функции опосредованы Fc-областью и остатками, наиболее проксимальные к шарнирной области, в домене CH2 области Fc отвечают за эффекторные функции антител, поскольку он содержит в значительной степени перекрывающийся сайт связывания для Clq (комплемента) и рецепторов Fc IgG (FcγR) на эффекторных клетках врожденной иммунной системы. Также IgG2 и IgG4 антитела имеют более низкие

уровни эффекторных функций Fc, чем антитела IgG1 и IgG3. Эффекторные функции антитела можно уменьшить или избежать с помощью различных подходов, известных в данной области техники, включая (1) использование фрагментов антител, не имеющих области Fc (например, таких как Fab, F(ab')₂, одноцепочечный Fv (scFv) или sdAb, состоящий из мономерного домена VH или VL); (2) генерирование агликозилированных антител, которые могут быть получены, например, путем удаления или изменения остатка, к которому присоединен сахар, ферментативного удаления сахаров, продуцирования антитела в клетках, культивируемых в присутствии ингибитора гликозилирования, или путем экспрессии антитела в клетках, неспособных гликозилировать белки (например, бактериальные клетки-хозяева, см., например, публикацию патента США № 20120100140); (3) использование областей Fc из подкласса IgG, которые имеют сниженную эффекторную функцию (например, область Fc из антител IgG2 или IgG4 или химерная область Fc, содержащая домен CH2 из антител IgG2 или IgG4, см., например, публикацию США № 20120100140 и Lau C. et al. *J. Immunol.* 191:4769-4777 (2013)); и (4) получение Fc-области с мутациями, которые приводят в результате к сниженным или отсутствующим Fc-функциям; см., например, публикацию патента США № 20120100140 и РСТ заявки на патент США, процитированные там, и An et al., *mAbs* 1:6, 572-579 (2009). Таким образом, в некоторых вариантах воплощения, антитело к FAM19A5, используемое в способах, раскрытых в данном документе, представляет собой Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, одноцепочечный Fv (scFv) или sdAb, состоящий из мономерного домена VH или VL. Такие фрагменты антител хорошо известны в данной области техники и описаны выше. В некоторых вариантах воплощения, антитело к FAM19A5, используемое в способах, раскрытых в данном документе, содержит область Fc со сниженной эффекторной Fc-функцией или ее отсутствием. В некоторых вариантах воплощения, константные области содержат аминокислотные последовательности области Fc человеческих IgG2 или IgG4, в некоторых вариантах воплощения, антитело к FAM19A5 представляет собой изотип IgG2/IgG4. В некоторых вариантах воплощения, антитело к FAM19A5 содержит химерную область Fc, которая содержит домен CH2 из антитела IgG изотипа IgG4 и домен CH3 из антитела IgG изотипа IgG1, или химерную область Fc, которая содержит шарнирную область из IgG2 и область CH2 из IgG4, или область Fc с мутациями, которые приводят в результате к сниженным или отсутствующим Fc-функциям. Fc области со сниженной эффекторной Fc-функцией или ее отсутствием включают те, которые известны в данной области техники; см., например, Lau C. et al., *J. Immunol.* 191:4769-4777 (2013); An et al., *mAbs* 1:6, 572-579 (2009); и публикацию США № 20120100140, и патенты, и публикации США, и публикации РСТ, цитируемые там. Также Fc области со сниженной эффекторной Fc-функцией или ее отсутствием могут быть легко изготовлены специалистом в данной области техники.

Молекулы нуклеиновой кислоты.

Другой аспект, описанный в данном документе, относится к одной или более молекул нуклеиновой кислоты, которые кодируют любое одно из антител или их антигенсвязывающих частей, раскрытых в данном документе. Такие молекулы нуклеиновой кислоты могут быть экспрессированы в векторе AAV по настоящему изобретению. Нуклеиновая кислота является "выделенной" или "приведенной в состояние практически чистой", когда она очищена от других клеточных компонентов или других загрязняющих веществ, например, других клеточных нуклеиновых кислот (например, другой хромосомной ДНК, например, хромосомной ДНК, которая связана с выделенной ДНК в природе) или белков стандартными методами, включая обработку щелочью/SDS, разделение в CsCl, колоночную хроматографию, ферменты рестрикции, электрофорез в агарозном геле и другими методами, хорошо известными в данной области техники; см., F. Ausubel, et al., ed. (1987) *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing and Wiley Interscience, New York. Нуклеиновая кислота, описанная в данном документе, может быть, например, ДНК или РНК и может или не может содержать интронные последовательности. В некоторых вариантах воплощения, нуклеиновая кислота представляет собой ДНК.

Определенные молекулы нуклеиновых кислот, описанные в данном документе, представляют собой молекулы, кодирующие последовательности VH и VL антител к FAM19A5 по настоящему изобретению. Типичные последовательности ДНК, кодирующие последовательность VH таких антител приведены в SEQ ID NO: 43-46, 177 и 265-278 (табл. 7). Типичные последовательности ДНК, кодирующие последовательность VL таких антител приведены в SEQ ID NO: 47-50, 178 и 279-292 (табл. 8). Типичные последовательности ДНК, кодирующие антитела scFv 1-65, 3-2 и 2-13 приведены в табл. 9.

Полинуклеотидная последовательность варибельной тяжелой цепи

Антитело	Полинуклеотидная последовательность варибельной тяжелой цепи (SEQ ID NO)
Anti-FAM19A5 (1-65)	GCCGTGACGTTGGACGAGTCCGGGGGCGGCCTCCAGAC GCCCCGAGGAGCGCTCAGCCTC GTCTGCAAGGCCTCCGGGTTACCTTCAGCAGCTATCAG ATGGGCTGGGTGCGACAGGCG CCCGGCAAGGGGCTGGAATGGGTTCGGTGTATTAAACAA GAGTGGTAGTGACACATCATA GGGTCGGCGGTGAAGGGCCGTGCCACCATCTCGAGGGA CAACGGGCAGAGCACAGTGAGG CTGCAGCTGAACAACCTCAGGGCTGAGGACACCGGCAC CTACTTCTGCGCCAAAGGTTCT GCTAGTTATATAACTGCTGCTACCATCGACGCATGGGGC CACGGGACCGAAGTCATCGTC TCCTCCACTAGT (SEQ ID NO: 45)
Anti-FAM19A5 (3-2)	GCCGTGACGTTGGACGAGTCCGGGGGCGGCCTCCAGAC GCCCCGAGGAGCGCTCAGCCTC GTCTGCAAGGCCTCCGGGTTACCTTCAGCAGCTTCAAC ATGTTCTGGGTGCGACAGGCG CCCGGCAAGGGGCTGGAATACGTCGCTCAAATTAGCAG CAGTGGTAGTAGCACAAACTAC GCACCCGCGGTGAGGGGCCGTGCCACCATCTCGAGGGA CAACGGGCAGAGCACAGTGAGG CTGCAGCTGAACAACCCCGGGGCTGAAGACACCGGCAC CTACTACTGCGCCAAAAGTAGT TATGACTGTCCTTACGGTCATTGTAGTAGTGGTGTGAT AGTGCTGGTGAGATCGACGCA TGGGGCCACGGGACCGAAGTCATCGTCTCCTCCA (SEQ ID NO: 44)
Anti-FAM19A5 (2-13)	GCCGTGACGTTGGACGAGTCCGGGGGCGGCCTCCAGAC GCCCCGAGGAGCGCTCAGCCTC GTCTGCAAGGCCTCCGGGTTACCTTCAGCAGCCATGGC ATGTTCTGGGTGCGACAGACG CCCGGCAAGGGGTTGGAATATGTCGCTGAAATTACCAAT GATGGTAGTGGCACAAACTAC GGGTCGGCGGTGAAGGGCCGTGCCACCATCTCGAGGGA

	CAACGGGCAGAGCACAGTGAGG CTGCAGCTGAACAACCTCAGGGCTGAGGACACCGGCAC CTACTTCTGCGCCAGATCTACT TATGAATGTCCTGGTGGTTTTAGTTGTTGGGGTGATACT GGTCAAATAGACGCATGGGGC
	CACGGGACCGAAGTCATCGTCTCCTCCA (SEQ ID NO: 43)
Anti-FAM19A5 (1-28)	GCCGTGACGTTGGACGAGTCCGGGGCGGCCTCCAGAC GCCCCGAGGAGCGCTCAGCCTC GTCTGCAAGGCCTCCGGGTTGACTTCAGCGATTATGGC ATGGGTTGGGTGCGACAGGCT CCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTTGCTGCTATTAGAAG TGATGGTAGTAACCCATCATAAC GGGTCGGCGGTGAAGGGCCGTGCCACCATCTCGAAGGA CAACGGGCGAAGCACAGTGAGG CTGCAGCTGAACAACCTCAGGGCTGAGGACACCGCCAC CTACTACTGCGCCAAGGATGGT AATGGTTACTGTGCTCTCGATGCTTATCGTAGTGGTGGTT ATAGTTGTGGTGTTTATCCT GGTAGCATCGACGCATGGGGCCACGGGACCGAAGTCAT CGTCTCCTCC (SEQ ID NO: 46)
Anti-FAM19A5 (P2-C12)	CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCCTGGTCACGCCT GGGACACCCCTGACACTCACC TGCACCGTCTCTGGATTCTCCCTCAGTACCTATGCAGTG ACCTGGGTCCGCCAGGCTCCA GGGAAGGGGCTGGAATGGATCGGATACATTAATTGGCG TGGTGGGACATCCTACGCGAAC TGGGCGAAAGGCCGATTCACCATCTCCAAAACCTCGTCG ACCACGGTGGATCTGAAAATG ACCAGTCCGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGT

	<p>GCCAGAGATGCTAGTAGTGGT GCTGCTTTTGGGTCTTACGGCATGGACCCCTGGGGCCCA GGGACCCTCGTCACCGTCTCT TCA (SEQ ID NO: 177)</p>
Anti-FAM19A5 (SS01-13)	<p>GCCGTGACGTTGGACGAGTCCGGGGGCGGCCTCCAGAC GCCCGGAGGAGCGCTCTCTCTC TCTTGCAAAGCCTCCGGGTTACCTTCAGCAGCTATCAG ATGGGCTGGGTGCGACAGGCG CCCGGCAAGGGGCTGGAATGGGTTCGGTGTTATTAACAA GTCTGGTAGTGACACATCATA GGGTTCGGCGGTGAAGGGCCGTGCCACCATCTCGAGGGA CAACGGGCAGAGCACACTGTAC CTGCAGATGAACAACCTCAGGGCTGAGGACACCGCTGTT TACTTCTGCGCCAAAGTTCT GCTAGTTACATAACTGCTGCTACCATCGACGCATGGGGC CACGGGACCGAAGTCATCGTC TCCTCC (SEQ ID NO: 265)</p>
Anti-FAM19A5 (SS01-13-S5)	<p>GCCGTGACGTTGGACGAGTCCGGGGGCGGCCTCCAGAC GCCCGGAGGAGCGCTCCGCCTC TCTTGCAAGGCCTCCGGGTTACCTTCAGCAGCTATCAG ATGGGCTGGGTGCGACAGGCG CCCGGCAAGGGGCTGGAATGGGTTCAGCGGATTAATAA GAGCGGTAGTGACACATCATA GGGTTCGGCGGTGAAGGGCCGTGCCACCATCTCGAGGGA CAACGGGCAGAGCACACTGTAC CTGCAGATGAACAGCCTCAGGGCTGAGGACACCGCTGTT TACTTCTGCGCCAAAGTTCT GCTAGTTACATAACTGCTGCTACCATCGACGCATGGGGC CACGGGACCGAAGTCATCGTC TCCTCC (SEQ ID NO: 266)</p>

Anti-FAM19A5 ("S5-2.GKNG")	GCCGTGACGTTGGACGAGTCCGGGGGCGGCCTCCAGAC GCCCCGAGGAGCGCTCCGCCTC TCTTGCAAGGCCTCCGGGTTACCTTCAGCAGCTATCAG ATGGGCTGGGTGCGACAGGCG CCCGGCAAGGGGCTGGAATGGGTCAGCGGATTAATAA GGGCGGTAGTGACACATCATA GGGTCGGCGGTGAAGGGCCGTGCCACCATCTCGAGGGA CAACGGGCAGAGCACACTGTAC CTGCAGATGAACAGCCTCAGGGCTGAGGACACCGCTGTT TACTTCTGCGCCAAAGGTTCT GCTAGTTACATAACTGCTGCTACCATCGACGCATGGGGC CACGGGACCGAAGTCATCGTC TCCTCC (SEQ ID NO: 267)
Anti-FAM19A5 ("1-7A-IT")	GCCGTGACGTTGGATGAATCCGGGGGCGGCCTCCAGAC GCCCCGAGGAGCGCTCCGCCTC AGCTGCAAGGCCTCTGGGTTACCTTCAGCAGCTTCAAC ATGTTCTGGGTGCGACAGGCG CCCGGCAAGGGGCTGGAATACGTCTCGCAGATTAGCAG CAGTGGTAGTAGCACA AACTAC GCACCCGCGGTGAAAGGCCGTGCCACCATCTCGAGGGA CAACGGGCAGAGCACACTGTAT CTGCAGATGAACAGCCTGCGCGCTGAAGACACCGGCAC CTACTACTGCGCCAAAAGTAGT TATGACTGTCCTTACGGTCATTGTAGTAGTGGTGTTGAT AGTGCTGGTGAGATCGACGCA TGGGGCCACGGGACCGAAGTCATCGTCTCCTCC (SEQ ID NO: 268)
Anti-FAM19A5 ("Low-PI")	GCCGTGACGTTGGATGAATCCGGGGGCGGCCTCCAGAC GCCCCGAGGAGCGCTCCGCCTC AGCTGCAAGGCCTCTGGGTTACCTTCAGCAGCTTCAAC

	<p>ATGTTCTGGGTGCGACAGGCG CCCGGCAAGGGGCTGGAATACGTCTCGCAGATTAGCAG CAGTGGTAGTAGCACAACTAC GCACCCGCGGTGAAAGGCCGTGCCACCATCTCGAGGGA CAACGGGCAGAGCACACTGTAT CTGCAGATGAACAGCCTGCGCGCTGAAGACACCGGCAC CTACTACTGCGCCAAAAGTAGT TATGACTGTCCTTACGGTCATTGTAGTAGTGGTGTGAT AGTGCTGGTGAGATCGACGCA TGGGGCCACGGGACCGAAGTCATCGTCTCCTCC (SEQ ID NO: 269)</p>
Anti-FAM19A5 ("1-30")	<p>GCCGTGACGTTGGATGAATCCGGGGGCGGCCTCCAGAC GCCCGGAGGAGCGCTCCGCCTC AGCTGCAAGGCCTCTGGCTTTGATTTTGAAAGCTTCAAC ATGTTCTGGGTGCGACAGGCG CCCGGCAAGGGGCTGGAATACGTCTCGCAGATTAGCAG CAGTGAAGAAGATGAAACTAC GCACCCGCGGTGAAAGGCCGTGCCACCATCTCGAGGGA CAACGGGCAGAGCACACTGTAT CTGCAGATGAACAGCCTGCGCGCTGAAGACACCGGCAC CTACTACTGCGCCAAAAGTAGT TATGACTGTCCTTACGGTCATTGTAGTAGTGGTGTGAT AGTGCTGGTGAGATCGACGCA TGGGGCCACGGGACCGAAGTCATCGTCTCCTCC (SEQ ID NO: 270)</p>
Anti-FAM19A5	<p>GCCGTGACGTTGGATGAATCCGGGGGCGGCCTCCAGAC GCCCGGAGGAGCGCTCCGCCTC</p>
("1-17")	<p>AGCTGCAAGGCCTCTGGCTTTGATTTTGAAAGCTTCAAC ATGTTCTGGGTGCGACAGGCG CCCGGCAAGGGGCTGGAATACGTCTCGCAGATTAGCAG</p>

	<p>CAGTGAAGAAGATGAAAACACTAC GCACCCGCGGTGAAAGGCCGTGCCACCATCTCGAGGGA CAACGGGCAGAGCACACTGTAT CTGCAGATGAACAGCCTGCGCGCTGAAGACACCGGCAC CTACTACTGCGCCAAAAGTAGT TATGACTGTCCTTACGGTCATTGTAGTAGTGGTGTGAT AGTGCTGGTGAGATCGACGCA TGGGGCCACGGGACCGAAGTCATCGTCTCCTCC (SEQ ID NO: 271)</p>
Anti-FAM19A5 ("1-32")	<p>GCCGTGACGTTGGATGAATCCGGGGGCGGCCTCCAGAC GCCCGGAGGAGCGCTCCGCCTC AGCTGCAAGGCCTCTGGCTTTGATTTGAAAGCTTCAAC ATGTTCTGGGTGCGACAGGCG CCCGGCAAGGGGCTGGAATACGTCTCGCAGATTAGCAG CAGTGAAGAAGATGAAAACACTAC GCACCCGCGGTGAAAGGCCGTGCCACCATCTCGAGGGA CAACGGGCAGAGCACACTGTAT CTGCAGATGAACAGCCTGCGCGCTGAAGACACCGGCAC CTACTACTGCGCCAAAAGTAGT TATGACTGTCCTTACGGTCATTGTAGTAGTGGTGTGAT AGTGCTGGTGAGATCGACGCA TGGGGCCACGGGACCGAAGTCATCGTCTCCTCC (SEQ ID NO: 272)</p>
Anti-FAM19A5 ("4-11")	<p>GCCGTGACGTTGGATGAATCCGGGGGCGGCCTCCAGAC GCCCGGAGGAGCGCTCCGCCTC AGCTGCAAGGCCTCTGGCTTTGATTTGAAAGCTTCAAC ATGTTCTGGGTGCGACAGGCG CCCGGCAAGGGGCTGGAATACGTCTCGCAGATTAGCAG CAGTGAAGAAGATGAAAACACTAC GCACCCGCGGTGAAAGGCCGTGCCACCATCTCGAGGGA</p>

	CAACGGGCAGAGCACACTGTAT CTGCAGATGAACAGCCTGCGCGCTGAAGACACCGGCAC CTACTACTGCGCCAAAAGTAGT TATGACTGTCCTTACGGTCATTGTAGTAGTGGTGTGAT AGTGCTGGTGAGATCGACGCA TGGGGCCACGGGACCGAAGTCATCGTCTCCTCC (SEQ ID NO: 273)
Anti-FAM19A5 ("6-10")	GCCGTGACGTTGGATGAATCCGGGGGCGGCCTCCAGAC GCCCCGAGGAGCGCTCCGCCTC AGCTGCAAGGCCTCTGGCTTTGATTTGAAAGCTTCAAC ATGTTCTGGGTGCGACAGGCG CCCGGCAAGGGGCTGGAATACGTCTCGCAGATTAGCAG CAGTGAAGAAGATGAAAACACTAC GCACCCGCGGTGAAAGGCCGTGCCACCATCTCGAGGGA CAACGGGCAGAGCACACTGTAT CTGCAGATGAACAGCCTGCGCGCTGAAGACACCGGCAC CTACTACTGCGCCAAAAGTAGT TATGACTGTCCTTACGGTCATTGTAGTAGTGGTGTGAT AGTGCTGGTGAGATCGACGCA TGGGGCCACGGGACCGAAGTCATCGTCTCCTCC (SEQ ID NO: 274)
Anti-FAM19A5 ("2-13D")	GCCGTGACGTTGGACGAGTCCGGGGGCGGCCTCCAGAC GCCCCGAGGAGCGCTCCGCCTT AGCTGCAGCGCCTCCGGGTTACCTTCAGCAGCCATGGC ATGTTCTGGGTGCGACAGGCG CCCGGCAAGGGGTTGGAATATGTCTCGGAGATTACCAAT GATGGTAGTGGCACAAACTAC GGGTCGGCGGTGAAAGGCCGTGCCACCATCTCGAGGGA CAACGGGCAGAGCACACTGTAT CTGCAGATGAACAGCCTCAGGGCTGAGGACACCGGCAC

	CTACTTCTGCGCCAGATCTACT TATGAATGTCCTGGTGGTTTTAGTTGTTGGGGTGATACT GGTCAAATAGACGCATGGGGC CACGGGACCGAAGTCATCGTCTCCTCC (SEQ ID NO: 275)
Anti-FAM19A5 ("2-13D-37")	GCCGTGACGTTGGACGAGTCCGGGGGCGGCCTCCAGAC GCCCCGAGGAGCGCTCCGCCTT AGCTGCAGCGCCTCCGGGTTTCGATTCAGCAGCCATGGC ATGTTCTGGGTGCGACAGGCG CCCGGCAAGGGGTTGGAATATGTCTCGGAGATTACCAAT GATGGTAGTGGCACAACTAC GGGTCGGCGGTGAAGGGCCGTGCCACCATCTCGAGGGA CAACGGGCAGAGCACACTGTAT CTGCAGATGAACAGCCTCAGGGCTGAGGACACCGGCAC CTACTTCTGCGCCAGATCTACT TATGAATGTCCTGGTGGTTTTAGTTGTTGGGGTGATACT GGTCAAATAGACGCATGGGGC CACGGGACCGAAGTCATCGTCTCCTCC (SEQ ID NO: 276)
Anti-FAM19A5 ("2-13D-37- 1.5W-41")	GCCGTGACGTTGGACGAGTCCGGGGGCGGCCTCCAGAC GCCCCGAGGAGCGCTCCGCCTT AGCTGCAGCGCCTCCGGGTTTCGATTCAGCAGCCATGGC ATGTTCTGGGTGCGACAGGCG CCCGGCAAGGGGTTGGAATATGTCTCGGAGATTACCAAT GATGGTAGTGGCACAACTAC GGGTCGGCGGTGAAGGGCCGTGCCACCATCTCGAGGGA CAACGGGCAGAGCACACTGTAT CTGCAGATGAACAGCCTCAGGGCTGAGGACACCGGCAC CTACTTCTGCGCCAGATCTTCT TATGTTTGTCTGGTGGTTTTAGTTGTTGGGGTGATACTG GTCAAATAGACGCATGGGGC CACGGGACCGAAGTCATCGTCTCCTCC (SEQ ID NO: 277)

Anti-FAM19A5 ("2-13D-37-3W- 16")	GCCGTGACGTTGGACGAGTCCGGGGGCGGCCTCCAGAC GCCCCGAGGAGCGCTCCGCCTT AGCTGCAGCGCCTCCGGGTTTCGATTTTCAGCAGCCATGGC ATGTTCTGGGTGCGACAGGCG CCCGGCAAGGGGTTGGAATATGTCTCGGAGATTACCAAT GATGGTAGTGGCACAACTAC GGGTCGGCGGTGAAGGGCCGTGCCACCATCTCGAGGGA CAACGGGCAGAGCACACTGTAT CTGCAGATGAACAGCCTCAGGGCTGAGGACACCGGCAC CTACTTCTGCGCCAGATCTAAT TATGCTTGTCTGGTGGTTTTAGTTGTTGGGGTGATACTG GTCAAATAGACGCATGGGGC CACGGGACCGAAGTCATCGTCTCCTCC (SEQ ID NO: 278)
----------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Таблица 8

Полинуклеотидная последовательность переменной легкой цепи

Антитело	Полинуклеотидная последовательность переменной легкой цепи (SEQ ID NO)
Anti-FAM19A5 (1-65)	CTGACTCAGCCGTCCTCGGTGTCAGCAAACCTGGGGAA ACTGTCAAGATCACCTGCTCC GGGGGTGGTAGCAGTGGCTATGGTTATGGCTGGTATCAG CAGAAGTCACCTAGCAGTGCC CCTCTACTGTGATCTACTGGAACGACAAGAGACCCTCG GACATCCCTTCACGATTCTCC GGTTCAAATCCGGCTCCACACACACATTAACCATCACT GGGGTCCAAGCCGAGGACGAG GCTGTATATTTCTGTGGGAATGATGACTACAGCAGTGAT AGTGGATATGTCGGTGTATTT GGGGCCGGGACAACCCTGACCGTCCTA (SEQ ID NO: 49)

Anti-FAM19A5 (3-2)	GGCCCTGACTCAGCCGTCCTCGGTGTCAGCAAACCCAGG AGAAACCGTCAAGATCACCTG CTCCGGGGGTGGCAGCTATGCTGGAAGTTACTATTATGG CTGGTACCAGCAGAAGGCACC TGGCAGTGCCCCTGTCACCTGATCTATGAAAGCAACAA GAGACCCTCGGACATCCCTTC ACGATTCTCCGGTTCCACATCTGGCTCCACAGCCACACT AACCATCACTGGGGTCCAAGC CGATGACGAGGCTATCTATTACTGTGGGAGCTGGGACAG TAGCAATGGTGGTATATTTGG GGCCGGGACAACCCTGACCGTCCTAGG (SEQ ID NO: 48)
Anti-FAM19A5 (2-13)	GGCCCTGACTCAGCCGTCCTCGGTGTCAGCAAACCCAGG AGAAACCGTCAAGATAACCTG CTCCGGGGGTAGCTATAGCTATGGCTGGTTCAGCAGAA GTCTCCTGGCAGTGCCCTTGT CACTGTGATCTACTGGGATGATGAGAGACCCTCGGACAT CCCTTCACGATTCTCCGGTGC CCTATCCGGCTCCACAAACACATTAACCATCACTGGGGT CCAAGCCGACGACGAGGCTGT CTATTTCTGTGGGACTGAAGACATCAGCGGCACTGCTGG TGTATTTGGGGCCGGGACAAC CCTGACCGTCCTGGG (SEQ ID NO: 47)
Anti-FAM19A5 (1-28)	GCCCTGACTCAGCCGTCCTCGGTGTCAGCAAACCTGGAA GGAACCGTCGAGATCACCTGC TCCGGGAGTGGCTATGGTTATGGCTGGTATCAGCAGAAG TCTCCTGGCAGTGCCCCTGTC ACTGTGATCTATCAGAACGACAAGAGACCCTCGGACATC CCTTCACGATTCTCCGGTTCC AAATCCGGCTCCACGGGCACATTAACCATCACTGGGGTC CAAGTCGAGGACGAGGCTGTC

	TATTACTGTGGGAGTGAAGACAGCAGCACTCTTGCTGGT ATATTTGGGGCCGGGACAACC CTGACCGTCCTA (SEQ ID NO: 50)
Anti-FAM19A5 (P2-C12)	GAGCTCGATATGACCCAGACTCCATCCTCCGTGTCTGCA GCTGTGGGAGGCACAGTCACC ATCAAGTGCCAGGCCAGTCAGAGCATTAGTAGCTACTTA TCCTGGTATCAGCAGAAACCA GGGCAGCCTCCCAAGCTCCTGATCTATGAAGCATCCAAA CTGGCCTCTGGGGTCCCATCG CGGTTCAGCGGCAGTGGATATGGGACAGAGTTCACTCTC ACCATCAGCGACCTGGAGTGT GCCGATGCTGCCACTTACTACTGTCAACAGGGTTATAGT AGTACTAATGTTTGGGAATGCT TTCGGCGGAGGCACCAATGTGGAAATCAAA (SEQ ID NO: 178)
Anti-FAM19A5 (SS01-13)	GCCCTGACTCAGCCGTCTCGGTGTCAGCAAACCCTGGG GAAACTGTTCGTATCACCTGC TCCGGGGGTGCTAGCAGTGGCTATGGTTATGGCTGGTAT CAGCAGAAGCCTAGCAGTGCC CCTCTCACTGTGATCTACAAAGACGACGAAAGACCCTCG GACATCCCTTCACGATTCTCC GGTTCCTCTTCCGGCTCCACACACACATTAACCATCACT GGGGTCCAAGCCGAGGACGAG GCTGTATATTTCTGTGGGAATGATGACTACAGCAGTGAT AGTGGATATGTCGGTGTATTT GGGGCCGGGACAACCCTGACCGTCCTA (SEQ ID NO: 279)
Anti-FAM19A5 (SS01-13-S5)	GCCCTGACTCAGCCGTCTCGGTGTCAGCAAACCCTGGG GAAACTGCGCGTATCACCTGC TCCGGTGGTGTAGCAGTGGCTATGGTTATGGCTGGTAT CAGCAGAAGCCTAGCAGTGCC

	<p>CCTCTCACTGTGATCTACAAAGACTCTGAAAGACCCTCG GACATCCCTTCACGATTCTCC GGTTCCTCTTCCGGCTCCACACACACATTAACCATCAGC GGGGTCCAAGCCGAGGACGAG GCTGTATATTTCTGTGGGAATGATGACTACAGCAGTGAT AGTGGATATGTCGGTGTATTT GGGGCCGGGACAACCCTGACCGTCCTA (SEQ ID NO: 280)</p>
Anti-FAM19A5 ("S5-2.GKNG")	<p>GCCCTGACTCAGCCGTCTCGGTGTCAGCAAACCCTGGG GAAACTGCGCGTATCACCTGC TCCGGTGGTGTAGCAGTGGCTATGGTTATGGCTGGTAT CAGCAGAAGCCTAGCAGTGCC CCTCTCACTGTGATCTACAAAGACTCTGAAAGACCCTCG GACATCCCTTCACGATTCTCC GGTTCCTCTTCCGGCTCCACACACACATTAACCATCAGC GGGGTCCAAGCCGAGGACGAG GCTGTATATTTCTGTGGGAATGATGACTACAGCAGTGAT AGTGGATATGTCGGTGTATTT GGGGCCGGGACAACCCTGACCGTCCTA (SEQ ID NO: 281)</p>
Anti-FAM19A5 ("1-7A-IT")	<p>GCCCTGACTCAGCCGTCTCGGTGTCAGCAAACCCAGGA GAAACCGTCAAGATCACCTGC TCCGGGGGTGGCAGCTATGCTGGAAGTTACTATTATGGC TGGTATCAGCAGAAGCCTGGC AGTGCCCCTGTCACTCTGATCTATGAAAACAACAAGAGA CCCTCGGACATCCCTTCACGA TTCTCCGGTCCACATCTGGCTCCACAGCCACACTAACC ATCACTGGGGTCCAAGCCGGC GACGAGGCTGATTACTGTGGGAGCTGGGACAGTAG CAATGGTGGTATATTTGGGGCC GGGACAACCCTGACCGTCCTA (SEQ ID NO: 282)</p>
Anti-FAM19A5	<p>GCCCTGACTCAGCCGTCTCGGTGTCAGCAAACCCAGGA</p>

	GAAACCGTCAAGATCACCTGC
("Low-PI")	TCCGGGGGTGGCAGCTATGCTGGAAGTTACTATTATGGC TGGTATCAGCAGAAGCCTGGC AGTGCCCCTGTCACTCTGATCTATGAAAACAACAAGAGA CCCTCGGACATCCCTTCACGA TTCTCCGGTTCCACATCTGGCTCCACAGCCACACTAACC ATCACTGGGGTCCAAGCCGGC GACGAGGCTGATTATTACTGTGGGAGCTGGGACAGTAG CAATGGTGGTATATTTGGGGCC GGGACAACCCTGACCGTCCTA (SEQ ID NO: 283)
Anti-FAM19A5 ("1-30")	GCCCTGACTCAGCCGTCTCGGTGTCAGCAAACCCAGGA GAAACCGTCAAGATCACCTGC TCCGGGGGTGGCAGCGAAGAAGAACAGTACTATTATGG CTGGTATCAGCAGAAGCCTGGC AGTGCCCCTGTCACTCTGATCTATCAGGATGAAGAAAGA CCCTCGGACATCCCTTCACGA TTCTCCGGTTCCACATCTGGCTCCACAGCCACACTAACC ATCACTGGGGTCCAAGCCGGC GACGAGGCTGATTATTACTGTGGGAGCTGGGACAGTGA AGATGAAGATCATTTTGGGGCC GGGACAACCCTGACCGTCCTA (SEQ ID NO: 284)
Anti-FAM19A5 ("1-17")	GCCCTGACTCAGCCGTCTCGGTGTCAGCAAACCCAGGA GAAACCGTCAAGATCACCTGC TCCGGGGGTGGCAGCTATGCTGGAAGTTACTATTATGGC TGGTATCAGCAGAAGCCTGGC AGTGCCCCTGTCACTCTGATCTATGAAGATGAACAGAGA CCCTCGGACATCCCTTCACGA TTCTCCGGTTCCACATCTGGCTCCACAGCCACACTAACC ATCACTGGGGTCCAAGCCGGC

	GACGAGGCTGATTATTACTGTGGGAGCTGGGACAGTGA AGATGAAGATCATTTTGGGGCC GGGACAACCCTGACCGTCCTA (SEQ ID NO: 285)
Anti-FAM19A5 ("1-32")	GCCCTGACTCAGCCGTCTCGGTGTCAGCAAACCCAGGA GAAACCGTCAAGATCACCTGC TCCGGGGGTGGCAGCTATGCTGGAAGTTACTATTATGGC TGGTATCAGCAGAAGCCTGGC AGTGCCCCTGTCACTCTGATCTATCAGGATGAAGAAAGA CCCTCGGACATCCCTTCACGA TTCTCCGGTTCCACATCTGGCTCCACAGCCACACTAACC ATCACTGGGGTCCAAGCCGGC GACGAGGCTGATTATTACTGTGGGAGCTGGGACAGTGA AGATGAAGATCATTTTGGGGCC GGGACAACCCTGACCGTCCTA (SEQ ID NO: 286)
Anti-FAM19A5 ("4-11")	GCCCTGACTCAGCCGTCTCGGTGTCAGCAAACCCAGGA GAAACCGTCAAGATCACCTGC TCCGGGGGTGGCAGCTATGCTGGAAGTTACTATTATGGC TGGTATCAGCAGAAGCCTGGC AGTGCCCCTGTCACTCTGATCTATGAAGACCACGAGAGA CCCTCGGACATCCCTTCACGA TTCTCCGGTTCCACATCTGGCTCCACAGCCACACTAACC ATCACTGGGGTCCAAGCCGGC GACGAGGCTGATTATTACTGTGGGAGCTGGGACAGTAG CGATGAAGATCATTTTGGGGCC GGGACAACCCTGACCGTCCTA (SEQ ID NO: 287)
Anti-FAM19A5 ("6-10")	GCCCTGACTCAGCCGTCTCGGTGTCAGCAAACCCAGGA GAAACCGTCAAGATCACCTGC TCCGGGGGTGGCAGCTATGCTGGAAGTTACTATTATGGC TGGTATCAGCAGAAGCCTGGC AGTGCCCCTGTCACTCTGATCTATCAGGATCTGCTGAGA

	CCCTCGGACATCCCTTCACGA TTCTCCGGTTCCACATCTGGCTCCACAGCCACACTAACC ATCACTGGGGTCCAAGCCGGC GACGAGGCTGATTACTGTGGGAGCTGGGACAGTCTG AGCAGCAGCCATTTTGGGGCC GGGACAACCCTGACCGTCCTA (SEQ ID NO: 288)
Anti-FAM19A5 ("2-13D")	GCCCTGACTCAGCCGTCTCGGTGTCAGCAAACCCAGGA GAAACCGCGAAGATAACCTGC TCCGGGGGTGTGTATAGCTATGGCTGGTTCCAGCAGAAG CCTGGCAGTGCCCTTGTCACT GTGATCTACTGGGATGATGAGAGACCCTCGGACATCCCT TCACGATTCTCCGGTGCCCTA TCCGGCTCCACAAACACATTAACCATCACTGGGGTCCAA GCCGAAGACGAGGCTGATTAT TATTGTGGGACTGAAGACATCAGCGGCACTGCTGGTGTA TTTGGGGCCGGGACAACCCTG ACCGTCCTG (SEQ ID NO: 289)
Anti-FAM19A5 ("2-13D-37")	GCCCTGACTCAGCCGTCTCGGTGTCAGCAAACCCAGGA GAAACCGCGAAGATAACCTGC TCCGGGGGTGTGTATAGCTATGGCTGGTTCCAGCAGAAG CCTGGCAGTGCCCTTGTCACT GTGATCTACTGGGATGATGAGAGACCCTCGGACATCCCT TCACGATTCTCCGGTGCCCTA TCCGGCTCCACAAACACATTAACCATCACTGGGGTCCAA GCCGAAGACGAGGCTGATTAT TATTGTGGGACTGAAGACATCAGCGGCACTGCTGGTGTA TTTGGGGCCGGGACAACCCTG ACCGTCCTG (SEQ ID NO: 290)

Anti-FAM19A5 ("2-13D-37- 1.5W-41")	GCCCTGACTCAGCCGTCTCGGTGTCAGCAAACCCAGGA GAAACCGCGAAGATAACCTGC TCCGGGGGTGTGTATAGCTATGGCTGGTTCAGCAGAAG CCTGGCAGTGCCCTTGTCCT GTGATCTACTGGGATGATGAGAGACCCTCGGACATCCCT TCACGATTCTCCGGTGCCCTA TCCGGCTCCACAAACACATTAACCATCACTGGGGTCCAA GCCGAAGACGAGGCTGATTAT TATTGTGGGACTGAAGACATCAGCGGCACTGCTGGTGTA TTTGGGGCCGGGACAACCCTG ACCGTCCTG (SEQ ID NO: 291)
Anti-FAM19A5 ("2-13D-37-3W- 16")	GCCCTGACTCAGCCGTCTCGGTGTCAGCAAACCCAGGA GAAACCGCGAAGATAACCTGC TCCGGGGGTGTGTATAGCTATGGCTGGTTCAGCAGAAG CCTGGCAGTGCCCTTGTCCT GTGATCTACTGGGATGATGAGAGACCCTCGGACATCCCT TCACGATTCTCCGGTGCCCTA TCCGGCTCCACAAACACATTAACCATCACTGGGGTCCAA GCCGAAGACGAGGCTGATTAT TATTGTGGGACTGAAGACATCAGCGGCACTGCTGGTGTA TTTGGGGCCGGGACAACCCTG ACCGTCCTG (SEQ ID NO: 292)

Таблица 9

Вариабельная полинуклеотидная последовательность scFv

Антитело ScFv	Полинуклеотидная последовательность (SEQ ID NO)
Anti-FAM19A5 ("1-65")	GCCTTGACACAACCCTCATCAGTATCTGCTAACCCCGGC GAAACAGTTAAAATAACATGC TCAGGAGGTGGTTCATCTGGCTATGGATATGGGTGGTAT CAACAGAAATCACCAAGTTCC

	GCCCCCTTGACCGTGATTTATTGGAATGATAAGCGCCCC TCAGACATTCCCAGTCGCTTC TCAGGCAGTAAATCAGGCTCAACCCATACTCTTACTATC ACCGGTGTCCAAGCAGAAGAT GAAGCCGTGTATTTTTGTGGGAATGATGACTATTCCAGC GATTCTGGCTATGTAGGAGTG TTCGGTGCCGGTACTACCCTCACAGTATTGAGTGGTGGT GGCGGAAGTTCAGGTGGTGGT GGAAGCGCTGTCACCTTGGATGAATCAGGTGGAGGCCTC CAAACCCAGGTGGCGCACTC AGTCTCGTATGTAAAGCCTCTGGTTTCACTTTCAGCTCAT ATCAAATGGGATGGGTGCGG CAGGCTCCCGCAAGGGGTTGGAGTGGGTCGGTGTTATC AACAAGAGCGGCTCTGATACT AGCTATGGAAGCGCAGTCAAGGGGAGAGCTACTATAAG CAGGGATAATGGGCAAAGTACC GTCAGGCTTCAATTGAACAATCTCAGGGCTGAGGATACA GGAACCTACTTCTGCGCCAAA GGGTCAGCATCTTATATCACAGCAGCTACCATTGACGCA TGGGGACATGGCACAGAGGTC ATTGTTTCCAGT (SEQ ID NO: 205)
Anti-FAM19A5 ("SS01-13") scFv	GCCCTGACTCAGCCGTCTCGGTGTCAGCAAACCCTGGG GAAACTGTTCGTATCACCTGC TCCGGGGGTGCTAGCAGTGGCTATGGTTATGGCTGGTAT CAGCAGAAGCCTAGCAGTGCC CCTCTCACTGTGATCTACAAAGACGACGAAAGACCCTCG GACATCCCTTACGATTCTCC GGTTCCTCTTCCGGCTCCACACACACATTAACCATCACT GGGGTCCAAGCCGAGGACGAG GCTGTATATTTCTGTGGGAATGATGACTACAGCAGTGAT

	AGTGGATATGTCGGTGTATTT GGGGCCGGGACAACCCTGACCGTCCTAGGTCAGTCCTCT AGATCTTCCGGCGGTGGTGGC AGCTCCGGTGGTGGCGGTTCCGCCGTGACGTTGGACGAG TCCGGGGGCGGCCTCCAGACG CCCGGAGGAGCGCTCTCTCTCTTGC AAAGCCTCCGGG TTCACCTTCAGCAGCTATCAG ATGGGCTGGGTGCGACAGGCGCCCGGCAAGGGGCTGGA ATGGGTCGGTGTTATTAACAAG TCTGGTAGTGACACATCATAACGGGTCGGCGGTGAAGGG CCGTGCCACCATCTCGAGGGAC AACGGGCAGAGCACACTGTACCTGCAGATGAACAACCT CAGGGCTGAGGACACCGCTGTT TACTTCTGCGCAAAGGTTCTGCTAGTTACATAACTGCT GCTACCATCGACGCATGGGGC CACGGGACCGAAGTCATCGTCTCCTCC (SEQ ID NO: 293)
Anti-FAM19A5 ("SS01-13- s5")scFv	GCCCTGACTCAGCCGTCTCGGTGTCAGCAAACCCTGGG GAAACTGCGCGTATCACCTGC TCCGGTGGTGCTAGCAGTGGCTATGGTTATGGCTGGTAT CAGCAGAAGCCTAGCAGTGCC CCTCTCACTGTGATCTACAAAGACTCTGAAAGACCCTCG GACATCCCTTCACGATTCTCC GGTTCCTCTTCCGGCTCCACACACACATTAACCATCAGC GGGGTCCAAGCCGAGGACGAG GCTGTATATTTCTGTGGGAATGATGACTACAGCAGTGAT AGTGGATATGTCGGTGTATTT GGGGCCGGGACAACCCTGACCGTCCTAGGTCAGTCCTCT AGATCTTCCGGCGGTGGTGGGA TCCCTGGTGGTGGTGGTTCGCCGTGACGTTGGACGAG TCCGGGGGCGGCCTCCAGACG

	<p> CCCGGAGGAGCGCTCCGCCTCTCTTGCAAGGCCTCCGGG TTCACCTTCAGCAGCTATCAG ATGGGCTGGGTGCGACAGGCGCCCGGCAAGGGGCTGGA ATGGGTCAGCGCGATTAATAAG AGCGGTAGTGACACATCATAACGGGTCGGCGGTGAAGGG CCGTGCCACCATCTCGAGGGAC AACGGGCAGAGCACACTGTACCTGCAGATGAACAGCCT CAGGGCTGAGGACACCGCTGTT TACTTCTGCGCCAAAGGTTCTGCTAGTTACATAACTGCT GCTACCATCGACGCATGGGGC CACGGGACCGAAGTCATCGTCTCCTCC (SEQ ID NO: 294) </p>
Anti-FAM19A5 ("S5-2.GKNG") scFv	<p> GCCCTGACTCAGCCGTCTCCGGTGTGAGCAAACCCTGGG GAAACTGCGCGTATCACCTGC TCCGGTGGTGCTAGCAGTGGCTATGGTTATGGCTGGTAT CAGCAGAAGCCTAGCAGTGCC CCTCTCACTGTGATCTACAAAGACTCTGAAAGACCCTCG GACATCCCTTCACGATTCTCC GGTTCCTCTTCCGGCTCCACACACACATTAACCATCAGC GGGGTCCAAGCCGAGGACGAG GCTGTATATTTCTGTGGGAATGATGACTACAGCAGTGAT AGTGGATATGTCGGTGTATTT GGGGCCGGGACAACCCTGACCGTCCTAGGTCAGTCCTCT AGATCTTCCGGCGGTGGTGGGA TCCTCTGGTGGTGGTGGTTCCGCCGTGACGTTGGACGAG TCCGGGGGCGGCCTCCAGACG CCCGGAGGAGCGCTCCGCCTCTCTTGCAAGGCCTCCGGG TTCACCTTCAGCAGCTATCAG ATGGGCTGGGTGCGACAGGCGCCCGGCAAGGGGCTGGA ATGGGTCAGCGCGATTAATAAG GGCGGTAGTGACACATCATAACGGGTCGGCGGTGAAGGG </p>

	<p>CCGTGCCACCATCTCGAGGGAC AACGGGCAGAGCACACTGTACCTGCAGATGAACAGCCT CAGGGCTGAGGACACCGCTGTT TACTTCTGCGCCAAAGGTTCTGCTAGTTACATAACTGCT GCTACCATCGACGCATGGGGC CACGGGACCGAAGTCATCGTCTCCTCC (SEQ ID NO: 295)</p>
Anti-FAM19A5 ("3-2")	<p>GCATTGACTCAGCCCTCTTCCGTGAGTGCTAATCCAGGT GAAACAGTAAAAATAACTTGC AGTGGGGGAGGGTCTTACGCAGGATCTTATTATTATGGA TGGTACCAGCAAAAAGCCCCT GGGTCTGCACCAGTCACTCTGATATACGAGAGCAATAAA CGCCCTTCCGACATCCCCAGC CGCTTTTCTGGTTCTACCTCTGGCAGTACTGCTACCTTGA CTATTACCGGGGTCCAGGCT</p>
	<p>GACGACGAAGCCATTTATTATTGTGGAAGTTGGGATTCA AGCAACGGGGGTATATTCGGC GCTGGTACTACCCTTACCGTGCTGTCCGGTGGGGGTGGG AGCAGTGGAGGTGGAGGAAGT GCTGTA ACTCTTGATGAAAGCGGGGAGGGCTGCAAAC CCCTGGCGGGGCCTTGTCCTTG GTTTGTAAGGCTTCCGGATTTACTTTCTCAAGTTTTAATA TGTTTTGGGTGCGACAGGCC CCAGGGAAAGGGTTGGAATATGTTGCACAGATCTCCAG CTCAGGTTTCATCCACCAATTAT GCACCTGCCGTCCGAGGGAGGGCTACAATTTCTAGGGAC AACGGGCAGTCAACTGTACGG TTGCAGCTTAACAATCCCGGAGCAGAAGATACAGGTAC CTATTACTGTGCTAAGAGTTCA TACGACTGTCCCTATGGTCACTGTTCCCTCAGGTGTTGACT CCGCAGGGGAGATAGATGCT</p>

	TGGGGGCATGGGACCGAAGTGATTGTGTCATCT (SEQ ID NO: 204)
Anti-FAM19A5 ("1-30")	GCTCTCACACAACCTTCCTCTGTCTCTGCTAATCCTGGCG AGACTGTAAAATCACCTGC TCCGGGGGGGGTAGTGAGGAAGAACAGTATTACTATGG ATGGTACCAACAAAAGCCTGGG TCTGCACCCGTAACCCTTATATACCAAGATGAGGAGCGC CCATCCGATATAACCCTCACGC TTCTCAGGCAGTACATCTGGGTCAACTGCAACCCTCACC ATTACAGGAGTGCAAGCAGGT GATGAGGCAGATTATTATTGTGGGTCATGGGACTCCGAG GACGAGGATCATTGGAGCT GGCACTACATTGACAGTACTGGGCCAGTCATCAAGAAGT TCAGGTGGCGGGCGGAAGCTCC GGGGGCGGTGGATCAGCAGTAACTCTCGACGAATCTGG AGGCGGTCTTCAAACCCCTGGG GGGGCTCTGAGACTCTCATGTAAAGCCAGCGGATTTCGAT TTCGAGTCATTTAACATGTTT TGGGTCCGCCAGGCCCGGTAAAGGCCTGGAGTATGTG TCCCAAATATCAAGTTCAGAG GAGGACGAGAACTATGCCCCAGCCGTGAAAGGTCGAGC TACAATTTCCCGAGACAACGGC CAGTCAAACTCTACTTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCC GAAGACACTGGTACATACTAT TGTGCTAAATCCAGCTACGACTGTCCATACGGCCATTGT TCATCAGGAGTAGACTCCGCA GGTGAGATAGACGCATGGGGTCATGGCACTGAGGTCAT

	TGTGTCCTCT (SEQ ID NO: 301)
Anti-FAM19A5 ("2-13")	GCTCTGACACAACCAAGCTCTGTGTCAGTGCAAATCCAGGA GAGACCGTTAAAATCACTTGC AGCGGAGGCTCTTATTCTACGGATGGTTCCAGCAAAAA AGTCCTGGTTCAGCCCTCGTT ACTGTCATCTACTGGGACGACGAGCGCCCTAGCGATATT CCTAGTAGATTCTCAGGGGCT CTTAGCGGCTCCACTAATACTTTGACCATTACTGGAGTA CAGGCTGATGACGAAGCAGTT TACTTCTGTGGCACCGAAGATATAAGCGGAACTGCAGG GGTATTTGGGGCTGGTACAACA CTCACAGTGCTCTCCGGGGGGGGCGGGAGCTCAGGAGG CGGCGGATCAGCTGTAACCCTG GACGAATCTGGTGGGGGGCTTCAAACACCCGGAGGAGC CCTCTCCCTCGTATGCAAAGCT TCAGGATTCACCTTCTCTTACATGGAATGTTCTGGGTA AGGCAGACACCTGGCAAAGGG CTTGAATATGTAGCTGAGATCACTAATGACGGTAGCGGT ACAACTATGGGTCTGCTGTG AAAGGCCGGGCTACAATAAGTCGAGACAATGGACAAAG TACCGTTAGACTCCAGCTCAAC AACCTGCGAGCTGAGGACACAGGCACTTACTTTTGTGCA CGCAGTACTTACGAGTGTCCA GGTGGATTTTCATGTTGGGGAGATACCGGACAGATCGAC GCTTGGGGGCACGGCACCGAG GTCATTGTAAGTAGC (SEQ ID NO: 206)
Anti-FAM19A5 ("2-13D")	CTGACTCAGCCGTCCTCGGTGTCAGCAAACCCAGGAGAA ACCGCGAAGATAACCTGCTCC GGGGGTGTGTATAGCTATGGCTGGTTCCAGCAGAAGCCT

	GGCAGTGCCCTTGTCACTGTG ATCTACTGGGATGATGAGAGACCCTCGGACATCCCTTCA CGATTCTCCGGTGCCCTATCC GGCTCCACAAACACATTAACCATCACTGGGGTCCAAGCC GAAGACGAGGCTGATTATTAT TGTGGGACTGAAGACATCAGCGGCACTGCTGGTGTATTT GGGGCCGGGACAACCCTGACC GTCCTGGGTCAGTCCTCTAGATCTTCCGGCGGTGGTGGGA TCCTCTGGTGGTGGTGGTTCC GCCGTGACGTTGGACGAGTCCGGGGGCGGCCTCCAGAC GCCCCGAGGAGCGCTCCGCCTT AGCTGCAGCGCCTCCGGGTTACCTTCAGCAGCCATGGC ATGTTCTGGGTGCGACAGGCG CCCGGCAAGGGGTTGGAATATGTCTCGGAGATTACCAAT GATGGTAGTGGCACAACACTAC GGGTCGGCGGTGAAGGGCCGTGCCACCATCTCGAGGGA CAACGGGCAGAGCACACTGTAT CTGCAGATGAACAGCCTCAGGGCTGAGGACACCGGCAC CTACTTCTGCGCCAGATCTACT TATGAATGTCCTGGTGGTTTTAGTTGTTGGGGTGATACT GGTCAAATAGACGCATGGGGC CACGGGACCGAAGTCATCGTCTCCTCC (SEQ ID NO: 296)
Anti-FAM19A5 ("2-13D-37")	CTGACTCAGCCGTCCTCGGTGTCAGCAAACCCAGGAGAA ACCGCGAAGATAACCTGCTCC GGGGGTGTGTATAGCTATGGCTGGTTCCAGCAGAAGCCT GGCAGTGCCCTTGTCACTGTG ATCTACTGGGATGATGAGAGACCCTCGGACATCCCTTCA CGATTCTCCGGTGCCCTATCC GGCTCCACAAACACATTAACCATCACTGGGGTCCAAGCC GAAGACGAGGCTGATTATTAT

	<p>TGTGGGACTGAAGACATCAGCGGCACTGCTGGTGTATTT GGGGCCGGGACAACCCTGACC GTCCTGGGTCAGTCCTCTAGATCTTCCGGCGGTGGTGGAA TCCTCTGGTGGTGGTGGTTCC GCCGTGACGTTGGACGAGTCCGGGGGCGGCCTCCAGAC GCCCCGAGGAGCGCTCCGCCTT AGCTGCAGCGCCTCCGGGTTTCGATTTTCAGCAGCCATGGC ATGTTCTGGGTGCGACAGGCG CCCGGCAAGGGGTTGGAATATGTCTCGGAGATTACCAAT GATGGTAGTGGCACA AACTAC GGGTCGGCGGTGAAGGGCCGTGCCACCATCTCGAGGGA CAACGGGCAGAGCACACTGTAT CTGCAGATGAACAGCCTCAGGGCTGAGGACACCCGGCAC CTACTTCTGCGCCAGATCTACT</p>
	<p>TATGAATGTCCTGGTGGTTTTAGTTGTTGGGGTGATACT GGTCAAATAGACGCATGGGGC CACGGGACCGAAGTCATCGTCTCCTCC (SEQ ID NO: 297)</p>
Anti-FAM19A5 ("2-13D-37- 1.5W-41")	<p>GCCCTGACTCAGCCGTCTCGGTGTCAGCAAACCCAGGA GAAACCGCGAAGATAACCTGC TCCGGGGGTGTGTATAGCTATGGCTGGTTCCAGCAGAAG CCTGGCAGTGCCCTTGTCCT GTGATCTACTGGGATGATGAGAGACCCTCGGACATCCCT TCACGATTCTCCGGTGCCCTA TCCGGCTCCACAAACACATTAACCATCACTGGGGTCCAA GCCGAAGACGAGGCTGATTAT TATTGTGGGACTGAAGACATCAGCGGCACTGCTGGTGTAA TTTGGGGCCGGGACAACCCTG ACCGTCCTGGGTCAGTCCTCTAGATCTTCCGGCGGTGGT GGATCCTCTGGTGGTGGTGGT TCCGCCGTGACGTTGGACGAGTCCGGGGGCGGCCTCCAG</p>

	ACGCCCCGGAGGAGCGCTCCGC CTTAGCTGCAGCGCCTCCGGGTTTCGATTTTCAGCAGCCAT GGCATGTTCTGGGTGCGACAG GCGCCCCGGCAAGGGGTTGGAATATGTCTCGGAGATTACC AATGATGGTAGTGGCACAAAC TACGGGTCGGCGGTGAAGGGCCGTGCCACCATCTCGAG GGACAACGGGCAGAGCACACTG TATCTGCAGATGAACAGCCTCAGGGCTGAGGACACCGG CACCTACTTCTGCGCCAGATCT TCTTATGTTTGTCTGGTGGTTTTAGTTGTTGGGGTGATA CTGGTCAAATAGACGCATGG GGCCACGGGACCGAAGTCATCGTCTCCTCC (SEQ ID NO: 298)
Anti-FAM19A5 ("2-13D-37-3W- 16")	GCCCTGACTCAGCCGTCTCCGGTGTTCAGCAAACCCAGGA GAAACCGCGAAGATAACCTGC TCCGGGGGTGTGTATAGCTATGGCTGGTTCCAGCAGAAG CCTGGCAGTGCCCTTGTCCT GTGATCTACTGGGATGATGAGAGACCCTCGGACATCCCT TCACGATTCTCCGGTGCCCTA TCCGGCTCCACAAACACATTAACCATCACTGGGGTCCAA GCCGAAGACGAGGCTGATTAT TATTGTGGGACTGAAGACATCAGCGGCACTGCTGGTGTA TTTGGGGCCGGGACAACCCTG ACCGTCTGGGTCAGTCTCTAGATCTTCCGGCGGTGGT GGATCCTCTGGTGGTGGTGGT TCCGCCGTGACGTTGGACGAGTCCGGGGGGCGGCCTCCAG ACGCCCCGGAGGAGCGCTCCGC CTTAGCTGCAGCGCCTCCGGGTTTCGATTTTCAGCAGCCAT GGCATGTTCTGGGTGCGACAG GCGCCCCGGCAAGGGGTTGGAATATGTCTCGGAGATTACC

```

AATGATGGTAGTGGCACAAC
TACGGGTCGGCGGTGAAGGGCCGTGCCACCATCTCGAG
GGACAACGGGCAGAGCACACTG
TATCTGCAGATGAACAGCCTCAGGGCTGAGGACACCGG
CACCTACTTCTGCGCCAGATCT
AATTATGCTTGTCTTGGTGGTTTTAGTTGTTGGGGTGATA
CTGGTCAAATAGACGCATGG
GGCCACGGGACCGAAGTCATCGTCTCCTCC (SEQ ID NO:
299)

```

Для создания антитела scFv к FAM19A5, описанного в данном документе, фрагменты ДНК, кодирующие VH и VL, функционально связаны с другим фрагментом, кодирующим гибкий линкер, например, кодирующим аминокислотную последовательность (Gly4-Ser)₃, так что последовательности VH и VL могут быть экспрессированы как непрерывный одноцепочечный белок с областями VL и VH, соединенными гибким линкером (см., например, Bird et al., (1988) Science 242: 423-426; Huston et al., (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883; McCafferty et al., (1990) Nature 348:552-554). Такая последовательность нуклеиновой кислоты затем может быть встроена в вектор AAV, описанный в данном документе, который затем может быть использован для получения антитела scFv, например, как показано в примерах.

Альтернативно, нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую и легкую цепи антител к FAM19A5 (с сигнальным пептидом или без него), например, SEQ ID NO: 43 и 47, SEQ ID NO: 44 и 48, SEQ ID NO: 45 и 49, SEQ ID NO: 46 и 50, SEQ ID NO: 177 и 178, соответственно, могут быть встроены в один или более векторов AAV по настоящему изобретению. Такие векторы AAV затем можно использовать для получения полноразмерных антител. Клетки-хозяева, которые были трансдуцированы векторами AAV по настоящему изобретению, включены в настоящий документ.

Способы получения векторов AAV, как раскрыто в данном документе, хорошо известны в данной области техники, включая способы, например, с использованием упаковывающих клеток, вспомогательных вирусов или плазмид и/или бакуловирусных систем (см., например Samulski et al., J. Virology 63, 3822 (1989); Xiao et al., J. Virology 72, 2224 (1998); Inoue et al., J. Virol. 72, 7024 (1998); WO1998/022607; и WO2005/072364). Также известны способы получения псевдотипированных векторов AAV (см., например, WO00/28004), а также различные модификации или составы векторов AAV для снижения их иммуногенности при введении *in vivo* (см., например, WO01/23001; WO00/73316; WO04/112727; WO05/005610; и WO99/06562). В некоторых вариантах воплощения, векторы AAV могут быть получены или происходить из различных серотипов AAV, которые могут быть скомбинированы вместе или скомбинированы с другими типами вирусов для получения химерных (например, псевдотипированных) вирусов AAV.

III. Фармацевтические композиции.

В данном документе представлены композиции, содержащие вектор AAV по настоящему изобретению, имеющий желаемую степень чистоты в физиологически приемлемом носителе, наполнителе или стабилизаторе (Remington's Pharmaceutical Sciences (1990) Mack Publishing Co., Easton, PA). Приемлемые носители, наполнители или стабилизаторы являются нетоксичными для реципиентов в используемых дозировках и концентрациях и включают буферы, такие как фосфат, цитрат и другие органические кислоты; антиоксиданты, включая аскорбиновую кислоту и метионин; консерванты (такие как хлорид октадецилдиметилбензиламмония; хлорид гексаметония; хлорид бензалкония; хлорид бензетония; фенол, бутил или бензиловый спирт; алкилпарабены, такие как метил или пропилпарабен; катехол; резорцинол; циклогексанол; 3-пентанол; и м-крезол); низкомолекулярные (менее чем приблизительно 10 остатков) полипептиды; белки, такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; аминокислоты, такие как глицин, глутамин, аспарагин, гистидин, аргинин или лизин; моносахариды, дисахариды и другие углеводы, включая глюкозу, маннозу или декстрины; хелатообразующие средства, такие как ЭДТА; сахара, такие как сахароза, маннит, трегалоза или сорбит; солеобразующие противоионы, такие как натрий; комплексы металлов (например, комплексы Zn-белок); и/или неионные поверхностно-активные вещества, такие как TWEEN™, PLURONICS™ или полиэтиленгликоль (PEG). В некоторых вариантах воплощения, фармацевтические композиции содержат вектор AAV, описанный в данном документе, и, необязательно, одно или более дополнительных профилактических или терапевтических средств в фармацевтически приемлемом носителе. В конкретном варианте воплощения, фармацевтические композиции содержат эффективное количество антитела или его антигенсвязывающей части, описанных в данном документе и необязательно

одно или более дополнительных профилактических или терапевтических средств в фармацевтически приемлемом носителе. В некоторых вариантах воплощения, антитело является единственным активным ингредиентом, включенным в фармацевтическую композицию. Фармацевтические композиции, описанные в данном документе, могут быть полезны для снижения активности FАM19A5 и лечения состояния, такого как поражение центральной нервной системы, заболевание или расстройство, например, невропатическая боль.

Фармацевтически приемлемые носители, используемые в парентеральных препаратах, включают водные носители, неводные носители, антимикробные средства, изотонические средства, буферы, антиоксиданты, местные анестетики, суспендирующие и диспергирующие средства, эмульгирующие средства, изолирующие или хелатирующие средства и другие фармацевтически приемлемые вещества. Примеры водных носителей включают инъекцию хлорида натрия, инъекцию Рингера, инъекцию изотонической декстрозы, инъекцию стерильной воды, инъекцию декстрозы и лактата Рингера. Неводные парентеральные носители включают жирные масла растительного происхождения, хлопковое масло, кукурузное масло, кунжутное масло и арахисовое масло. Противомикробные средства в бактериостатических или фунгистатических концентрациях могут быть добавлены к парентеральным препаратам, упакованным в контейнеры с несколькими дозами, которые включают фенолы или крезолы, ртутные соединения, бензиловый спирт, эфиры хлорбутанола, метил и пропилен-*p*-гидроксибензойной кислоты, тимеросал, хлорид бензалкония и хлорид бензетония. Изотонические средства включают хлорид натрия и декстрозу. Буферы включают фосфат и цитрат. Антиоксиданты включают бисульфат натрия. Местные анестетики включают гидрохлорид прокаина. Суспендирующие и диспергирующие средства включают натриевую соль карбоксиметилцеллюлозы, гидроксипропилметилцеллюлозу и поливинилпирролидон. Эмульгаторы включают Полисорбат 80 (TWEEN® 80). Секвестрирующее или хелатообразующее средство ионов металлов включает ЭДТА. Фармацевтические носители также включают этиловый спирт, полиэтиленгликоль и пропиленгликоль для смешивающихся с водой носителей; и гидроксид натрия, соляную кислоту, лимонную кислоту или молочную кислоту для регулирования рН.

Фармацевтическая композиция по настоящему изобретению может быть составлена для любого пути введения субъекту. Конкретные примеры путей введения включают интраназальный, пероральный, парентеральный, интратекальный, интрацеребровентрикулярный, легочный, подкожный, внутрибрюшинный, интравитреальный, эпидуральный, субретинальный или интравентрикулярный. Парентеральное введение, характеризуемое либо подкожной, внутримышечной или внутривенной инъекцией, также рассматривается в данном документе. Инъекционные препараты могут быть приготовлены в обычных формах, либо в виде жидких растворов или суспензий, твердых форм, подходящих для раствора или суспензии в жидкости перед инъекцией, либо в виде эмульсий. Инъекционные вещества, растворы и эмульсии также содержат один или более наполнителей. Подходящими наполнителями являются, например, вода, физиологический раствор, декстроза, глицерин или этанол. Кроме того, при желании фармацевтические композиции для введения могут также содержать незначительные количества нетоксичных вспомогательных веществ, таких как смачивающие или эмульгирующие средства, рН-буферные средства, стабилизаторы, усилители растворимости и другие такие средства, как, например, натрий ацетат, сорбитанмолаурат, триэтаноламин олеат и циклодекстрины.

Препараты для парентерального введения антитела включают стерильные растворы, готовые для инъекции, стерильные сухие растворимые продукты, такие как лиофилизированные порошки, готовые к объединению с растворителем непосредственно перед использованием, включая таблетки для подкожных инъекций, стерильные суспензии, готовые для инъекции, стерильные сухие нерастворимые продукты, готовые к использованию вместе с носителем непосредственно перед использованием, и стерильными эмульсиями. Растворы могут быть водными или неводными. При внутривенном введении подходящие носители включают физиологический солевой раствор или физиологический раствор с фосфатным буфером (PBS) и растворы, содержащие загущающие и солубилизирующие средства, такие как глюкоза, полиэтиленгликоль и полипропиленгликоль, и их смеси.

Смеси для местного применения, содержащие антитело, получают, как описано для местного и системного введения. Полученная смесь может представлять собой раствор, суспензию, эмульсию или тому подобное и может быть составлена в виде кремов, гелей, мазей, эмульсий, растворов, эликсиров, лосьонов, суспензий, настоек, паст, пен, аэрозолей, средств для орошения, спреев, суппозиторий, повязок, кожных пластырей или любых других составов, подходящих для местного применения.

Вектор AAV, описанный в данном документе, может быть составлен в виде аэрозоля для местного применения, например, путем ингаляции (см., например, патенты США №№ 4044126, 4414209 и 4364923, в которых описаны аэрозоли для доставки стероида, который используется для лечения воспалительных заболеваний, в частности астмы). Эти составы для введения в дыхательные пути могут быть в форме аэрозоля или раствора для небулайзера или в виде мелкодисперсного порошка для инсуффляций, отдельно или в комбинации с инертным носителем, таким как лактоза. В таком случае частицы состава, в некоторых вариантах воплощения, имеют диаметры менее 50 микрон, в некоторых вариантах воплощения, менее 10 микрон. Вектор AAV, описанный в данном документе, может быть составлен для локального или местного применения, такого как местное применение на кожу и слизистые оболочки, такие как в глазу,

в форме гелей, кремов и лосьонов, и для применения для глаз или для внутрицистерального или внутриспинального применения. Местное введение предусматривается для трансдермальной доставки, а также для введения в глаза или слизистую оболочку или для ингаляционной терапии. Также могут вводиться назальные растворы антитела отдельно или в комбинации с другими фармацевтически приемлемыми наполнителями.

В некоторых вариантах воплощения, фармацевтическая композиция, содержащая вектор AAV, описанный в данном документе, представляет собой лиофилизированный порошок, который может быть восстановлен для введения в виде растворов, эмульсий и других смесей. Он может также быть восстановлен и составлен как твердые вещества или гели. Лيوфилизированный порошок получают путем растворения антитела или его антигенсвязывающей части, описанной в данном документе, или его фармацевтически приемлемого производного, в подходящем растворителе. В некоторых вариантах воплощения, лиофилизированный порошок является стерильным. Растворитель может содержать наполнитель, который улучшает стабильность, или другой фармакологический компонент порошка или восстановленного раствора, приготовленного из порошка. Вспомогательные вещества, которые можно использовать, включают, но не ограничиваются ими, декстрозу, сорбит, фруктозу, кукурузный сироп, ксилит, глицерин, глюкозу, сахарозу или другой подходящий агент. Растворитель также может содержать буфер, такой как цитрат, фосфат натрия или калия, или другой такой буфер, известный специалистам в данной области техники, в некоторых вариантах воплощения, с приблизительно нейтральным pH. Последующая стерильная фильтрация раствора с последующей лиофилизацией в стандартных условиях, известных специалистам в данной области техники, дает желаемый состав. В некоторых вариантах воплощения, полученный раствор будет распределен во флаконы для лиофилизации. Каждый флакон будет содержать одну дозу или несколько доз соединения. Лيوфилизированный порошок можно хранить в подходящих условиях, например при температуре от приблизительно 4°C до комнатной температуры. Восстановление этого лиофилизированного порошка водой для инъекций обеспечивает состав для применения при парентеральном введении. Для восстановления лиофилизированный порошок добавляют в стерильную воду или другой подходящий носитель. Точное количество зависит от выбранного соединения. Такое количество может быть определено опытным путем.

Вектор AAV, описанный в данном документе, и другие композиции, представленные в данном документе, также могут быть составлены для нацеливания на конкретную ткань, рецептор или другую область тела субъекта, подлежащего лечению. Многие такие способы нацеливания хорошо известны специалистам в данной области техники. Все такие способы нацеливания рассматриваются в данном документе для использования в быстрорастворимых композициях. Для неограничивающих примеров способов нацеливания, см., например, патент США № 6316652, 6274552, 6271359, 6253872, 6139865, 6131570, 6120751, 6071495, 6060082, 6048736, 6039975, 6004534, 5985307, 5972366, 5900252, 5840674, 5759542 и 5709874. В некоторых вариантах воплощения, вектор AAV, описанный в данном документе, нацелен на лечение заболевания или расстройства центральной нервной системы, дегенеративного заболевания головного мозга или невропатической боли.

Композиции, используемые для введения *in vivo*, могут быть стерильными. Это легко достигается путем фильтрации через, например, стерильные фильтрующие мембраны.

IV. Наборы.

Также в настоящем документе предусмотрены наборы, содержащие один или более описанных в данном документе векторов AAV. В некоторых вариантах воплощения, в данном документе предусмотрена фармацевтическая упаковка или набор, содержащий один или более контейнеров, заполненных одним или более ингредиентов фармацевтических композиций, описанных в данном документе, таких как один или более векторов AAV, предусмотренных в данном документе, необязательно инструкция для использования. В некоторых вариантах воплощения, наборы содержат фармацевтическую композицию, описанную в данном документе, и любой профилактический или терапевтический агент, такой как описанные в данном документе.

V. Терапевтические варианты применения и способы.

В определенных аспектах в настоящем документе представлены способы смягчения повреждения или поражения ЦНС у субъекта, включающие введение субъекту вектора AAV настоящего изобретения. В других аспектах в данном документе представлены способы для ингибирования, замедления, подавления, ограничения, уменьшения, устранения или предотвращения, начала или инициации глиоза и связанных с ним пагубных эффектов на ЦНС у субъекта, включающие введение субъекту вектора AAV, описанного в данном документе. В некоторых вариантах воплощения, представлены способы для ингибирования, замедления, подавления, ограничения, уменьшения, устранения или предотвращения, избыточной или ненормальной пролиферации реактивных астроцитов и связанных с ним пагубных эффектов на ЦНС у субъекта, включающие введение субъекту вектора AAV по настоящему изобретению. В некоторых вариантах воплощения, в данном документе представлены способы для снижения, ингибирования или уменьшения экспрессии протеогликанов хондроитинсульфата (включая уровень неирокана, NG2 или обоих) или уменьшения активности или приведения в состояние инактивации неирокана, NG2 или обоих у субъекта, включающие введение субъекту вектора AAV, описанного в данном документе. В некоторых

вариантах воплощения, в данном документе представлены способы для стимулирования, способствования, увеличения или активации роста нейронов, предпочтительно после повреждения или поражения у субъекта, включающие введение субъекту вектора AAV, как описано в данном документе. В других вариантах воплощения, в данном документе представлены способы для повышения уровня мРНК c-fos, белка c-fos или активности белка c-fos и повышения уровня мРНК ERK, белка ERK или активности pERK, предпочтительно в ядрах нейронов, у субъекта, нуждающегося в этом, включающие введение субъекту вектора AAV по настоящему изобретению. В определенных вариантах воплощения, в данном документе представлены способы для повышения или увеличения уровня мРНК GAP43, белка GAP43 или увеличения активности белка GAP43, предпочтительно в нейронах, у субъекта, нуждающегося в этом, включающие введение субъекту вектора AAV, как раскрыто в данном документе. В некоторых вариантах воплощения, в данном документе представлены способы для повышения или способствования выживанию нейронов и/или способствования отрастанию аксона, у субъекта, нуждающегося в этом, включающие введение субъекту вектора AAV, описанного в данном документе. В некоторых вариантах воплощения, субъектом является человек, предпочтительно человек с повреждением или поражением нейрона из, например, поражения ЦНС, травмы, повреждения, поражения спинного мозга, опухоли головного мозга, инфекции, ишемии, инсульта, аутоиммунных реакций и/или нейродегенеративных заболеваний.

В некоторых аспектах в данном документе также представлены способы для лечения заболевания или расстройства, включая поражение центральной нервной системы, поражение спинномозговой системы, дегенеративное нарушение головного мозга, дегенеративное цереброспинальное нарушение или нарушение нервов или невропатическую боль у субъекта, нуждающегося в этом, включающие введение субъекту вектора AAV по настоящему изобретению. В некоторых вариантах воплощения, поражением центральной нервной системы является черепно-мозговая травма, поражение спинного мозга, инсульт, опухоль головного мозга или их комбинация. В некоторых вариантах воплощения, дегенеративным нарушением головного мозга является болезнь Хантингтона, болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера, рассеянный склероз, боковой амиотрофический склероз (ALS) или их комбинация. Таким образом, в некоторых вариантах воплощения, раскрыт способ для лечения черепно-мозговой травмы, поражения спинного мозга, инсульта, опухоли головного мозга или их комбинации у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту вектора AAV, раскрытого в данном документе, или его композиции. В некоторых вариантах воплощения, в данном документе раскрыт способ для лечения болезни Хантингтона, болезни Паркинсона, болезни Альцгеймера, рассеянного склероза, ALS у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту вектора AAV, раскрытого в данном документе, или его композиции. В некоторых вариантах воплощения, субъектом является человек.

В определенных вариантах воплощения, в данном документе раскрыты способы для лечения, уменьшения, устранения, предотвращения, ослабления, контроля или ингибирования фиброза у субъекта, нуждающегося в этом, включающие введение субъекту вектора AAV, раскрытого в данном документе, или его композиции. В некоторых вариантах воплощения, фиброз является доброкачественным (то есть, не вызывает симптомов). В других вариантах воплощения, фиброз связан с патологическим состоянием, которое может быть или не быть обратимым. В некоторых вариантах воплощения, фиброз выбран из группы, состоящей из фиброза печени, фиброза легких, почечного фиброза, миелофиброза, фиброза поджелудочной железы, фиброза кожи, фиброза миокарда, фиброза артерий, артрофиброза, фиброза молочных желез, мышечного фиброза, забрюшинного фиброза, фиброза щитовидной железы, фиброза лимфатических узлов, фиброза мочевого пузыря и фиброза плевры. В одном из вариантов воплощения, фиброз представляет собой фиброз печени или фиброз легких. В другом варианте воплощения, фиброз связан с опухолью, вызванной раком, таким как рак печени, рак легких, рак почек, рак молочной железы и/или рак поджелудочной железы. В одном из вариантов воплощения, способ уменьшает, устраняет, облегчает, улучшает, ингибирует, или замедляет, или предотвращает фиброз, симптом, связанный с фиброзом, выраженную причину фиброза или их комбинацию. В других вариантах воплощения, векторы AAV, раскрытые в данном документе, могут лечить, уменьшать, устранять, предотвращать, ослаблять, контролировать или ингибировать заболевание или расстройство, связанное с фиброзом, у субъекта, нуждающегося в этом. Термин "фиброз, связанный с заболеванием или расстройством" относится к фиброзу, который сопровождает заболевание или расстройство, или вызван или возникающий вследствие заболевания или расстройства. Термин включает фиброз, возникающий вследствие или вызванный заболеванием или расстройством, описанным выше, или фиброз, сопровождающий заболевание или расстройство.

В других вариантах воплощения, вектор AAV по настоящему изобретению может лечить, уменьшать, устранять, предотвращать, задерживать, улучшать, контролировать или ингибировать рак печени, рак легких, рак почек, рак молочной железы и/или рак поджелудочной железы у субъекта, нуждающегося в этом, при этом способ включает введение субъекту вектор AAV. В некоторых вариантах воплощения, рак печени, рак легких, рак почек, рак молочной железы и/или рак поджелудочной железы связан с или вызван фиброзом.

В некоторых вариантах воплощения, вводят терапевтически эффективное количество вектора AAV по настоящему изобретению или его композицию. При лечении субъекта (например, человека) терапев-

тически эффективное количество вектора AAV, раскрытого в данном описании, зависит от таких факторов, как возраст, пол, степень заболевания. В некоторых вариантах воплощения, вектор AAV по настоящему изобретению или его композицию вводят внутривенно, перорально, парентерально, транстекально, интратекально, интрацеребровентрикулярно, внутримышечно, легочно, внутривнутрибрюшинно, интравитреально, подкожно, эпидурально, субретинально или интравентрикулярно.

В некоторых вариантах воплощения, вектор AAV, раскрытый в данном документе, или его композицию можно вводить в комбинации с одним или более дополнительных агентов для лечения фиброза (например, пирфенидоном (ESBRIET®) или нинтеданибом (OFEV®) для идиопатического фиброза легких). Доза и введение одного или более дополнительных терапевтических лекарственных средств известны в данной области техники, например, как указано на этикетке продукта соответствующего лекарственного средства.

В некоторых вариантах воплощения, вектор AAV, описанный в данном документе, или его композицию можно вводить в комбинации с одним или более дополнительных средств для лечения поражения центральной нервной системы (например, черепно-мозговой травмы, поражения спинного мозга, инсульта или опухоли мозга), поражения спинного мозга, дегенеративного нарушения головного мозга (например, болезни Хантингтона, болезни Паркинсона, болезни Альцгеймера, рассеянного склероза, ALS), дегенеративного цереброспинального или нервного нарушения, или невропатической боли. Например, неограничивающие типичные агенты для лечения болезни Хантингтона включают тетрабензидин (XENAZINE®), антипсихотические лекарственные средства, такие как галоперидол (HALDOL®), хлорпромазин, рисперидон (RISPERDAL®) и кветиапин (SEROQUEL®).

Неограничивающие типичные средства для лечения болезни Паркинсона включают леводопу (с или без карбидопы), агонисты допамина, такие как прамипексол (MIRAPEX®), ропинирол (REQUIP®), и ротиготин (NEUPRO®), и апоморфин (APOKYN®), селегилин (ELDEPRYL® и ZELAPAR®), разагилин (AZILECT®), энтакапон (COMTAN®), бензтропин (COGENTIN®), тригексифенидил и амантадин.

Неограничивающие типичные средства для лечения болезни Альцгеймера включают донепезил (ARICEPT®), галантамин (RAZADYNE®) и ривастигмин (EXELON®).

Неограничивающие типичные средства для лечения рассеянного склероза включают ацетат глатирамера (COPAXONE®), диметилфумарат (TECFIDERA®), финголимод (GILENYA®), терифлуномид (AUBAGIO®), натализумаб (TYSABRI®), алемтузумаб (LEMTRADA®) и митоксантрон. Неограничивающие типичные агенты для лечения ALS включают рилузол (RILUTEK®).

Доза и введение одного или более дополнительных терапевтических лекарственных средств известны в данной области техники, например, как указано на этикетке продукта соответствующего лекарственного средства. Следующие примеры предложены в качестве иллюстрации, но не в качестве ограничения.

Пример 1. Конструкция вектора на основе аденоассоциированного вируса (AAV).

Векторы AAV, кодирующие одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv) клонов 1-65, 2-13 или 3-2 антитела к FAM19A5, были сконструированы следующим образом. Вкратце, для создания вектора AAV, кодирующего 3-2 scFv, вектор экспрессии pscAAV-MCS (Cell Biolabs, кат. № VPK-430) подвергали расщеплению с EcoRI и NotI. Затем трансген, кодирующий интрон бета-глобина человека под промотором CMV, и 3-2 scFv встраивали в вектор pscAAV-MCS, как показано на фиг. 1. Интрон человеческого бета-глобина был встроен, чтобы максимизировать экспрессию гена. Для создания векторов AAV, кодирующих scFv 1-65 или 2-13, указанный выше вектор AAV расщепляли EcoRV и NotI для удаления трансгена scFv 3-2. Затем трансген, кодирующий 1-65 или 2-13 ScFv, встраивали в вектор AAV. Трансгены, кодирующие 3-2, 1-65 или 2-13 ScFv, были оптимизированы по кодонам для оптимальной экспрессии у мышей. Все векторы AAV содержали сигнальный пептид каппа-цепи IgG мыши перед трансгеном scFv для стимуляции секреции клетками. Векторы AAV также содержали метку FLAG позади трансгена scFv для помощи в обнаружении экспрессии гена. После конструирования векторы AAV были трансформированы в культивируемые *E. coli*, и большие количества векторов AAV были получены с использованием maxiprep. Векторы AAV, кодирующие 1-30 scFv или мышинный IL-10 или GFP, были созданы и предоставлены Signagen Laboratories (Роквилл, Мэриленд).

Следующие рекомбинантные AAV использовали для примеров, описанных ниже:

(i) scAAV8-CMV-3-2-ScFv (Sirion, Германия), (ii) scAAV9-CMV-3-2-ScFv (Signagen Laboratories, США), (iii) scAAV9-CMV-1-65-ScFv (Signagen Laboratories, США), scAAV9-CMV-2-13-ScFv (Signagen Laboratories, США); (iv) scAAV1-CMV-3-2-ScFv (Signagen Laboratories, США), (v) scAAV9-CMV-1-30-ScFv (Signagen Laboratories, США), (vi) scAAV9-CMV-mIL-10 (Signagen Laboratories, США), (vii) scAAV9-CMV-GFP (Signagen Laboratories, США), (viii) scAAV1-CMV-GFP (Signagen Laboratories, США).

Пример 2. Анализ экспрессии гена ScFv к FAM19A5.

Экспрессию ScFv к FAM19A5 тестировали с использованием сконструированных выше векторов AAV (scAAV8-CMV-3-2-ScFv, scAAV9-CMV-3-2-ScFv, scAAV9-CMV-1-65-ScFv и scAAV9-CMV-2-13-ScFv). Вкратце, клетки HEK293 ($1,2 \times 10^6$) высевали в чашку 60 мм² и культивировали в течение 24 ч. По-

сле этого среду заменяли средой *opti-MEM* (с низким содержанием сыворотки), а клетки HEK293 трансдуцировали различными векторами AAV (с использованием множественного многократного инфицирования (MOI)). Супернатант собирали на 1, 4 и 8 дни после трансдукции. Чтобы подтвердить экспрессию гена использовали набор для ELISA ABSbio™ с меткой DYKDDDK (Advanced Bioreagent, кат. № SE002-flag) для обнаружения метки FLAG, которая была включена позади гена scFv (см. фиг. 1 и пример 1). Собранный супернатант разбавляли от 1 до 10 раз, затем 100 мкл разбавленного супернатанта добавляли в лунку планшета для ELISA и оставляли для реакции при комнатной температуре в течение 2 часов при 350 об/мин. После этого планшет промывали и в каждую лунку добавляли 100 мкл детектирующего антитела и давали возможность реагировать при комнатной температуре в течение 1 часа при 350 об/мин. Затем планшет снова промывали, в каждую лунку добавляли по 100 мкл раствора TMB и оставляли на 10-30 мин. Затем в лунки добавляли 100 мкл стоп-раствора и измеряли оптическую плотность при 450 нм. Количество FLAG измеряли с помощью калибровочной кривой, а количество scFv рассчитывали путем умножения отношения экспрессии FLAG к молекулярной массе стандарта. Как показано на фиг. 2А, для вектора scAAV8-CMV-3-2-scFv, scFv к FAM19A5 можно было обнаружить в супернатанте уже на 1 день после трансдукции (при 1×10^5 MOI). К 8 дню после трансдукции в супернатанте было обнаружено приблизительно 100 нг/мл 3-2 scFv (при 1×10^5 MOI). С вектором scAAV9-CMV-3-2-scFv к 8 дню после трансдукции в супернатанте было обнаружено приблизительно 70 нг/мл 3-2 scFv (при 2×10^5 MOI). Аналогичные результаты наблюдались с scAAV9-CMV-1-65-ScFv и scAAV9-CMV-2-13-ScFv. Как показано на фиг. 2С, приблизительно 120 нг/мл и 115 нг/мл 1-65 scFv и 2-13 scFv, соответственно, были обнаружены в супернатанте на 4 день после трансдукции.

Приведенные выше данные демонстрируют, что все векторы AAV, сконструированные в примере 1, были правильно сконструированы и что они могут индуцировать экспрессию scFv к FAM19A5 при трансдукции в клетки.

Пример 3. Ингибирование связывания FAM19A5 в клетках U87MG.

Для оценки связывающей способности scFv к FAM19A5, продуцируемого указанными выше конструкциями AAV, был проведен анализ ингибирования связывания с использованием клеток U87MG (линия клеток первичной глиобластомы человека, способная связываться с человеческим белком FAM19A5-Fc). Вкратце, клетки U87MG трансдуцировали scAAV8-CMV-2-3-ScFv (MOI 1×10^5), scAAV9-CMV-1-65-ScFv (MOI 2×10^5) или scAAV9-CMV-2-13-ScFv (MOI 2×10^5). Затем на 4 день после трансдукции 0,1 мкг белка FAM19A5-Fc человека смешивали с 200 мкл супернатанта и смеси давали инкубироваться в течение 30 мин при 4°C. Отрицательный контроль состоял либо из PBS, либо из супернатанта клеток HEK293, трансдуцированных вектором scAAV9-CMV-GFP. После 30-минутной инкубации 100 мкл смеси (человеческий FAM19A5-Fc + супернатант от клеток, трансфицированных конструкцией AAV scFv к FAM19A5) добавляли к клеткам U87MG (2×10^5) и оставляли для реакции в течение 1 ч при 4°C. Затем клетки промывали PBS, обрабатывали со 100 мкл козьего антитела против человеческого IgG 488 (Invitrogen, кат. № A11013) (разводили 1:50), инкубировали еще 30 мин при 4°C. Клетки затем снова промывали и связывание человеческого FAM19A5-Fc с клетками U87MG анализировали с помощью проточной цитометрии. Как показано на фиг. 3А, 3В и 3С, когда клетки U87MG обрабатывали смесью (человеческий FAM19A5-Fc + супернатант от клеток, трансфицированных конструкцией AAV scFv к FAM19A5), связывание человеческого FAM19A5-Fc с клетками снижалось по сравнению с тем, когда клетки обрабатывали контрольной смесью (человеческий FAM19A5-Fc + супернатант клеток, трансфицированных конструкцией scAAV9-CMV-GFP). Это было так для всех протестированных конструкций AAV scFv к FAM19A5. Супернатанты от клеток, трансдуцированных scAAV9-CMV-1-65-ScFv, scAAV9-CMV-2-13-ScFv, scAAV8-CMV-3-2-ScFv, снижали среднюю интенсивность флуоресценции (MFI) связывания человеческого FAM19A5-Fc к клеткам U87MG на 19% (фиг. 3А), 68% (фиг. 3В) и 42% (фиг. 3С), соответственно, по сравнению с соответствующим контролем (супернатант от клеток, трансфицированных вектором AAV-GFP или обработанных PBS). Эти результаты демонстрируют, что scFv к FAM19A5, продуцируемый конструкциями AAV, описанными в примере 1, может эффективно связываться с человеческим FAM19A5 с высокой аффинностью.

Пример 4. Ингибирование связывания FAM19A5 в клетках C8-D1A.

Чтобы подтвердить ингибирование связывания, наблюдаемое в примере 3, клетки C8-D1A использовали для анализа ингибирования связывания. Клетки C8-D1A представляют собой линию клеток астроцитов и могут секретировать FAM19A5 в окружающую среду при культивировании. Если scFv к FAM19A5, продуцируемый конструкциями AAV, может эффективно связываться с человеческим FAM19A5, то обработка среды для культивирования клеток C8-D1A супернатантами от клеток, трансдуцированных AAV scFv к FAM19A5, должна привести к снижению уровня белка FAM19A5 в культуральной среде.

Вкратце, клетки C8-D1A высевали на 6-луночный планшет (2×10^5 клеток/лунку) и культивировали в течение приблизительно 24 ч. Супернатанты, содержащие scFv к FAM19A5, получали путем трансфекции клеток HEK293 одним из следующих: (i) scAAV8-CMV-3-2-ScFv (MOI 1×10^5); (ii) scAAV9-CMV-1-65-ScFv (MOI= 2×10^5); или (iii) scAAV9-CMV-2-13-ScFv (MOI= 2×10^5), а затем супернатант собирали на

8 день после трансдукции. Для активации клеток C8-D1A к клеткам добавляли TGF- β (20 нг/мл) с супернатантом, содержащим scFv к FAM19A5. PBS или супернатант клеток, трансдуцированных scAAV9-CMV-GFP, использовали в качестве отрицательного контроля. Клетки инкубировали в течение 24 часов, а затем уровень белка FAM19A5 в культуре измеряли с помощью анализа ELISA (см. пример 1 для способов, используемых в анализе ELISA). Как показано на фиг. 4А, когда клетки C8-D1A были активированы в присутствии супернатанта от клеток, трансдуцированных scAAV8-CMV-3-2-ScFv, наблюдалось снижение уровня белка FAM19A5, обнаруженного в культуральной среде, приблизительно на 38% по сравнению с соответствующим контролем (PBS). Супернатант от клеток, трансдуцированных scAAV9-CMV-2-13-ScFv и scAAV9-CMV-1-65-ScFv, снижал уровень белка FAM19A5 в культуральной среде приблизительно на 63% и 14% соответственно по сравнению с соответствующим контролем (супернатант из клеток, трансфицированных вектором AAV GFP); см. фиг. 4В.

Приведенные выше данные дополнительно подтверждают, что scFv к FAM19A5, продуцируемый векторами AAV, может эффективно связываться с человеческим FAM19A5.

Пример 5. Анализ экспрессии In Vivo.

Для подтверждения экспрессии scFv к FAM19A5 in vivo конструкцию scAAV8-CMV-3-2-ScFv вводили мышам C57BL/6 интракельно (1×10^{11} вирусного генома (vg)/мышь). Затем мышей умерщвляли через 1 и 2 недели после введения и анализировали ткань спинного мозга (поясничный отдел спинного мозга). Для обнаружения экспрессии гена использовали антитела к FLAG и флуоресцентную микроскопию.

Как показано на фиг. 5, не было положительной экспрессии антител у наивных животных (т.е. без введения вектора AAV) ни на 1-й неделе (верхнее левое изображение), ни на 2-й неделе (нижнее левое изображение) после введения. Напротив, у животных, которым вводили scAAV8-CMV-3-2-ScFv, наблюдали экспрессию белка к FLAG (т.е. scFv к FAM19A5) в нейроне вентрального рога на 1-й неделе после введения (верхнее правое изображение). Ко 2 неделе экспрессия была намного выше, в том числе в области спинных рогов.

Эти данные подтвердили более ранние данные об экспрессии in vitro (см. пример 2) и показали, что когда векторы AAV к FAM19A5 вводятся интракельно, они могут трансдуцировать окружающие клетки, что приводит к продукции scFv к FAM19A5.

Пример 6. Оценка обезболивания на модели хронической нейропатической боли (CCI) с использованием scAAV8-CMV-3-2-ScFv.

Для оценки in vivo эффектов введения конструкций AAV scFv к FAM19A5 использовали мышиную модель хронической компрессии (CCI). Вкратце, либо PBS (контроль), либо scAAV8-CMV-3-2-ScFv вводили мышам C57BL/6 интракельно (в позвонки). Затем, приблизительно через 1 неделю после введения, у животных индуцировали повреждение периферического нерва посредством перевязки нерва моншонки. В различные моменты времени после повреждения у животных оценивали как механическую аллодинию (ответ на физические внешние раздражители), так и термическую гипералгезию (реакцию на повышенную температуру). Механическую аллодинию оценивали путем многократного наложения моноволокон Фон Фрея (0,16 г) на поврежденную стопу и наблюдения за частотой, с которой животные реагировали болью. Термическую гипералгезию оценивали с помощью теста Харгривза, в котором радиальный тепловой стимул (интенсивность: 30) прикладывали к поврежденной ступне и определяли задержку отдергивания лапы. Как показано на фиг. 6А, животные, которые получали scAAV8-CMV-3-2, реагировали на моноволокон Фон Фрея реже по сравнению с контрольными животными (только PBS). Аналогичные результаты наблюдались при термической гипералгезии; см. фиг. 6В. Эти результаты демонстрируют, что введение in vivo конструкций AAV к FAM19A5 может уменьшить невропатическую боль после повреждения периферического нерва.

Пример 7. Оценка обезболивания на модели хронической нейропатической боли (CCI) с использованием scAAV9-CMV-3-2-ScFv.

Эффекты in vivo scAAV9-CMV-3-2-ScFv также тестировали с использованием мышиную модели хронической компрессии (CCI), как описано в примере 6. Вкратце, конструкцию scAAV9-CMV-3-2-ScFv интракельно вводили мышам C57BL6. Контрольные животные получали конструкцию scAAV9-CMV-GFP. Затем, приблизительно через 1 неделю после введения, индуцировали повреждение периферического нерва. Затем у животных оценивали как механическую аллодинию, так и термическую гипералгезию в различные моменты времени, как описано в примере 6. Как показано на фиг. 7А и 7В, животные, получавшие scAAV9-CMV-3-2-ScFv, оказались более устойчивыми к боли после повреждения периферического нерва. Например, по сравнению с контрольными животными мыши, которые получали scAAV9-CMV-3-2-ScFv, реже реагировали на моноволокон Фон Фрея (фиг. 7А) и имели более длительное время задержки до повышенной температуры (фиг. 7В).

В совокупности эти результаты демонстрируют, что scFv к FAM19A5 можно эффективно доставлять in vivo с использованием векторов AAV и что scFv к FAM19A5, продуцируемые векторами AAV, полностью функциональны (например, связываются с человеческим FAM19A5 и уменьшают невропатическую боль).

Пример 8. Оценка обезболивания на модели хронической нейропатической боли (CCI) с использованием scAAV1-CMV-3-2-ScFv.

Чтобы дополнительно оценить, зависели ли указанные выше эффекты от типа используемого AAV, тестировали *in vivo* эффекты scAAV1-CMV-3-2-ScFv. Вкратце, мыши C57BL/6 получали две дозы (каждая доза= 1×10^{11} мкг/мышь) scAAV1-CMV-3-2-ScFv с двухнедельным интервалом посредством интратекального введения. Через неделю после последнего приема, было индуцировано повреждение периферических нервов, а механическую аллолинию и тепловую гипералгезию оценивали, как описано в примере 6. Как наблюдалось в примерах 6 и 7, по сравнению с контрольной группой, животные, получавшие scAAV1-CMV-3-2-ScFv, показали улучшение механической аллолинии (т.е. реже реагировали на стимуляцию моноволоконном Фон Фрея), начиная приблизительно с 4-й дня индукции повреждения (т.е. дни после хирургического вмешательства). Фиг. 8А. Это улучшение сохранялось до конца эксперимента на 24 сутки после индукции повреждения. Что касается термической гипералгезии, улучшение также наблюдалось у животных, получавших scAAV1-CMV-3-2-ScFv (т.е. большее время периода задержки в ответ на тепловой стимул), начиная приблизительно с 5 дня после индукции повреждения и продолжалось по меньшей мере до 12 дня после индукции повреждения. фиг. 8В.

Эти результаты дополнительно подтверждают эффективность scFv 3-2 к FAM19A5 при лечении нейропатической боли и демонстрируют, что терапевтические преимущества не зависят от типа используемого вектора AAV.

Пример 9. Оценка обезболивания на модели хронической нейропатической боли (CCI) с использованием scAAV9-CMV-2-13-ScFv или scAAV9-CMV-1-30-ScFv.

Чтобы оценить, могут ли другие клоны антитела к FAM19A5 также лечить невропатическую боль, снова использовали мышиную модель хронической компрессии (CCI), описанную в примере 6. Вкратце, scAAV9-CMV-2-13-ScFv (две дозы с двухнедельным интервалом; каждая доза= 1×10^{11} мкг/мышь) или scAAV9-CMV-1-30-ScFv (однократная доза; 1×10^{11} мкг/мышь) вводили мышам C57BL/6 путем интратекального введения. Контрольные животные получали scAAV9-CMV-GFP. Приблизительно через неделю после последнего введения было индуцировано повреждение периферического нерва, и как механическую аллолинию, так и термическую гипералгезию оценивали в различные моменты времени после индукции повреждения (см. пример 6).

Как показано на фиг. 9А, 9В, 10А и 10В, животные, получавшие scAAV9-CMV-2-13-ScFv или scAAV9-CMV-1-30-ScFv, показали улучшение как для механической аллолинии, так и для термической гипералгезии. Эти результаты демонстрируют, что различные клоны антитела к FAM19A5 можно использовать для лечения нейропатической боли.

Пример 10. Оценка обезболивания на модели хронической нейропатической боли (CCI) с использованием ScFv к FAM19A5 в комбинации с IL-10.

Для определения эффективности ScFv к FAM19A5 в комбинации с другими терапевтическими средствами (например, IL-10) мышам C57BL/6 интратекально вводили одну из следующих схем:

- (i) scAAV1-CMV-GFP; (ii) scAAV1-CMV-3-2-ScFv;
- (iii) scAAV1-CMV-3-2-ScFv+scAAV9-CMV-mIL-10; и (iv) scAAV9-CMV-mIL-10.

Различные схемы лечения вводили мышам дважды (двухнедельный интервал) в дозе 1×10^{11} мкг/мышь. Через одну неделю после последнего введения было индуцировано повреждение периферического нерва, а механическую аллолинию оценивали в различные моменты времени (см. пример 6).

Как наблюдалось в предыдущих примерах, животные, получавшие только scAAV1-CMV-3-2-ScFv, были более устойчивыми к физическим стимулам (т.е. реже реагировали на воздействие моноволоконном Фон Фрея) по сравнению с контрольной группой (т.е. scAAV1-CMV-GFP). Аналогичные ответы наблюдались у животных, получавших только scAAV9-CMV-mIL-10 (фиг. 11А). Когда животных лечили комбинацией scAAV1-CMV-3-2-ScFv и scAAV9-CMV-mIL-10, они проявляли еще более улучшенный ответ по сравнению с животными, получавшими одну схему лечения. Аналогичные результаты наблюдались для scAAV9-CMV-2-13-ScFv (фиг. 11В) и scAAV9-CMV-1-30-ScFv (фиг. 11С).

Эти результаты дополнительно демонстрируют эффективность scFv к FAM19A5, доставленного через векторы AAV, при лечении нейропатической боли. Результаты также демонстрируют, что эта эффективность может быть дополнительно усилена при сочетании с другими терапевтическими средствами, такими как IL-10.

В данной заявке РСТ испрашивается приоритет относительно предварительной заявки США № 62/668634, поданной 8 мая 2018 г., которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Вектор на основе аденоассоциированного вируса (AAV), содержащий нуклеиновую кислоту, которая кодирует антитело или его антигенсвязывающую часть, специфически связывающееся с белком члена A5 семейства со сходством последовательностей 19 (FAM19A5) (антитело к FAM19A5),

указанной в SEQ ID NO: 236, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37 или SEQ ID NO: 35; и/или где переменная область легкой цепи антитела к FAM19A5 содержит аминокислотную последовательность, которая является по меньшей мере на приблизительно 80%, по меньшей мере на приблизительно 85%, по меньшей мере на приблизительно 90%, по меньшей мере на приблизительно 95%, по меньшей мере на приблизительно 96%, по меньшей мере на приблизительно 97%, по меньшей мере на приблизительно 98%, по меньшей мере на приблизительно 99% или на приблизительно 100% идентичной аминокислотной последовательности, указанной в SEQ ID NO: 245, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41 или SEQ ID NO: 39.

8. Вектор AAV по п.7, отличающийся тем, что CDR1 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 212, CDR2 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 213, CDR3 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 16, CDR1 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 222, CDR2 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 225, и CDR3 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 224.

9. Вектор AAV по п.7, отличающийся тем, что CDR1 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 14, CDR2 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 15, CDR3 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 16, CDR1 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 26, CDR2 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 27, и CDR3 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 28.

10. Вектор AAV по п.7, отличающийся тем, что CDR1 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 17, CDR2 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 18, CDR3 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 19, CDR1 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 29, CDR2 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 30, и CDR3 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 31.

11. Вектор AAV по п.7, отличающийся тем, что CDR1 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 11, CDR2 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 12, CDR3 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 13, CDR1 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 23, CDR2 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 24, и CDR3 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 25.

12. Способ получения частицы рекомбинантного аденоассоциированного вируса (AAV), включающий: (а) культивирование клетки-хозяина, трансфицированной вектором AAV по любому из пп.1-11 с получением культуры клеток, и (б) выделение частицы рекомбинантного AAV, полученной из супернатанта культуры клеток.

13. Применение вектора AAV по любому из пп.1-11 для *in vivo* доставки FAM19A5 антагониста нуждающемуся в этом субъекту.

14. Применение вектора AAV по любому из пп.1-11 для лечения заболевания или состояния у субъекта, нуждающегося в этом.

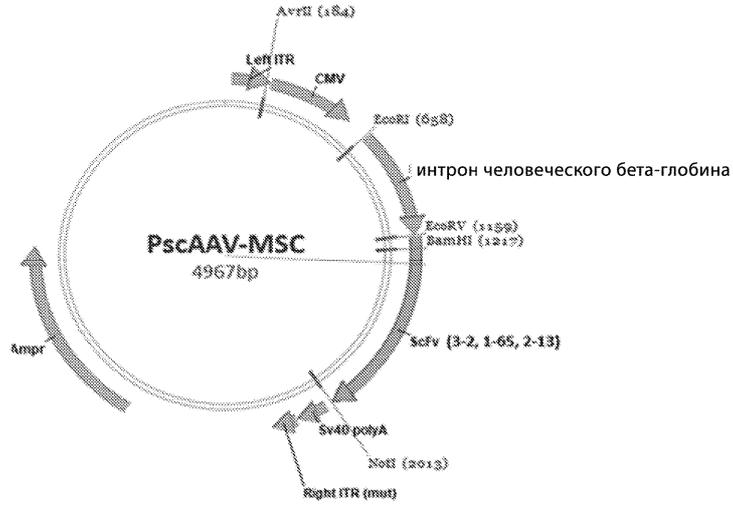
15. Применение по п.14, отличающееся тем, что заболевание или состояние включает невропатическую боль.

16. Применение по п.15, отличающееся тем, что невропатическая боль представляет собой периферическую невропатическую боль.

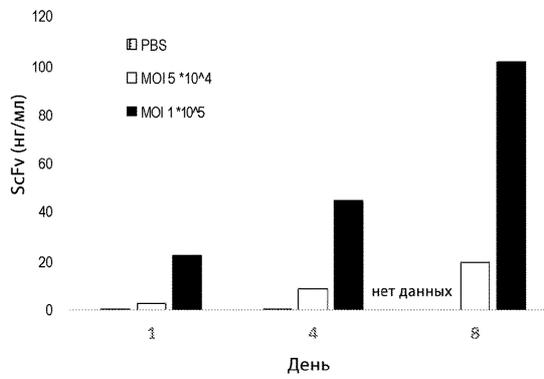
17. Применение вектора AAV по любому из пп.1-11 для увеличения порога или задержки внешнего раздражителя у субъекта, нуждающегося в этом.

18. Применение по п.17, отличающееся тем, что внешний раздражитель представляет собой механический раздражитель, тепловой раздражитель или оба указанных раздражителя.

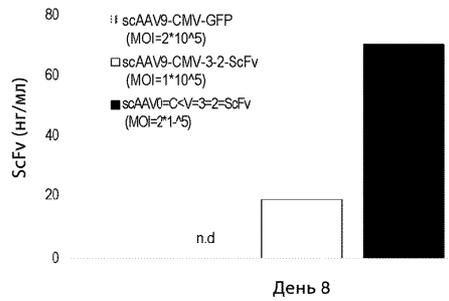
19. Применение по любому из пп.13-18, отличающееся тем, что вектор AAV подходит для введения субъекту внутривенно, перорально, парентерально, интратекально, внутричерепноventрикулярно, легочно, внутримышечно, подкожно, внутрибрюшинно, интравитреально, эпидурально, субретинально или интравентрикулярно.



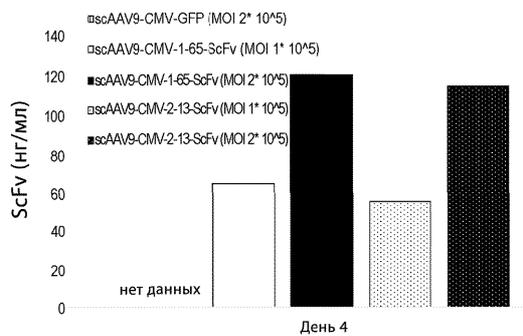
Фиг. 1



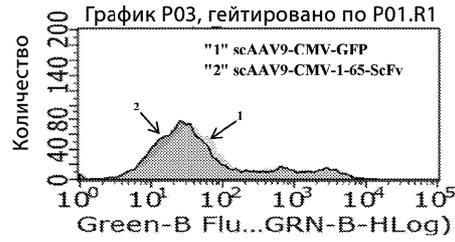
Фиг. 2А



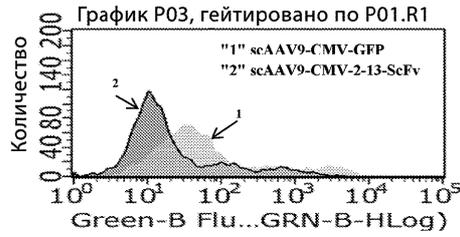
Фиг. 2В



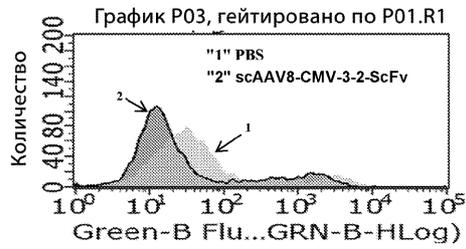
Фиг. 2С



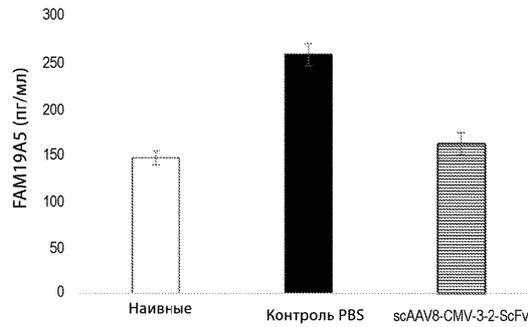
Фиг. 3А



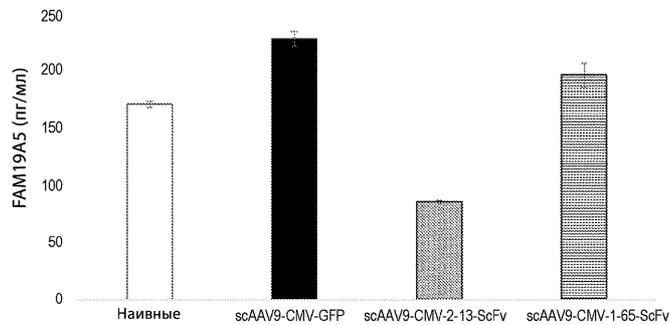
Фиг. 3В



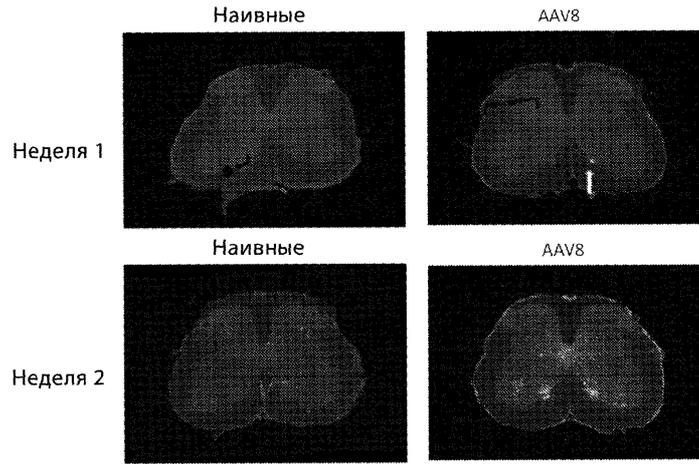
Фиг. 3С



Фиг. 4А

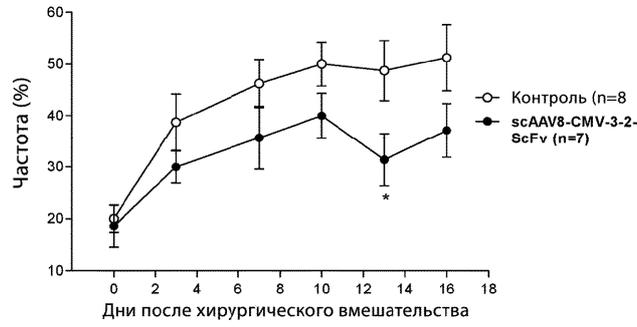


Фиг. 4В



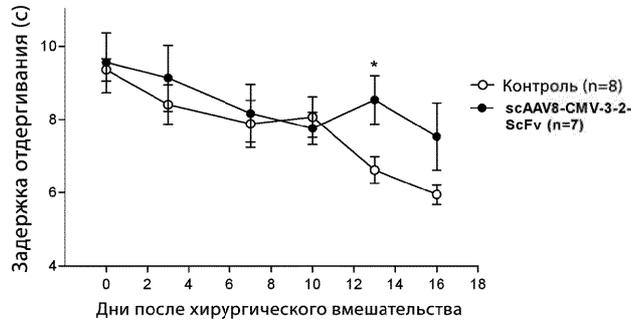
Фиг. 5

Механическая аллодиния



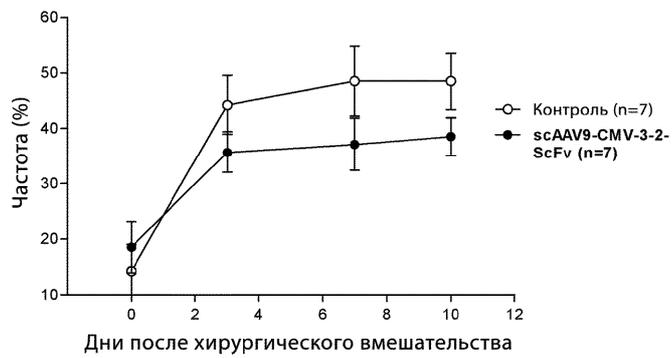
Фиг. 6А

Термическая гипералгезия

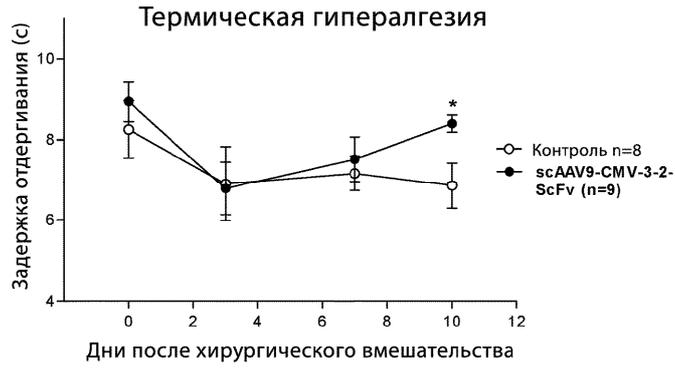


Фиг. 6В

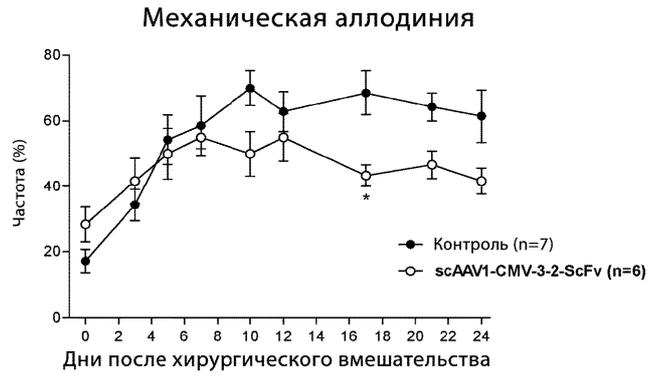
Механическая аллодиния



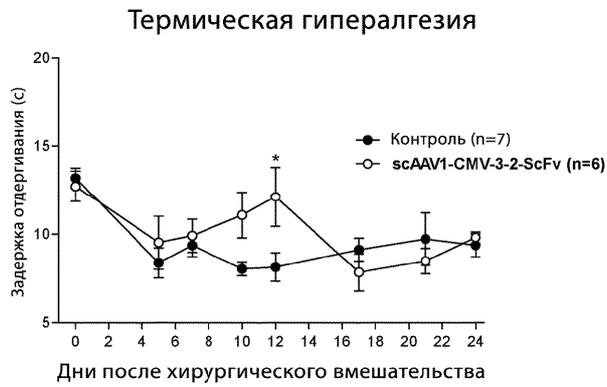
Фиг. 7А



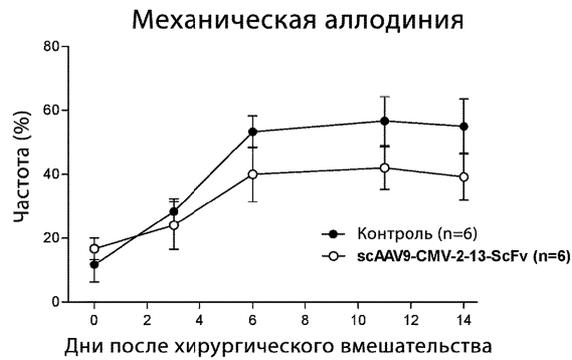
Фиг. 7В



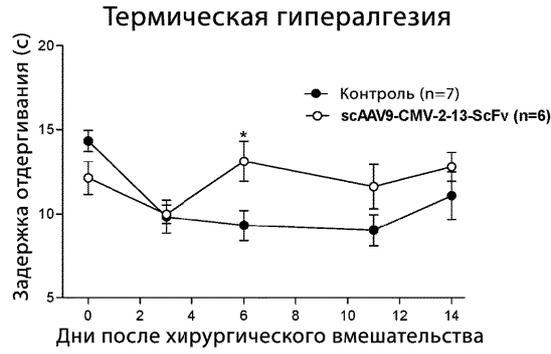
Фиг. 8А



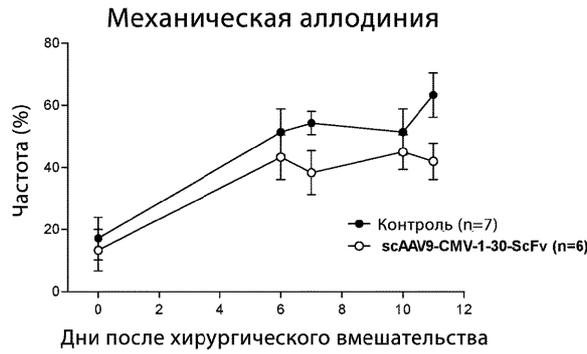
Фиг. 8В



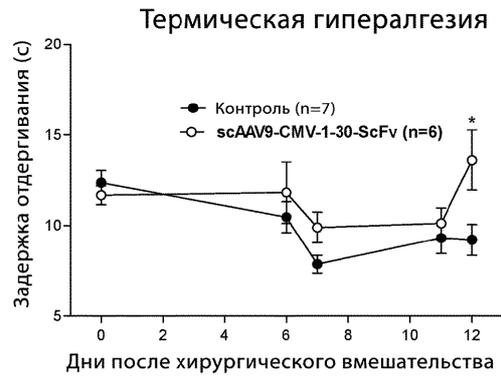
Фиг. 9А



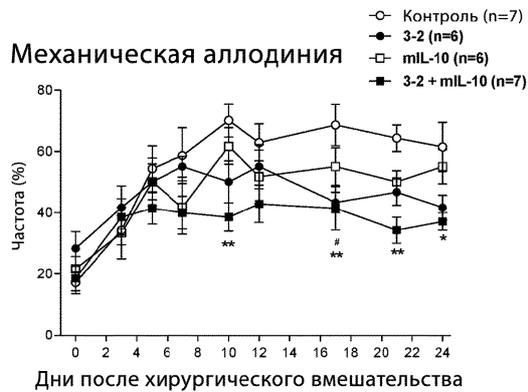
Фиг. 9В



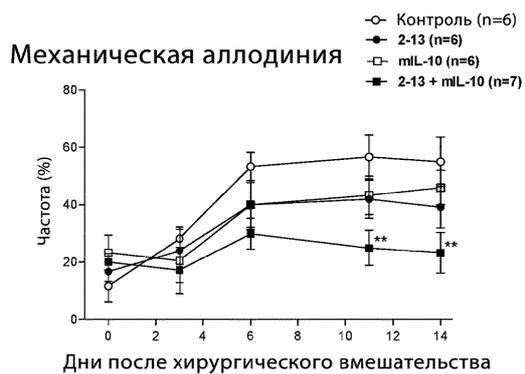
Фиг. 10А



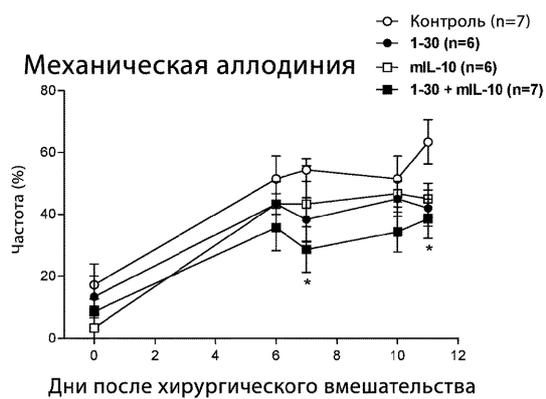
Фиг. 10В



Фиг. 11А



Фиг. 11В



Фиг. 11С