



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **124835** (13) **C2**

(51) МПК (2021.01)

C07K 16/28 (2006.01)**A61K 39/395** (2006.01)

A61P 29/00

A61P 37/08 (2006.01)

C12N 15/13 (2006.01)

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
"УКРАЇНСЬКИЙ ІНСТИТУТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ"

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки: а 2019 00001	(72) Винахідник(и): Чжен Вей (US), Пань Убінь (CA), Ян Сінь (CN), Чень Ян (CN), Чжан Лімін (CN), Цзян Цзе (CN)
(22) Дата подання заявки: 08.06.2017	(73) Володілець (володільці): СУЧЖОУ КОННЕКТ БІОФАРМАСЬЮТИКАЛС, ЛТД, 10th Floor, XiangTang FaZhan Building, No.3, ChaoYang DongLu, Taicang City, Jiangsu 215400, China (CN)
(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: 02.12.2021	(74) Представник: Михайлюк Ганна Валентинівна, реєстр. №184
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 201610399254.4	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: WO 2013/087660 A1, 20.06.2013 WO 01/92340 A2, 06.12.2001
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 08.06.2016	
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: CN	
(41) Публікація відомостей про заявку: 25.02.2019, Бюл.№ 4	
(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: 01.12.2021, Бюл.№ 48	
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: PCT/CN2017/087592, 08.06.2017	

(54) АНТИТІЛО ДЛЯ ЗВ'ЯЗУВАННЯ З РЕЦЕПТОРОМ ІНТЕРЛЕЙКІНУ 4**(57) Реферат:**

Винахід стосується антитіла, здатного зв'язуватися з рецептором інтерлейкіну 4 (IL-4) (IL-4R).

UA 124835 C2

ГАЛУЗЬ ТЕХНІКИ

Даний винахід стосується галузі біофармацевтики. Більш конкретно даний винахід стосується антитіла, яке здатне зв'язуватися з рецептором інтерлейкіну 4 (IL-4) (IL-4R), і шляхів його застосування.

5 РІВЕНЬ ТЕХНІКИ

10 Інтерлейкін-4 (IL-4) являє собою цитокін, який переважно виробляється активованими Т-клітинами, моноцитами, базофілами, тучними клітинами й еозинофілами. IL-4 залучений у безліч біологічних процесів, і його біологічні ефекти, відомі в рівні техніки, передбачають стимуляцію проліферації активованих В-клітин і Т-клітин і диференціювання CD4⁺ Т-клітин у Т-хелперні клітини II типу. До того ж дослідження показали, що IL-4 має багато ефектів, що полягають в опосередкуванні імунних відповідей на захворювання, такі як алергічні захворювання, аутоімунні захворювання, інфекційні захворювання та пухлини, і має терапевтичні ефекти щодо пухлин, аутоімунних захворювань й інфекційних захворювань тощо. При цьому IL-4 також може регулювати імунну відповідь на введення вакцини. Отже, IL-4 15 завжди являв собою цікавий об'єкт для дослідження, який привертає велику увагу.

IL-13 також являє собою цитокін, який виробляється активованими Т-клітинами, що має різні функції в різних типах клітин, таких як моноцити, В-клітини, тучні клітини та кератиноцити. IL-13 може пригнічувати вивільнення запальних цитокінів і хемокинів із моноцитів, індукувати проліферацію та диференціювання В-клітин і сприяти синтезу IgE. IL-13 і IL-4 мають багато 20 спільних властивостей щодо біологічних функцій, включаючи пригнічення вивільнення медіаторів запалення з моноцитів, індукування дендритоподібного розвитку макрофагів, сприяння експресії CD23 на поверхні моноцитів і стимуляцію синтезу імуноглобулінів В-клітинами. Водночас IL-13 також має власні біологічні особливості, які в основному включають сприяння диференціюванню моноцитів людини та зміну антигенів на клітинній поверхні; 25 індукування проліферації та диференціювання В-клітин і сприяння секреції антитіл із В-клітин; регуляцію синтезу IgE, таким чином маючи зв'язок із алергічними реакціями в організмі; пригнічення росту пухлинних клітин; інгібування реплікації HIV тощо.

Біологічна активність IL-4 опосередковується специфічним рецептором IL-4 на клітинній поверхні (IL-4R, який у людини називають "hIL-4R"). IL-4R людини являє собою гетеродимер, 30 утворений двома поліпептидними ланцюгами, у яких альфа-ланцюг (hIL-4R α , UniProtKB: P24394) характеризується високою афінністю до IL-4. І дослідження показали, що альфа-ланцюг рецептора клітинної поверхні IL-13 (IL-13R α -ланцюг) також утворює іншу форму комплексу IL-4R з IL-4R α -ланцюгом. Оскільки IL-4R α -ланцюг у комплексі IL-4R відіграє головну роль у зв'язуванні з IL-4 й іншими залученими цитокінами, IL-4R α -ланцюг на сьогодні вивчається 35 як основний об'єкт. До того ж було клінічно доведено, що моноклональні антитіла людини до IL-4R α -ланцюга є ефективними в полегшенні тяжкості та лікуванні патологічних станів, таких як астма, екзема, atopічний дерматит тощо.

Рецептор інтерлейкіну 4 людини, як відомо, утворюється у вигляді розчинної форми білка (shIL-4R α , SEQ ID NO: 94), який пригнічує проліферацію клітин, опосередковану IL-4, і 40 підвищує регуляцію IL-5, опосередковану Т-клітинами. Дві форми рецептора є асоційованими з алергічною реакцією, яка проявляється у вигляді захворювань, таких як алергічний риніт, синусит, астма, екзема тощо. Отже, блокувальні антитіла, які націлюються на білок, можуть допомогти в лікуванні та полегшенні тяжкості вказаних захворювань.

Астма являє собою хронічне запальне захворювання дихальних шляхів, за якого залучено 45 багато запальних клітин, таких як еозинофіли, тучні клітини та лімфоцити, а її конкретний патогенез усе ще неясний. Оскільки цитокіни, такі як IL-4, відіграють важливу роль у виникненні та розвитку бронхіальної астми, розробка антитіл, специфічних щодо IL-4, є одним з ефективних шляхів лікування астми. Інгібування IL-4/IL-4R α може мати ефективний імуномодулюючий ефект щодо астми.

50 Алергічний риніт (AR) характеризується патогенезом, який має багато спільного з патогенезом астми та, як і астма, належить до алергії I типу. При цьому під час досліджень було виявлено, що IL-4, IL-17 і IgE відіграють важливу роль у патогенезі алергічного риніту. На сьогодні лікарська терапія має пріоритет щодо лікування AR, у якому інтраназальні кортикостероїди й антигістамінні засоби займають центральну позицію.

55 Atopічний дерматит (AD), також відомий як гетеротопічний дерматит, або спадковий алергічний дерматит, являє собою загальновідоме дерматологічне захворювання, яке найчастіше зустрічається в дітей і підлітків і часто ускладнюється певними спадковими алергічними захворюваннями, такими як алергічний риніт, астма тощо. Залучення імунологічних факторів, таких як IL-4 і IL-13, є однією з основних причин патогенезу.

Еозинофільний езофагіт (ЕоЕ) являє собою хронічне імунзапальне захворювання, що характеризується інфільтрацією еозинофілів (EOS) у всіх шарах стравоходу. Прояв ЕоЕ пов'язаний із дисфункцією Th2-клітин. На сьогодні протоколи з високою специфічністю, такі як новий біологічний засіб, спрямований на IL-5 (такий як меполізумаб), почали користуватися

великою популярністю в дослідженнях. Незважаючи на те, що за допомогою імунomodуючої терапії були досягнуті результати у тваринних моделях, залишається необхідність у дослідженнях із клінічними випробуваннями з участю людей. Лікарські препарати, такі як інгібітори PGD2, антитіла до TNF- α і антитіла до IL-13, на цей час перебувають на етапі дослідження.

Лікарські препарати на основі моноклональних антитіл, що націлюються на hIL-4R, на цей момент увійшли в етап клінічних випробувань, наприклад, дупілумаб, який показав гарну ефективність у фазі II клінічного випробування щодо atopічного дерматиту. Окрім дупілумабу інші моноклональні антитіла до hIL-4R були заявлені в патентних заявках компаніями, наприклад, патент US 7186809 і патент US 7638606.

СТИСЛИЙ ОПИС ВІНАХОДУ

Даний винахід передбачає антитіло, специфічне до IL-4R, яке одержано за допомогою скринінгу антитіла й оптимізації, і при цьому антитіло може слугувати як засіб, що блокує зв'язування IL-4 з IL-4R, та може застосовуватися для лікування запальних або алергічних захворювань за допомогою зв'язування з IL-4R.

З посиланням на нумерацію амінокислотних залишків послідовності, викладеної під SEQ ID NO: 58, антитіло за даним винаходом містить серин у положенні 31 (31Ser) варіабельної ділянки легкого ланцюга, що міститься в ньому, і з посиланням на нумерацію амінокислотних залишків послідовності, викладеної під SEQ ID NO: 93, антитіло містить аспарагінову кислоту в положенні 103 (103Asp) і тирозин у положенні 104 (104Tyr) варіабельної ділянки важкого ланцюга, що міститься в ньому. При цьому 31Ser розташований у CDR1 варіабельної ділянки легкого ланцюга антитіла за даним винаходом відповідно, а 103Asp і 104Tyr розташовані в CDR3 варіабельної ділянки важкого ланцюга антитіла за даним винаходом відповідно.

Переважно варіабельна ділянка легкого ланцюга антитіла за даним винаходом містить CDR1, викладену під SEQ ID NO: 2, і варіабельна ділянка важкого ланцюга антитіла містить CDR3, викладену під SEQ ID NO: 19.

Переважно варіабельна ділянка легкого ланцюга антитіла за даним винаходом містить комбінацію CDR1, CDR2 і CDR3, вибраних із групи, що складається з:

(1) CDR1, викладеної під SEQ ID NO: 2, CDR2, викладеної під SEQ ID NO: 3, і CDR3, викладеної під SEQ ID NO: 5;

(2) CDR1, викладеної під SEQ ID NO: 2, CDR2, викладеної під SEQ ID NO: 4, і CDR3, викладеної під SEQ ID NO: 5;

(3) CDR1, викладеної під SEQ ID NO: 2, CDR2, викладеної під SEQ ID NO: 3, і CDR3, викладеної під SEQ ID NO: 6;

(4) CDR1, викладеної під SEQ ID NO: 2, CDR2, викладеної під SEQ ID NO: 3, і CDR3, викладеної під SEQ ID NO: 7;

(5) CDR1, викладеної під SEQ ID NO: 2, CDR2, викладеної під SEQ ID NO: 3, і CDR3, викладеної під SEQ ID NO: 8;

(6) CDR1, викладеної під SEQ ID NO: 2, CDR2, викладеної під SEQ ID NO: 4, і CDR3, викладеної під SEQ ID NO: 6;

(7) CDR1, викладеної під SEQ ID NO: 2, CDR2, викладеної під SEQ ID NO: 4, і CDR3, викладеної під SEQ ID NO: 7; і

(8) CDR1, викладеної під SEQ ID NO: 2, CDR2, викладеної під SEQ ID NO: 4, і CDR3, викладеної під SEQ ID NO: 8; і

варіабельна ділянка важкого ланцюга антитіла за даним винаходом містить комбінацію CDR1, CDR2 і CDR3, вибраних із групи, що складається з:

(1) CDR1, викладеної під SEQ ID NO: 14, CDR2, викладеної під SEQ ID NO: 17, і CDR3, викладеної під SEQ ID NO: 19;

(2) CDR1, викладеної під SEQ ID NO: 14, CDR2, викладеної під SEQ ID NO: 18, і CDR3, викладеної під SEQ ID NO: 19;

(3) CDR1, викладеної під SEQ ID NO: 15, CDR2, викладеної під SEQ ID NO: 17, і CDR3, викладеної під SEQ ID NO: 19;

(4) CDR1, викладеної під SEQ ID NO: 15, CDR2, викладеної під SEQ ID NO: 18, і CDR3, викладеної під SEQ ID NO: 19;

(5) CDR1, викладеної під SEQ ID NO: 16, CDR2, викладеної під SEQ ID NO: 18, і CDR3, викладеної під SEQ ID NO: 19; і

(24) варіабельної ділянки легкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 45, і варіабельної ділянки важкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 92;

(25) варіабельної ділянки легкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 46, і варіабельної ділянки важкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 92;

5 (26) варіабельної ділянки легкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 47, і варіабельної ділянки важкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 92;

(27) варіабельної ділянки легкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 55, і варіабельної ділянки важкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 92;

10 (28) варіабельної ділянки легкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 55, і варіабельної ділянки важкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 62;

(29) варіабельної ділянки легкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 55, і варіабельної ділянки важкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 91;

(30) варіабельної ділянки легкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 54, і варіабельної ділянки важкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 92;

15 (31) варіабельної ділянки легкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 54, і варіабельної ділянки важкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 62;

(32) варіабельної ділянки легкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 54, і варіабельної ділянки важкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 91; і

20 (33) варіабельної ділянки легкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 51, і варіабельної ділянки важкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 92.

В іншому аспекті даний винахід передбачає антитіло, яке може зв'язуватися з рецептором інтерлейкіну 4 (IL-4) (IL-4R). Антитіло містить варіабельну ділянку легкого ланцюга (VL), а варіабельна ділянка легкого ланцюга містить комбінацію CDR1, CDR2 і CDR3, вибрану з групи, що складається з:

25 (1) CDR1, викладеної під SEQ ID NO: 1, CDR2, викладеної під SEQ ID NO: 3, і CDR3, викладеної під SEQ ID NO: 5;

(2) CDR1, викладеної під SEQ ID NO: 2, CDR2, викладеної під SEQ ID NO: 3, і CDR3, викладеної під SEQ ID NO: 5;

30 (3) CDR1, викладеної під SEQ ID NO: 2, CDR2, викладеної під SEQ ID NO: 4, і CDR3, викладеної під SEQ ID NO: 5;

(4) CDR1, викладеної під SEQ ID NO: 1, CDR2, викладеної під SEQ ID NO: 4, і CDR3, викладеної під SEQ ID NO: 5;

(5) CDR1, викладеної під SEQ ID NO: 2, CDR2, викладеної під SEQ ID NO: 3, і CDR3, викладеної під SEQ ID NO: 6;

35 (6) CDR1, викладеної під SEQ ID NO: 2, CDR2, викладеної під SEQ ID NO: 3, і CDR3, викладеної під SEQ ID NO: 7;

(7) CDR1, викладеної під SEQ ID NO: 2, CDR2, викладеної під SEQ ID NO: 3, і CDR3, викладеної під SEQ ID NO: 8;

40 (8) CDR1, викладеної під SEQ ID NO: 1, CDR2, викладеної під SEQ ID NO: 3, і CDR3, викладеної під SEQ ID NO: 6;

(9) CDR1, викладеної під SEQ ID NO: 2, CDR2, викладеної під SEQ ID NO: 4, і CDR3, викладеної під SEQ ID NO: 6;

(10) CDR1, викладеної під SEQ ID NO: 2, CDR2, викладеної під SEQ ID NO: 4, і CDR3, викладеної під SEQ ID NO: 8;

45 (11) CDR1, викладеної під SEQ ID NO: 1, CDR2, викладеної під SEQ ID NO: 4, і CDR3, викладеної під SEQ ID NO: 8, і

(12) CDR1, викладеної під SEQ ID NO: 1, CDR2, викладеної під SEQ ID NO: 3, і CDR3, викладеної під SEQ ID NO: 8;

та/або

50 антитіло містить варіабельну ділянку важкого ланцюга (VH), а варіабельна ділянка важкого ланцюга містить комбінацію CDR1, CDR2 і CDR3, вибрану з групи, що складається з:

(1) CDR1, викладеної під SEQ ID NO: 14, CDR2, викладеної під SEQ ID NO: 17, і CDR3, викладеної під SEQ ID NO: 19;

55 (2) CDR1, викладеної під SEQ ID NO: 14, CDR2, викладеної під SEQ ID NO: 18, і CDR3, викладеної під SEQ ID NO: 19;

(3) CDR1, викладеної під SEQ ID NO: 14, CDR2, викладеної під SEQ ID NO: 17, і CDR3, викладеної під SEQ ID NO: 20;

(4) CDR1, викладеної під SEQ ID NO: 14, CDR2, викладеної під SEQ ID NO: 18, і CDR3, викладеної під SEQ ID NO: 20;

(5) CDR1, викладеної під SEQ ID NO: 15, CDR2, викладеної під SEQ ID NO: 17, і CDR3, викладеної під SEQ ID NO: 19;

(6) CDR1, викладеної під SEQ ID NO: 16, CDR2, викладеної під SEQ ID NO: 17, і CDR3, викладеної під SEQ ID NO: 19; і

5 (7) CDR1, викладеної під SEQ ID NO: 14, CDR2, викладеної під SEQ ID NO: 18, і CDR3, викладеної під SEQ ID NO: 19.

Далі, що стосується каркасних ділянок антитіла за даним винаходом, описаного вище, варіабельна ділянка легкого ланцюга антитіла за даним винаходом переважно містить комбінацію FR1, FR2, FR3 і FR4, вибрану з групи, що складається з:

10 (1) FR1, викладеної під SEQ ID NO: 9, FR2, викладеної під SEQ ID NO: 10, FR3, викладеної під SEQ ID NO: 12, і FR4, викладеної під SEQ ID NO: 13; і

(2) FR1, викладеної під SEQ ID NO: 9, FR2, викладеної під SEQ ID NO: 11, FR3, викладеної під SEQ ID NO: 12, і FR4, викладеної під SEQ ID NO: 13.

15 Переважно варіабельна ділянка важкого ланцюга антитіла містить комбінацію FR1, FR2, FR3 і FR4, вибрану з групи, що складається з:

(1) FR1, викладеної під SEQ ID NO: 21, FR2, викладеної під SEQ ID NO: 32, FR3, викладеної під SEQ ID NO: 34, і FR4, викладеної під SEQ ID NO: 38;

(2) FR1, викладеної під SEQ ID NO: 22, FR2, викладеної під SEQ ID NO: 32, FR3, викладеної під SEQ ID NO: 34, і FR4, викладеної під SEQ ID NO: 38;

20 (3) FR1, викладеної під SEQ ID NO: 23, FR2, викладеної під SEQ ID NO: 32, FR3, викладеної під SEQ ID NO: 34, і FR4, викладеної під SEQ ID NO: 38;

(4) FR1, викладеної під SEQ ID NO: 24, FR2, викладеної під SEQ ID NO: 32, FR3, викладеної під SEQ ID NO: 34, і FR4, викладеної під SEQ ID NO: 38;

25 (5) FR1, викладеної під SEQ ID NO: 24, FR2, викладеної під SEQ ID NO: 32, FR3, викладеної під SEQ ID NO: 35, і FR4, викладеної під SEQ ID NO: 38;

(6) FR1, викладеної під SEQ ID NO: 25, FR2, викладеної під SEQ ID NO: 32, FR3, викладеної під SEQ ID NO: 34, і FR4, викладеної під SEQ ID NO: 38;

(7) FR1, викладеної під SEQ ID NO: 26, FR2, викладеної під SEQ ID NO: 32, FR3, викладеної під SEQ ID NO: 34, і FR4, викладеної під SEQ ID NO: 38;

30 (8) FR1, викладеної під SEQ ID NO: 27, FR2, викладеної під SEQ ID NO: 32, FR3, викладеної під SEQ ID NO: 34, і FR4, викладеної під SEQ ID NO: 38;

(9) FR1, викладеної під SEQ ID NO: 29, FR2, викладеної під SEQ ID NO: 32, FR3, викладеної під SEQ ID NO: 34, і FR4, викладеної під SEQ ID NO: 38;

35 (10) FR1, викладеної під SEQ ID NO: 30, FR2, викладеної під SEQ ID NO: 32, FR3, викладеної під SEQ ID NO: 34, і FR4, викладеної під SEQ ID NO: 38;

(11) FR1, викладеної під SEQ ID NO: 24, FR2, викладеної під SEQ ID NO: 33, FR3, викладеної під SEQ ID NO: 34, і FR4, викладеної під SEQ ID NO: 38;

(12) FR1, викладеної під SEQ ID NO: 24, FR2, викладеної під SEQ ID NO: 32, FR3, викладеної під SEQ ID NO: 36, і FR4, викладеної під SEQ ID NO: 38;

40 (13) FR1, викладеної під SEQ ID NO: 24, FR2, викладеної під SEQ ID NO: 32, FR3, викладеної під SEQ ID NO: 37, і FR4, викладеної під SEQ ID NO: 38;

(14) FR1, викладеної під SEQ ID NO: 31, FR2, викладеної під SEQ ID NO: 32, FR3, викладеної під SEQ ID NO: 34, і FR4, викладеної під SEQ ID NO: 38;

45 (15) FR1, викладеної під SEQ ID NO: 27, FR2, викладеної під SEQ ID NO: 32, FR3, викладеної під SEQ ID NO: 35, і FR4, викладеної під SEQ ID NO: 38;

(16) FR1, викладеної під SEQ ID NO: 26, FR2, викладеної під SEQ ID NO: 32, FR3, викладеної під SEQ ID NO: 35, і FR4, викладеної під SEQ ID NO: 38;

(17) FR1, викладеної під SEQ ID NO: 25, FR2, викладеної під SEQ ID NO: 32, FR3, викладеної під SEQ ID NO: 35, і FR4, викладеної під SEQ ID NO: 38;

50 (18) FR1, викладеної під SEQ ID NO: 28, FR2, викладеної під SEQ ID NO: 32, FR3, викладеної під SEQ ID NO: 35, і FR4, викладеної під SEQ ID NO: 38;

(19) FR1, викладеної під SEQ ID NO: 28, FR2, викладеної під SEQ ID NO: 32, FR3, викладеної під SEQ ID NO: 34, і FR4, викладеної під SEQ ID NO: 38;

55 (20) FR1, викладеної під SEQ ID NO: 23, FR2, викладеної під SEQ ID NO: 32, FR3, викладеної під SEQ ID NO: 35, і FR4, викладеної під SEQ ID NO: 38;

(21) FR1, викладеної під SEQ ID NO: 22, FR2, викладеної під SEQ ID NO: 32, FR3, викладеної під SEQ ID NO: 35, і FR4, викладеної під SEQ ID NO: 38; і

(22) FR1, викладеної під SEQ ID NO: 21, FR2, викладеної під SEQ ID NO: 32, FR3, викладеної під SEQ ID NO: 35, і FR4, викладеної під SEQ ID NO: 38.

Відповідно до складу домену варіабельної ділянки легкого ланцюга та варіабельної ділянки важкого ланцюга антитіла, відомого з рівня техніки, варіабельна ділянка легкого ланцюга або варіабельна ділянка важкого ланцюга антитіла за даним винаходом містить вищевказані компоненти домену в порядку FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4 або містить вищевказані компоненти домену в порядку (X)n-FR1-(X)n-CDR1-(X)n-FR2-(X)n-CDR2-(X)n-FR3-(X)n-CDR3-(X)n-FR4-(X)n, у якому X являє собою будь-який амінокислотний залишок, і n являє собою нуль або ціле число, яке більше від нуля.

Переважно антитіло, передбачене даним винаходом, містить варіабельну ділянку легкого ланцюга, вибрану з амінокислотних послідовностей, представлених у вигляді наступних послідовностей:

SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57 і SEQ ID NO: 58;

та/або

антитіло, передбачене даним винаходом, містить варіабельну ділянку важкого ланцюга, вибрану з амінокислотних послідовностей, представлених у вигляді наступних послідовностей:

SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 64, 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, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 92 і SEQ ID NO: 93.

Згідно з конкретними варіантами здійснення даного винаходу антитіло, передбачене даним винаходом, містить комбінацію варіабельної ділянки легкого ланцюга та варіабельної ділянки важкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з:

(1) варіабельної ділянки легкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 57, і варіабельної ділянки важкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 62;

(2) варіабельної ділянки легкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 57, і варіабельної ділянки важкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 63;

(3) варіабельної ділянки легкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 57, і варіабельної ділянки важкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 59;

(4) варіабельної ділянки легкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 57, і варіабельної ділянки важкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 60;

(5) варіабельної ділянки легкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 57, і варіабельної ділянки важкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 61;

(6) варіабельної ділянки легкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 57, і варіабельної ділянки важкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 67;

(7) варіабельної ділянки легкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 57, і варіабельної ділянки важкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 65;

(8) варіабельної ділянки легкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 57, і варіабельної ділянки важкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 66;

(9) варіабельної ділянки легкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 57, і варіабельної ділянки важкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 64;

(10) варіабельної ділянки легкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 57, і варіабельної ділянки важкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 68;

(11) варіабельної ділянки легкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 57, і варіабельної ділянки важкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 69;

(12) варіабельної ділянки легкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 57, і варіабельної ділянки важкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 70;

(13) варіабельної ділянки легкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 57, і варіабельної ділянки важкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 71;

(14) варіабельної ділянки легкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 57, і варіабельної ділянки важкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 72;

(15) варіабельної ділянки легкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 57, і варіабельної ділянки важкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 73;

(16) варіабельної ділянки легкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 57, і варіабельної ділянки важкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 89;

(17) варіабельної ділянки легкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 57, і варіабельної ділянки важкого ланцюга, викладеної під SEQ ID NO: 88;

- [illegible]

- [illegible]

Антитіло, передбачене даним винаходом, здатне зв'язуватися з IL-4R і функціонує як антагоніст IL-4R. Переважно антитіло здатне зв'язуватися з IL-4R α , переважно з IL-4R α ссавців, більш переважно з IL-4R α людини, ще більш переважно з розчинним IL-4R α людини.

5 Афінність зв'язування антитіла, передбаченого даним винаходом, з IL-4R α можна визначити за допомогою способу Biacore або ELISA. Було визначено, що антитіло зв'язує IL-4R α з афінністю, яка становить менш ніж 100 нМ, менш ніж 10 нМ, менш ніж 1 нМ, менш ніж 0,5 нМ і навіть менш ніж 0,1 нМ.

10 В однакових умовах відношення рівня експресії антитіла, передбаченого даним винаходом, до рівня експресії еталонного антитіла становить 0,1-3:1, переважно 0,3-3:1, більш переважно 0,4-3:1, більш переважно 0,5-3:1, ще більш переважно 0,6-3:1, більш переважно 0,7-3:1, ще більш переважно 1-3:1.

Стосовно типу антитіла, антитіло, передбачене даним винаходом, може являти собою моноклональне антитіло, повністю або частково гуманізоване антитіло або химерне антитіло.

15 Або переважно антитіло являє собою імуноглобулін, переважно IgA, IgD, IgE, IgG або IgM, більш переважно підтипу IgG1, IgG2, IgG3 або IgG4, ще більш переважно підтипу IgG2 або IgG4.

20 У ще одному аспекті даний винахід передбачає злитий білок або кон'югат, що містить антитіло за даним винаходом. Злитий білок або кон'югат можуть додатково містити рецептор клітинної поверхні, активний білок або активний поліпептид, низькомолекулярну сполуку, таку як амінокислота та сахарид, низькомолекулярний полімер або інші частини, що хімічно модифікують антитіло, тощо, зв'язані з антитілом за даним винаходом за допомогою хімічних або фізичних способів.

У ще одному аспекті даний винахід передбачає послідовність нуклеїнової кислоти, яка може кодувати варіабельну ділянку важкого ланцюга та/або варіабельну ділянку легкого ланцюга антитіла, передбаченого даним винаходом.

25 Переважно послідовність нуклеїнової кислоти може кодувати важкий ланцюг і/або легкий ланцюг антитіла, передбаченого даним винаходом.

30 У ще одному аспекті даний винахід також передбачає вектор, що містить послідовність нуклеїнової кислоти, передбачену даним винаходом. Вектор може являти собою еукаріотичний вектор експресії, прокаріотичний вектор експресії, штучну хромосому, фаговий вектор або подібне.

35 Вектор або послідовність нуклеїнової кислоти, описані вище, можна застосовувати для трансформації або трансфекції клітин-хазяїнів для збереження або експресії антитіла тощо. Відповідно, даний винахід також передбачає клітину-хазяїна, трансформовану або трансфіковану за допомогою послідовності нуклеїнової кислоти або вектора. Клітина-хазяїн може являти собою будь-яку прокаріотичну або еукаріотичну клітину, наприклад, бактеріальну клітину або клітину комахи, гриба, рослини або тварини.

40 Антитіло, передбачене даним винаходом, може бути одержане за допомогою будь-якого способу, відомого з рівня техніки. Наприклад, спочатку варіабельна ділянка важкого ланцюга та/або варіабельна ділянка легкого ланцюга антитіла, або важкий та/або легкий ланцюг антитіла можуть бути одержані, виходячи з послідовності нуклеїнової кислоти, передбаченої даним винаходом, а потім зібрані з будь-яким іншим доменом антитіла з одержанням антитіла; або клітину-хазяїна, передбачену даним винаходом, культивують в умовах, за яких клітина-хазяїн може експресувати варіабельну ділянку важкого ланцюга та/або варіабельну ділянку легкого ланцюга антитіла, або важкий та/або легкий ланцюг антитіла для складання з одержанням антитіла.

45 Необов'язково спосіб додатково включає стадію виділення одержаного антитіла.

50 Антитіло, злитий білок або кон'югат, послідовність нуклеїнової кислоти, вектор або клітина-хазяїн, передбачені даним винаходом, або антитіло, одержане за допомогою способу, описаного вище, можуть міститися у фармацевтичній композиції та більш конкретно у фармацевтичному препараті для різних цілей, згідно з фактичною необхідністю. Отже, у додатковому аспекті даний винахід також передбачає фармацевтичну композицію, що містить антитіло, злитий білок або кон'югат, послідовність нуклеїнової кислоти, вектор, клітину-хазяїна за даним винаходом і/або антитіло, одержане за допомогою способу, описаного вище.

55 Необов'язково фармацевтична композиція може являти собою фармацевтичний препарат. Фармацевтичний препарат являє собою, наприклад, ін'єкційний розчин.

Фармацевтична композиція або фармацевтичний препарат можуть додатково містити фармацевтично прийнятний носій або допоміжну речовину, залежно від конкретної лікарської форми.

60 Фармацевтична композиція або фармацевтичний препарат також можуть містити щонайменше один із наступних лікарських препаратів: антиастматичні засоби, такі як

альбутерол тощо, антигістамінні засоби, такі як лоратадин тощо, імуносупресивні засоби, такі як такролімус і пімекролімус тощо, блокатори М-рецепторів, такі як іпратропію бромід тощо, блокатори рецепторів лейкотриєнів, такі як монтелукаст тощо, інгібітори фосфодієстерази, такі як теофілін тощо, нестероїдні протизапальні лікарські засоби, такі як 5-аміносаліцилова кислота тощо, гормони, такі як беклометазон і будесонід тощо, інакше кажучи, антитіло, злитий білок або кон'югат, послідовність нуклеїнової кислоти, вектор, клітину-хазяїна, передбачені даним винаходом, або антитіло, одержане за допомогою способу за даним винаходом, описаного вище, можна застосовувати в комбінації з іншими лікарськими препаратами за необхідності.

У ще одному додатковому аспекті даний винахід також передбачає застосування антитіла, злитого білка або кон'югата, послідовності нуклеїнової кислоти, вектора, клітини-хазяїна або антитіла, одержаного за допомогою способу виготовлення лікарського препарату для попередження, лікування або полегшення тяжкості запального або алергічного захворювання.

Переважно запальне або алергічне захворювання передбачає аутоімунне захворювання, таке як алергічний дерматит, астма, еозинофільний езофагіт, екзема, алергічний риніт, носовий поліп, ревматоїдний артрит тощо.

У ще одному аспекті даний винахід передбачає спосіб попередження, лікування або полегшення тяжкості запального або алергічного захворювання, і при цьому спосіб включає введення суб'єкту, який потребує цього, антитіла, злитого білка або кон'югата, послідовності нуклеїнової кислоти, вектора, клітини-хазяїна, передбачених даним винаходом, і/або антитіла, одержаного за допомогою способу за даним винаходом.

Переважно суб'єкт є ссавцем, більш переважно суб'єкт є людиною.

Переважно запальне або алергічне захворювання передбачає аутоімунне захворювання, таке як алергічний дерматит, астма, еозинофільний езофагіт, екзема, алергічний риніт, носовий поліп, ревматоїдний артрит тощо.

Інші лікарські препарати можна застосовувати в комбінації для попередження, лікування або полегшення тяжкості запального або алергічного захворювання, наприклад, спосіб додатково включає введення суб'єкту, який потребує цього, щонайменше одного лікарського препарату, вибраного із групи, що складається з антиастматичних засобів, таких як альбутерол тощо, антигістамінних засобів, таких як лоратадин тощо, імуносупресивних засобів, таких як такролімус і пімекролімус тощо, блокаторів М-рецепторів, таких як іпратропію бромід тощо, блокаторів рецепторів лейкотриєнів, таких як монтелукаст тощо, інгібіторів фосфодієстерази, таких як теофілін тощо, нестероїдних протизапальних лікарських засобів, таких як 5-аміносаліцилова кислота тощо, гормонів, таких як беклометазон і будесонід тощо.

Переважно лікарський препарат вводять одночасно або послідовно з антитілом, злитим білком або кон'югатом, послідовністю нуклеїнової кислоти, вектором, клітиною-хазяїном, передбаченими даним винаходом, та/або антитілом, одержаним за допомогою способу за даним винаходом.

У ще одному додатковому аспекті даний винахід також передбачає набір, і при цьому набір містить антитіло, злитий білок або кон'югат, послідовність нуклеїнової кислоти, вектор, клітину-хазяїна, передбачені даним винаходом, і/або антитіло, одержане за допомогою способу за даним винаходом.

СТИСЛИЙ ОПИС ГРАФІЧНИХ МАТЕРІАЛІВ

Даний винахід може бути більш простим для розуміння в комбінації з необмежувальними варіантами здійснення за даним винаходом і графічними матеріалами, що додаються, у яких представлено наступне.

На фігурі 1 показані фармакокінетичні криві, одержані із застосуванням антитіл за даним винаходом, у миші.

На фігурі 2 показані фармакокінетичні криві, одержані із застосуванням антитіл за даним винаходом, у макаки-крабоїда.

На фігурі 3 представлені панелі 3A-3C, на яких показано специфічне зв'язування антитіл за даним винаходом із клітинами TF-1, що експресують IL-4R α , визначене за допомогою FACS, де на панелі 3A показаний сигнал флуоресценції без додавання антитіла L1012H1031 за даним винаходом; на панелі 3B показаний сигнал флуоресценції з додаванням антитіла L1012H1031 за даним винаходом; і на панелі 3C показане накладання сигналів панелей 3A і 3B для порівняння.

На фігурі 4 представлені панелі 4A-4D, на яких показано, що специфічне зв'язування антитіл за даним винаходом із клітинами TF-1, які експресують IL-4R α , блокуване siL-4R α , що є присутнім у системі, як визначено за допомогою FACS, де на панелі 4A показаний сигнал флуоресценції без додавання антитіла L1012H1031 за даним винаходом; на панелі 4B показаний сигнал флуоресценції з додаванням антитіла L1012H1031 за даним винаходом; на

панелі 4C показаний сигнал флуоресценції з додаванням антитіла L1012H1031 за даним винаходом і sIL-4Rα; та на панелі 4D показане накладання сигналів панелей 4A-4C для порівняння.

- 5 На фігурі 5 представлені панелі 5A-5B, на яких показаний ефект антитіл за даним винаходом щодо пригнічення вивільнення TARC і MDC, визначене за допомогою ELISA, де на панелі 5A показаний результат, що полягає в тому, що антитіло L1020H1031 за даним винаходом пригнічує вивільнення TARC, і на панелі 5B показаний результат, що полягає в тому, що антитіло L1020H1031 за даним винаходом пригнічує вивільнення MDC.

ДОКЛАДНИЙ ОПИС ПЕРЕВАЖНИХ ВАРІАНТІВ ЗДІЙСНЕННЯ

- 10 Даний винахід буде додатково докладно описаний у комбінації з конкретними варіантами здійснення надалі. Фахівцям у даній галузі буде зрозуміло, що передбачені варіанти здійснення застосовуються лише для ілюстрації даного винаходу, а не для обмеження обсягу даного винаходу будь-яким чином.

- 15 Усі експериментальні способи в наступних прикладах є традиційними способами, якщо не зазначене інше. Вихідні матеріали, застосовувані в наступних прикладах, є комерційно доступними, одержаними зі звичайних запасів біохімічних реагентів, якщо не зазначене інше.

У наступних прикладах антитіла, показані в таблиці 1, і їхні ефекти представлені для прикладу, і вони є перевіреними.

20

Таблиця 1

Антитіла, що наведені як приклад, передбачені даним винаходом

Номер	SEQ ID NO варіабельної ділянки легкого ланцюга та варіабельної ділянки важкого ланцюга
L1000H1007	SEQ ID NO: 57 + SEQ ID NO: 62
L1000H1008	SEQ ID NO: 57 + SEQ ID NO: 63
L1000H1009	SEQ ID NO: 57 + SEQ ID NO: 59
L1000H1010	SEQ ID NO: 57 + SEQ ID NO: 60
L1000H1011	SEQ ID NO: 57 + SEQ ID NO: 61
L1000H1012	SEQ ID NO: 57 + SEQ ID NO: 67
L1000H1013	SEQ ID NO: 57 + SEQ ID NO: 65
L1000H1014	SEQ ID NO: 57 + SEQ ID NO: 66
L1000H1015	SEQ ID NO: 57 + SEQ ID NO: 64
L1000H1016	SEQ ID NO: 57 + SEQ ID NO: 68
L1000H1017	SEQ ID NO: 57 + SEQ ID NO: 69
L1000H1018	SEQ ID NO: 57 + SEQ ID NO: 70
L1000H1019	SEQ ID NO: 57 + SEQ ID NO: 71
L1000H1020	SEQ ID NO: 57 + SEQ ID NO: 72
L1000H1021	SEQ ID NO: 57 + SEQ ID NO: 73
L1000H1022	SEQ ID NO: 57 + SEQ ID NO: 89
L1000H1023	SEQ ID NO: 57 + SEQ ID NO: 88
L1000H1024	SEQ ID NO: 57 + SEQ ID NO: 87
L1000H1025	SEQ ID NO: 57 + SEQ ID NO: 86
L1000H1026	SEQ ID NO: 57 + SEQ ID NO: 83
L1000H1027	SEQ ID NO: 57 + SEQ ID NO: 82
L1000H1028	SEQ ID NO: 57 + SEQ ID NO: 81
L1000H1029	SEQ ID NO: 57 + SEQ ID NO: 85
L1000H1030	SEQ ID NO: 57 + SEQ ID NO: 84
L1000H1031	SEQ ID NO: 57 + SEQ ID NO: 91
L1000H1032	SEQ ID NO: 57 + SEQ ID NO: 90
L1000H1033	SEQ ID NO: 57 + SEQ ID NO: 74

Продовження таблиці 1

L1000H1034	SEQ ID NO: 57 + SEQ ID NO: 75
L1000H1035	SEQ ID NO: 57 + SEQ ID NO: 76
L1000H1036	SEQ ID NO: 57 + SEQ ID NO: 77
L1000H1037	SEQ ID NO: 57 + SEQ ID NO: 78
L1000H1038	SEQ ID NO: 57 + SEQ ID NO: 80
L1007H1000	SEQ ID NO: 39 + SEQ ID NO: 92
L1008H1000	SEQ ID NO: 40 + SEQ ID NO: 92
L1009H1000	SEQ ID NO: 41 + SEQ ID NO: 92
L1010H1000	SEQ ID NO: 42 + SEQ ID NO: 92
L1011H1000	SEQ ID NO: 43 + SEQ ID NO: 92
L1012H1000	SEQ ID NO: 44 + SEQ ID NO: 92
L1012H1007	SEQ ID NO: 44 + SEQ ID NO: 62
L1012H1016	SEQ ID NO: 44 + SEQ ID NO: 68
L1012H1020	SEQ ID NO: 44 + SEQ ID NO: 72
L1012H1027	SEQ ID NO: 44 + SEQ ID NO: 82
L1012H1029	SEQ ID NO: 44 + SEQ ID NO: 85
L1012H1031	SEQ ID NO: 44 + SEQ ID NO: 91
L1013H1000	SEQ ID NO: 48 + SEQ ID NO: 92
L1014H1000	SEQ ID NO: 49 + SEQ ID NO: 92
L1015H1000	SEQ ID NO: 50 + SEQ ID NO: 92
L1016H1000	SEQ ID NO: 45 + SEQ ID NO: 92
L1017H1000	SEQ ID NO: 46 + SEQ ID NO: 92
L1018H1000	SEQ ID NO: 47 + SEQ ID NO: 92
L1019H1000	SEQ ID NO: 56 + SEQ ID NO: 92
L1020H1000	SEQ ID NO: 55 + SEQ ID NO: 92
L1020H1007	SEQ ID NO: 55 + SEQ ID NO: 62
L1020H1016	SEQ ID NO: 55 + SEQ ID NO: 68
L1020H1020	SEQ ID NO: 55 + SEQ ID NO: 72
L1020H1027	SEQ ID NO: 55 + SEQ ID NO: 82
L1020H1029	SEQ ID NO: 55 + SEQ ID NO: 85
L1020H1031	SEQ ID NO: 55 + SEQ ID NO: 91
L1021H1000	SEQ ID NO: 54 + SEQ ID NO: 92
L1021H1007	SEQ ID NO: 54 + SEQ ID NO: 62
L1021H1016	SEQ ID NO: 54 + SEQ ID NO: 68
L1021H1020	SEQ ID NO: 54 + SEQ ID NO: 72
L1021H1027	SEQ ID NO: 54 + SEQ ID NO: 82
L1021H1029	SEQ ID NO: 54 + SEQ ID NO: 85
L1021H1031	SEQ ID NO: 54 + SEQ ID NO: 91
L1022H1000	SEQ ID NO: 53 + SEQ ID NO: 92
L1023H1000	SEQ ID NO: 51 + SEQ ID NO: 92
L1024H1000	SEQ ID NO: 52 + SEQ ID NO: 92
L1024H1007	SEQ ID NO: 52 + SEQ ID NO: 62
L1024H1031	SEQ ID NO: 52 + SEQ ID NO: 91
L1001H1000	SEQ ID NO: 58 + SEQ ID NO: 92
L1000H1001	SEQ ID NO: 57 + SEQ ID NO: 93

Продовження таблиці 1

L1012H1001	SEQ ID NO: 44 + SEQ ID NO: 93
L1001H1031	SEQ ID NO: 58 + SEQ ID NO: 91
L1020H1001	SEQ ID NO: 55 + SEQ ID NO: 93
L1023H1001	SEQ ID NO: 51 + SEQ ID NO: 93
L1000H1000	SEQ ID NO: 57 + SEQ ID NO: 92
L1001H1001	SEQ ID NO: 58 + SEQ ID NO: 93

5 Приклад 1. Одержання антитіл за даним винаходом і визначення рівнів експресії за допомогою електрофорезу в SDS-PAGE-гелі в умовах, що не є відновлювальними

Послідовність, що кодує варіабельну ділянку легкого ланцюга антитіла, вставляли у вектор pFUSE2ss-CLlg-hK (Invivogen, номер за каталогом: pfuse2ss-hclK) із застосуванням сайтів рестрикції EcoRI і BsiWI з конструюванням вектора експресії легкого ланцюга. Послідовність, що кодує варіабельну ділянку важкого ланцюга антитіла, вставляли у вектор pFUSEss-CHlg-hG2 (Invivogen, номер за каталогом: pfusess-hchg2) або вектор pFUSEss-CHlg-hG4 (Invivogen, номер за каталогом: pfusess-hchg4) із застосуванням сайтів рестрикції EcoRI і NheI з конструюванням вектора експресії важкого ланцюга.

15 Культивування та трансфекцію клітин Expi293 проводили відповідно до інструкції набору системи експресії Expi293™ від Invitrogen (номер за каталогом: A14635). Щільність клітин доводили до 2×10^6 клітин/мл для трансфекції та на кожний мл культури клітин додавали 0,6 мкг вектора експресії легкого ланцюга, описаного вище, і 0,4 мкг вектора експресії важкого ланцюга, описаного вище, а надосадову рідину з культури збирали через чотири дні.

20 Культуральну надосадову рідину піддавали електрофорезу на SDS-PAGE-гелі в умовах, що не є відновлювальними, згідно з протоколом, описаним у додатку 8, третього видання "Molecular Cloning: A Laboratory Manual".

Зображення одержували за допомогою сканувальної системи для одержання зображень гелю від BEIJING JUNYI Electrophoresis Co., LTD і кількісну оцінку для визначення рівнів експресії антитіл після тимчасової трансфекції проводили в гелі із застосуванням програмного забезпечення Gel-PRO ANALYZER. Результати виражали відносно рівня експресії контрольного антитіла 1 (контрольне антитіло 1 конструювали відповідно до патенту US 7186809, яке містить варіабельну ділянку легкого ланцюга, викладену під SEQ ID NO: 10 із патенту US 7186809, і варіабельну ділянку важкого ланцюга, викладену під SEQ ID NO: 12 із патенту US 7186809, те саме нижче) (контрольне антитіло 2 конструювали відповідно до патенту US 7638606, яке містить варіабельну ділянку легкого ланцюга, викладену під SEQ ID NO: 6 із патенту US 7638606, і варіабельну ділянку, викладену під SEQ ID NO: 42 з патенту US 7638606, те саме нижче). Що стосується результатів, див. таблиці 2a-2c нижче.

Таблиця 2a

Рівні експресії антитіл за даним винаходом після тимчасової трансфекції (антитіл, рівні експресії яких значно вищі, ніж рівні експресії контрольного антитіла 1)

Номер антитіла	Рівень експресії порівняно з рівнем експресії контрольного антитіла 1	Номер антитіла	Рівень експресії порівняно з рівнем експресії контрольного антитіла 1
L1021H1000	2,08	L1000H1028	1,27
L1020H1000	1,58	L1000H1015	1,19
L1000H1027	1,56	L1000H1032	1,18
L1000H1024	1,51	L1000H1026	1,15
L1000H1025	1,48	L1021H1029	1,12
L1001H1000	1,48	L1000H1030	1,1
L1021H1016	1,43	L1024H1031	1,08
L1000H1014	1,35	L1000H1016	1,05

Таблиця 2b

Рівні експресії антитіл за даним винаходом після тимчасової трансфекції (антитіл, рівні експресії яких трохи нижчі, ніж рівень експресії контрольного антитіла 1)

Номер антитіла	Рівень експресії порівняно з рівнем експресії контрольного антитіла 1	Номер антитіла	Рівень експресії порівняно з рівнем експресії контрольного антитіла 1
L1000H1031	0,99	L1017H1000	0,85
L1021H1031	0,99	L1020H1016	0,84
L1020H1029	0,96	L1000H1009	0,81
Контрольне антитіло 2	0,93	L1000H1007	0,8
L1012H1000	0,89	L1000H1023	0,8
L1019H1000	0,87	L1020H1027	0,78
L1020H1031	0,87	L1024H1007	0,77
L1021H1020	0,87	L1000H1013	0,75
L1000H1029	0,86	L1020H1007	0,74
L1008H1000	0,86	L1021H1007	0,74
L1000H1001	0,85	L1000H1021	0,71

Таблиця 2с

Рівні експресії антитіл за даним винаходом після тимчасової трансфекції (антитіл, рівні експресії яких значно нижчі, ніж рівень експресії контрольного антитіла 1)

Номер антитіла	Рівень експресії порівняно з рівнем експресії контрольного антитіла 1	Номер антитіла	Рівень експресії порівняно з рівнем експресії контрольного антитіла 1
L1000H1020	0,69	L1024H1000	0,52
L1010H1000	0,69	L1000H1008	0,51
L1000H1022	0,67	L1000H1037	0,5
L1000H1012	0,64	L1007H1000	0,49
L1022H1000	0,64	L1016H1000	0,49
L1011H1000	0,63	L1000H1017	0,47
L1000H1011	0,62	L1000H1035	0,46
L1000H1033	0,62	L1012H1027	0,46
L1020H1020	0,61	L1018H1000	0,44
L1000H1036	0,6	L1023H1000	0,43
L1021H1027	0,6	L1012H1016	0,42
L1012H1007	0,59	L1013H1000	0,41
L1009H1000	0,57	L1000H1034	0,4
L1012H1020	0,57	L1000H1018	0,35
L1012H1031	0,56	L1000H1019	0,34
L1000H1038	0,54	L1015H1000	0,27
L1012H1029	0,54	L1014H1000	0,17
L1000H1010	0,53		

Приклад 2. Виявлення пригнічувального ефекту антитіл за даним винаходом щодо проліферації клітин TF-1 за допомогою hIL-4 або hIL-13

1. Одержання реагентів

Розчин hIL-4 (Invivogen, номер за каталогом: rhil-4): hIL-4 розчиняли в 100 мкл PBS, що містить 0,1 % BSA (Beyotime, номер за каталогом: ST023), з одержанням розчину з концентрацією 100 мкг/мл, а розчинений hIL-4 розподіляли в центрифужні пробірки об'ємом 1,5 мл (Nunc) в об'ємі 5 мкл на пробірку та потім пробірки зберігали в холодильнику за -20 °C.

Розчин WST-1 (Beyotime, номер за каталогом: C0036): електроноакцепторний засіб об'ємом 5 мл (C0036-2) додавали до порошку WST-1 (C0036-1) й одержували розчин WST-1, коли порошок WST-1 повністю розчинявся, потім його розподіляли в центрифужні пробірки об'ємом 1,5 мл (Nunc) в об'ємі 620 мкл на пробірку, а потім пробірки зберігали в холодильнику за -20 °C.

2. Культура клітин TF-1

Заморожені в рідкому азоті клітини TF-1 (ATCC:CRL-2003™) витягали, збовтували на водяній бані за 37 °C для швидкого розчинення. Розчинену суспензію клітин переносили в центрифужну пробірку об'ємом 15 мл, а потім у неї додавали середовище 1640 до 10 мл. Пробірку центрифугували за 800 об./хв. протягом 5 хв., надосадову рідину з неї видаляли та клітинні осад зберігали і промивали ще раз. 10 мл середовища 1640, що містить 10% FBS і 2

нг/мл GM-CSF (Sino Biological, номер за каталогом: 10015-H01H), додавали в пробірку й одержували щільність клітин, що становить 1×10^5 - 1×10^6 клітин/мл. Суспензію переносили в колбу для клітинної культури T75 (Nunc) і клітини статично культивували в інкубаторі (Thermo) за 37 °C, 5% CO₂. Кожні 2-3 дні суспензію клітин витягали, центрифугували за 800 об./хв. протягом 5 хв. і клітини ресуспендували в середовищі об'ємом 10 мл. Потім підраховували 1×10^6 клітин і переносили в нову колбу для клітинної культури T75, і в неї додавали середовище до об'єму 10 мл. Клітини безперервно пасивували 2-3 рази для досягнення гарного стану (клітини були яскравими та мали трохи неправильну форму під час суспендування окремо) для експерименту з блокування проліферації.

3. Одержання та очищення антитіл

а) Зразки культуральної надосадової рідини антитіл за даним винаходом:

клітини Expi293 трансфікували за допомогою плазмід, що несуть різні групи генів антитіл, і 200 мкл культуральної надосадової рідини витягали через 4 дні після трансфекції, а потім центрифугували за 800 об./хв. протягом 5 хв. Надосадову рідину фільтрували через фільтр із розміром пор 0,22 мкм і використовували для експерименту з блокування проліферації.

б) Зразки очищених антитіл за даним винаходом: для кожного антитіла за даним винаходом культуральну надосадову рідину клітин, які експресують антитіло, пропускали через фільтр із розміром пор 0,22 мкм і потім очищали за допомогою колонки для афінної хроматографії з білком A GE Mabselect Sure (номер за каталогом: 11003494) у системі очищення GE AKTA purifier 10. Очищене антитіло збирали та концентрували із застосуванням концентратора з ультрафільтрацією Amicon (номер за каталогом: UFC903096) і потім проводили кількісну оцінку. Антитіло розбавляли за допомогою PBS до концентрації від 0 до 1 мкг/мл для експерименту з блокування проліферації.

4. Експеримент із блокування проліферації

Вирощені до достатнього стану клітини в колбі для клітинної культури T75 витягали та переносили в центрифужну пробірку об'ємом 15 мл, яку потім центрифугували за 800 об./хв. протягом 5 хв. Надосадову рідину видаляли та клітинні осадки ресуспендували за допомогою 10 мл PBS, центрифугували за 800 об./хв. протягом 5 хв. Надосадову рідину видаляли та клітинні осадки ресуспендували в 10 мл середовища 1640 (без GM-CSF), що містить 10% FBS, центрифугували за 800 об./хв. протягом 5 хв. Надосадову рідину видаляли й клітинні осадки ресуспендували в 5 мл середовища 1640 (без GM-CSF), що містить 10% FBS. Клітини підраховували та щільність клітин доводили до 5×10^5 клітин/мл за допомогою додавання середовища. Суспензію клітин додавали в 96-лунковий планшет в об'ємі 80 мкл на лунку (лунки по зовнішньому колу залишали без клітин для запобігання випаровуванню). Для кожного антитіла за даним винаходом 10 мкл очищеного антитіла з різними концентраціями або 10 мкл відповідної культуральної надосадової рідини додавали до клітин у 96-лунковий планшет (у 3 лунки повторності). Потім hIL-4 розбавляли до 50 нг/мл за допомогою середовища 1640, що містить 10% FBS, і додавали у відповідні лунки в 96-лунковому планшеті в об'ємі 10 мкл на лунку так, щоб кінцева щільність клітин становила 4×10^5 клітин/мл, концентрація hIL-4 становила 5 нг/мл і об'єм у кожній лунці 96-лункового планшета становив 100 мкл. Вводили групу негативного контролю (у 3 лунках повторності), у якій не додавали hIL-4 або антитіло та додавали тільки таку саму кількість клітин і такий самий об'єм середовища для культивування. При цьому вводили групу позитивного контролю (у 3 лунках повторності) з додаванням hIL-4 у такий самий концентрації та такого самого об'єму середовища, і в даній групі не додавали антитіло. 200 мкл PBS додавали в кожну лунку по зовнішньому колу 96-лункового планшета для клітинної культури для запобігання випаровуванню рідини у внутрішньому колі. 96-лунковий планшет для клітинної культури поміщали в інкубатор із 5% CO₂ за 37 °C для статичного культивування.

Вищеописаний експеримент повторювали за допомогою такої самої процедури із застосуванням 500 нг/мл hIL-13 (його кінцева концентрація становила 50 нг/мл після додавання в клітини).

5. Статистична обробка даних

Після статичного культивування клітин у 96-лункових планшетах для клітинної культури протягом 72 годин в інкубаторі з 5 % CO₂ до клітин у кожну лунку додавали 10 мкл розчину WST-1. 96-лунковий планшет для клітинної культури поміщали в інкубатор із 5 % CO₂ за 37 °C для додаткового статичного культивування. Через 24 год. 96-лунковий планшет поміщали у Flexstation 3 (Molecular Devices) і зчитували значення OD450-OD650.

Для культуральних надосадових рідин антитіл за даним винаходом їхні значення OD450-OD650 (значення OD) і значення групи позитивного контролю та групи негативного контролю застосовували для розрахунків ступеня пригнічення наступним чином: ступінь пригнічення =

(значення OD надосадової рідини трансфікованих клітин – значення OD групи позитивного контролю) / (значення OD групи негативного контролю - значення OD групи позитивного контролю) × 100 %. Результати блокувального ефекту антитіл за даним винаходом щодо проліферації клітин TF-1 за допомогою hIL-4 або hIL-13 показано в таблицях 3a-3b нижче.

- 5 Для очищених антитіл за даним винаходом із різними концентраціями вимірювані дані щодо OD450-OD650 вводили в програмне забезпечення prism5, у якому значення групи негативного контролю було встановлено як найнижче, значення групи позитивного контролю було встановлено як найвище, і використовували логарифм концентрації антитіла. Криву логарифма концентрації антитіла та значення OD450-OD650 апроксимували за допомогою програмного
- 10 забезпечення prism5. Розраховані значення IC50 показані в таблиці 4 нижче.

Таблиця 3a

Результати скринінгу пригнічувальних ефектів антитіл
за даним винаходом щодо активності проліферації клітин TF-1
(антитіл зі збільшеними рівнями пригнічення порівняно з контрольним антитілом 1)

Номер антитіла	Ступінь пригнічення щодо пропроліферативного ефекту IL-4	Ступінь пригнічення щодо пропроліферативного ефекту IL-13
Контрольне антитіло 1	0,87	0,63
Контрольне антитіло 2	1	0,87
L1020H1029	1,03	0,93
L1000H1001	1,03	0,93
L1021H1027	1,02	0,94
L1020H1027	1,02	0,92
L1021H1029	1,02	0,92
L1020H1016	1,01	0,97
L1024H1031	1,01	0,94
L1021H1031	1,01	0,93
L1020H1031	1,01	0,93
L1000H1029	1,01	0,92
L1000H1027	1,01	0,86
L1021H1016	1	0,94
L1021H1007	1	0,86
L1000H1028	1	0,84
L1000H1014	0,99	0,78
L1001H1000	0,98	0,85
L1000H1024	0,98	0,75
L1000H1031	0,97	0,83
L1000H1007	0,96	0,82
L1000H1023	0,96	0,8
L1000H1032	0,96	0,74
L1020H1007	0,95	0,9
L1021H1000	0,95	0,78
L1000H1016	0,95	0,76

Продовження таблиці 3а

L1012H1029	0,94	0,95
L1012H1007	0,93	0,88
L1021H1020	0,91	0,75
L1020H1000	0,91	0,7
L1000H1025	0,91	0,69
L1012H1020	0,9	0,78
L1000H1020	0,88	0,76
L1000H1012	0,88	0,58
L1020H1020	0,87	0,76

Таблиця 3б

Результати скринінгу пригнічувальних ефектів антитіл за даним винаходом щодо активності проліферації клітин TF-1 (антитіл із такими самими або зниженими рівнями пригнічення порівняно з контрольним антитілом 1)

Номер антитіла	Ступінь пригнічення щодо пропроліферативного ефекту IL-4	Ступінь пригнічення щодо пропроліферативного ефекту IL-13
L1000H1022	0,87	0,62
L1000H1017	0,87	0,59
L1000H1030	0,87	0,47
L1024H1007	0,86	0,7
L1000H1013	0,86	0,55
L1012H1031	0,85	0,7
L1000H1015	0,85	0,63
L1000H1026	0,85	0,53
L1000H1018	0,84	0,65
L1000H1009	0,83	0,54
L1012H1000	0,78	0,5
L1012H1016	0,78	0,48
L1000H1021	0,73	0,56
L1019H1000	0,72	0,49
L1008H1000	0,67	0,27
L1009H1000	0,66	0,35
L1000H1008	0,66	0,19
L1012H1027	0,65	0,63
L1000H1011	0,61	0,26
L1000H1010	0,54	0,1
L1000H1019	0,52	0,29

Продовження таблиці 3b

L1007H1000	0,49	0,15
L1024H1000	0,44	0,39
L1011H1000	0,44	0,13
L1017H1000	0,44	0,02
L1018H1000	0,42	-0,12
L1010H1000	0,38	0,06
L1000H1036	0,27	0,18
L1023H1000	0,26	0,07
L1000H1033	0,23	0,14
L1015H1000	0,16	0,09
L1000H1034	0,15	0,1
L1016H1000	0,1	-0,36
L1013H1000	0,01	-0,21
L1022H1000	-0,05	0,02
L1000H1038	-0,05	-0,15
L1014H1000	-0,05	-0,29
L1000H1037	-0,06	-0,13
L1000H1035	-0,12	-0,13

Таблиця 4

Дані щодо активності очищених антитіл (600-900 мл) після тимчасової трансфекції

	IC ₅₀ (нг/мл) (пригнічення проліферації IL-4)	IC ₅₀ (нг/мл) (пригнічення проліферації IL-13)
Контрольне антитіло 1	184,03±61,95	345,1±73,9
Контрольне антитіло 2	27,79±3,22	52,06±14,97
L1021H1016	28,46±7,82	69,67±28,38
L1021H1020	15,36±2,46	28,64±10,46
L1021H1031	34,27±12,17	76,51±31,94
L1020H1016	24,19±6,91	44,62±14,79
L1020H1020	23,63±8,73	53,73±17,34
L1020H1031	25,6±7,46	60,17±19,02
L1012H1016	32,44±7,45	75,33±43,63
L1012H1020	21,09±4,72	56,65±23,34
L1012H1031	39,26±15,61	76,87±40,97

5 Приклад 3. Виявлення показників здатності антитіл за даним винаходом до зв'язування із sIL-4Rα із застосуванням ELISA

1. Одержання реагентів

Розчин sIL-4Rα (PEPRO TECH, номер за каталогом: 200-04R): брали sIL-4Rα і до нього додавали 1 мл ddH₂O, розмішували шляхом перевертання, а потім одержували розчин із концентрацією 100 мкг/мл. Розчин зберігали в холодильнику за -20 °C після поділу на порції.

10

Зразок для тестування: для кожного антитіла за даним винаходом 10 мкл і 2 мкл надосадової рідини культури клітин Expi293, що експресують антитіло після тимчасової трансфекції (середовище являло собою середовище експресії Expi293, Invitrogen, номер за каталогом: A1435102; суспендування клітинної культури проводили протягом 4 днів за 100 об./хв. в інкубаторі з 8 % CO₂), відповідно додавали до 990 мкл і 998 мкл PBS з одержанням зразків антитіл для тестування за розведень 1:100 і 1:500.

Контрольний зразок: як зразки негативного контролю культуральну надосадову рідину нормальних клітин (нетрансфіковані клітини Expi293; середовище являло собою середовище експресії Expi293, Invitrogen, номер за каталогом: A1435102; суспендування клітинної культури проводили протягом 4 днів за 100 об./хв. в інкубаторі з 8% CO₂) також розбавляли за 1:100 і 1:500.

2. Виявлення із застосуванням ELISA

100 мкл розчину sIL-4R α з концентрацією 100 мкг/мл додавали до 9,90 мл PBS, розмішували шляхом перевертання, а потім одержували буфер для іммобілізації антигенів із концентрацією 1,0 мкг/мл. Одержаний буфер для іммобілізації антигенів додавали в 96-лунковий планшет ELISA (Corning) в об'ємі 100 мкл на лунку. 96-лунковий планшет ELISA інкубували протягом ночі в холодильнику за 4 °C. Наступного дня розчин із нього видаляли та PBS, що містить 2 % BSA, додавали в 96-лунковий планшет ELISA ряд за рядом в об'ємі 300 мкл на лунку. 96-лунковий планшет ELISA інкубували протягом 2 годин у холодильнику за 4 °C. Потім PBS, що містить 2 % BSA, видаляли та планшет промивали 3 рази за допомогою PBST. Розведені антитіла для тестування послідовно додавали у відповідні лунки, при цьому також додавали нормальні культуральні надосадові рідини як зразки негативного контролю. Для кожного зразка застосовували три дубльовані лунки в об'ємі 100 мкл кожна. Планшет ELISA загортали в захисну плівку (або покривали) й інкубували протягом 1 год. за 10 °C в інкубаторі з постійною температурою. Потім 96-лунковий планшет ELISA витягали та розчин із нього видаляли. Після промивання за допомогою PBST 3 рази додавали розчин TMB (Solarbio, номер за каталогом: PR1200) до 96-лункового планшета ELISA ряд за рядом в об'ємі 100 мкл на лунку. 96-лунковий планшет ELISA витримували за кімнатної температури протягом 5 хвилин і відразу ж додавали 2 М розчин H₂SO₄ для припинення реакції. 96-лунковий планшет ELISA поміщали у Flexstation 3 (Molecular Devices), зчитували значення OD450 і збирали, розраховували й аналізували дані. Результати виражали відносно афінності контрольного антитіла 1. Що стосується результатів, див. таблиці 5a-5c нижче.

Таблиця 5a

Значення афінності антитіл за даним винаходом до sIL-4R α (антитіл, значення афінності яких значно більші, ніж значення афінності контрольного антитіла 1)

Номер антитіла	OD 450 / OD450 _{Контрольне антитіло 1}
Контрольне антитіло 1	1
L1021H1000	2,42
L1020H1000	2,27
L1019H1000	1,79
L1001H1000	1,56
L1012H1000	1,22
L1000H1031	1,14
L1020H1031	1,12
L1000H1014	1,06
L1020H1029	1,01

Таблиця 5b

Значення афінності антитіл за даним винаходом до sIL-4R α (антитіл, значення афінності яких такі самі або трохи нижчі, ніж значення афінності контрольного антитіла 1)

Номер антитіла	OD 450 / OD450 _{Контрольне антитіло 1}
L1010H1000	1
L1021H1029	1
L1011H1000	0,9
L1008H1000	0,9
L1021H1031	0,9
L1024H1031	0,9
L1007H1000	0,8
L1020H1016	0,8
L1000H1029	0,8
L1000H1001	0,7

Таблиця 5c

Значення афінності антитіл за даним винаходом до sIL-4R α (антитіл, значення афінності яких значно нижчі, ніж значення афінності контрольного антитіла 1)

Номер антитіла	OD 450 / OD450 _{Контрольне антитіло 1}
L1024H1000	0,69
L1015H1000	0,67
L1000H1015	0,65
L1009H1000	0,64
L1021H1016	0,63
L1000H1023	0,63
L1000H1016	0,61
L1000H1009	0,56
L1000H1032	0,53
L1017H1000	0,49
L1021H1007	0,44
L1000H1027	0,44
L1020H1007	0,40
L1020H1027	0,40
L1012H1007	0,40
L1000H1013	0,38
L1000H1007	0,37
L1000H1021	0,35
L1000H1028	0,33
L1021H1027	0,29
L1016H1000	0,27
L1020H1020	0,26

Продовження таблиці 5с

L1000H1024	0,26
L1021H1020	0,24
L1013H1000	0,24
L1024H1007	0,23
L1000H1020	0,23
L1000H1035	0,22
L1000H1008	0,21
L1000H1025	0,21
L1000H1030	0,20
L1000H1012	0,18
L1000H1022	0,18
L1022H1000	0,16
L1012H1031	0,16
L1000H1017	0,13
L1000H1010	0,11
L1000H1026	0,11
L1012H1020	0,11
L1012H1029	0,11
L1000H1036	0,10
L1000H1018	0,09
L1000H1034	0,09
L1000H1011	0,09
L1000H1033	0,08
L1012H1016	0,08
L1018H1000	0,06
L1023H1000	0,05
L1000H1038	0,04
L1000H1019	0,02
L1012H1027	0,02
L1014H1000	0,01
L1000H1037	-0,01

Приклад 4. Фармакокінетика антитіл за даним винаходом у миші

Серії фармакокінетичних експериментів здійснювали на мишах для додаткового скринінгу антитіл.

Відбирали мишей SPF Balb/c віком 6-8 тижнів і здійснювали підшкірну ін'єкцію антитіл (антитіл за даним винаходом або контрольного антитіла 2) у дозі 5 мг/кг (маси миші). Зразки крові збирали в моменти часу перед введенням (0 год.) і через 2, 8, 24, 48, 72, 120, 168, 216, 264, 336 год. після введення. Для забору крові тварин анестезували за допомогою інгаляції ізофлурану, зразки крові брали з очноямкового венозного сплетення, і об'єм зразка від кожної тварини становив приблизно 0,1 мл; через 336 год. після введення тварин анестезували за допомогою інгаляції ізофлурану та потім умертвляли після забору крові з нижньої порожнистої вени.

До зразків крові не додавали антикоагулянту, а сироватку виділяли з кожного зразка за допомогою центрифугування за 1500 g протягом 10 хв. за кімнатної температури протягом 2 год. після забору крові. Зібрані надосадкові рідини відразу ж переносили в нові позначені центрифужні пробірки та потім забезпечували тимчасове зберігання за -70 °C. Концентрації антитіл у мишей визначали за допомогою ELISA.

1. Одержання реагентів

Розчин sIL-4R α (PEPRO TECH, номер за каталогом: 200-04R): брали sIL-4R α і до нього додавали 1 мл ddH₂O, розмішували шляхом перевертання та потім одержували розчин із концентрацією 100 мкг/мл. Розчин зберігали в холодильнику за -20 °C після поділу на порції.

Зразок для тестування: 1 мкл сироватки, зібраної в різні моменти часу, додавали до 999 мкл PBS, що містить 1 % BSA, з одержанням зразка сироватки для тестування в розведенні 1:1000.

Стандартний зразок: антитіло для тестування розбавляли до концентрації 0,1 мкг/мл за допомогою PBS, що містить 1 % BSA і 0,1 % нормальної сироватки тварини (Beyotime, номер за каталогом: ST023). Після цього 200, 400, 600, 800, 900, 950, 990 і 1000 мкл PBS, що містить 1 % BSA і 0,1 % нормальної сироватки тварини, відповідно додавали до 800, 600, 400, 200, 100, 50, 10 і 0 мкл антитілу для тестування з концентрацією 0,1 мкг/мл, і таким чином одержували стандартні зразки антитілу за даним винаходом із кінцевою концентрацією 80, 60, 40, 20, 10, 5, 1 або 0 нг/мл відповідно.

2. Виявлення із застосуванням ELISA

250 мкл розчину sIL-4R α з концентрацією 100 мкг/мл додавали до 9,75 мл PBS, розмішували шляхом перевертання, а потім одержували буфер для іммобілізації антигенів із концентрацією 2,5 мкг/мл. Одержаний буфер для іммобілізації антигенів додавали в 96-лунковий планшет ELISA (Corning) в об'ємі 100 мкл на лунку. 96-лунковий планшет ELISA інкубували протягом ночі в холодильнику за 4 °C після загортання в захисну плівку (або покриття). Наступного дня 96-лунковий планшет ELISA витягали та розчин із нього видаляли і до нього додавали PBS, що містить 2 % BSA, в об'ємі 300 мкл на лунку. 96-лунковий планшет ELISA інкубували протягом 2 годин у холодильнику за 4 °C після загортання в захисну плівку (або покриття). Потім 96-лунковий планшет ELISA витягали та розчин із нього видаляли, а планшет промивали 3 рази за допомогою PBST. Розведені стандартні антитіла та сироватку для виявлення послідовно додавали у відповідні лунки та для кожного зразка робили три дубльовані лунки в об'ємі 100 мкл кожна. Планшет ELISA загортали в захисну плівку (або покривали) й інкубували протягом 1 год. за кімнатної температури. Потім розчин із 96-лункового планшета ELISA видаляли та планшет промивали за допомогою PBST 3 рази. Далі розчин TMB (Solarbio, номер за каталогом: PR1200) додавали до 96-лункового планшета ELISA ряд за рядом в об'ємі 100 мкл на лунку. 96-лунковий планшет ELISA витримували за кімнатної температури протягом 5 хвилин і відразу ж додавали 2 М розчин H₂SO₄ для припинення реакції. 96-лунковий планшет ELISA потім поміщали у Flexstation 3 (Molecular Devices), зчитували значення OD450, збирали дані та результати розраховували за допомогою програмного забезпечення Winnonlin. Результати фармакокінетичних досліджень показані на фігурі 1 та в таблиці 6 нижче.

Таблиця 6

Результати фармакокінетичних досліджень антитіл за даним винаходом у миші

Номер		Час напівжиття год.	Час досягнення максимальної концентрації год.	Максимальна концентрація мкг/мл	Площа під кривою лікарський препарат-час год.*мкг/мл	Об'єм розподілу мл/кг	Швидкість виведення мл/год. /кг
L1020H1031	Середнє значення	269,34	72	33,79	7679,28	138,92	0,38
	Стандартне відхилення	105,73	0,00	0,42	163,91	22,48	0,09

Продовження таблиці 6

L1012H1031	Середнє значення	167,27	48	45,5	9852,3	91,3	0,38
	Стандартне відхилення	8,52	0,00	1,86	448,34	5,58	0,00
Контрольне антитіло 2	Середнє значення	56,67	36	7,88	1132,68	288,92	3,79
	Стандартне відхилення	25,84	16,97	0,25	94,42	49,45	1,12

Приклад 5. Фармакокінетика антитіл за даним винаходом у макаки-крабоїда

Серії фармакокінетичних експериментів здійснювали на макаках-крабоїдах для додаткового скринінгу антитіл.

Відбирали макак-крабоїдів віком 3-5 років вагою 2-5 кг кожна і здійснювали підшкірну ін'єкцію антитіл (антитіл за даним винаходом або контрольного антитіла 2) у дозі 5 мг/кг (вага макаки-крабоїда). Антитіло або контрольне антитіло 2 для введення ретельно витягали за допомогою одноразового знезараженого шприца та здійснювали багатоточкові ін'єкції підшкірно на внутрішній стороні стегна тварини, і введений об'єм на кожну точку становив не більш ніж 2 мл. Зразки цільної крові збирали з підшкірної вени задньої кінцівки тварини в моменти часу перед введенням (0 год.) і через 0,5, 2, 4, 8, 24, 48, 72, 120, 168, 240, 336 год., 432 год., 504 год., 600 год., 672 год. після введення. Об'єм крові, зібраної від кожної тварини, становив приблизно 0,1 мл щоразу.

До зразків крові не додавали антикоагулянту, а сироватку виділяли з кожного зразка за допомогою центрифугування за 1500 g протягом 10 хв. за кімнатної температури протягом 2 год. після забору крові. Зібрані надосадові рідини відразу ж переносили в нові позначені центрифужні пробірки та потім забезпечували тимчасове зберігання за -70 °C. Концентрацію антитіл у макак-крабоїдів визначали згідно зі способом, описаним у прикладі 4. Результати фармакокінетичних досліджень показані на фігурі 2 і в таблиці 7 нижче.

Таблиця 7

Результати фармакокінетичних досліджень антитіл за даним винаходом у макаки-крабоїда

Номер		Час напівжиття год.	Час досягнення максимальної концентрації год.	Максимальна концентрація мкг/мл	Площа під кривою лікарський препарат-час год.*мкг/мл	Об'єм розподілу мл/кг	Швидкість виведення мл/год./кг
L1020H1031	Середнє значення	254,95	48,00	89,65	22189,91	75,94	0,22
	Стандартне відхилення	44,57	33,94	44,29	8557,15	22,95	0,10
L1012H1031	Середнє значення	185,75	48	65	16185,73	73,41	0,28
	Стандартне відхилення	42,54	33,94	4,5	2506,98	0,81	0,06
Контрольне антитіло 2	Середнє значення	37,03	16	37,82	2773,21	93,97	1,78
	Стандартне відхилення	18,03	11,31	6,75	155,84	42,47	0,07

Приклад 6. Виявлення зв'язування антитіл за даним винаходом із клітинами TF-1 із застосуванням FACS

1. Клітинна культура

Клітини TF-1 (ATCC: CRL-2003™), заморожені в рідкому азоті, витягали, обережно збовтували на водяній бані за 37 °C для швидкого розчинення. Розчинену суспензію клітин переносили в центрифужну пробірку об'ємом 15 мл, а потім у неї додавали середовище 1640 (Hyclone, номер за каталогом: SH30809.01B) до 10 мл. Пробірку центрифугували за 800 об./хв. протягом 5 хв., надосадову рідину з неї видаляли та клітинні осадки зберігали і промивали ще раз. Щільність клітин доводили до 1×10^5 - 1×10^6 клітин/мл за допомогою середовища 1640, що містить 10 % FBS (Hyclone, номер за каталогом: SV30184.02) і 2 нг/мл GM-CSF (Sino Biological, номер за каталогом: 10015-H01H). Суспензію переносили в колбу для клітинної культури T75 (Nunc) і клітини статично культивували в інкубаторі (Thermo) за 37 °C, 5 % CO₂. Кожні 2-3 дні суспензію клітин витягали, центрифугували за 800 об./хв. протягом 5 хв. і клітини ресуспендували в середовищі об'ємом 10 мл. Потім підраховували 1×10^6 клітин і переносили в нову колбу для клітинної культури T75, і в неї додавали середовище до об'єму 10 мл. Клітини безперервно пасивували 2-3 рази для досягнення гарного стану (клітини були яскравими та мали трохи неправильну форму під час суспендування окремо) для експерименту.

2. Обробка клітин

Брали клітини Tf-1 та підраховували їх під мікроскопом. Клітини ділили на три групи та поміщали в три центрифужні пробірки об'ємом 1,5 мл відповідно. Число клітин для кожної групи становило 1×10^6 . Клітини центрифугували за 800 об./хв. протягом 5 хв. а потім ресуспендували в 1 мл холодного PBS, що містить 1 % BSA, для повторного промивання. Потім клітини центрифугували за 800 об./хв. протягом 5 хв. і додавали 45 мкл холодного PBS, що містить 1 % BSA, у кожен центрифужну пробірку для ресуспендування клітин, а потім 5 мкл (500 мкг/мл) антитіла L1021H1031, L1020H1031 або L1012H1031 за даним винаходом додавали в першу центрифужну пробірку, а 5 мкл PBS додавали в другу центрифужну пробірку як негативний контроль. Клітини залишали на льоду протягом 45 хв. і потім центрифугували за 800 об./хв. протягом 5 хв. Після цього клітини ресуспендували в 1 мл холодного PBS, що містить 1 % BSA, для повторного промивання і центрифугували за 800 об./хв. протягом 5 хв. 499 мкл холодного PBS, що містить 1 % BSA, додавали в кожен центрифужну пробірку для ресуспендування клітин і потім у неї додавали 1 мкл FITC-міченого антитіла кози до IgG людини (H+L) (Beyotime, номер за каталогом: A0556). Після перебування на льоду протягом 45 хв. клітини центрифугували за 800 об./хв. протягом 5 хв. і ресуспендували в 1 мл холодного PBS, що містить 1 % BSA, для повторного промивання. Таким чином одержували клітини, що підлягають виявленню.

3. Виявлення за допомогою FACS

Прилад FACS і його операційна система працювали відповідно до правильного протоколу. Після установки правильних параметрів клітини додавали в трубку для детектування для виявлення сигналу флуоресценції каналу FL1. Результати аналізували за допомогою програмного забезпечення FlowJo 7.6, і вони показані на фігурі 3, панелі 3A-3C. Можна побачити, що антитіла за даним винаходом здатні специфічно зв'язувати клітини TF-1, які експресують IL-4Rα.

Приклад 7. Виявлення блокувального ефекту розчинного hIL-4 Rα (sIL-4Rα) щодо зв'язування антитіл із клітинами TF-1 за допомогою FACS

1. Одержання реагентів

Розчин hIL-4 (Invivogen, номер за каталогом: rhil-4) одержували, як описано в прикладі 2.

2. Клітинна культура

Клітини TF-1 (ATCC: CRL-2003™) культивували, як описано в прикладі 6.

3. Змішування sIL-4Rα з антитілами за даним винаходом

10 мкл (100 мкг/мл) sIL-4Rα і 5 мкл (500 мкг/мл) антитіла L1021H1031, L1020H1031 або L1012H1031 за даним винаходом змішували до однорідності в центрифужній пробірці об'ємом 1,5 мл за молярного співвідношення 2:1. Суміш 10 мкл PBS і 5 мкл антитіла L1021H1031, L1020H1031 або L1012H1031 за даним винаходом слугувала як позитивний контроль, і 15 мкл PBS слугувала як негативний контроль. Центрифужні пробірки поміщали в інкубатор за 37 °C протягом 1 год.

4. Обробка клітин

Брали клітини TF-1 і потім підраховували їх під мікроскопом. Клітини ділили на чотири групи та поміщали в чотири центрифужні пробірки об'ємом 1,5 мл відповідно. Число клітин для кожної групи становило 1×10^6 . Клітини центрифугували за 800 об./хв. протягом 5 хв. а потім ресуспендували в 1 мл холодного PBS, що містить 1 % BSA, для повторного промивання. Потім клітини центрифугували за 800 об./хв. протягом 5 хв. і додавали 35 мкл холодного PBS, що містить 1 % BSA, у кожен центрифужну пробірку для ресуспендування клітин, а потім 15 мкл кожної з різних сумішей антитіл і контролю, одержаних на стадії 3, додавали в пробірки

відповідно. Після перебування на льоду протягом 45 хв. клітини центрифугували за 800 об./хв. протягом 5 хв. і ресуспендували в 1 мл холодного PBS, що містить 1 % BSA, для повторного промивання та центрифугували за 800 об./хв. протягом 5 хв. 499 мкл холодного PBS, що містить 1 % BSA, додавали в кожну центрифужну пробірку для ресуспендування клітин, а потім у неї додавали 1 мкл FITC-міченого антитіла кози до IgG людини (H+L) (Beyotime, номер за каталогом: A0556). Після перебування на льоду протягом 45 хв. клітини центрифугували за 800 об./хв. протягом 5 хв. і ресуспендували в 1 мл холодного PBS, що містить 1 % BSA, для повторного промивання. Таким чином одержували клітини, що підлягають виявленню.

5. Виявлення за допомогою FACS

Прилад FACS і його операційна система працювали відповідно до правильного протоколу. Після установки правильних параметрів клітини додавали в трубку для детектування для виявлення сигналу флуоресценції каналу FL1. Результати аналізували за допомогою програмного забезпечення FlowJo 7.6, і вони показані на фігурі 4, панелі 4A-4D. Можна побачити, що sIL-4Rα може специфічно й ефективно блокувати специфічне зв'язування антитіл за даним винаходом із клітинами TF-1.

Приклад 8. Визначення афінності антитіла за допомогою Bcore

Антитіло до Fc (AHC) людини (GE Healthcare) зв'язували із чипом CM5, а потім антитіло за даним винаходом захоплювали за допомогою АНС. Потім sIL-4Rα людини за різних концентрацій пропускали по поверхні чипа, на якій захоплювалося антитіло за даним винаходом. Для захоплення і зв'язування антитіла за даним винаходом розбавляли до 2 мкг/мл і антиген sIL-4Rα розбавляли до 0,39, 0,78, 1,56, 3,13, 6,25, 12,5, 25,0, 50,0 і 100,0 нМ. Потім експериментальний спосіб встановлювали в програмі керування Bcore T200, після чого експериментальна програма працювала для виявлення. Результати показані в таблиці 8 нижче.

Таблиця 8

Результати виявлення афінності антитіла

Номер	Ka ($\times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$)	Kd ($\times 10^{-5} \text{ c}^{-1}$)	KD (10^{-10} M)
Контрольне антитіло 1	7,63	52,3	6,85
Контрольне антитіло 2	3,85	1,73	0,448
L1020H1031	4,61	4,79	1,04
L1012H1031	5,18	9,49	1,83

Приклад 9. Дослідження пригнічувального ефекту антитіл за даним винаходом щодо вивільнення TARC і MDC із застосуванням ELISA

10 мл свіжої крові (від донора) з додаванням гепарину для запобігання згортанню крові змішували з PBS за кімнатної температури в співвідношенні 1:1 і потім суміш обережно додавали до 20 мл розчину для відокремлення лімфоцитів людини (Solarbio, номер за каталогом: P8610), приготовленого заздалегідь. Після центрифугування за 1500 об./хв. протягом 30 хв. за кімнатної температури шар PBMC обережно видаляли і двічі промивали за допомогою PBS. Клітини остаточно розбавляли за допомогою середовища 1640, що містить 10 % FBS і 200 МОД/мл IL-2 і потім додавали в 24-лунковий планшет у кількості 1×10^6 клітин на лунку. Після цього антитіло L1020H1031 з кінцевою концентрацією 1000, 300, 100, 30 або 10 нг/мл додавали в кожну лунку з наступним додаванням у них IL-4 з кінцевою концентрацією 10 нг/мл (або IL-13 з кінцевою концентрацією 100 нг/мл). Виявлення здійснювали відповідно до способу, представленого в наборі Human TARC ELISA (Abcam, номер за каталогом: ab183366) або наборі Human MDC ELISA (Abcam, номер за каталогом: ab179885), через 72 годин культивування.

Результати показані на фігурі 5, панелі 5A-5B, і згідно з ними антитіла за даним винаходом можуть ефективно пригнічувати вивільнення TARC і MDC, та пригнічувальний ефект щодо вивільнення збільшується зі збільшенням концентрації антитіла.

Приклад 10. Ефект конкретних амінокислот на фармакокінетику та рівні експресії антитіл за даним винаходом

Фармакокінетичні властивості in vivo антитіл за даним винаходом додатково визначали та порівнювали в даному прикладі, щоб досліджувати можливі ефекти конкретних амінокислот у конкретних положеннях на фармакокінетичні властивості антитіл у тваринах. Конкретний експериментальний спосіб був аналогічний описаному в прикладі 4, і результати показані в таблиці 9 нижче.

Таблиця 9

Результати визначення фармакокінетичних властивостей in vivo антитіл за даним винаходом

		Час напівжиття год.	Час досягнення максимальної концентрації год.	Макси- мальна концентра- ція мкг/мл	Площа під кривою лікарський препарат- час год.*мкг/мл	Об'єм розпо- ділу мл/кг	Швидкість виведення мл/год./кг
L1020H1031	Середнє значення	185,49	40	38,94	8188,8	114,28	0,43
	Стандартне відхилення	18,52	13,86	2,33	510,47	6,5	0,05
L1012H1001	Середнє значення	161,26	48,00	12,36	2491,19	332,79	1,47
	Стандартне відхилення	54,30	0,00	2,26	165,16	76,91	0,20
L1001H1031	Середнє значення	171,41	56,00	42,74	9273,73	99,17	0,40
	Стандартне відхилення	6,12	13,86	7,38	1868,66	18,69	0,07
L1020H1001	Середнє значення	89,00	64,00	20,11	3481,40	164,14	1,30
	Стандартне відхилення	16,70	13,86	2,14	268,39	22,86	0,20

Що стосується конкретної послідовності, амінокислота в положенні 103 у послідовності важкого ланцюга H1031 (SEQ ID NO. 91) антитіла (в CDR3) являє собою Asp (103Asp), і амінокислота в положенні 104 являє собою Tyr (104Tyr). Порівняно з антитілами, які не містять 103Asp і 104Tyr у важкому ланцюзі, антитіла за даним винаходом, які містять 103Asp і 104Tyr, характеризуються в 2-4 рази більшою площею під кривою лікарський препарат-час і зниженою на приблизно 70 % швидкістю виведення.

Рівні експресії антитіл за даним винаходом також визначали та порівнювали для дослідження можливих ефектів конкретних амінокислот у конкретних положеннях на експресію антитіл. Культивування та трансфекцію клітин Expi293 здійснювали відповідно до прикладу 1, а зібрану культуральну надосадову рідину потім пропускали через фільтр із розміром пор 0,22 мкм і потім очищали за допомогою колонки для афінної хроматографії з білком A GE Mabselect Sure (номер за каталогом: 11003494) у системі очищення GE AKTA purifier 10. Очищене антитіло збирали та концентрували із застосуванням трубки для концентрування з ультрафільтрацією Amicon (номер за каталогом: UFC903096) і потім проводили кількісну оцінку. Результати кількісної оцінки показані в таблиці 10 нижче.

Таблица 10

Результати визначення рівнів експресії антитіл за даним винаходом

Антитіло	Рівень експресії ($\times 10^{-2}$ мг/мл середовища для культивування)
L1020H1031	8,39
L1001H1031	1,79
L1020H1001	4,04
L1012H1001	5,00
L1023H1001	4,63
L1001H1001	1,75

5 Що стосується конкретної послідовності, амінокислота в положенні 31 у послідовності легкого ланцюга L1012 (SEQ ID NO. 44), L1020 (SEQ ID NO. 55) або L1023 (SEQ ID NO. 51) антитіла (в CDR1) являє собою Ser (31Ser). Порівняно з антитілами, які не містять 31Ser у легкому ланцюзі, антитіла за даним винаходом, які містять 31Ser, характеризуються в 2-5 разів більшим рівнем експресії.

10 Вищевикладений опис варіантів здійснення даного винаходу не призначений для обмеження даного винаходу, і фахівці в даній галузі можуть здійснювати різні зміни та варіації згідно з даним винаходом, які знаходяться у межах обсягу правової охорони даного винаходу без відступу від його сутності й обсягу.

Перелік послідовностей

- 15 <110> СУЧЖОУ КОННЕКТ БІОФАРМАСЬЮТІКАЛС, ЛТД
- <120> АНТИТІЛО ДЛЯ ЗВ'ЯЗУВАННЯ З РЕЦЕПТОРОМ ІНТЕРЛЕЙКІНУ 4
- <130> LC16210014P
- <150> CN2016103992544
- <151> 2016-06-08
- 20 <160> 94
- <170> PatentIn версія 3.3
- <210> 1
- <211> 12
- <212> БІЛОК
- 25 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> LCDR1-1

<400> 1

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Ser Tyr Leu Ala

5 1 5 10

<210> 2

<211> 12

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

10 <220>

<223> LCDR1-2

<400> 2

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

15 <210> 3

<211> 7

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

20 <223> LCDR2-1

<400> 3

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr

1 5

<210> 4

<211> 7

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

5 <223> LCDR2-2

<400> 4

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Pro

1 5

<210> 5

10 <211> 10

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> LCDR3-1

15 <400> 5

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Pro Trp Thr

1 5 10

<210> 6

<211> 10

20 <212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> LCDR3-2

<400> 6

Gln Gln Tyr Asp His Ser Pro Pro Trp Thr

1 5 10

<210> 7

<211> 10

5 <212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> LCDR3-3

<400> 7

10 Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Ala Gly Trp Thr

1 5 10

<210> 8

<211> 10

<212> БІЛОК

15 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> LCDR3-4

<400> 8

Gln Gln Tyr Asp His Ser Ala Gly Trp Thr

20 1 5 10

<210> 9

<211> 23

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> LFR1-1

<400> 9

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

5 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys

20

<210> 10

<211> 15

10 <212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> LFR2-1

<400> 10

15 Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Phe

1 5 10 15

<210> 11

<211> 15

<212> БІЛОК

20 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> LFR2-2

<400> 11

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr

1 5 10 15

<210> 12

<211> 32

<212> БІЛОК

5 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> LFR3-1

<400> 12

Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr

10 1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys

20 25 30

<210> 13

<211> 10

15 <212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> LFR4-1

<400> 13

20 Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 14

<211> 5

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> HCDR1-1

<400> 14

5 Arg Asn Ala Met Phe

1 5

<210> 15

<211> 5

<212> БІЛОК

10 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> HCDR1-2

<400> 15

Arg Asn Ala Met His

15 1 5

<210> 16

<211> 5

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

20 <220>

<223> HCDR1-3

<400> 16

Asp Tyr Ala Met Phe

1 5

<210> 17

<211> 17

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

5 <220>

<223> HCDR2-1

<400> 17

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

1 5 10 15

10 Arg

<210> 18

<211> 17

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

15 <220>

<223> HCDR2-2

<400> 18

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

1 5 10 15

20 Arg

<210> 19

<211> 7

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> HCDR3-1

<400> 19

Gly Arg Tyr Tyr Phe Asp Tyr

5 1 5

<210> 20

<211> 7

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

10 <220>

<223> HCDR3-2

<400> 20

Gly Arg Tyr Tyr Phe Pro Trp

1 5

15 <210> 21

<211> 30

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

20 <223> HFR1-1

<400> 21

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser

20

25

30

<210> 22

<211> 30

<212> БІЛОК

5 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> HFR1-2

<400> 22

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

10 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser

20

25

30

<210> 23

<211> 30

15 <212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> HFR1-3

<400> 23

20 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser

20

25

30

<210> 24

<211> 30

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

5 <223> HFR1-4

<400> 24

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser

10 20 25 30

<210> 25

<211> 30

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

15 <220>

<223> HFR1-5

<400> 25

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

20 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser

20 25 30

<210> 26

<211> 30

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> HFR1-6

<400> 26

5 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser

20 25 30

<210> 27

10 <211> 30

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> HFR1-7

15 <400> 27

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser

20 25 30

20 <210> 28

<211> 30

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> HFR1-8

<400> 28

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

5 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser

20 25 30

<210> 29

<211> 30

<212> БІЛОК

10 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> HFR1-9

<400> 29

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Arg

15 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser

20 25 30

<210> 30

<211> 30

20 <212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> HFR1-10

<400> 30

UA 124835 C2

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Thr Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser

20 25 30

5 <210> 31

<211> 30

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

10 <223> HFR1-11

<400> 31

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Asp

15 20 25 30

<210> 32

<211> 14

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

20 <220>

<223> HFR2-1

<400> 32

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser

1 5 10

<210> 33

<211> 14

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

5 <220>

<223> HFR2-2

<400> 33

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp Val Ser

1 5 10

10 <210> 34

<211> 31

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

15 <223> HFR3-1

<400> 34

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met

1 5 10 15

Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg

20 20 25 30

<210> 35

<211> 31

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> HFR3-2

<400> 35

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met

5 1 5 10 15

Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg

20 25 30

<210> 36

<211> 31

10 <212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> HFR3-3

<400> 36

15 Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met

1 5 10 15

Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg

20 25 30

<210> 37

20 <211> 31

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> HFR3-4

<400> 37

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met

1 5 10 15

Asn Ser Leu Arg Ala Gly Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg

5 20 25 30

<210> 38

<211> 11

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

10 <220>

<223> HFR4-1

<400> 38

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

15 <210> 39

<211> 109

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

20 <223> VL (L1007)

<400> 39

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Ser

UA 124835 C2

20 25 30
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45
 Ile Phe Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 5 50 55 60
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
 65 70 75 80
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
 85 90 95
 10 Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105
 <210> 40
 <211> 109
 <212> БІЛОК
 15 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> VL (L1008)
 <400> 40
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 20 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
 20 25 30
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

50

55

60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu

65

70

75

80

5 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro

85

90

95

Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100

105

<210> 41

10 <211> 109

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> VL (L1009)

15 <400> 41

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1

5

10

15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser

20

25

30

20 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

35

40

45

Ile Phe Gly Ala Ser Ser Arg Ala Pro Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

50

55

60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu

UA 124835 C2

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro

85 90 95

Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

5 100 105

<210> 42

<211> 109

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

10 $\langle 220 \rangle$

 $\langle 223 \rangle$ VL (L1010)

<400> 42

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

15 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Ser

20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

[illegible]

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu

65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro

85 90 95

Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100

105

<210> 43

<211> 109

5 <212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> VL (L1011)

<400> 43

10 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1

5

10

15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Ser

20

25

30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

15

35

40

45

Ile Phe Gly Ala Ser Ser Arg Ala Pro Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

50

55

60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu

65

70

75

80

20 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro

85

90

95

Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100

105

<210> 44

<211> 109

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

5 <223> VL (L1012)

<400> 44

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser

10 20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Pro Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

15 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu

65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro

85 90 95

Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

20 100 105

<210> 45

<211> 109

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> VL (L1016)

<400> 45

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

5 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser

20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

35 40 45

10 Ile Phe Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu

65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp His Ser Pro

15 85 90 95

Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 46

<211> 109

20 <212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> VL (L1017)

<400> 46

UA 124835 C2

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser

20 25 30

5 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

35 40 45

Ile Phe Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu

10 65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Ala

85 90 95

Gly Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

15 <210> 47

<211> 109

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

20 <223> VL (L1018)

<400> 47

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser

UA 124835 C2

20 25 30
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45
 Ile Phe Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 5 50 55 60
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
 65 70 75 80
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp His Ser Ala
 85 90 95
 10 Gly Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105
 <210> 48
 <211> 109
 <212> БІЛОК
 15 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> VL (L1013)
 <400> 48
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 20 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Ser
 20 25 30
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45

Ile Phe Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu

65 70 75 80

5 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp His Ser Pro

85 90 95

Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 49

10 <211> 109

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> VL (L1014)

15 <400> 49

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser

20 25 30

20 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu

UA 124835 C2

65 70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp His Ser Pro

85 90 95
Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

5 100 105

<210> 50

<211> 109

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

10 <220>

<223> VL (L1015)

<400> 50

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

15 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser

20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

35 40 45

Ile Phe Gly Ala Ser Ser Arg Ala Pro Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

20 50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu

65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp His Ser Pro

85 90 95

UA 124835 C2

Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100

105

<210> 51

<211> 109

5 <212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> VL (L1023)

<400> 51

10 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1

5

10

15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser

20

25

30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

15

35

40

45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Pro Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

50

55

60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu

65

70

75

80

20 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp His Ser Ala

85

90

95

Gly Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100

105

<210> 52

<211> 109

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

5 <223> VL (L1024)

<400> 52

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Ser

10 20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

35 40 45

Ile Phe Gly Ala Ser Ser Arg Ala Pro Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

15 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu

65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp His Ser Ala

85 90 95

Gly Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

20 100 105

<210> 53

<211> 109

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> VL (L1022)

<400> 53

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

5 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Ser

20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

35 40 45

10 Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu

65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp His Ser Ala

15 85 90 95

Gly Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 54

<211> 109

20 <212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> VL (L1021)

<400> 54

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser

20 25 30

5 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

35 40 45

Ile Phe Gly Ala Ser Ser Arg Ala Pro Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu

10 65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp His Ser Ala

85 90 95

Gly Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

15 <210> 55

<211> 109

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

20 <223> VL (L1020)

<400> 55

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser

UA 124835 C2

20 25 30
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 5 50 55 60
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
 65 70 75 80
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp His Ser Ala
 85 90 95
 10 Gly Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105
 <210> 56
 <211> 109
 <212> БІЛОК
 15 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> VL (L1019)
 <400> 56
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 20 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Ser
 20 25 30
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45

Ile Phe Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu

65 70 75 80

5 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp His Ser Ala

85 90 95

Gly Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 57

10 <211> 109

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> VL (L1000)

15 <400> 57

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser

20 25 30

20 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

35 40 45

Ile Phe Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu

UA 124835 C2

65 70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro

85 90 95
Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

5 100 105

<210> 58

<211> 109

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

10 <220>

<223> VL (L1001)

<400> 58

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

15 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Ser

20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Pro Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

20 50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu

65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp His Ser Ala

85 90 95

Gly Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100

105

<210> 59

<211> 115

5 <212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> VH (H1009)

<400> 59

10 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly

1

5

10

15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn

20

25

30

Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

15

35

40

45

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

50

55

60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu

65

70

75

80

20 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85

90

95

Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

100

105

110

Val Ser Ser

115

<210> 60

<211> 115

<212> БІЛОК

5 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> VH (H1010)

<400> 60

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

10 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn

20 25 30

Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu

65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

20 85 90 95

Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

100 105 110

Val Ser Ser

115

<210> 61

<211> 115

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

5 <220>

<223> VH (H1011)

<400> 61

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly

1 5 10 15

10 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn

20 25 30

Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

15 50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu

65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

20 Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

100 105 110

Val Ser Ser

115

<210> 62

<211> 115

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

5 <223> VH (H1007)

<400> 62

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn

10 20 25 30

Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

15 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu

65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

20 100 105 110

Val Ser Ser

115

<210> 63

<211> 115

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> VH (H1008)

5 <400> 63

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn

20 25 30

10 Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu

15 65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

100 105 110

20 Val Ser Ser

115

<210> 64

<211> 115

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> VH (H1015)

<400> 64

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

<210> 65

<211> 115

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> VH (H1013)

<400> 65

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly

5 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn

20 25 30

Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu

65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

15 85 90 95

Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

100 105 110

Val Ser Ser

115

20 <210> 66

<211> 115

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> VH (H1014)

<400> 66

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

5 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn

20 25 30

Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

10 50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu

65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

15 Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

100 105 110

Val Ser Ser

115

<210> 67

20 <211> 115

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> VH (H1012)

UA 124835 C2

<400> 67

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn

5 20 25 30

Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

10 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu

65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

15 100 105 110

Val Ser Ser

115

<210> 68

<211> 115

20 <212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> VH (H1016)

<400> 68

UA 124835 C2

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn
 20 25 30
 5 Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Gly Ile Gly Thr Gly Gly Ala Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
 10 65 70 75 80
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Pro Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110
 15 Val Ser Ser
 115
 <210> 69
 <211> 115
 <212> БІЛОК
 20 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> VH (H1017)
 <400> 69
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly

UA 124835 C2

1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn
 20 25 30
 Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 5 35 40 45
 Ser Gly Ile Gly Thr Gly Gly Ala Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
 65 70 75 80
 10 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Pro Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser
 15 115
 <210> 70
 <211> 115
 <212> БІЛОК
 <213> Штучна послідовність
 20 <220>
 <223> VH (H1018)
 <400> 70
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

UA 124835 C2

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn

20

25

30

Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35

40

45

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

50

55

60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu

65

70

75

80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

10

85

90

95

Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Pro Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

100

105

110

Val Ser Ser

115

15 <210> 71

<211> 115

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

20 <223> VH (H1019)

<400> 71

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly

1

5

10

15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn

UA 124835 C2

20 25 30
 Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Gly Ile Gly Thr Gly Gly Ala Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 5 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
 65 70 75 80
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 10 Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Pro Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser
 115
 <210> 72
 15 <211> 115
 <212> БІЛОК
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> VH (H1020)
 20 <400> 72
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn
 20 25 30

UA 124835 C2

Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35

40

45

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

50

55

60

5 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu

65

70

75

80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85

90

95

Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Pro Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

10

100

105

110

Val Ser Ser

115

<210> 73

<211> 115

15 <212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> VH (H1021)

<400> 73

20 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly

1

5

10

15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn

20

25

30

Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

UA 124835 C2

35 40 45
 Ser Gly Ile Gly Thr Gly Gly Ala Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
 5 65 70 75 80
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Pro Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110
 10 Val Ser Ser
 115
 <210> 74
 <211> 115
 <212> БІЛОК
 15 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> VH (H1033)
 <400> 74
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Arg
 20 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn
 20 25 30
 Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

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

50

55

60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu

65

70

75

80

5 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85

90

95

Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

100

105

110

Val Ser Ser

10

115

<210> 75

<211> 115

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

15

<220>

<223> VH (H1034)

<400> 75

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly

1

5

10

15

20 Ser Leu Arg Leu Thr Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn

20

25

30

Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35

40

45

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

UA 124835 C2

50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
 65 70 75 80
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 5 85 90 95
 Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser
 115
 10 <210> 76
 <211> 115
 <212> БІЛОК
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 15 <223> VH (H1035)
 <400> 76
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn
 20 20 25 30
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Gly Ile Gly Thr Gly Gly Ala Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu

65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

5 Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

100 105 110

Val Ser Ser

115

<210> 77

10 <211> 115

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> VH (H1036)

15 <400> 77

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn

20 25 30

20 Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu

UA 124835 C2

	65					70						75					80
	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Met	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	
					85					90					95		
	Arg	Gly	Arg	Tyr	Tyr	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	
5				100					105					110			
	Val	Ser	Ser														
				115													
	<210>		78														
	<211>		115														
10	<212>		БІЛОК														
	<213>		Штучна послідовність														
	<220>																
	<223>		VH (H1037)														
	<400>		78														
15	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	His	Pro	Gly	Gly	
	1			5					10						15		
	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Gly	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Arg	Asn	
				20					25					30			
	Ala	Met	Phe	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	
20			35					40					45				
	Ser	Gly	Ile	Gly	Thr	Gly	Gly	Ala	Thr	Asn	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	
			50				55					60					
	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Glu	Ala	Lys	Asn	Ser	Leu	Tyr	Leu	
	65					70					75						80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85

90

95

Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

100

105

110

5 Val Ser Ser

115

<210> 79

<211> 115

<212> БІЛОК

10 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> VH (H1039)

<400> 79

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly

15 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn

20

25

30

Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35

40

45

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

50

55

60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu

65

70

75

80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Gly Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

UA 124835 C2

	85	90	95
	Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr		
	100	105	110
	Val Ser Ser		
5	115		
	<210> 80		
	<211> 115		
	<212> БІЛОК		
	<213> Штучна послідовність		
10	<220>		
	<223> VH (H1038)		
	<400> 80		
	Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly		
	1 5 10 15		
15	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr		
	20 25 30		
	Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
	35 40 45		
	Ser Gly Ile Gly Thr Gly Gly Ala Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys		
20	50 55 60		
	Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu		
	65 70 75 80		
	Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Ala		
	85 90 95		

Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

100

105

110

Val Ser Ser

115

5 <210> 81

<211> 115

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

10 <223> VH (H1028)

<400> 81

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1

5

10

15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn

15

20

25

30

Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35

40

45

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

50

55

60

20 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu

65

70

75

80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85

90

95

Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Pro Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

UA 124835 C2

	100	105	110
	Val Ser Ser		
	115		
	<210>	82	
5	<211>	115	
	<212>	БІЛОК	
	<213>	Штучна послідовність	
	<220>		
	<223>	VH (H1027)	
10	<400>	82	
	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly		
	1	5	10
	Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn		
	20	25	30
15	Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
	35	40	45
	Ser Gly Ile Gly Thr Gly Gly Ala Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys		
	50	55	60
	Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu		
20	65	70	75
	Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala		
	85	90	95
	Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Pro Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr		
	100	105	110

Val Ser Ser

115

<210> 83

<211> 115

5 <212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> VH (H1026)

<400> 83

10 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn

20 25 30

Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

15 35 40 45

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

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu

65 70 75 80

20 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Pro Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

100 105 110

Val Ser Ser

115

<210> 84

<211> 115

<212> БІЛОК

5 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> VH (H1030)

<400> 84

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

10 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn

20 25 30

Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu

65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

20 85 90 95

Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Pro Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

100 105 110

Val Ser Ser

115

<210> 85

<211> 115

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

5 <220>

<223> VH (H1029)

<400> 85

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

10 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn

20 25 30

Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

15 50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu

65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

20 Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Pro Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

100 105 110

Val Ser Ser

115

<210> 86

<211> 115

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

5 <223> VH (H1025)

<400> 86

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn

10 20 25 30

Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

15 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu

65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Pro Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

20 100 105 110

Val Ser Ser

115

<210> 87

<211> 115

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> VH (H1024)

5 <400> 87

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn

20 25 30

10 Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu

15 65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Pro Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

100 105 110

20 Val Ser Ser

115

<210> 88

<211> 115

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> VH (H1023)

<400> 88

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

<210> 89

<211> 115

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> VH (H1022)

<400> 89

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly

5 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn

20 25 30

Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu

65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

15 85 90 95

Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Pro Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

100 105 110

Val Ser Ser

115

20 <210> 90

<211> 115

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> VH (H1032)

<400> 90

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

5 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn

20 25 30

Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

10 50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu

65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

15 Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Pro Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

100 105 110

Val Ser Ser

115

<210> 91

20 <211> 115

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> VH (H1031)

UA 124835 C2

<400> 91

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn

5 20 25 30

Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

10 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu

65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

15 100 105 110

Val Ser Ser

115

<210> 92

<211> 115

20 <212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> VH (H1000)

<400> 92

UA 124835 C2

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn
 20 25 30
 5 Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Gly Ile Gly Thr Gly Gly Ala Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
 10 65 70 75 80
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110
 15 Val Ser Ser
 115
 <210> 93
 <211> 115
 <212> БІЛОК
 20 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> VH (H1001)
 <400> 93
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

UA 124835 C2

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn

20 25 30

Ala Met Phe Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

5 35 40 45

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

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu

65 70 75 80

10 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Gly Arg Tyr Tyr Phe Pro Trp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

100 105 110

Val Ser Ser

15 115

<210> 94

<211> 209

<212> БІЛОК

<213> людини

20 <220>

<223> sIL4Rα

<400> 94

Gly Asn Met Lys Val Leu Gln Glu Pro Thr Cys Val Ser Asp Tyr Met

1 5 10 15

UA 124835 C2

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

His

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

- 5 1. Антитіло, яке здатне зв'язуватися з рецептором інтерлейкіну 4 (IL-4) (IL-4R), де антитіло містить варіабельну ділянку легкого ланцюга (VL), яка містить наступну комбінацію CDR1, CDR2 і CDR3: CDR1, викладена під SEQ ID NO: 2, CDR2, викладена під SEQ ID NO: 3, і CDR3, викладена під SEQ ID NO: 8; і антитіло містить варіабельну ділянку важкого ланцюга (VH), яка
- 10 містить наступну комбінацію CDR1, CDR2 і CDR3: CDR1, викладена під SEQ ID NO: 14, CDR2, викладена під SEQ ID NO: 18, і CDR3, викладена під SEQ ID NO: 19.
2. Антитіло за п. 1, де варіабельна ділянка легкого ланцюга антитіла містить амінокислотну послідовність, представлену у вигляді SEQ ID NO: 55, і варіабельна ділянка важкого ланцюга антитіла містить амінокислотну послідовність, представлену у вигляді SEQ ID NO: 91.
- 15 3. Антитіло за п. 1 або п. 2, де антитіло здатне зв'язуватися з рецептором інтерлейкіну 4 (IL-4) (IL-4R);
переважно антитіло здатне зв'язуватися з IL-4R α , переважно з IL-4R α ссавця,
більш переважно з IL-4R α людини, ще більш переважно з розчинним IL-4R α людини;
більш переважно антитіло здатне зв'язуватися з IL-4R α з афінністю, яка становить менш ніж 100
- 20 нМ, менш ніж 10 нМ, менш ніж 1 нМ, менш ніж 0,5 нМ або навіть менш ніж 0,1 нМ.
4. Антитіло за будь-яким із пп. 1-3, де антитіло являє собою моноклональне антитіло, повністю або частково гуманізоване антитіло або химерне антитіло; переважно антитіло являє собою імуноглобулін, більш переважно IgA, IgD, IgE, IgG або IgM, ще більш переважно підтипу IgG1, IgG2, IgG3 або IgG4.
- 25 5. Антитіло за будь-яким із пп. 1-4, де антитіло належить до підтипу IgG4 людини.
6. Злитий білок або кон'югат, де злитий білок або кон'югат містить антитіло за будь-яким із пп. 1-5.
7. Злитий білок або кон'югат за п. 6, де злитий білок або кон'югат містить антитіло за п. 5.
8. Послідовність нуклеїнової кислоти, де послідовність нуклеїнової кислоти кодує варіабельну
- 30 ділянку важкого ланцюга та/або варіабельну ділянку легкого ланцюга антитіла за будь-яким із пп. 1-5;
переважно послідовність нуклеїнової кислоти кодує важкий ланцюг та/або легкий ланцюг антитіла за будь-яким із пп. 1-5.
9. Послідовність нуклеїнової кислоти за п. 8, де послідовність нуклеїнової кислоти кодує
- 35 варіабельну ділянку важкого ланцюга та/або варіабельну ділянку легкого ланцюга антитіла за п. 5;
переважно послідовність нуклеїнової кислоти кодує важкий ланцюг та/або легкий ланцюг антитіла за п. 5.
10. Вектор, що містить послідовність нуклеїнової кислоти за п. 8 або п. 9.
- 40 11. Клітина-хазяїн, трансформована або трансфікована за допомогою послідовності нуклеїнової кислоти за п. 8 або п. 9 або вектора за п. 10.
12. Спосіб одержання антитіла за будь-яким із пп. 1-5, де спосіб включає одержання варіабельної ділянки важкого ланцюга та/або варіабельної ділянки легкого ланцюга антитіла або важкого ланцюга та/або легкого ланцюга антитіла, виходячи з послідовності нуклеїнової
- 45 кислоти за п. 8 або п. 9, і їх складання з будь-яким іншим доменом антитіла з одержанням антитіла; або спосіб включає культивування клітини-хазяїна за п. 11 в умовах, за яких клітина-хазяїн може експресувати варіабельну ділянку важкого ланцюга та/або варіабельну ділянку легкого ланцюга антитіла або важкий ланцюг та/або легкий ланцюг антитіла для складання з одержанням антитіла; при цьому спосіб необов'язково додатково включає виділення
- 50 одержаного антитіла.
13. Фармацевтична композиція, що містить антитіло за будь-яким із пп. 1-5, злитий білок або кон'югат за п. 6 або п. 7, послідовність нуклеїнової кислоти за п. 8 або п. 9, вектор за п. 10, клітину-хазяїна за п. 11 та/або антитіло, одержане за допомогою способу за п. 12;
при цьому переважно фармацевтична композиція являє собою фармацевтичний препарат, який
- 55 переважно являє собою ін'єкційний розчин;
переважно фармацевтична композиція або фармацевтичний препарат додатково містить фармацевтично прийнятний носій або допоміжну речовину;

переважно фармацевтична композиція або фармацевтичний препарат додатково містить щонайменше один із наступних лікарських препаратів: антиастматичний засіб, такий як альбутерол тощо, антигістамінний засіб, такий як лоратадин тощо, імуносупресивний засіб, такий як такролімус і пімекролімус тощо, блокатор М-рецепторів, такий як іпратропію бромід тощо, блокатор рецепторів лейкотриєнів, такий як монтелукаст тощо, інгібітор фосфодіестерази, такий як теофілін тощо, нестероїдний протизапальний лікарський засіб, такий як 5-аміносаліцилова кислота тощо, і гормон, такий як беклометазон і будесонід тощо.

14. Фармацевтична композиція за п. 13, що містить антитіло за п. 5; при цьому переважно фармацевтична композиція являє собою фармацевтичний препарат, який переважно являє собою ін'єкційний розчин;

переважно фармацевтична композиція або фармацевтичний препарат додатково містить фармацевтично прийнятний носій або допоміжну речовину;

переважно фармацевтична композиція або фармацевтичний препарат додатково містить щонайменше один із наступних лікарських препаратів: антиастматичний засіб, такий як альбутерол тощо, антигістамінний засіб, такий як лоратадин тощо, імуносупресивний засіб, такий як такролімус і пімекролімус тощо, блокатор М-рецепторів, такий як іпратропію бромід тощо, блокатор рецепторів лейкотриєнів, такий як монтелукаст тощо, інгібітор фосфодіестерази, такий як теофілін тощо, нестероїдний протизапальний лікарський засіб, такий як 5-аміносаліцилова кислота тощо, і гормон, такий як беклометазон і будесонід тощо.

15. Застосування антитіла за будь-яким із пп. 1-5 для виготовлення лікарського препарату для попередження, лікування або полегшення тяжкості запального або алергічного захворювання; переважно запальне або алергічне захворювання передбачає аутоімунне захворювання, таке як алергічний дерматит, астма, еозинофільний езофагіт, екзема, алергічний риніт, носовий поліп, ревматоїдний артрит тощо.

16. Застосування за п. 15, де запальне або алергічне захворювання являє собою алергічний дерматит, астму, еозинофільний езофагіт або носовий поліп.

17. Застосування за п. 16, де антитіло являє собою антитіло за п. 5.

18. Застосування злитого білка або кон'югата за п. 6 або п. 7 для виготовлення лікарського препарату для попередження, лікування або полегшення тяжкості запального або алергічного захворювання;

переважно запальне або алергічне захворювання передбачає аутоімунне захворювання, таке як алергічний дерматит, астма, еозинофільний езофагіт, екзема, алергічний риніт, носовий поліп, ревматоїдний артрит тощо.

19. Застосування за п. 18, де запальне або алергічне захворювання являє собою алергічний дерматит, астму, еозинофільний езофагіт або носовий поліп.

20. Застосування послідовності нуклеїнової кислоти за п. 8 або п. 9 для виготовлення лікарського препарату для попередження, лікування або полегшення тяжкості запального або алергічного захворювання;

переважно запальне або алергічне захворювання передбачає аутоімунне захворювання, таке як алергічний дерматит, астма, еозинофільний езофагіт, екзема, алергічний риніт, носовий поліп, ревматоїдний артрит тощо.

21. Застосування за п. 20, де запальне або алергічне захворювання являє собою алергічний дерматит, астму, еозинофільний езофагіт або носовий поліп.

22. Застосування вектора за п. 10 для виготовлення лікарського препарату для попередження, лікування або полегшення тяжкості запального або алергічного захворювання;

переважно запальне або алергічне захворювання передбачає аутоімунне захворювання, таке як алергічний дерматит, астма, еозинофільний езофагіт, екзема, алергічний риніт, носовий поліп, ревматоїдний артрит тощо.

23. Застосування за п. 22, де запальне або алергічне захворювання являє собою алергічний дерматит, астму, еозинофільний езофагіт або носовий поліп.

24. Застосування клітини-хазяїна за п. 11 для виготовлення лікарського препарату для попередження, лікування або полегшення тяжкості запального або алергічного захворювання;

переважно запальне або алергічне захворювання передбачає аутоімунне захворювання, таке як алергічний дерматит, астма, еозинофільний езофагіт, екзема, алергічний риніт, носовий поліп, ревматоїдний артрит тощо.

25. Застосування за п. 24, де запальне або алергічне захворювання являє собою алергічний дерматит, астму, еозинофільний езофагіт або носовий поліп.

26. Застосування антитіла, одержаного за допомогою способу за п. 12 для виготовлення лікарського препарату для попередження, лікування або полегшення тяжкості запального або алергічного захворювання;

переважно запальне або алергічне захворювання передбачає аутоімунне захворювання, таке як алергічний дерматит, астма, еозинофільний езофагіт, екзема, алергічний риніт, носовий поліп, ревматоїдний артрит тощо.

27. Застосування за п. 26, де запальне або алергічне захворювання являє собою алергічний дерматит, астму, еозинофільний езофагіт або носовий поліп.

28. Спосіб попередження, лікування або полегшення тяжкості запального або алергічного захворювання, при цьому спосіб включає введення суб'єкту, який потребує цього, антитіла за будь-яким із пп. 1-5, злитого білка або кон'югата за п. 6 або п. 7, послідовності нуклеїнової кислоти за п. 8 або п. 9, вектора за п. 10, клітини-хазяїна за п. 11 та/або антитіла, одержаного за допомогою способу за п. 12;

при цьому переважно суб'єкт є ссавцем;

більш переважно суб'єкт є людиною;

переважно запальне або алергічне захворювання передбачає аутоімунне захворювання, таке як алергічний дерматит, астма, еозинофільний езофагіт, екзема, алергічний риніт, носовий поліп, ревматоїдний артрит тощо.

29. Спосіб за п. 28, де спосіб додатково включає введення суб'єкту щонайменше одного лікарського препарату, вибраного із групи, що складається з антиастматичного засобу, такого як альбутерол тощо, антигістамінного засобу, такого як лоратадин тощо, імуносупресивного засобу, такого як такролімус і пімекролімус тощо, блокатора М-рецепторів, такого як іпратропію бромід тощо, блокатора рецепторів лейкотриєнів, такого як монтелукаст тощо, інгібітору фосфодіестерази, такого як теофілін тощо, нестероїдного протизапального лікарського засобу, такого як 5-аміносаліцилова кислота тощо, і гормону, такого як беклометазон і будесонід тощо; при цьому переважно лікарський засіб вводять одночасно або послідовно з антитілом за будь-яким із пп. 1-5, злитим білком або кон'югатом за п. 6 або п. 7,

послідовністю нуклеїнової кислоти за п. 8 або п. 9, вектором за п. 10, клітиною-хазяїном за п. 11 та/або антитілом, одержаним за допомогою способу за п. 12.

30. Спосіб за п. 28 або п. 29, де запальне або алергічне захворювання являє собою алергічний дерматит, астму, еозинофільний езофагіт або носовий поліп.

31. Спосіб за п. 30, де спосіб включає введення суб'єкту, який потребує цього, антитіла за п. 5;

при цьому переважно суб'єкт є ссавцем;

більш переважно суб'єкт є людиною;

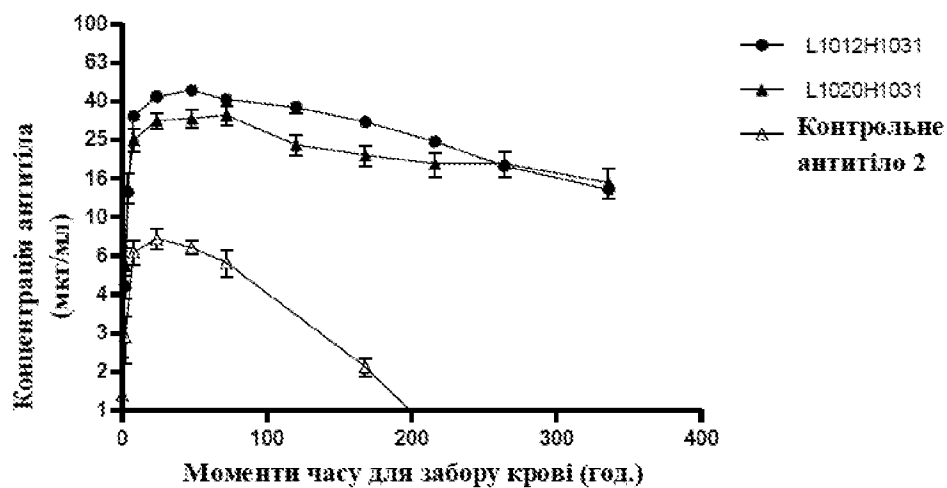
переважно запальне або алергічне захворювання передбачає аутоімунне захворювання, таке як алергічний дерматит, астма, еозинофільний езофагіт, екзема, алергічний риніт, носовий поліп, ревматоїдний артрит тощо.

32. Спосіб за п. 31, де спосіб додатково включає введення суб'єкту щонайменше одного лікарського препарату, вибраного із групи, що складається з антиастматичного засобу, такого як альбутерол тощо, антигістамінного засобу, такого як лоратадин тощо, імуносупресивного засобу, такого як такролімус і пімекролімус тощо, блокатора М-рецепторів, такого як іпратропію бромід тощо, блокатора рецепторів лейкотриєнів, такого як монтелукаст тощо, інгібітору фосфодіестерази, такого як теофілін тощо, нестероїдного протизапального лікарського засобу, такого як 5-аміносаліцилова кислота тощо, і гормону, такого як беклометазон і будесонід тощо; при цьому переважно лікарський засіб вводять одночасно або послідовно з антитілом за п. 5.

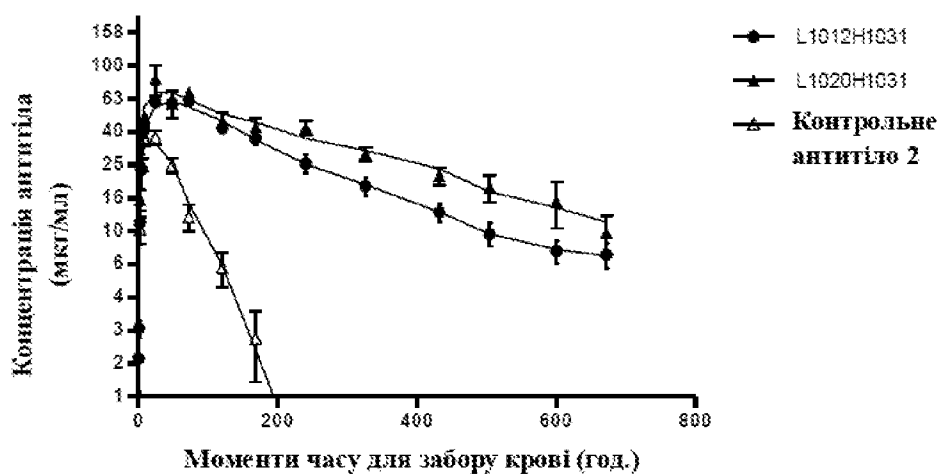
33. Спосіб за п. 31 або п. 32, де запальне або алергічне захворювання являє собою алергічний дерматит, астму, еозинофільний езофагіт або носовий поліп.

34. Набір, що містить антитіло за будь-яким із пп. 1-5, злитий білок або кон'югат за п. 6 або п. 7, послідовність нуклеїнової кислоти за п. 8 або п. 9, вектор за п. 10, клітину-хазяїна за п. 11 та/або антитіло, одержане за допомогою способу за п. 12.

35. Набір за п. 34, що містить антитіло за п. 5.

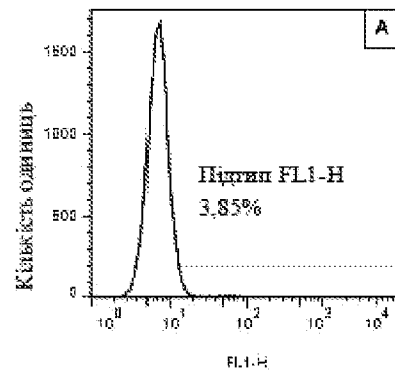


Фіг. 1

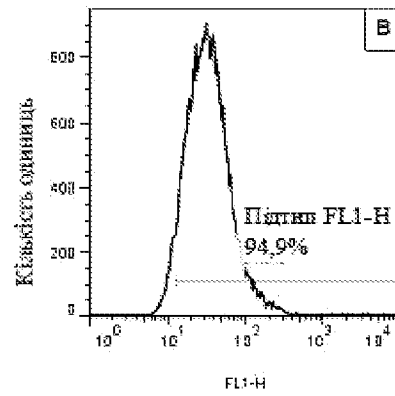


Фіг. 2

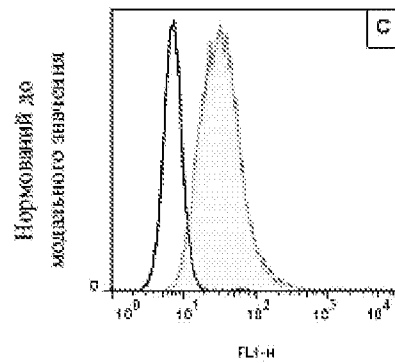
3A



3B

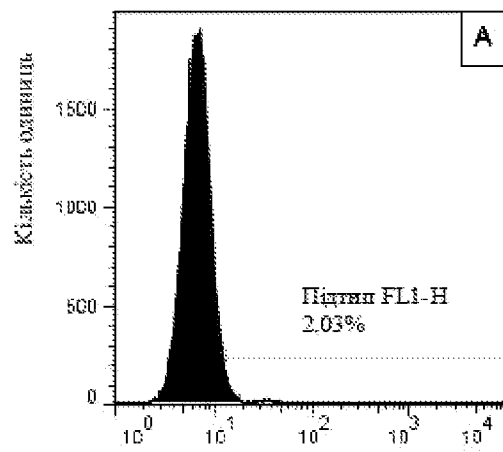


3C

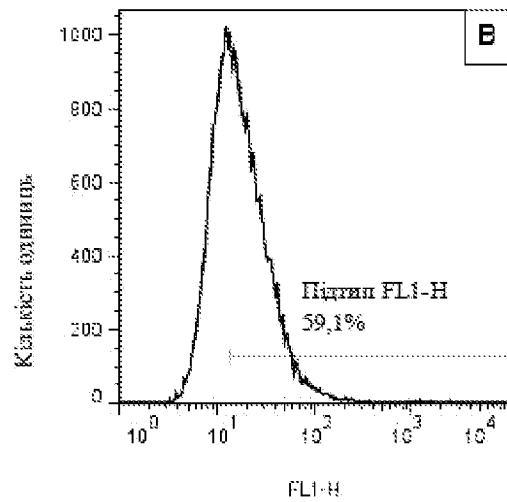


Фиг. 3

4A

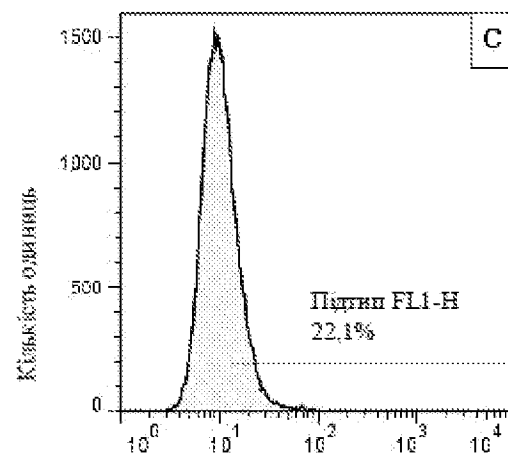


4B

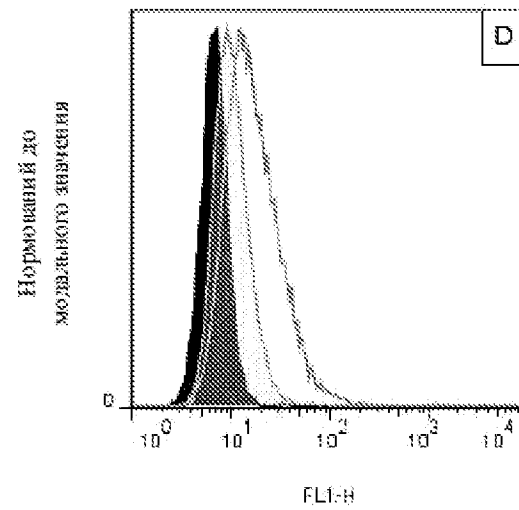


Фиг. 4

4C

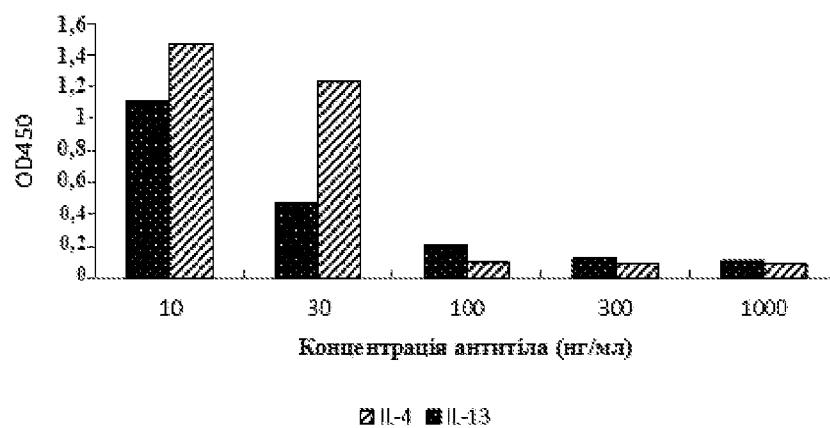


4D



Фіг. 4 (продовження)

5A



5B



Фиг. 5