



MD/EP 3532499 T2 2021.09.30

## REPUBLICA MOLDOVA

(19) Agenția de Stat  
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) MD/EP 3532499 (13) T2

(51) Int. Cl.:A61P 1/00 (2006.01.01)  
A61P 11/00 (2006.01.01)  
A61P 11/06 (2006.01.01)  
A61P 17/00 (2006.01.01)  
C07K 16/24 (2006.01.01)  
A61P 37/08 (2006.01.01)

## (12) BREVET DE INVENȚIE EUROPEAN VALIDAT

<p>(21) Numărul de depozit: e 2019 0980</p> <p>(22) Data de depozit: 2017.10.24</p> <p>(96) Numărul cererii și data de depozit a cererii de brevet european: 17794593.8, 2017.10.24</p> <p>(97) Numărul de publicare și data publicării de către OEB a cererii de brevet european: 3532499, 2019.09.04</p> <p>(31) Numărul cererii prioritare: 201662414258 P</p> <p>(32) Data de depozit a cererii prioritare: 2016.10.28</p> <p>(33) Țara cererii prioritare: US</p>	<p>(49) Data publicării traducerii fasciculului de brevet european validat: BOPI nr. 09/2021, 2021.09.30</p> <p>(80) Data publicării mențiunii acordării de către OEB: EPB nr. 18/2021, 2021.05.05</p> <p>(82) Data publicării solicitării de validare a brevetului european: BOPI nr. 10/2019, 2019.10.31</p>
<p>(71) Solicitant: Eli Lilly and Company, US</p> <p>(72) Inventatori: BENSCHOP Robert Jan, US; DAVIES Julian, US; OKRAGLY Angela Jeannine, US; PATEL Chetankumar Natvarlal, US; TRUHLAR Stephanie Marie, US</p> <p>(73) Titular: ELI Lilly and Company, US</p> <p>(74) Mandatar autorizat: LAZICOV Tatiana</p>	

(54) Anticorpi anti-IL-33 și utilizările acestora

(57) Rezumat:

1

Sunt prevăzuți anticorpi, care leagă și neutralizează IL-33 uman, și metode de utilizare a acestora, anticorpii menționați fiind utili ca agenți pentru tratarea stărilor asociate

2

cu bolile alergice, inclusiv pentru tratarea dermatitei atopice.

Secvențe: 21

Revendicări: 15

MD/EP 3532499 T2 2021.09.30

**(54) Anti-IL-33 antibodies and uses thereof****(57) Abstract:**

1  
Antibodies which bind and neutralize human IL-33, and methods of using same, are provided, said antibodies are useful as agents for treating conditions associated with allergic

2  
disease including treating atopic dermatitis.  
Sequences: 21  
Claims: 15

**Descriere:****(Descrierea se publică în varianta redactată de solicitant)**

5 Prezentă invenție se află în domeniul medicinei. Mai particular, prezentă invenție se referă la anticorpi direcționați împotriva interleukinei-33 (IL-33) și compozițiilor farmaceutice ale acestora. Se așteaptă ca anticorpii prezentei invenții să fie utili în tratamentul dermatitei atopice.

10 Dermatita atopică (cunoscută și sub numele de eczemă atopică) este o boală alergică inflamatorie cronică a pielii care se caracterizează prin leziuni recurente roșii, mâncărime. Două anomalii fiziopatologice majore sunt observate la pacienții cu dermatită atopică; inflamația cutanată din cauza răspunsurilor imune inadecvate la nivelul pielii și a structurii și funcției epidermice modificate. Infiltratul inflamator este alcătuit dintr-un amestec de celule, în special celule imune care exprimă IL-4, IL-5 și IL-13. Aceste citokine sunt adesea crescute în alte boli alergice, inclusiv astmul și rinita alergică.

15 Dermatita atopică a fost descrisă ca fiind principala sarcină non-fatală pentru sănătate atribuită bolilor de piele. Deși începe cel mai adesea în copilărie și afectează doi din zece copii, este foarte răspândită și la adulți. Majoritatea adulților care suferă de dermatită atopică cronică au avut boală aproape pe tot parcursul vieții. Mâncărimea, lipsa de somn și jena socială din cauza leziunilor vizibile au efecte substanțiale asupra bunăstării psihosociale a pacienților și a rudelor acestora. La copii, efectul dermatitei atopice asupra calității vieții legate de sănătate este similar cu cel al altor tulburări majore din copilărie, cum ar fi astmul și diabetul. Majoritatea persoanelor care au dermatită atopică au antecedente personale sau familiale de alergii.

20 În prezent, dermatita atopică nu poate fi vindecată, iar scopul gestionării bolii este de a controla sau îmbunătăți simptomele și de a realiza controlul bolii pe termen lung cu o abordare cu mai multe etape. Principiile principale sunt repararea continuă a barierei epidermice cu emolienți, evitarea factorilor declanșatori individuali și terapia antiinflamatoare cu corticosteroizi topici sau inhibitori de calcineurină. În cazurile grav afectate, sunt indicate fototerapia sau imunosupresoarele sistemice. Prin urmare, este nevoie de terapii eficiente suplimentare pentru pacienții cu dermatită atopică.

30 IL-33 este un membru al superfamiliei de citokine IL-1 și se exprimă în principal prin keratinocite, celulele epiteliale și celulele endoteliale. IL-33 activează mai multe tipuri de celule imune înnașcute și dobândite provocând producerea altor mediatori proinflamatori și este cel mai frecvent caracterizat ca o citokină epitelială care promovează răspunsurile imune de tip 2 sau ajutori T 2 (Th2). Există un număr de anticorpi care se leagă și neutralizează IL-33 cunoscute în domeniu. De exemplu, Publicația SUA nr. 20160168242A1 și Publicația internațională nr. WO2015 / 106080A2 și WO2016 / 077381 dezvăluie anumiți anticorpi care leagă IL-33 uman. Cu toate acestea, este nevoie de anticorpi alternativi care leagă IL-33 uman cu afinitate ridicată și sunt eficienți terapeutic în tratarea bolilor alergice, cum ar fi dermatita atopică. Afinitatea îmbunătățită și IC<sub>50</sub> superior pot permite beneficii de dozare.

40 Prezentă invenție abordează necesitatea unei terapii alternative cu anticorpi pentru pacienții cu boli alergice precum dermatita atopică, alergiile alimentare, rinita alergică și astmul. În unele variante, boala alergică este dermatita atopică. Prezentă invenție abordează, de asemenea, necesitatea unei terapii alternative cu anticorpi pentru pacienții cu boli inflamatorii persistente, inclusiv esofagită eozinofilă, sclerodermie / scleroză sistemică, colită ulcerativă și boală pulmonară obstructivă cronică. Prezentă invenție abordează, de asemenea, necesitatea unei terapii alternative cu anticorpi pentru pacienții cu boală Crohn.

45 Conform unui prim aspect al prezentei invenții, este furnizat un anticorp care leagă IL-33 uman, cuprinzând două LCDR1, fiecare cu SEQ ID NR: 16, două LCDR2, fiecare cu SEQ ID NR: 17, două LCDR3, fiecare dintre SEQ ID NR: 18, două HCDR1, fiecare dintre SEQ ID NR: 13, două HCDR2, fiecare dintre SEQ ID NR: 14 și două HCDR3, fiecare dintre SEQ ID NR: 15 în care fiecare LCVR este SEQ ID NR: 4, SEQ ID NR: 8, sau SEQ ID NR: 12, și fiecare HCVR este SEQ ID NR: 3, SEQ ID NR: 7, sau SEQ ID NR: 11.

Conform unei variante preferate a prezentei invenții, este furnizat un anticorp conform prezentei invenții în care fiecare LCVR este SEQ ID NO: 4 și fiecare HCVR este SEQ ID NO: 3.

55 Conform unui alt exemplu de realizare preferat al prezentei invenții, este furnizat un anticorp conform prezentei invenții în care fiecare LCVR este SEQ ID NR: 8 și fiecare HCVR este SEQ ID NR: 7.

Conform încă unui alt exemplu de realizare preferat al prezentei invenții, este furnizat un anticorp conform prezentei invenții în care fiecare LCVR este SEQ ID NR: 12 și fiecare HCVR este SEQ ID NR: 11.

De preferință, fiecare LC este SEQ ID NR: 2, SEQ ID NR: 6, sau SEQ ID NR: 10 și fiecare HC este SEQ ID NR: 1, SEQ ID NR: 5 sau SEQ ID NR: 9.

De preferință, fiecare LC este SEQ ID NR: 2 și fiecare HC este SEQ ID NR: 1.

5 De preferință, fiecare LC este SEQ ID NR: 6, și fiecare HC este SEQ ID NR: 5.

De preferință, fiecare LC este SEQ ID NR: 10, și fiecare HC este SEQ ID NR: 9.

Conform unui al doilea aspect al prezentei invenții, este furnizată o compoziție farmaceutică cuprinzând anticorpii prezentei invenții și unul sau mai mulți purtători, diluanți sau excipienți acceptabili farmaceutic.

10 Conform unui alt aspect al prezentei invenții, este furnizat anticorpii prezentei invenții pentru utilizare în terapie.

De preferință, anticorpii conform prezentei invenții este destinat utilizării în tratamentul uneia sau mai multor boli alergice.

15 Mai preferabil, anticorpii prezentei invenții este destinat utilizării în boli alergice în care boala alergică este dermatita atopică, astmul, rinita alergică sau alerggia alimentară. Chiar mai preferabil, anticorpii conform prezentei invenții este dermatita atopică.

Intr-un exemplu de realizare preferat, anticorpii prezentei invenții este destinat utilizării în tratamentul esofagitei eozinofile, a sclerodermiei / sclerozei sistemice, a colitei ulcerative sau a bolii pulmonare obstructive cronice.

20 Conform unui alt exemplu de realizare preferat, anticorpii prezentei invenții este destinat utilizării în tratamentul bolii Crohn.

Prezenta invenție asigură, de asemenea, o compoziție farmaceutică cuprinzând un anticorp conform prezentei invenții și unul sau mai mulți purtători, diluanți sau excipienți acceptabili farmaceutic. În unele variante, compozițiile farmaceutice ale prezentei invenții pot fi utilizate în tratamentul unei boli alergice, prin care un astfel de tratament cuprinde administrarea unui pacient 25 care are nevoie de aceasta o cantitate eficientă dintr-o compoziție farmaceutică conform prezentei invenții. În unele variante particulare, boala alergică este dermatita atopică, astmul, rinita alergică, sau alerggia alimentară. În unele variante de realizare, compozițiile farmaceutice ale prezentei invenții pot fi utilizate în tratamentul de esofagită eozinofilă, sclerodermie / scleroză sistemică, colită ulcerativă sau boală pulmonară obstructivă cronică. În unele variante, compozițiile farmaceutice ale prezentei invenții pot fi utilizate în tratamentul bolii Crohn. 30

Prezenta invenție oferă, de asemenea, o metodă de tratare a unei boli alergice, care cuprinde administrarea la un pacient care are nevoie de aceasta o cantitate eficientă de anticorp conform prezentei invenții. În unele astfel de realizări, boala alergică este dermatita atopică. În alte astfel de realizări, boala alergică este astmul. În alte astfel de realizări, boala alergică este alerggia alimentară. În alte astfel de realizări, boala alergică este rinita alergică. Prezenta invenție furnizează, de asemenea, o metodă de tratare a dermatitei atopice, care cuprinde administrarea la un pacient care are nevoie de aceasta o cantitate eficientă de anticorp conform prezentei invenții. În unele variante de realizare, prezenta invenție oferă, de asemenea, o metoda de tratare a cel puțin uneia dintre esofagite eozinofile, sclerodermie / scleroză sistemică, colită ulcerativă și cronică 40 boală pulmonară obstructivă, cuprinzând administrarea la un pacient care are nevoie de aceasta o cantitate eficientă de anticorp din prezenta invenție. În unele variante, prezenta invenție oferă, de asemenea, o metodă de tratare a bolii Crohn.

Prezenta invenție furnizează, de asemenea, un anticorp al prezentei invenții sau o compoziție farmaceutică a acestuia pentru utilizare în terapie. În unele variante de realizare, prezenta invenție furnizează un anticorp al prezentei invenții sau o compoziție farmaceutică a acestuia pentru utilizare în tratamentul bolilor alergice, în care boala alergică este dermatita atopică, astmul, rinita alergică sau alerggia alimentară. Într-un exemplu de realizare particular, prezenta invenție furnizează un anticorp al prezentei invenții sau o compoziție farmaceutică a acestuia pentru utilizare în tratamentul dermatitei atopice. În unele variante, prezenta invenție furnizează un anticorp al prezentei invenții sau compoziția farmaceutică a acestuia pentru 50 utilizarea în tratamentul esofagitei eozinofile, sclerodermie / scleroză sistemică, colită ulcerativă sau boală pulmonară obstructivă cronică. În unele variante de realizare, prezenta invenție furnizează un anticorp al prezentei invenții sau compoziția farmaceutică a acestora pentru utilizare în tratamentul bolii Crohn.

55 Intr-un exemplu de realizare, prezenta invenție prevede, de asemenea, utilizarea unui anticorp conform prezentei invenții sau a unei compoziții farmaceutice a acestuia în fabricarea unui medicament pentru tratamentul bolilor alergice. În unele variante de realizare, prezenta invenție prevede utilizarea unui anticorp conform prezentei invenții sau a unei compoziții farmaceutice a acestuia în fabricarea unui medicament pentru tratamentul bolii alergice, în care boala alergică este dermatita atopică, astmul, rinita alergică sau alimentele alergice. Într-o variantă 60 particulară, prezenta invenție prevede utilizarea unui anticorp conform prezentei invenții la

fabricarea unui medicament pentru tratamentul dermatitei atopice. In unele variante de realizare, prezenta invenție oferă utilizarea unui anticorp conform prezentei invenții sau a unei compoziții farmaceutice a acestuia in fabricarea unui medicament pentru tratamentul esofagitei eozinofile, sclerodermei / sclerozei sistemice, colitei ulcerative sau a bolii pulmonare obstructive cronice. In unele variante de realizare, prezenta invenție oferă utilizarea unui anticorp conform prezentei invenții sau a unei compoziții farmaceutice a acestuia in fabricarea unui medicament pentru tratamentul bolii Crohn.

Prezenta invenție se referă, de asemenea, la moleculele de acid nucleic care codifică anticorpii din prezenta invenție. Într-o variantă de realizare, prezenta invenție furnizează o moleculă de ADN care cuprinde o SEQență de polinucleotidă care codifică un HC, în care SEQența de aminoacizi a HC este SEQ ID NR. ID NR: 20.

Intr-o variantă de realizare, prezenta invenție furnizează o moleculă de ADN care cuprinde o SEQență de polinucleotide care codifică un LC, în care SEQența de aminoacizi a LC este SEQ ID NR. ID NR: 21.

Intr-o altă variantă de realizare, prezenta invenție furnizează o moleculă de ADN care cuprinde o SEQență de polinucleotide care codifică un HC având SEQența de aminoacizi din SEQ ID NR: 9 și cuprinzând o SEQență de polinucleotid care codifică o LC având SEQența de aminoacizi din SEQ ID NR: 10 Intr-o variantă particulară, SEQența polinucleotidică care codifică HC avand SEQența de aminoacizi din SEQ ID NR: 9 este dată de SEQ ID NR: 20 și SEQența polinucleotidică care codifică LC având SEQența de aminoacizi din SEQ ID NR: 10 este dată de SEQ ID NR. 21.

Prezenta invenție furnizează, de asemenea, o celulă de mamifer transformată cu moleculă (molecule) de ADN, care celulă este capabilă să exprime un compus care cuprinde un HC și un LC conform prezentei invenții, în care HC este dat de SEQ ID NR: 9 și LC este dată de SEQ ID NR. 10. De asemenea, prezenta invenție oferă un procedeu pentru producerea unui compus care cuprinde HC și LC, cuprinzand cultivarea celulei de mamifer in condiții astfel încât anticorpul prezentei invenții să fie exprimat. Prezenta invenție furnizează, de asemenea, un anticorp produs prin procedeul menționat.

Intr-un alt exemplu de realizare, prezenta invenție furnizează un anticorp care intră în contact cu IL-33 uman la un epitop nou, în care epitopul are următoarele reziduuri ale SEQ ID NR: 19: Ser în poziția 23; Pro în poziția 24; Ile în poziția 25; Thr în poziția 26; Glu în poziția 27; Tyr în poziția 28; Leu în poziția 29; Tyr în poziția 69; Glu la poziția 71; Val la poziția 83; Asp la poziția 84; Lys în poziția 86; Leu în poziția 88; Leu în poziția 126; Asn la poziția 128; Intalnit la pozitia 129; Asn la poziția 132; Cys în poziția 133; Val la poziția 134; Glu la poziția 175; și Thr în poziția 176. Intr-un astfel de exemplu de realizare, epitopul este determinat prin cristalografie cu raze X in cazul in care orice reziduu de pe IL-33 in 4,5A de alt rest pe Fab legat este considerat a fi un site de contact. Termenul "epitop" așa cum este utilizat aici se referă astfel la siturile unui antigen care sunt în contact cu regiunea variabilă a unui anticorp.

Așa cum este utilizat aici, un „anticorp” este o moleculă de imunoglobulină care cuprinde 2 HC și 2 LC interconectate prin legături disulfură. Porțiunea amino terminală a fiecărui LC și HC include o regiune variabilă de aproximativ 100-120 aminoacizi responsabili in principal de recunoașterea antigenului prin CDR-urile conținute în acestea. CDR-urile sunt intercalate cu regiuni care sunt mai conservate, denumite regiuni cadru („FR”). Fiecare LCVR și HCVR este compus din 3 CDR-uri și 4 FR-uri, dispuse de la amino-terminal la carboxi-terminal în următoarea ordine: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Cele 3 CDR ale LC sunt denumite „LCDR1, LCDR2 și LCDR3”, iar cele 3 CDR ale HC sunt denumite „HCDR1, HCDR2 și HCDR3”. CDR-urile conțin majoritatea reziduurilor care formează interacțiuni specifice cu antigenul. Adică, CDR-urile conțin majoritatea reziduurilor care sunt în contact cu (in 4,5 A) reziduurile antigenului. Capacitatea funcțională a unui anticorp de a lega un anumit antigen este, prin urmare, influențată în mare măsură de resturile de aminoacizi din cele șase CDR. Atribuirea aminoacizilor la domeniile CDR din regiunile LCVR și HCVR ale anticorpilor din prezenta invenția se bazează pe binecunoscuta convenție de numerotare Kabat (Kabat și colab., Ann. NY Acad. Sci. 190: 382-93 (1971); Kabat și colab., SEQențe de proteine de interes imunologic, ediția a cincea, SUA Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242 (1991)), North numeration convention (North et al., A New Clustering of Antibody CDR Loop Conformations, Journal of Molecular Biology, 406: 228-256 (2011) ) și Chothia (Chothia C, Lesk AM. Structuri canonice pentru regiunile hipervariabile ale imunoglobulinelor. J. Mol. Biol. 1987; 196: 901-17. Chothia C, Lesk AM, Tramontano A, Levitt M, Smith-Gill SJ , Air G, Sheriff S, Padlan EA, Davies D, Tulip WR și colab. Conformări ale regiunilor hipervariabile ale imunoglobulinei. Nature. 1989; 342: 877-83). CDR-urile anticorpilor prezentei invenții sunt definite în conformitate cu Tabelul 1.

Tabelul 1. Convențiile de numerotare CDR utilizate pentru a defini CDR-urile anticorpilor conform prezentei invenții.

CDR	Pornirea definiției reziduurilor de aminoacizi	Definiți reziduurile de aminoacizi De:
HCDR1	Chothia	Kabat/North
HCDR2	Kabat	Kabat
HCDR3	Chothia/Kabat	Chothia/Kabat
HCDR1	Chothia/Kabat/North	Chothia/Kabat/North
HCDR2	Chothia/Kabat	Chothia/Kabat/North
HCDR3	Chothia/Kabat/North	Chothia/Kabat/North

Anticorpii conform prezentei invenții pot fi preparați și purificați folosind metode cunoscute. De exemplu, SEQențele de ADNc care codifică un HC (de exemplu SEQența de aminoacizi dată de SEQ ID NO: 9) și o LC (de exemplu, SEQența de aminoacizi dată de SEQ ID NO: 10) pot fi clonate și transformate într-un GS vector de expresie (sintetază de glutamină). Vectorul de expresie al imunoglobulinei proiectat poate fi apoi transfecat stabil în celule CHO. După cum va aprecia un specialist în domeniu, expresia anticorpilor la mamifere va avea ca rezultat glicozilarea, în mod tipic la siturile de N-glicozilare foarte conservate din regiunea Fc. Clonele stabile pot fi verificate pentru exprimarea unui anticorp care se leagă în mod specific de IL-33. Clonele pozitive pot fi extinse în mediu de cultură fără ser pentru producerea de anticorpi în bioreactoare. Mediul, în care a fost secretat un anticorp, poate fi purificat prin tehnici convenționale. De exemplu, mediul poate fi aplicat în mod convenabil la o coloană de proteină A sau G Sepharose FF care a fost echilibrată cu un tampon compatibil, cum ar fi soluție salină tamponată cu fosfat. Coloana este spălată pentru a elimina componentele de legare nespecifice. Anticorpul legat este eluat, de exemplu, prin gradient de pH și fracțiile de anticorp sunt detectate, cum ar fi prin SDS-PAGE, și apoi reunite. Anticorpul poate fi concentrat și / sau filtrat steril folosind tehnici comune. Agregatul solubil și multimerii pot fi îndepărtați în mod eficient prin tehnici comune, incluzând excluderea dimensiunii, interacțiunea hidrofobă, schimbul de ioni sau cromatografia pe hidroxipatită. Produsul poate fi imediat congelat, de exemplu la  $-70^{\circ}\text{C}$ , sau poate fi liofilizat.

Un anticorp conform prezentei invenții poate fi încorporat într-o compoziție farmaceutică care poate fi preparată prin metode bine cunoscute în domeniu și cuprinde un anticorp din prezenta invenție și unul sau mai mulți purtători, diluanți sau excipienți acceptabili farmaceutic.

O compoziție farmaceutică cuprinzând o cantitate eficientă de anticorpi conform prezentei invenții poate fi administrată unui pacient cu risc sau care prezintă boli sau tulburări, așa cum este descris aici prin căi parentale (de exemplu, subcutanat, intravenos, intraperitoneal, intramuscular sau transdermic). O "cantitate eficientă" se referă la o cantitate necesară (la dozaje și pentru perioade de timp și pentru mijloacele de administrare) pentru a obține rezultatul terapeutic dorit. O cantitate eficientă de anticorp poate varia în funcție de factori precum starea bolii, vârsta, sexul și greutatea individului și capacitatea anticorpului de a obține un răspuns dorit la individ. O cantitate eficientă este, de asemenea, una în care orice efecte toxice sau dăunătoare ale anticorpului conform prezentei invenții sunt compensate de efectele benefice terapeutic.

Anticorpii conform prezentei invenții pot fi utilizați în tratamentul pacienților. Mai precis, anticorpii prezentei invenții sunt de așteptat să trateze boli alergice, cum ar fi dermatita atopică, astmul, rinita alergică și alergia alimentară. Bolile alergice sunt un set de afecțiuni cronice care implică răspunsuri imune anormale la substanțe care sunt de obicei inofensive pentru majoritatea oamenilor. Anticorpii prezentei invenții sunt, de asemenea, așteptați să trateze esofagita eozinofilă, sclerodermia / scleroza sistemică, colita ulcerativă și boala pulmonară obstructivă cronică. Anticorpii din prezenta invenție sunt, de asemenea, așteptați să trateze boala Crohn.

Așa cum se utilizează în mod alternativ aici, „tratament” și / sau „tratare” și / sau „tratament” sunt destinate să se refere la toate procesele în care poate exista o încetinire, întrerupere, oprire, control, oprire sau inversare a progresiei tulburărilor descris aici, dar nu indică neapărat o eliminare totală a tuturor simptomelor tulburării. Tratamentul include administrarea unui anticorp conform prezentei invenții pentru tratamentul unei boli sau afecțiuni la un om care ar beneficia de o reducere a activității IL-33 și include: (a) inhibarea progresiei ulterioare a bolii; și (b) ameliorarea bolii, adică provocarea regresiei bolii sau tulburării sau ameliorarea simptomelor sau complicațiilor acestora.

#### 50 Producerea anticorpilor

Un anticorp anti-IL-33 parental uman a fost optimizat pentru legarea de IL-33 uman. Pentru a realiza acest lucru, CDR-urile VH și VL izolate au fost randomizate prin mutagenză și

anticorpilor rezultați au fost testați pentru legarea la IL-33 umană utilizând ELISA. Mutațiile care îmbunătățesc afinitatea au fost apoi combinate pentru a produce anticorpul 23, care a fost apoi optimizat utilizând o abordare bibliotecă cadru. Pentru biblioteca cadru, douăsprezece gene umane ale liniei germinale VH (1-24, 1-46, 1-69, 2-5, 3-15, 3-23, 3-53, 3-72, 4-04, 4-39, 5-51 și 6-01) și opt gene cadru VL umane (A-19, A-26, A-27, B-2, B-3, L-2, L-12 și O-2) care conțin anticorpi 23 CDR-uri au fost sintetizate și donate în vectori de expresie IgG4 umane cu lanț greu și ușor. După 293 HEK transfecție tranzitorie a tuturor celor 96 de combinații de lanț greu și ușor, supernatantele au fost testate de ELISA pentru legarea la IL-33 umană acoperită direct pe o placă și la IL-33 biotinitată în soluție după captarea IgG umană de la supernatanti cu un anti-anticorp uman kappa.

10 Pentru dezvoltarea ulterioară a fost ales un anticorp uman cu CDR derivat din anticorpul 23, care utilizează cadrul uman cu lanț greu 3-53 și cadrul lanțului ușor uman A27, (Anticorpul 75). Expresia anticorpului 75 în CHO tranzitoriu a dus la titruri de expresie mai mari în comparație cu anticorpul 23. Mai mult, purificarea anticorpului 75 a condus la randamente de purificare mai mari decât anticorpul 23. Legarea nespecifică redusă de heparină a fost observată și cu anticorpul 75 comparativ cu anticorpul 23. Per ansamblu, anticorpul 75 a avut proprietăți preferate în comparație cu anticorpul 23. Anticorpul 75 legat de IL-33 uman cu o afinitate de 14,5 pM și legat de IL-33 de cinomolg cu o afinitate de 12,400 pM, reprezentând o diferență de ~850 ori reactivitate încrucișată a speciilor.

Anticorpul 75 a fost apoi optimizat pentru legarea la cinomolgul IL-33. Pentru a realiza acest lucru, CDR-urile VH și VL izolate ale anticorpului 75 au fost randomizate prin mutageneză și anticorpii rezultați au fost examinați pentru legarea la IL-33 umană și IL-33 cinomolgul prin ELISA. Mutațiile care îmbunătățesc afinitatea la cinomolg care nu au avut un impact semnificativ asupra afinității pentru IL-33 uman au fost apoi combinate pentru a produce anticorpul 54. Anticorpul 54 legat de IL-33 uman cu o afinitate de 46 pM și legat de cinomolgul IL-33 cu o afinitate de 217 pM reprezentând o diferență de 5 ori în reactivitatea încrucișată a speciilor. Anticorpul 54 a fost apoi conceput în continuare pentru a reduce imunogenitatea potențială, ceea ce a dus la anticorpul 43. Numerele de identificare a SEQenței de aminoacizi sunt furnizate mai jos pentru anticorpii 43, 54 și 75.

	HC	LC	HCVR	LCVR
Ab75	SEQ ID NR: 1	SEQ ID NR: 2	SEQ ID NR: 3	SEQ ID NR: 4
Ab54	SEQ ID NR: 5	SEQ ID NR: 6	SEQ ID NR: 7	SEQ ID NR: 8
Ab43	SEQ ID NR: 9	SEQ ID NR: 10	SEQ ID NR: 11	SEQ ID NR: 12

### 30 Exemple

#### Exemplul 1: Exprimarea și purificarea anticorpilor exemplificați

Anticorpii conform invenției pot fi biosintezați, purificați și formulați pentru administrare prin metode bine cunoscute. O celulă gazdă adecvată, cum ar fi HEK 293 sau CHO, este transfectată fie în mod tranzitor, fie stabil, cu un sistem de expresie pentru secretarea anticorpilor utilizând un raport cu vectorul HC: LC este predeterminat dacă se utilizează doi vectori, sau un sistem de vector unic care codifică atât lanțul greu cât și cel ușor. Vectorii potriviți pentru exprimarea și secreția anticorpilor din aceste celule gazdă utilizate în mod obișnuit sunt bine-cunoscuți.

După exprimarea și secreția anticorpului, mediul este clarificat pentru a îndepărta celulele și mediul clarificat este purificat folosind oricare dintre numeroasele tehnici utilizate în mod obișnuit. De exemplu, mediul poate fi aplicat pe o coloană de proteină A sau G care a fost echilibrată cu un tampon, cum ar fi soluție salină tamponată cu fosfat (pH 7,4). Coloana este spălată pentru a elimina componentele de legare nespecifice. Anticorpul legat este eluat, de exemplu, printr-un gradient de pH (cum ar fi un tampon fosfat de sodiu 0,1 M pH 6,8 până la un tampon citrat de sodiu 0,1 M pH 2,5). Frațiile de anticorpi sunt detectate, de exemplu prin SDS-PAGE, și apoi sunt grupate. Purificarea ulterioară este opțională, în funcție de utilizarea intenționată. Anticorpul poate fi concentrat și / sau filtrat steril folosind tehnici comune. Alte materiale decât anticorpul, cum ar fi celulele gazdă și componentele mediului de creștere, și agregatele solubile și multimerii anticorpului, pot fi reduse sau îndepărtate în mod eficient prin tehnici comune, incluzând excluderea dimensiunii, interacțiunea hidrofobă, schimbul de cationi, schimbul de anioni, afinitatea sau cromatografie hidroxiapatită. Puritya anticorpului după aceste etape de cromatografie este de obicei mai mare de 95%. Produsul poate fi congelat la -70 ° C sau poate fi liofilizat.

Anticorpul exemplificat 43 a fost exprimat fie în mod tranzitor în celule CHO după cotransfecție a vectorilor ADN separați de expresia lanțului greu și a lanțului ușor care au încorporat SEQențele ADN din SEQ ID NR: 20 și respectiv SEQ ID NR: 21, sau a fost exprimat stabil în

- celule CHO după transfecția unui singur vector ADN care a încorporat SEQențele ADN atât ale SEQ ID NR: 20, cât și SEQ ID NR: 21, care codifică lanțul greu și respectiv lanțul ușor. Mediul recoltat fie dintr-o cultură CHO tranzitorie de 7 zile, fie dintr-o cultură în vrac CHO de 14 zile a fost clarificată și supernatantul brut rezultat a fost purificat prin cromatografie cu Proteina A.
- 5 Anticorpul 43 s-a legat de rășina proteinei A și a fost eluat folosind un tampon cu pH scăzut. Anticorpul eluat a fost purificat în continuare folosind fie cromatografia preparativă de excludere a mărimii (SEC), pentru materialul produs din CHO tranzitoriu, fie folosind cromatografia cu schimb de cationi ca etapă de lustruire pentru materialul produs din CHO stabil. Purity finală a anticorpului 43 a fost evaluată prin SDS-PAGE, SEC-HPLC analitică și analiză LC / MS.
- 10 Nivelurile de endotoxină s-au dovedit a fi <1EU / mg utilizând analiza Endosafe-PTS. Anticorpul purificat 43 a fost depozitat în PBS (soluție salină tamponată cu fosfat), pH 7,2 la 4 ° C.

Afinitate și cinetică de legare *in vitro*

- Cinetica de legare și afinitatea anticorpului 43 la om, maimuță cinomolgă, șoarece, șobolan și iepure IL-33 este determinată folosind o analiză de rezonanță a plasmonului de suprafață fie pe un instrument Biacore T100, fie T200 amorsat cu HBSEP + (GE Healthcare, 10 mM Hepes pH7 .4, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA, 0,05% surfactant P20) tampon de funcționare și temperatura de analiză setată la 37 ° C. Un cip CM4 care conține proteina A imobilizată (generat folosind cuplarea amină standard NHS-EDC) pe toate cele patru celule de flux (Fc) este utilizat pentru a utiliza o metodă de captare. Probele de anticorpi sunt preparate la 10 mg / ml în tampon de rulare.
- 15 Probele IL-33 de șoareci, șobolani și iepuri sunt preparate la concentrații finale de 1000, 500, 250, 125, 63, 31, 16 și 0 nM în tampon de rulare. Probele IL-33 umane și Cynomologus sunt preparate la concentrații finale de 250, 125, 63, 31, 16, 8, 4, 2, 1 și 0 nM în tampon de rulare. Fiecare ciclu de analiză implică etapele (1) captării probelor de anticorpi pe celule de flux separate (Fc2, Fc3 sau Fc4); (2) injectarea a 200 mL de IL-33 peste toate celulele de flux la 100 mL / min; (3)
- 20 revenirea la debitul tampon pentru cel puțin 10 min la 100 ml / min pentru a monitoriza disocierea complexă; (4) regenerarea suprafeței cipului cu două injecții SEQențiale de 7,5 microlitri de glicină, pH 1,5; și (5) echilibrarea suprafeței cipului timp de 5 minute înainte de repetarea ciclului. Fiecare concentrație de IL-33 este injectată în duplicat. Datele sunt procesate folosind standard cu dublă referință și se potrivesc la un model de legare 1:1 utilizând software-ul de evaluare Biacore T100, versiunea 2.0.1, pentru a determina rata de asociere (on-rate,  $k_{on}$ , unități  $M^{-1}s^{-1}$ ) și disocierea rata (off-rate,  $k_{off}$ ,  $s^{-1}$  unități). Constanta de disociere a echilibrului ( $K_D$ ) este calculată din relația  $K_D = k_{off} / k_{on}$  și este în unități molare. Trei replici experimentale (n) sunt efectuate pentru legarea anticorpului 43 de maimuța IL-33 umană și cynomolgus.

- Urmand procedurile, in esență, așa cum s-a descris mai sus, anticorpul 43 a avut un răspuns de legare dependent de concentrație la IL-33 uman și la IL-33 maimuță cynomolgus. La cea mai mare concentrație de șoareci, șobolani și iepuri injectați IL-33 (1000 nM) semnalul de răspuns de legare nu a atins semnalul teoretic de răspuns semimaximal. Ca rezultat,  $K_D$ -ul anticorpului 43 la șoarece, șobolan și iepure IL-33 a fost estimat a fi > 1000 nM. Metode similare descrise mai sus au fost utilizate pentru a determina cinetica de legare și afinitatea anticorpului 75 și anticorpul 54.
- 40 Metode similare au fost, de asemenea, utilizate pentru a determina cinetica de legare și afinitatea unui anticorp IgG4 anti-IL-33 (care nu este conform prezentei invenției) având SEQențele HCVR și LCVR ale APE4909 (dezvăluite în WO15106080; denumite aici "Anticorp 6"). Aceste rezultate sunt prezentate în Tabelul 2.

- 45 Tabelul 2: Cinetica de legare a IL-33 și afinitatea anticorpilor conform prezentei invenției și a anticorpului 6.

Anticorp	Antigen	$k_{on}$ ( $M^{-1}s^{-1}$ ) Avg±SD	$k_{off}$ ( $M^{-1}s^{-1}$ ) Avg±SD	$K_D$ ( $M^{-1}s^{-1}$ ) Avg±SD	N
Anticorp75*	IL-33 uman	1.7±0.5x 10 <sup>6</sup>	2.6±0.1x 10 <sup>-5</sup>	14.5±1.5	3
Anticorp75*	IL-33 cinomolog	1.7±0.6x 10 <sup>6</sup>	1.9±0.1x 10 <sup>-2</sup>	12400±4000	3
Anticorp54*	IL-33 uman	1.5±0.5x 10 <sup>6</sup>	6.8±1.3x 10 <sup>-5</sup>	46±9	3
Anticorp54*	IL-33 cinomolog	1.5±0.2x 10 <sup>6</sup>	3.4±0.5x 10 <sup>-4</sup>	217±50	3
Anticorp43	IL-33 uman	1.5±0.1x 10 <sup>6</sup>	7.2±1.7x 10 <sup>-5</sup>	49±14	3
Anticorp43	IL-33 cinomolog	15±0.2x 10 <sup>6</sup>	51±2.0x 10 <sup>-5</sup>	338±45	3
Anticorp6*	IL-33 uman	1.6±0.1x 10 <sup>6</sup>	4,0±0.9x 10 <sup>-4</sup>	252±73	2
Anticorp6*	IL-33 cinomolog	18±0.6x 10 <sup>6</sup>	1.3±0.1x 10 <sup>-3</sup>	804±377	2
Anticorp43	IL-33 de	$K_D > 1000$ nM			1

	soarece		
Anticorp43	IL-33 de sobolan	$K_D > 1000$ nM	1
Anticorp43	IL-33 de iepure	$K_D > 1000$ nM	1

\*Testat in zile diferite

#### Caracterizarea *in vitro* a legării la IL-33 uman și la alți membri ai familiei IL-1.

BIAcore biosensor 2000 este utilizat pentru a demonstra specificitatea de legare a anticorpului 43 la IL-33 uman și pentru a arăta că anticorpul exemplificat nu se leagă de alți membri ai familiei de proteine IL-1 umane.

- 5 Proteina A (Calbiochem) este cuplată prin intermediul grupărilor aminice libere la grupările carboxil pe celulele de flux 1 și 2 ale unui cip biosenzor CM5 (GE Healthcare) utilizând un amestec de N-etil-N-(dimetilaminopropil)-carbodiimidă (EDC) și N-hidroxisuccinimidă (NHS). Pentru a captura anticorpi de control pozitiv, IgG anti-capră de iepure (specific Fc) este cuplat cu celula de flux 3, iar IgG anti-șobolan de iepure (specific Fc) este cuplat cu celula de flux 4 (ambele
- 10 din Jackson ImmunoResearch). Celulele de flux sunt monitorizate cu un debit de 30 ml / minut folosind un tampon conținând 0,01 M HEPES, pH 7,4, 150 mM NaCl, 0,005% surfactant P20. Anticorpul 43 este capturat pe celula de flux 2 pentru a produce un total de 300 până la 800 de unități de răspuns (RU; rezultatele reflectă celula de flux 2 minus celula de flux 1). Testele de legare sunt urmate de o etapă de regenerare folosind glicină-HCl (pH 1,5) între fiecare ciclu.
- 15 Celula de flux 1 este utilizată ca control pentru a monitoriza legarea nespecifică a analiților testați. Anticorpul exemplificat este testat cu toți analiții din familia de proteine IL-1 umană, conform listei la concentrația de 500 nM.

Urmând procedurile descrise mai sus, rezultatele din Tabelul 3 arată că Anticorpul 43 se leagă doar de IL-33 uman și nu de ceilalți membri ai familiei IL-1.

- 20 Tabelul 3: Anticorp 43 se leagă în mod specific de IL-33.

Ligand	Exemplificat	Legarea anticorpilor	Legarea controlului pozitiv
IL-33	DA		
IL-1 $\alpha$	NU		DA
IL-1 $\beta$	NU		DA
IL-1RA	NU		DA
IL-18	NU		DA
IL-36 $\alpha$	NU		DA
IL-36 $\beta$	NU		DA
IL-36 $\gamma$	NU		DA
IL-36RA	NU		DA
IL-37	NU		DA

#### Neutralizarea IL-33 în testul reporter GEC NF $\kappa$ B-Luciferase *in vitro*.

- 25 Celulele endoteliale glomerulare umane (GEC) transfectate stabil cu un construct NF $\kappa$ B-luciferază sunt utilizate pentru a determina capacitatea anticorpului 43 de a inhiba activitatea NF $\kappa$ B indusă de IL-33. Linia GEC exprimă în mod natural receptorul ST2 și co-receptorul său IL1RAP. Ca răspuns la IL-33 uman, calea NF $\kappa$ B este activată în GEC.

- 30 Celulele GEC-NF $\kappa$ B-luc sunt cultivate în mediul de testare (mediul EGM BulletKit (LONZA) plus puromicină). În ziua anterioară testului, celulele GEC-NF $\kappa$ B-luc sunt placcate la 5.000 de celule în 50 ml / godeu în plăci tratate cu collagen I cu pereți albi (BD Biocoat), iar plăcile sunt incubate peste noapte.

- A doua zi celulele sunt tratate cu anticorpul 43 în prezența IL-33. Pentru fiecare test, se adaugă 25 ml de anticorp exemplificat pe godeu la o doză cuprinsă între 0 și 133,3 nM per godeu. Se adaugă apoi 25 ml de IL-33 umană la fiecare godeu la o concentrație finală de 126 pM (pe baza MW = 20kDa). ST2 monomeric uman (IL1RL1) este utilizat ca control pozitiv în test într-un
- 35 interval de doză de la 0 la 142,9 nM (baza concentrației finale pe MW = 35kDa), iar un anticorp de control izotip este utilizat ca control negativ în test intervalul de dozare de la 0 la 133,3 nM (baza concentrației finale pe MW = 75kDa). Toate probele sunt rulate în trei exemplare. Plăcile cu 96 de godeuri sunt incubate la 37°C, 95% umiditate relativă, 5% CO<sub>2</sub> timp de 4 ore, după care se adaugă 100 ml / godeu de soluție One-Glo Luciferase pentru a măsura activitatea luciferazei și plăcile sunt
- 40 citite pe un luminometru (Perkin Elmer Victor3). Rezultatele sunt prezentate mai jos în Tabelul 4.

Tabelul 4: Anticorp exemplificat IC<sub>50</sub> (pM, Avg 6 SD) în testul de activitate *in vitro* NF $\kappa$ B-GEC-luciferază.

Anticorp	IL-33 IC <sub>50</sub> uman	IL33 IC <sub>50</sub> - cino
Anticorp 43	330±112	1918±152

Anticorp 54*	139±98	851±500
Anticorp 75*	289±67	ND
Anticorp 6*	292±158	1031
Control pozitiv	426±115	175±21
*Testat în zile diferite		

Urmand procedurile in esență descrise mai sus, anticorpul 43 inhibă IL-33 umană și cino IL-33, dar nu activitatea NFκB indusă de șoarece, șobolan sau iepure IL-33 într-o manieră dependentă de doză. Media IC<sub>50</sub> din trei experimente independente pentru neutralizarea umană și cino este rezumată în tabelul 4. Anticorpul de control negativ nu a inhibat activitatea NFκB în

5

#### Neutralizarea secreției GM-CSF indusă de IL-33 din mastocite umane *in vitro*.

Se determină inhibarea eliberării GM-CSF indusă de IL-33 în mastocite umane prin tratamentul cu anticorpul 43. Mastocitele umane care exprimă în mod natural receptorul ST2 (IL1RL1) și co-receptorul său IL1RAP sunt diferențiate în cultură de celulele stem din sângele cordonului uman folosind StemSpan Medium (StemCell) și SCF / IL-6. În ziua testului, mastocitele sunt placcate la 50.000 de celule în 50 ml / godeu în plăci de cultură tisulară cu 96 de godeuri în mediul de cultură. Celulele sunt tratate cu IL-33 în prezența sau absența anticorpilor. Pentru fiecare test, se adaugă 25 ml de anticorp exemplificat 4X pe godeu în doză interval de la 0 la 30 nM. 25 ml de IL-33 uman 4X se adaugă la fiecare godeu la o concentrație finală 0,5 nM. Mediul de testare singur este utilizat ca un control fără tratament și un ST2 monomeric uman care este utilizat ca un control pozitiv la un interval de doză de la 0 la 30 nM. Anticorpul martor izotip testat la 30 nM este utilizat ca martor negativ. Testarea se face în trei exemplare. Plăcile cu 96 de godeuri sunt plasate în incubatorul de cultură tisulară (37°C, 95% umiditate relativă, 5% CO<sub>2</sub>) timp de 16 ore. Se colectează 100 ml / godeu de supernatant pentru a măsura nivelurile GM-CSF prin ELISA comercială (sisteme de cercetare și dezvoltare).

10

15

20

Urmand procedurile descrise mai sus, anticorpul 43 a inhibat complet secreția GM-CSF indusă de IL33 umană din mastocite umane într-o manieră dependentă de doză, cu un IC<sub>50</sub> de 0,3 nM, care a fost mai mare decât receptorul solubil de control pozitiv IC<sub>50</sub> de 7,6 nM. Într-un alt experiment similar, anticorpul 54 a inhibat secreția GM-CSF indusă de IL33 umană de la mastocite umane cu un IC<sub>50</sub> de 0,265 nM și anticorpul 6 a inhibat secreția IL33 umană indusă de GM-CSF din mastocite umane cu un IC<sub>50</sub> de 0,811 nM. Anticorpul control izotip nu a inhibat secreția GM-CSF indusă de IL-33. Rezultatele sunt reprezentative pentru două experimente independente.

25

#### Inhibarea producției de IL-5 indusă de IL-33 *in vivo*.

Pentru a confirma neutralizarea IL-33 *in vivo*, pentru a determina dacă anticorpul 43 este capabil să neutralizeze funcția IL-33 umană și să inhibe producția de IL-5 de șoarece *in vivo*, șoarecii C57BL / 6 (n = 5) sunt injectați intraperitoneal cu 0,94 mg / kg, 0,282 mg / kg sau 0,094 mg / kg de anticorp sau cu un anticorp control izotip la 0,94 mg / kg. Într-o zi după injectare, șoarecii sunt provocați cu 0,025 mg / kg de IL-33 uman prin injecție intraperitoneală. Șase ore după provocarea IL-33 umană, șoarecii sunt sacrificați și serul este colectat. Serul este analizat pentru producerea IL-5 de șoarece folosind un ELISA comercial (sisteme R&D) conform instrucțiunilor producătorului.

30

35

Rezultatele au indicat faptul că Anticorpul 43 este capabil să inhibe complet producția de IL-5 de șoarece într-o manieră dependentă de doză. Nivelurile de IL-5 în serul de șoareci injectați cu 0,94 mg / kg, 0,282 mg / kg sau 0,094 mg / kg de anticorp exemplificat au fost 0,0360,004 ng / mL, 0,166660,036 ng / mL și 0,43060,095 ng / mL, respectiv. Anticorpul martor negativ nu inhibă producția umană de IL-5 indusă de IL-33 de șoarece. Aceste date demonstrează că Anticorpul 43 inhibă producția de IL-5 de șoarece prin neutralizarea IL-33 umană *in vivo*.

40

45

#### Eficacitatea *in vivo* a unui anticorp IL-33 de șoarece surogat într-un model de inflamație a căilor respiratorii

Un anticorp surogat este dezvoltat pentru a neutraliza IL-33 de șoarece (mIL-33) pentru utilizare în modele de boală preclinică. Surogatul este un anticorp monoclonal IgG1 murin care neutralizează mIL-33 în teste *in vitro*. Capacitatea administrării sistemice a anticorpului anti-mIL-33 de a afecta răspunsul inflamator al căilor respiratorii la provocarea Alternaria este determinată *in vivo*. Șoarecii femele BALB / c (n = 5 per grup) sunt injectați subcutanat cu 25 mg / kg de anticorp anti-mIL-33 sau izotip martor în ziua 0. Șoarecele ST2-Fc, o formă solubilă a unuia dintre co-receptori IL-33 care poate neutraliza mIL-33 în teste *in vitro* (control pozitiv), este injectat la 12,5 mg / kg intraperitoneal în zilele 1 și 2, cu 30 de minute înainte de administrarea Alternaria. Extractul alternarian (50 mg în 20 ml PBS) se administrează intra-nazal fiecărui șoarece în zilele 1

50

și 2. Șoarecii sunt sacrificați în ziua 3 cu inhalare de CO<sub>2</sub> și sângele este colectat imediat prin puncție cardiacă pentru prepararea serului.

Fluidul de spălare alveolar bronșic (BAL) este preparat prin spălarea plămânilor cu 10 spălări (500 ml fiecare spălare) de injecție cu PBS și retragere printr-o canulă în traheea expusă a fiecărui șoarece. Lichidul BAL este centrifugat la 200g timp de 10 minute și supernatantul este îndepărtat și congelat. Celulele sunt resuspendate în 1 ml tampon ACK (Sigma) pentru a liza celulele roșii din sânge, sunt spălate și sunt resuspendate în 0,5 ml de PBS pentru numărare. Eozinofilele sunt numărate utilizând lichid de diluare a eozinofilului și colorare (ENG Scientific, Cat. ES-3101), iar celulele totale sunt numărate cu albastru de tripan. Fluidul BAL este testat folosind IL-5 de șoarece comercial și ELIT-uri 3 / YM1 (Chi3L3 / YM1) de tip chitinază 3 (sisteme R&D) și pentru expunerea la anticorpi. Rezultatele sunt prezentate mai jos în Tabelul 5.

Tabelul 5: Niveluri de IL-5 și Chi3L3 / YM1 și numărul de eozinofile și numărul total de celule din lichidul BAL.

Celule / citokine	Necontestat	Controlul isotipului	Anti-mIL-33	Controlul pozitiv
Eozinofile (# celule)	32000±13565	340000 ±70711	120000 ±51769	112000 ±57480
IL-5 (pg/mL)	2 ± 0	69.6 ± 27.31	2 ± 0	9.2 ±.248
Chi3L3/YM1 (ng/mL)	17.4 ± 2.064	108.6±28.7	27.4 ± 4.986	37.4 ±6.313
Celule totale (# celule)	104000 ±20396	408000 ±95833	144000 ±31241	152000 ±44989

Urmand procedurile esențiale descrise mai sus, provocarea Alternaria a crescut numărul de celule, în principal eozinofile, prezente în fluidul BAL. De asemenea, a indus producerea de citokine precum IL-5 și Chi3L3 / YM1. Administrarea sistemică a anticorpului anti-mIL-33 a redus semnificativ eozinofilul și infiltrarea totală a celulelor, măsurate prin numărul de celule BAL și a scăzut nivelul IL-5 și Chi3L3 / YM1 în fluidul BAL. Aceste rezultate demonstrează că inhibarea mIL-33 a redus markeri inflamatori multipli în acest model de inflamație a căilor respiratorii.

#### **Cartografierea epitopului prin cristalografie cu raze X**

##### Cristalografie cu raze X

O soluție de 10,6 mg / ml de complex hIL33: FAB este selectată pentru cristale utilizând ecrane personalizate și disponibile în comerț. Experimentele de difuzie a vaporilor sunt stabilite la 22 ° C sub formă de picături de cristalizare de 400 nL + 400 nL (soluție de proteină + godeu) cu soluție de godeu de 50 ml (0,2 M sulfat de amoniu și 30% greutate / volum polietilenglicol 8.000) într-un MRC2 (SWISSCI) așezat picătură pe placă. 20 mM acetat de magneziu este adăugat la proteină pentru a ajuta la cristalizare. Cristalele rezultate sunt congelate rapid în azot lichid după o scufundare rapidă în soluție de godeu care conține 20% etilenglicol adăugat ca agent criogen. Datele cu Raze X de difracție sunt colectate folosind radiații sincrotron la LRL-CAT 31-ID (Advanced Photon Source, Argonne, IL). 180 de cadre sunt colectate la oscilație de 1 ° la o lungime de undă de 0,99731 Å și procesate cu pachete CCP41.

Cristalele aparțin grupului spațial P21212 cu dimensiuni unitare ale celulei a = 70,1 Å b = 194,9 Å c = 46,5 Å α = β = γ = 90 °. O soluție de înlocuire moleculară a complexului hIL33: FAB este obținută cu Phaser2 utilizând modele de intrare din structura PDB 4KC3 și un model FAB generat cu instrumentul de modelare a anticorpilor MOE3 (v2014.9). Soluția de înlocuire moleculară conține 1 complex în unitatea asimetrică. Această soluție suferă ulterior mai multe runde de rafinament și construire de modele cu Buster4 și Coot5 obținând o structură finală cu Rwork de 17,8% și Rfree de 20,3% la 1,40 Å.

Epitopul hIL33 este mapat pentru structura cristalină de înaltă rezoluție a complexului hIL33: FAB utilizând instrumentul Protein Contacts din MOE3 (v2015.10). Instrumentul este utilizat pentru a evalua interacțiunile „distanță”, „covalentă”, „arenă”, „ionică” și „hbond”. Ieșirea pentru interacțiunile inter-lanț este distilată până la nivelul reziduurilor din Microsoft Excel pentru a identifica reziduurile epitop hIL33. Lista finală conține reziduuri hIL33 care se află la 4,5 Å de orice reziduu FAB.

Urmand procedura, în esență, așa cum este descrisă mai sus, un anticorp având aceleași CDR ca Anticorpul 75 contactează IL-33 uman la un epitop dat de următoarele reziduuri ale SEQ ID NR.: 19: Ser în poziția 23; Pro în poziția 24; Ile în poziția 25; Thr în poziția 26; Glu în poziția 27; Tyr în poziția 28; Leu în poziția 29; Tyr în poziția 69; Glu la poziția 71; Val la poziția 83; Asp la poziția 84; Lys în poziția 86; Leu în poziția 88; Leu în poziția 126; Asn la poziția 128; Intalnit la

poziția 129; Asn la poziția 132; Cys în poziția 133; Val la poziția 134; Glu la poziția 175; și Thr în poziția 176. Anticorpul 54 și anticorpul 43 contactează, de asemenea, un epitop substanțial similar pe IL-33 uman.

5 **SECVENȚE**

**HC al anticorpului 75 (SEQ ID NR. 1)**

EVQLVETGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSG  
 GSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTLHGIRAAAYDA  
 FIIWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN  
 SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKR  
 VESKYGPPCPPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEV  
 QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN  
 KGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW  
 ESNQGPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNH  
 YTQKSLSLSLG

**LC de anticorp 75 (SEQ ID NR. 2)**

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVGINLSWYQQKPGQAPRLLIYGASHRAT  
 GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCHQYSQSPPTFGGGTKVEIKRTVAA  
 PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD  
 SKDSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

10

**HCVR al anticorpului 75 (SEQ ID NR. 3)**

EVQLVETGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSG  
 GSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTLHGIRAAAYDA  
 FIIWGQGTLLTVSS

**HCVR al anticorpului 75 (SEQ ID NR. 4)**

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVGINLSWYQQKPGQAPRLLIYGASHRAT  
 GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCHQYSQSPPTFGGGTKVEIK

15

**LCVR al anticorpului 75 (ID SEQ NR. 5)**

EVQLVETGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTFSFYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSG  
 GSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTLHGIRAAAYDA  
 FIIWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN  
 SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKR  
 VESKYGPPCPPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEV  
 QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN  
 KGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW  
 ESNQGPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRW  
 QEGNVFSCSVMHEALHNHNTQKSLSLSLG

**LC a anticorpului 54 (ID SEQ NR. 6)**

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVGINLSWYQQKPGQAPRLLIYGASHRLT  
 GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCHQYSQPPPTFGGGTKVEIKRTVAA  
 PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD  
 SKDSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

20

**HCVR al anticorpului 54 (ID SEQ NR. : 7)**

EVQLVETGGGLIQGGSLRLSCAASGFTFSFYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSG  
 GSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCARTLHGIRAAAYDA  
 FIIWGQGLVTVSS

**LCVR al anticorpului 54 (SEQ ID NR. 8)**

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVGINLSWYQQKPGQAPRLLIYGASHRLT  
 GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCHQYSQPPPFTFGGGTKVEIK

**HC al anticorpului 43 (SEQ ID NR. : 9)**

EVQLVETGGGLIQGGSLRLSCAASGFTFSFYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSG  
 GSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCARTI HGIRAAAYDA  
 FIIWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN  
 SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNV DHKPSNTKVDKR  
 VESKYGPPCPPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEV  
 QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN

5 KGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW  
 ESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNH  
 YTQKSLSLSLG

**LC de anticorp 43 (ID SEQ NR: 10)**

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVGINLSWYQQKPGQAPRLLIYGASHRLT  
 GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCHQYSQPPPFTFGGGTKVEIKRTVAA  
 PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD  
 SKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

**HCVR al anticorpului 43 (SEQ ID NR: 11)**

EVQLVETGGGLIQGGSLRLSCAASGFTFSFYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSG  
 GSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCARTI HGIRAAAYDA

10 FIIWGQGLVTVSS

**LCVR al anticorpului 43 (SEQ ID NR: 12)**

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVGINLSWYQQKPGQAPRLLIYGASHRLT  
 GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCHQYSQPPPFTFGGGTKVEIK

**HCDR1 (SEQ ID NR. 13)**

GFTFSXYAMS

15 In care X in poziția 6 este S sau F.

**HCDR2 (SEQ ID NR. 14)**

AISGSGGSTYYADSVK G

**HCDR3 (SEQ ID NR. 15)**

TXHGIRAA YDAFII

20 In care X in poziția 2 este L sau I.

**LCDR1 (SEQ ID NR. 16)**

RASQSVGINLS

**LCDR2 (ID SEQ NR. 17)**

GASHRXT

25 In care X in poziția 6 este A sau L.

**LCDR3 (SEQ ID NR. 18)**

HQYSQXPPFT

In care X in poziția 6 este S sau P.

**Aminoacizi IL-33 umani 95-270 (SEQ ID NR. 19)**

AFGISGVQKYTRALHDSSITGISPITEYLASLSTYNDQSITFALEDES YEIYVEDLKK  
 DEKKDKVLLSYYESQHPSNESGDGVDGKMLMVTLSP TKDFWLHANNKEHSVEL  
 HKCEKPLPDQAFFVLHNMHSNCV SFECKTDPGVFIGVKDNHLALIKVDSS ENLCT

30 ENILFKLSET

**ADN care codifică HC din SEQ ID NR: 9 (SEQ ID NR: 20)**

GAGGTGCAGCTGGTGGAGACTGGAGGAGGCTTGATCCAGCCTGGGGGGTCCC  
 TGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCTTTTATGCTATGAGCT  
 GGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGG  
 TAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAGATTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCT  
 CCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGC  
 CGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAACGATCCACGGTATACGCGCA  
 GCCTATGATGCTTTTATTATCTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTCACCGTCTCCTC  
 AGCTTCTACCAAGGGCCATCGGTCTTCCCGCTAGCGCCCTGCTCCAGGAGCA  
 CCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGA  
 ACCGGTGACGGTGTCTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACC  
 TTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGAC  
 CGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCTACACCTGCAACGTAGATCAC  
 AAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGTCCAAATATGGTCCCC  
 CATGCCACCCCTGCCAGCACCTGAGGCCGCCGGGGACCATCAGTCTTCTCTG  
 TTCCCCCAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTAC  
 GTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTCAACTGG  
 TACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAG  
 CAGTCAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCGTCTGCACCAGGA  
 CTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCG  
 TCCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAGCCAC  
 AGGTGTACACCCTGCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTACG  
 CCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGG  
 GAAAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGG  
 ACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAGGCTAACCGTGGACAAGAGCAG  
 GTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCAC  
 AACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGGT

5 **ADN care codifică LC-ul SEQ ID NR: 10 (SEQ ID NR: 21)**

GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG  
 AGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTGGCATCAACTTGTCCCTGGT  
 ACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCCAT  
 AGGCTAACTGGCATCCCAGACAGGTTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACT  
 TCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGT  
 CATCAATATAGTCAACCACCTCCCTTCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGG  
 AGATCAAACGGACCGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGAT  
 GAGCAGTTGAAATCTGGAACCTGCTCTGTTGTGTGCCCTGCTGAATAACTTCTA  
 TCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGT  
 AACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGC  
 CTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAAACACAAAGTCT  
 ACGCCTGCGAAGTCAACCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTT  
 CAACAGGGGAGAGTGC

## LISTA SEQENȚELOR

<110> Eli Lilly and Company  
 <120> ANTICORPI ANTI-IL-33 ȘI UTILIZĂRI A acestora  
 5 <130> X21037  
 <150> US 62/414258  
 <151> 28-10-2016  
 <160> 21  
 <170> Brevet In versiunea 3.5  
 10 <210> 1  
 <211> 449  
 <212> PRT  
 <213> SEQență artificială  
 <220>  
 15 <223> Construcție sintetică  
 <400> 1  
 Glu Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu Ile Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
  
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
  
 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
  
 Ala Arg Thr Leu His Gly Ile Arg Ala Ala Tyr Asp Ala Phe Ile Ile  
 100 105 110  
  
 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly  
 115 120 125  
  
 Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser  
 130 135 140  
  
 Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val  
 145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe  
 165 170 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val  
 180 185 190

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val  
 195 200 205

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys  
 210 215 220

Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly  
 225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile  
 245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu  
 260 265 270

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His  
 275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg  
 290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys  
 305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu  
 325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr  
 340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu  
 355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp  
 370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val  
 385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp



Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys  
 195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210 215

<210> 3

<211> 123

<212> PRT

5 <213> SEQență artificială

<220>

<223> Construcție sintetică

<400> 3

Glu Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu Ile Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80

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

10

Ala Arg Thr Leu His Gly Ile Arg Ala Ala Tyr Asp Ala Phe Ile Ile  
 100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 4

<211> 108

<212> PRT

15 <213> SEQență artificială

<220>

<223> Construcție sintetică

<400> 4

# MD/EP 3532499 T2 2021.09.30

19

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 Gly Ile Asn  
20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile  
35 40 45

Tyr Gly Ala Ser His Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Ser Gln Ser Pro Pro  
85 90 95

Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
100 105

<210> 5

<211> 449

<212> PRT

5 <213> SEQență artificială

<220>

<223> Construcție sintetică

<400> 5

Glu Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu Ile Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Phe Tyr  
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
65 70 75 80

MD/EP 3532499 T2 2021.09.30

20

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

Ala Arg Thr Leu His Gly Ile Arg Ala Ala Tyr Asp Ala Phe Ile Ile  
 100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly  
 115 120 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser  
 130 135 140

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe  
 165 170 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val  
 180 185 190

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val  
 195 200 205

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys  
 210 215 220

Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly  
 225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile  
 245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu  
 260 265 270

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His  
 275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg  
 290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys  
 305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu  
 325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr  
 340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu  
 355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp  
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val  
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp  
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His  
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu  
435 440 445

Gly

<210> 6

<211> 215

<212> PRT

5 <213> SEQență artificială

<220>

<223> Construcție sintetică

<400> 6

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 Gly Ile Asn  
20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile  
35 40 45

Tyr Gly Ala Ser His Arg Leu Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Ser Gln Pro Pro Pro  
85 90 95

Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala  
100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser  
115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu  
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser  
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu  
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val  
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys  
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
210 215

- 5 <210> 7  
<211> 123  
<212> PRT  
<213> SEQență artificială  
<220>

10 <223> Construcție sintetică

<400> 7  
Glu Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu Ile Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Phe Tyr  
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
65 70 75 80

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

Ala Arg Thr Leu His Gly Ile Arg Ala Ala Tyr Asp Ala Phe Ile Ile  
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
115 120

<210> 8

<211> 108

<212> PRT

5 <213> SEQență artificială

<220>

<223> Construcție sintetică

<400> 8

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 Gly Ile Asn  
20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile  
35 40 45

Tyr Gly Ala Ser His Arg Leu Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Ser Gln Pro Pro Pro  
85 90 95

Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
100 105

10 <210> 9

<211> 449

<212> PRT

<213> SEQență artificială

<220>

15 <223> Construcție sintetică

<400> 9

# MD/EP 3532499 T2 2021.09.30

24

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Thr	Gly	Gly	Gly	Leu	Ile	Gln	Pro	Gly	Gly
1				5					10					15	
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Phe	Tyr
			20					25					30		
Ala	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35					40					45			
Ser	Ala	Ile	Ser	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
	50					55					60				
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
65					70					75					80
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90						95
Ala	Arg	Thr	Ile	His	Gly	Ile	Arg	Ala	Ala	Tyr	Asp	Ala	Phe	Ile	Ile
			100					105					110		
Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly
		115					120					125			
Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser
		130				135					140				
Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val
145					150					155					160
Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe
				165					170					175	
Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val
			180					185						190	
Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val
		195					200					205			
Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys
	210					215					220				
Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly
225					230					235					240
Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile

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

Gly

&lt;210&gt; 10

&lt;211&gt; 215

5 &lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; SEQență artificială

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Construcție sintetică

&lt;400&gt; 10

MD/EP 3532499 T2 2021.09.30

26

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 Gly Ile Asn  
20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile  
35 40 45

Tyr Gly Ala Ser His Arg Leu Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Ser Gln Pro Pro Pro  
85 90 95

Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala  
100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser  
115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu  
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser  
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu  
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val  
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys  
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
210 215

<210> 11

<211> 123

<212> PRT

5 <213> SEQență artificială

<220>

<223> Construcție sintetică

<400> 11

MD/EP 3532499 T2 2021.09.30

27

Glu Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu Ile Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Phe Tyr  
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
65 70 75 80

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

Ala Arg Thr Ile His Gly Ile Arg Ala Ala Tyr Asp Ala Phe Ile Ile  
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
115 120

<210> 12

<211> 108

<212> PRT

5 <213> SEQență artificială

<220>

<223> Construcție sintetică

<400> 12

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 Gly Ile Asn  
20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile  
35 40 45

Tyr Gly Ala Ser His Arg Leu Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly  
50 55 60  
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro  
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Ser Gln Pro Pro Pro  
85 90 95

10 Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
100 105

<210> 13

<211> 10

<212> PRT

15 <213> SEQență artificială

<220>

<223> Construcție sintetică

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (6) .. (6)  
 <223> Xaa in poziția 6 este Ser sau Phe  
 5 <400> 13  
**Gly Phe Thr Phe Ser Xaa Tyr Ala Met Ser**  
**1 5 10**  
 <210> 14  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 10 <213> SEQență artificială  
 <220>  
 <223> Construcție sintetică  
 <400> 14  
**Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys**  
**1 5 10 15**

**Gly**  
 15 <210> 15  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> SEQență artificială  
 <220>  
 20 <223> Construcție sintetică  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (2) .. (2)  
 <223> Xaa in poziția 2 este Leu sau Ile  
 25 <400> 15  
**Thr Xaa His Gly Ile Arg Ala Ala Tyr Asp Ala Phe Ile Ile**  
**1 5 10**  
 <210> 16  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 30 <213> SEQență artificială  
 <220>  
 <223> Construcție sintetică  
 <400> 16  
**Arg Ala Ser Gln Ser Val Gly Ile Asn Leu Ser**  
**1 5 10**

35 <210> 17  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> SEQență artificială  
 <220>  
 40 <223> Construcție sintetică  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (6) .. (6)  
 <223> Xaa in poziția 6 este Ala sau Leu  
 45 <400> 17  
**Gly Ala Ser His Arg Xaa Thr**  
**1 5**  
 <210> 18  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 50 <213> SEQență artificială  
 <220>  
 <223> Construcție sintetică  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE

<222> (6) .. (6)  
 <223> Xaa in poziția 6 este Ser sau Pro  
 <400> 18  
 His Gln Tyr Ser Gln Xaa Pro Pro Phe Thr  
 1 5 10

5 <210> 19  
 <211> 176  
 <212> PRT  
 <213> Homo Sapiens  
 <400> 19

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

15 <210> 20  
 <211> 1347  
 <212> ADN  
 <213> SEQență artificială  
 <220>

20 <223> Construcție sintetică  
 <400> 20  
 gaggtgcagc tgggtggagac tggaggaggc ttgatccagc ctgggggggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc ttttatgcta tgagctgggt cgcagcagct 120  
 ccaggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtgqta gtggtggtag cacatactac 180

gcagattccg tgaaggcccg attcaaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
 cttcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaacgatc 300  
 cacggtatac ggcagcccta tgatgctttt attatctggg gccagggcac cctggtcacc 360  
 gtctcctcag cttctaccaa gggcccatcg gtcttccgc tagcgccttg ctccaggagc 420  
 acctccgaga gcacagccgc cctgggctgc ctggtcaagg actacttccc cgaaccggtg 480  
 acggtgtcgt ggaactcagc cgcctcgacc agcggcgtgc acaccttccc ggcgtgcta 540  
 cagtctcag gactctactc cctcagcagc gtggtgaccg tgcctccag cagcttgggc 600  
 acgaagacct acacctgcaa cgtagatcac aagcccagca acaccaaggt ggacaagaga 660  
 gttgagtcca aatattggtc cccatgccc cccctgcccag cacctgaggc cgcgggggga 720  
 ccatcagtct tccgttccc cccaaaacc aaggacactc tcatgatctc ccggaccct 780  
 gaggtcactc ggcgtggtgt ggcctgagc caggaagacc ccgaggtcca gttcaactgg 840  
 taogtggatg gcgtggaggt gcataatgac aagacaaagc cgcgggagga gcagttcaac 900  
 agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaacggcaag 960  
 gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagc ctccctcct ccatcgagaa aacctctcc 1020  
 aaagccaaag ggcagccccc agagccacag gtgtacacc tgcctccatc ccaggaggag 1080  
 atgaccaaag accaggtcag cctgacctgc ctggtcaay gcttctacc cagcgacatc 1140  
 gccgtggagt gggaaagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gctccctg 1200  
 ctggactccg acggctcctt ctctctctac agcaggtcaa ccgtggacaa gacnaggtgg 1260  
 caggagggga atgtctctc atgctcctg atgcatgag ctctgcacaa ccaatcaca 1320  
 cagaagagcc tctccctgct tctgggt 1347

<210> 21

5 <211> 645

<212> ADN

<213> SEQență artificială

<220>

<223> Construcție sintetică

10 <400> 21

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcctgca gggccagtca gagtgttggc atcaacttgt cctggtacca gcagaaacct 120  
 ggccaggctc ccaggctcct catctatggt gcatccata ggctaactgg catcccagac 180  
 aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag actggagcct 240  
 gaagattttg cagtgtatta ctgtcatcaa tatagtcaac cacctccctt cactttggc 300  
 ggagggacca aggtggagat caaacggacc gtggctgcac catctgtctt catcttccc 360  
 ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gccctctgtg tgtgcctgct gaataacttc 420  
 tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc 480  
 caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg 540  
 acgtgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt caccatcag 600  
 ggctgagct cgcctgcac aaagagcttc aacaggggag agtgc 645

**(56) Referințe bibliografice citate în raportul de documentare:**

- LIU X ET AL: "Anti-IL-33 antibody treatment inhibits airway inflammation in a murine model of allergic asthma", BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 386, no. 1, 14 August 2009 (2009-08-14), pages 181-185, XP026467441, ISSN: 0006-291X, DOI: 10.1016/J.BBRC.2009.06.008 [retrieved on 2009-06-07]
- WO-A1-2016/077381
- KIM Y H ET AL: "Anti-IL-33 antibody has a therapeutic effect in a murine model of allergic rhinitis", ALLERGY, WILEY-BLACKWELL PUBLISHING LTD, UNITED KINGDOM, vol. 67, no. 2, 1 February 2012 (2012-02-01), pages 183-190, XP002753812, ISSN: 0105-4538, DOI: 10.1111/J.1398-9995.2011.02735.X [retrieved on 2011-11-04]
- WO-A2-2015/106080
- TAKESHI NABE: "Interleukin (IL)-33: New Therapeutic Target for Atopic Diseases", JOURNAL OF PHARMACOLOGICAL SCIENCES, vol. 126, no. 2, 1 January 2014 (2014-01-01), pages 85-91, XP055243800, JP ISSN: 1347-8613, DOI: 10.1254/jphs.14R12CP
- US-A1- 2014 271 658

**(57) Revendicări:**

1. Un anticorp care leagă IL-33 uman, cuprinzând două LCDR1, fiecare cu SEQ ID NR: 16, două LCDR2, fiecare cu SEQ ID NR: 17, două LCDR3, fiecare cu SEQ ID NR: 18, două HCDR1, fiecare dintre ID SEQ NR: 13, două HCDR2, fiecare dintre SEQ ID NR: 14 și două HCDR3, fiecare din SEQ ID NR: 15 în care fiecare LCVR este SEQ ID NR: 4, SEQ ID NR: 8, sau SEQ ID NR: 12, și fiecare HCVR este SEQ ID NR: 3, SEQ ID NR: 7, sau SEQ ID NR: 11 ..

2. Anticorpul conform revendicării 1, în care fiecare LCVR este SEQ ID NR: 4 și fiecare HCVR este SEQ ID NR: 3.

3. Anticorpul conform revendicării 1, în care fiecare LCVR este SEQ ID NR: 8 și fiecare HCVR este SEQ ID NR: 7.

4. Anticorpul conform revendicării 1, în care fiecare LCVR este SEQ ID NR: 12 și fiecare HCVR este SEQ ID NR: 11.

5. Anticorpul conform oricăreia dintre revendicările 1 la 4, în care fiecare LC este SEQ ID NR: 2, SEQ ID NR: 6, sau SEQ ID NR: 10 și fiecare HC este SEQ ID NR: 1, SEQ ID NR: 5 sau SEQ ID NR: 9.

6. Anticorpul conform revendicării 5, în care fiecare LC este SEQ ID NR: 2 și fiecare HC este SEQ ID NR: 1.

7. Anticorpul conform revendicării 5, în care fiecare LC este SEQ ID NR: 6 și fiecare HC este SEQ ID NR: 5.

8. Anticorpul conform revendicării 5, în care fiecare LC este SEQ ID NR: 10 și fiecare HC este SEQ ID NR: 9.

9. O compoziție farmaceutică cuprinzând anticorpul conform oricăreia dintre revendicările 1 la 8, și unul sau mai mulți purtători, diluanți sau excipienți acceptabili farmaceutic.

10. Anticorpul conform oricăreia dintre revendicările 1 la 8 pentru utilizare în terapie.

11. Anticorpul conform oricăreia dintre revendicările 1 la 8 pentru utilizare în tratamentul uneia sau mai multor boli alergice.

12. Anticorpul pentru utilizare conform revendicării 11, în care boala alergică este dermatita atopică, astmul, rinita alergică sau alerggia alimentară.

13. Anticorpul pentru utilizare conform revendicării 12, în care boala alergică este dermatita atopică.

14. Anticorpul conform oricăreia dintre revendicările 1 la 8 pentru utilizare în tratamentul esofagitei eozinofile, a sclerodermiei / sclerozei sistemice, a colitei ulcerative sau a bolii pulmonare obstructive cronice.

15. Anticorpul conform oricăreia dintre revendicările 1 la 8 pentru utilizare în tratamentul bolii Crohn.