



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **118336** (13) **C2**
(51) МПК**A61K 39/395** (2006.01)**C07K 16/24** (2006.01)**A61K 38/08** (2019.01)МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(21) Номер заявки:	а 2014 12805	(73) Власник(и):	ЯНССЕН БАЙОТЕК, ІНК., 800/850 Ridgeview Drive, Horsham, Pennsylvania 19044, United States of America (US)
(22) Дата подання заявки:	29.04.2013	(74) Представник:	Мошинська Ніна Миколаївна, реєстр. №115
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід:	10.01.2019	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:	WO 2001021641 A1, 29.03.2001 US 20030190311 A1, 09.10.2003 US 20100260770 A1, 14.10.2010 WO 2008022295 A2, 21.02.2008 WO 2006055347 A2, 26.03.2006 WO 2000069914 A2, 23.11.2000 WO 2010080833 A1, 15.08.2010 US 2003124624 A1, 03.07.2003 US 2010247442 A1, 30.09.2010 WO 0121641 A1, 29.03.2001 LINGEL A. et al. Structure of IL-33 and its interaction with the ST2 and IL-1 RAcP receptors - insight into heterotrimeric IL-1 signaling complexes. Structure, 2009, vol. 17, pages 1398 – 1410 KAKKAR R. et al. The IL-33/ST2 pathway: Therapeutic target and novel biomarker. Drug discovery, Nature publishing group, GB, 2008, vol. 7, no. 10, P. 827 – 840 XU D. et al. Selective expression of a stable cell surface molecule on type 2 but not type 1 helper T cells. The journal of experimental medicine, Rockefeller university press, US, 1998, vol. 187, no. 5, P. 787 - 794 Palmer G. et al. Inhibition of interleukin-33 signaling attenuates the severity of experimental arthritis. Arthritis rheum., 2009, Vol. 60, no. 3, P. 738 – 749
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	61/640,238, 61/640,407, 13/798,204, 13/798,226		
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	30.04.2012, 30.04.2012, 13.03.2013, 13.03.2013		
(33) Код держави- учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку:	US, US, US, US		
(41) Публікація відомостей про заявку:	25.03.2015, Бюл.№ 6		
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	10.01.2019, Бюл.№ 1		
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ	PCT/US2013/038637, 29.04.2013		
(72) Винахідник(и): Даффі Карен (US), Хілі Кетрін (US), Лемб Роберта (US), Малавія Раві (US), Пратта Майкл (US), Фурсов Наталі (US), Ло Цзіньцюань (US), Насо Майкл (US), Торнетта Марк (US), Уілер Джон (US), У Шен-Дзюнь (US), Холл ЛеРой (US)			

(54) ВИДІЛЕНЕ ЛЮДСЬКЕ АБО АДАПТОВАНЕ ДО ЛЮДИНИ АНТИТІЛО, ЩО СПЕЦИФІЧНО
ЗВ'ЯЗУЄТЬСЯ З ДОМЕНОМ І ЛЮДСЬКОГО ST2L, І СПОСОБИ ЙОГО ЗАСТОСУВАННЯ

(57) Реферат:

UA 118336 C2

Винахід належить до виділеного людського або адаптованого до людини антитіла, що специфічно зв'язується з доменом І людського ST2L, полінуклеотиду, що кодує зазначене антитіло, вектора, клітини-хазяїна, способу одержання такого антитіла, фармацевтичної композиції, а також до способу лікування або запобігання ST2L-опосередкованого захворювання шляхом введення зазначеного антитіла, способу інгібування відповіді мастоцитів у пацієнта шляхом введення зазначеного антитіла, та способу інгібування у суб'єкта взаємодії IL-33 та ST2L шляхом введення зазначеного антитіла.

Перехресне посилання на споріднені заявки

Дана заявка претендує на пріоритет заявки США серійний № 13/798,204, поданої

13 березня 2013 р., заявки США серійний № 13/798,226, поданої 13 березня 2013 р., попередньої заявки США серійний № 61/640,407, поданої 30 квітня 2012 р., і попередньої заявки США № 61/640,238, поданої 30 квітня 2012 р., повний зміст яких включено в даний документ шляхом посилання.

Предмет винаходу

Даний винахід стосується антагоністів ST2L, полінуклеотидів, що кодують антагоністи або їх фрагменти, а також способів отримання та використання вищезгаданого.

Передумови винаходу

ST2L (IL-1RL1 або IL-33R α) є членом сімейства рецепторів Toll/IL-1, що експресується на клітинній поверхні найрізноманітніших клітин імунної системи, зокрема на поверхні Т-клітин, NK/NKT-клітин, базофілів, еозинофілів, тучних клітин і новоописаних вроджених лімфоїдних ні-В/ні-Т-клітин типу 2, нуоцитів і природних клітин-хелперів. Експресія ST2L також може індукуватися на дендритних клітинах (DC), макрофагах і нейтрофілах. ST2L здатний пригнічувати реагування Toll-подібних рецепторів TLR2, TLR4 і TLR9, а також індукувати вивільнення цитокіну типу 2 шляхом активації за допомогою свого ліганду IL-33 й асоціації з додатковим білком IL-1RAcP. IL-33 представлено як алармін (речовина, що діє як сигнал тривоги), оскільки його повнорозмірна форма знаходиться в ядрах епітеліальних та ендотеліальних клітин при гомеостазі, але може бути розщеплена і вивільнена при некрозі.

Сигналізація ST2L потребує асоціації додаткового білка IL-1RAcP з попередньо утвореним комплексом ST2L/IL-33. Додатковий білок IL-1RAcP використовується спільно із сигнальним комплексом IL-1 α/β . У даному винаході запропоновано моделі взаємодії ST2L, IL-33 та IL-1RAcP, а також взаємодії між IL-1R1 та IL-1RAcP (Lingel et al., Cell 17:1398-1410, 2009; Wang et al., Nat Immunol 11:905-11, 2010). Нещодавно було продемонстровано, що ST2L/IL-33/IL-1RAcP утворюють сигнальний комплекс із c-Kit на тучних клітинах, рецептор фактора стовбурових клітин (SCF). IL-33-індуковане продукування цитокінів у первинних тучних клітинах SCF-залежним способом (Drube et al., Blood 115:3899-906, 2010).

Активация ST2L призводить до відповідей із надмірним продукуванням цитокінів типу 2 (особливо IL-5 та IL-13), активації тучних клітин та еозинофілів і до гіперреактивності дихальних шляхів, і також повідомлялося, що це зумовлює посилення відповідей Th1 і Th17 через індукцію гама-інтерферонів IFN γ із NKT-клітин та IL-1 β й IL-6 із тучних клітин. Порушення регуляції шляху ST2L/IL-33 спостерігається під час різних імуноопосередкованих хвороб, зокрема астми, ревматоїдного артриту, запальних захворювань кишечника, atopічного дерматиту, алергічного риніту, назального поліпозу й системного склерозу (розглянуто Palmer і Gabay, Nat Rev Rheumatol 7:321-9, 2011 і Lloyd, Curr Opin Immunol 22:800-6, 2010; Shimizu et al., Hum Molec Gen 14:2919-27, 2005; Kamekura et al., Clin Exp Allergy 42:218-28, 2012; Manetti et al., Ann Rheum Dis 69:598-605, 2010).

Таким чином, існує потреба в антагоністах ST2L, придатних для використання в лікуванні ST2L-опосередкованих захворювань і порушень.

Стислий опис рисунків

На фіг. 1 показано інгібування гіперреактивності дихальних шляхів шляхом зв'язування моноклонального антитіла (mAb) CNTO3914 доменом I ST2L у моделі запалення легень, викликаного інтраназальним введенням IL-33, у порівнянні з ізотипним контролем CNTO5516. Піковий опір дихальних шляхів було виміряно після введення метахоліну (MCH) у збільшених дозах (мг/мл). ** $p < 0,05$ для CNTO3914/IL-33 порівняно з CNTO5516/IL-33; і *** $p < 0,001$ для CNTO3914/IL-33 порівняно з групою фосфатно-сольового буфера (ФСБ) із введенням IL-33.

На фіг. 2 показано інгібування рекрутування клітин при бронхоальвеолярному лаважі (БАЛ) шляхом зв'язування mAb CNTO3914 доменом I ST2L у моделі запалення легень, викликаного інтраназальним введенням IL-33, у порівнянні з ізотипним контролем CNTO5516. *** $p < 0,001$.

На фіг. 3 показано дозозалежне інгібування вивільнення протеази тучних клітин мишей 1 (MMCP-1) шляхом зв'язування mAb CNTO3914 доменом I ST2L у вільній від клітин рідині БАЛу в моделі запалення легень, викликаного інтраназальним введенням IL-33. ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ порівняно з CNTO5516 (ізотипний контроль) із введенням IL-33.

На фіг. 4 показано інгібування IL-33-індукованого вивільнення GM-CSF (фіг. 4A), IL-5 (фіг. 4B) і TNF α (фіг. 4C) шляхом зв'язування доменом I ST2L mAb CNTO3914, тучними клітинами, отриманими з кісткового мозку мишей, *in vitro*. У дужках вказано застосовані концентрації CNTO3914 у мкг/мл і концентрації IL-33 у нг/мл.

На фіг. 5 показано інгібування вивільнення IL-33-індукованого простагландину D2 (PGD₂) тучними клітинами, отриманими з пуповинної крові людини, шляхом зв'язування mAb C2494

(STLM62) доменом I ST2L при вказаних концентраціях IL-33 і C2494. MOX-PDG2: метоксиламін-PGD₂.

На фіг. 6 показано інгібування вивільнення GM-CSF (фіг. 6A), IL-8 (фіг. 6B), IL-5 (фіг. 6C), IL-13 (фіг. 6D) та IL-10 (фіг. 6E) вказаними концентраціями (мкг/мл) домену I ST2L, що зв'язує mAb C2244 і C2494 у тучних клітинах, отриманих з пуповинної крові людини (hCBMCs), у присутності 1 нг/мл IL-33 в середовищі StemPro-34+100 нг/мл SCF (фактор стовбурових клітин).

На фіг. 7 показано вплив на вивільнення GM-CSF (фіг. 7A), IL-8 (фіг. 7B), IL-5 (фіг. 7C), IL-13 (фіг. 7D) і IL-10 (фіг. 7E) вказаними концентраціями (мкг/мл) домену III ST2L, що зв'язує mAb C2519 або C2521 у тучних клітинах, отриманих з пуповинної крові людини, у присутності 1 нг/мл IL-33 в середовищі StemPro-34+100 нг/мл SCF.

На фіг. 8 показано вплив на вивільнення A) GM-CSF; B) IL-8; C) IL-5; D) IL-13 та E) IL-10 шляхом зв'язування mAb C2494 доменом I ST2L і зв'язування mAb ST2M48 (M48), ST2M49 (M49), ST2M50 (M50) і ST2M51 (M51) доменом III ST2L у тучних клітинах, отриманих з пуповинної крові людини (hCBMC), у присутності 3 нг/мл IL-33 у середовищі RPMI/10 % фетальної телячої сироватки (FCS) + 100 нг/мл SCF.

На фіг. 9 показано середній відсоток (%) інгібування анти-ST2L-антитіла- зв'язуючого домену I (D1) або домену III (D3) ST2L відносно вивільнення GM-CSF, IL-5, IL-8, IL-10 та IL-13 у тучних клітинах, отриманих з пуповинної крові людини, після індукції IL-33 та SCF, як зазначено, із використанням або 50 мкг/мл, або 2 мкг/мл кожного досліджуваного антитіла. Від'ємні значення вказують на відсоток активації.

На фіг. 10 показано варіабельні області важких ланцюгів (VH) і послідовності областей, що визначають комплементарність, (CDR) важких ланцюгів антитіл анти-ST2L, отриманих із бібліотек фагового дисплея і після подальших кампаній дозрівання афінності.

На фіг. 11 показано варіабельні області легких ланцюгів (VL) і послідовності CDR легких ланцюгів антитіл анти-ST2L, отриманих із бібліотек фагового дисплея і після подальших кампаній дозрівання афінності.

На фіг. 12 показано області VH і VL і послідовності CDR важких ланцюгів різновидів HCDR3 VH ST2H257 антитіла анти-ST2L STLM208.

На фіг. 13 показано послідовності A) VH і B) VL для антитіл анти-ST2L, отриманих із бібліотек фагового дисплея і після подальших кампаній дозрівання афінності.

На фіг. 14 показано розмежування антиген-зв'язуючих ділянок C2494 VH і VL, перенесених на каркаси людського походження (перенесені позначено як HFA, "адаптація каркасу людського походження"). Kabat CDR підкреслено, і Chothia HV позначено пунктирними лініями над вказаними перенесеними областями HFA. Нумерацію залишків VH і VL проведено відповідно до Chothia. Залишки VH, виділені сірим кольором, не були перенесені у деяких різновидах HFA. C2494 VH: SEQ ID NO: 48; C2494 VH: SEQ ID NO: 52.

На фіг. 15 показано послідовності CDR антитіл, адаптованих до каркасу людського походження (HFA) і отриманих із C2494.

На фіг. 16 A) рівні антитіла анти-ST2L CNTO3914 у сироватці крові B) інгібування рекрутування клітин при бронхоальвеолярному лаважі (БАЛ) C) інгібування секреції IL-6 клітинами цільної крові, стимульованими IL-33; D) інгібування секреції MCP1 клітинами цільної крові, стимульованими IL-33 за допомогою CNTO3914 через добу після введення дози, у 6-годинній моделі запалення легень, викликаного інтраназальним введенням IL-33. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$; NQ = нижче межі виявлення; @ = одна точка даних знаходиться нижче межі виявлення.

Фіг. 17. Конкуренція між різними антитілами анти-ST2L. A) Мічений 30 нМ Fab C2244 конкурував з вказаними антитілами за зв'язування із ST2L-ECD, нанесеним на мікролунки. C2244 конкурував з C2494, але не із C2539. B) Мічений 10 нМ C2494 конкурував із вказаними антитілами за зв'язування із ST2L-ECD, нанесеним на мікролунки. C2494 конкурував із STLM208 і STLM213, але не із C2539.

На фіг. 18 показано спрощену H/D-карту обміну людського ST2-ECD (SEQ ID NO: 119) у комплексі з Fab C2244. Області, захищені антитілами, було представлено в різних градаціях сірого, як зазначено. Сегменти, що охоплюють залишки 18-31 (взяті в рамку пунктирною лінією) (відповідно до залишків 35-48 повнорозмірних ST2L із SEQ ID NO: 1), були захищені Fab. Області, що охоплюють залишки 71-100 (взяті в рамку суцільною лінією) (відповідно до залишків 88-117 з SEQ ID NO: 1), були інтенсивно глікозильовані і не покривалися пептидами.

На фіг. 19 показано кінетичні та афінні константи для домену I ST2L, що зв'язує антитіла для різновидів ST2L, як показано на Фігурі.

На фіг. 20 показано інгібування A) GM-CSF; B) IL-5; C) IL-8; D) секреція IL-13 із первинних тучних клітин людських легень за допомогою антитіла STLM208 анти-ST2L.

Суть винаходу

У винаході запропоновано антагоніст виділеного людського чи адаптованого до людини антитіла або його фрагмента, який специфічно зв'язує домен I (SEQ ID NO: 9) людського ST2L.

У винаході також запропоновано антагоністи адаптованих до людини антитіл, причому такі антагоністи специфічно зв'язують людський ST2L, що має певні послідовності варіабельної області легких ланцюгів і важких ланцюгів або певні послідовності, що визначають комплементарність, важких ланцюгів і легких ланцюгів.

У винаході також запропоновано антагоністи людських або адаптованих до людини антитіл, причому такі антагоністи специфічно зв'язують людський ST2L у певних областях епітопів і/або мають певні ознаки, як описано в даному документі.

У винаході також запропоновано виділений полінуклеотид, що кодує варіабельні області важких ланцюгів (VH) або варіабельні області легких ланцюгів (VL) згідно даного винаходу.

У винаході також запропоновано вектор, що включає виділений полінуклеотид згідно даного винаходу.

У винаході також запропоновано клітину-хазяїна, що включає вектор згідно даного винаходу.

У винаході також запропоновано спосіб отримання антитіла згідно даного винаходу, що включає культивування клітини-хазяїна згідно даного винаходу й отримання антитіла з клітини.

У винаході також запропоновано фармацевтичну композицію, що включає виділене антитіло згідно даного винаходу і фармацевтично прийнятний носій.

У винаході також запропоновано спосіб лікування або запобігання ST2L- опосередкованого стану, що включає введення терапевтично ефективної кількості виділеного антитіла згідно даного винаходу пацієнтові, який його потребує, протягом часу, достатнього для лікування або запобігання ST2L-опосередкованого стану.

У даному винаході також запропоновано спосіб інгібування відповіді тучних клітин у пацієнта, що включає введення терапевтично ефективної кількості виділеного антитіла згідно даного винаходу пацієнтові, який його потребує, протягом часу, достатнього для інгібування відповіді тучних клітин.

У винаході також запропоновано спосіб інгібування взаємодії IL-33 і ST2L в об'єкта, що включає введення об'єктові антитіла, яке специфічно зв'язує домен I ST2L, у кількості, достатній для інгібування взаємодії IL-33 і ST2L.

Детальний опис винаходу

Усі публікації, у тому числі, крім іншого, патенти й патентні заявки, наведено у даному документі шляхом посилання так, нібито їх було викладено повністю.

Необхідно розуміти, що термінологія в даному документі вживається виключно для опису певних варіантів втілення і не має обмежувального характеру. Якщо не вказано інше, усі технічні й наукові терміни, використані в даному документі, мають те саме значення, яке зазвичай розуміє середній фахівець у галузі, до якої належить даний винахід.

Незважаючи на те, що будь-які способи і матеріали, аналогічні або еквівалентні тим, які описані у даному документі, можуть бути використані в практиці для тестування даного винаходу, у даному документі описано типові матеріали і способи. В описі і формулі даного винаходу використовуватиметься наступна термінологія.

У контексті даного документа термін "антагоніст" означає молекулу, яка частково або повністю інгібує біологічну активність ST2L за допомогою будь-якого механізму. Типовими антагоністами є антитіла, гібридні білки, пептиди, пептидоміметики, нуклеїнові кислоти, олігонуклеотиди і невеликі молекули. Антагоністи можна ідентифікувати з використанням описаних нижче аналізів біологічної активності ST2L. Антагоністи ST2L можуть інгібувати вимірювану біологічну активність ST2L на 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 %.

Термін "ST2L", або "huST2L", або "людський ST2L" відноситься до людського поліпептиду ST2L, що має амінокислотну послідовність, представлену в GenBank, доступ № NP_057316. SEQ ID NO: 1 представляє амінокислотну послідовність повнорозмірного людського ST2L. "Позаклітинний домен ST2L", "ST2L-ECD" або "huST2L-ECD" у контексті даного документа означає поліпептид, що має амінокислоти 19-328 із SEQ ID NO: 1. huST2L-ECD має три Ig-подібні домени типу C2, що охоплюють залишки 19-122 (домен I, SEQ ID NO: 9), залишки 123-202 (домен II, SEQ ID NO: 10) і залишки 209-324 (домен III, SEQ ID NO: 11) із SEQ ID NO: 1. "Домен I", або "домен I ST2L", або "домен I huST2L", або "D1" відноситься до першого імуноглобулінподібного домену на людському ST2L, який має послідовність, представлену в SEQ ID NO: 9. "Домен III" або "домен III ST2L" відноситься до третього імуноглобулінподібного домену на людському ST2L, який має послідовність, представлену в SEQ ID NO: 11.

У контексті даного документа термін "IL-33" включає повнорозмірний IL-33 (GenBank, доступ

№ NP_254274 SEQ ID NO: 3), його різновиди й активні форми. Різновиди IL-33 включають білки, що мають амінокислотні послідовності, представлені в GenBank, доступ № NP_001186569, і GenBank, доступ № NP_001186570). Активні форми IL-33 включають "зрілий IL-33", що має залишки 112-270 SEQ ID NO: 3. Додаткові активні форми включають фрагменти IL-33, що мають залишки 11-270, 115-270, 95-270, 99-270 або 109-270 SEQ ID NO: 3 (LeFrancais et al., Proc Natl Acad Sci (USA) 109:1673-8, 2012), або будь-яку іншу форму чи комбінацію форм, виділених з клітин, які ендогенно експресують IL-33. "Активна форма IL-33" - це фрагмент або різновид IL-33 SEQ ID NO: 3, що стимулює біологічну активність ST2L.

У контексті даного документа термін "антитіла" використовується в широкому значенні і включає молекули імуноглобуліну, у тому числі поліклональні антитіла, моноклональні антитіла, у тому числі мишачі, людські, адаптовані до людини, гуманізовані і химерні моноклональні антитіла, фрагменти антитіл, біспецифічні або мультиспецифічні антитіла, утворені принаймні з двох інтактних антитіл або фрагментів антитіл, димерних, тетрамерних або мультимерних антитіл й одноланцюгових антитіл.

Імуноглобуліни можна віднести до п'яти основних класів, а саме IgA, IgD, IgE, IgG й IgM, залежно від амінокислотної послідовності константного домену важких ланцюгів. IgA й IgG додатково поділяють на ізотипи IgA1, IgA2, IgG1, IgG2, IgG3 і IgG4. Легкі ланцюги антитіл будь-якого виду хребетних можна віднести до одного з двох чітко відмінних типів, а саме каппа (κ) і лямбда (λ), на основі амінокислотних послідовностей їх константних доменів.

Термін "фрагменти антитіл" відноситься до частини молекули імуноглобуліну, яка зберігає антиген-зв'язуючу ділянку важких ланцюгів і/або легких ланцюгів, наприклад, області, що визначають комплементарність, важких ланцюгів (HCDR) 1, 2 і 3, області, що визначають комплементарність, легких ланцюгів (LCDR) 1, 2 і 3, варіабельну область важких ланцюгів (VH) або варіабельну область легких ланцюгів (VL). Фрагменти антитіл включають добре відомі фрагменти Fab, F(ab')₂, FD і Fv і доменні антитіла (dAb), що містять один домен VH. Домени VH і VL можуть бути зв'язані один з одним за допомогою синтетичного лінкера з утворенням різних типів конструкцій одноланцюгових антитіл, де домени VH/VL паруються внутрішньомолекулярно або міжмолекулярно в тих випадках, коли домени VH і VL експресуються окремими конструкціями одноланцюгових антитіл з утворенням ділянки зв'язування одновалентного антигену, наприклад, одноланцюговим Fv (ScFv) або димером; описані, наприклад, у публ. міжнар. заявці на патент № WO98/44001, публ. міжнар. заявці на патент № WO88/01649; публ. міжнар. заявці на патент № WO94/13804; публ. міжнар. заявці на патент № WO92/01047.

Варіабельна область антитіла складається з області "каркасу", перерваної трьома "антиген-зв'язуючими ділянками". Антиген-зв'язуючі ділянки визначаються з використанням різних термінів: (i) області, що визначають комплементарність, (CDR), три у VH (HCDR1, HCDR2, HCDR3) і три у VL (LCDR1, LCDR2, LCDR3), що базуються на варіабельності послідовності (Wu and Kabat, J Exp Med 132:211-50, 1970; Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5-е вид. Public Health Service, National Institutes of Health, м. Бетесда, штат Меріленд, 1991). (ii) "Гіперваріабельні області", "HVR" або "HV", три у VH (H1, H2, H3) і три у VL (L1, L2, L3), відносяться до областей варіабельних доменів антитіл, які мають гіперваріабельну структуру за визначенням Chothia і Lesk (Chothia and Lesk, Mol Biol 196:901-17, 1987). Інші терміни включають "IMGT-CDR" (Lefranc et al., Dev Comparat Immunol 27:55-77, 2003) і "використання залишку, який визначає специфічність" (SDRU) (Almagro, Mol Recognit 17:132-43, 2004). Міжнародна база даних ImMunoGeneTics (IMGT) (<http://www.imgt.org>) забезпечує стандартизовану нумерацію і визначення антиген-зв'язуючих ділянок. Відповідність між розмежуванням CDR, HV та IMGT описана Lefranc et al., Dev Comparat Immunol 27:55-77, 2003.

У контексті даного документу "залишки Chothia" є залишками VL і VH антитіл, пронумерованих відповідно до Al-Lazikani (Al-Lazikani et al., J Mol Biol 273:927-48, 1997).

"Каркас" або "каркасні послідовності" - це інші послідовності варіабельної області, крім тих, які визначено як антиген-зв'язуючу ділянку. Оскільки антиген-зв'язуючу ділянку можна визначити за допомогою різних термінів, як описано вище, точна амінокислотна послідовність у каркасі залежить від того, як визначено антиген-зв'язуючу ділянку.

"Людське антитіло" або "повністю людське антитіло" відноситься до антитіл, що містять послідовності варіабельної області і константної області, отримані з послідовностей людського імуноглобуліну. Людські антитіла згідно даного винаходу можуть включати заміщення, тому вони можуть не бути точними копіями експресованого людського імуноглобуліну або генних послідовностей зародкової лінії. Однак антитіла, в яких антиген-зв'язуючі ділянки отримано з видів не людського походження, не включено у визначення терміну "людське антитіло".

"Адаптовані до людини" антитіла або "адаптовані до каркасу людського походження (HFA)" антитіла відносяться до антитіл, адаптованих відповідно до способів, описаних у публікації

заявці на патент США № US2009/0118127, а також відносяться до антитіл, в яких послідовності антиген-зв'язуючої ділянки, отримані з видів не людського походження, трансплантовані на каркаси людського походження.

"Гуманізовані антитіла" відносяться до антитіл, в яких антиген-зв'язуючі ділянки отримано з видів не людського походження, а каркаси варіабельної області отримано з послідовностей людського імуноглобуліну. Гуманізовані антитіла можуть включати заміщення в областях каркасів, так що каркас може не бути точною копією експресованого людського імуноглобуліну або генних послідовностей зародкової лінії.

У контексті даного документа термін "по суті ідентичні" означає, що дві амінокислотні послідовності варіабельної області антитіла, які порівнюють, є однаковими або мають "несуттєві відмінності". Несуттєві відмінності - це заміщення 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 або 11 амінокислот в антитілі або послідовності варіабельної області антитіла, які не мають негативного впливу на властивості антитіла. Описані у даному документі по суті ідентичні до послідовностей варіабельної області амінокислотні послідовності знаходяться у рамках даної заявки. У деяких варіантах втілення ідентичність послідовності може бути приблизно 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або вище. Відсоток ідентичності можна визначити, наприклад, шляхом попарного вирівнювання з використанням налаштувань за замовчуванням модуля AlignX Vector NTI 9.0.0 (Invitrogen, м. Карлсбад, штат Каліфорнія, США). Послідовності білка згідно даного винаходу можна використати як послідовність запиту для здійснення пошуку у публічно доступних або патентних базах даних, наприклад, для визначення споріднених послідовностей. Типовими програмами, які використовують для здійснення таких пошуків, є програми XBLAST або BLASTP (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) або комплект GenomeQuest™ (GenomeQuest, м. Уестборо, штат Массачусетс, США) із використанням налаштувань за замовчуванням.

У контексті даного документа термін "епітоп" означає частину антигену, з яким специфічно зв'язується антитіло. Епітопи, як правило, складаються з хімічно активних (наприклад, полярних, неполярних і гідрофобних) поверхневих скупчень функціональних груп, таких як амінокислоти або бічні ланцюги полісахаридів, і можуть мати специфічні тривимірні структурні характеристики, а також специфічні характеристики зарядів. Епітоп може складатися із замінних та/або незамінних амінокислот, які утворюють конформаційну просторову одиницю. Для незамінного епітопу амінокислоти з різних частин лінійної послідовності антигену опиняються в безпосередній близькості у 3-вимірному просторі в результаті згортання білкової молекули. Типовим епітопом є домен I huST2L, представлений у SEQ ID NO: 9.

У контексті даного документа термін "паратоп" означає частину антитіла, з яким специфічно зв'язується антиген. Паратоп може мати лінійну природу або може бути переривчастий, утворений просторовим взаємозв'язком між незамінними амінокислотами антитіла, а не лінійною низкою амінокислот. "Паратоп легкого ланцюга" і "паратоп важкого ланцюга" або "амінокислотні залишки паратопа легкого ланцюга" і "амінокислотні залишки паратопа важкого ланцюга" відносяться до залишків легкого ланцюга і залишків важкого ланцюга антитіла в контакт з антигеном, відповідно.

У контексті даного документа термін "специфічне зв'язування" або "специфічно зв'язується" відноситься до зв'язування антитіла з заданим антигеном з більшою афінністю, ніж для інших антигенів або білків. Як правило, антитіло зв'язується із заданим антигеном з константою дисоціації (K_D) 1×10^{-7} М, або менше, наприклад, 1×10^{-8} М, або менше, 1×10^{-9} М, або менше, 1×10^{-10} М, або менше, 1×10^{-11} М, або менше, або 1×10^{-12} М, або менше, типово з K_D , що принаймні в десять разів менше, ніж його K_D для зв'язування з неспецифічним антигеном (наприклад, бичачим сироватковим альбуміном (BSA), казеїном або будь-яким іншим специфічним поліпептидом). Константу дисоціації можна виміряти з використанням стандартних процедур. Однак антитіла, які специфічно зв'язуються з заданим антигеном, можуть мати перехресну реактивність до інших споріднених антигенів, наприклад, до того самого заданого антигена з інших видів (гомологів), таких як людина чи мавпа, наприклад, *Macaca fascicularis* (яванський макак (*Сynomolgus*)).

У контексті даного документа термін "біспецифічний" відноситься до антитіла, яке зв'язує два різних антигени або два різних епітопи в межах антигена.

У контексті даного документа термін "моноспецифічний" відноситься до антитіла, яке зв'язує один антиген або один епітоп.

У контексті даного документа термін "у комбінації з" означає, що описані агенти можна ввести в організм тварини разом у вигляді суміші, одночасно у вигляді окремих агентів або послідовно у вигляді окремих агентів у будь-якому порядку.

У контексті даного документа термін "запальний стан" відноситься до гострих або хронічних

локалізованих або системних реакцій на шкідливі подразники, такі як патогени, ушкоджені клітини, фізична травма або подразники, які частково опосередковані активністю цитокінів, хемокінів або запальних клітин (наприклад, нейтрофіли, моноцити, лімфоцити, макрофаги), і характеризується у більшості випадків болем, почервонінням, набряком і порушенням функції тканини.

У контексті даного документа термін "ST2L-опосередкований запальний стан" відноситься до запального стану в результаті, принаймні частково, недоцільної активації сигнального шляху ST2L. Типовими ST2L-опосередкованими запальними захворюваннями є астма й алергії.

У контексті даного документа термін "ST2L-опосередкований запальний стан" включає в себе всі захворювання і медичні стани, при яких ST2L прямим або непрямым чином відіграє роль у захворюванні або медичному стані, у тому числі причинно-наслідковому зв'язку, розвитку, прогресуванні, тривалості чи патології захворювання або стану.

У контексті даного документа термін "біологічна активність ST2L" відноситься до будь-якої активності, що виникає в результаті зв'язування ліганда ST2L IL-33 із ST2L. Типові результати біологічної активності ST2L зумовлюють активацію NF-κB у відповідь на IL-33. Активацію NF-κB можна проаналізувати з використанням аналізу гена-репортера при індукції ST2L за допомогою IL-33 (Fursov et al., Hybridoma 30: 153-62, 2011). Інші типові біологічні активності ST2L призводять до проліферації клітин Th2 або секреції прозапальних цитокінів та хемокінів, наприклад, IL-5, GM-CSF, IL-8, IL-10 або IL-13. Вивільнення цитокінів і хемокінів із клітин, тканин або в кровообігу можна виміряти з використанням добре відомих імунологічних аналізів, таких як імуноаналіз ELISA.

Термін "вектор" означає полінуклеотид, здатний до дублювання в біологічній системі або який можна перемістити між такими системами. Полінуклеотиди вектора, як правило, містять елементи, такі як точки початку реплікації, сигнал поліаденілювання або маркери селекції, які функціонують для полегшення дублювання або підтримання даних полінуклеотидів у біологічній системі. Приклади таких біологічних систем можуть включати в себе клітину, вірус, тварину, рослину і відновлені біологічні системи, що використовують біологічні компоненти, здатні дублювати вектор. Полінуклеотид, що включає вектор, може бути молекулою ДНК або РНК чи їхнім гібридом.

Термін "вектор експресії" означає вектор, який можна використати в біологічній системі або у відновленій біологічній системі для спрямування трансляції поліпептиду, кодованого полінуклеотидною послідовністю, яка присутня у векторі експресії.

Термін "полінуклеотид" означає молекулу, яка включає ланцюг нуклеотидів, ковалентно зв'язаних між собою цукор-фосфатним скелетом або іншим еквівалентним ковалентним хімічним зв'язком. Подвійно- і одноланцюгові ДНК і РНК є типовими прикладами полінуклеотидів.

Термін "поліпептид" або "білок" означає молекулу, яка містить принаймні два амінокислотні залишки, з'єднані пептидним зв'язком з утворенням поліпептиду. Малі поліпептиди, що містять менше 50 амінокислот, можна називати "пептидами".

Загальноприйняті одно- і трибуквені коди амінокислот, які використовуються в даному документі наступним чином:

Амінокислота	Трибуквенний код	Однобуквенний код
Аланін	ala	A
Аргінін	arg	R
Аспарагін	asn	N
Аспартат	asp	D
Цистеїн	cys	C
Глутамат	glu	E
Глутамін	gln	Q
Гліцин	gly	G
Гістидин	his	H
Ізолейцин	ile	I
Лейцин	leu	L
Лізін	lys	K
Метіонін	met	M
Фенілаланін	phe	F
Пролін	pro	P
Серин	ser	S

Амінокислота	Трибуквений код	Однобуквений код
Треонін	thr	T
Триптофан	trp	W
Тирозин	tyr	Y
Валін	val	V

Композиції речовини

У винаході запропоновано антитіла, які специфічно зв'язують ST2L та інгібують біологічну активність ST2L, і застосування таких антитіл. Винахідники зробили несподіване відкриття, що антитіла, які зв'язують домен I людського ST2L (SEQ ID NO: 9), блокують взаємодію IL-33/ST2L та інгібують спектр біологічних активностей ST2L, у тому числі IL-33-індуковані відповіді тучних клітин, тоді як антитіла, що зв'язують домен III людського ST2L (SEQ ID NO: 11), не блокують взаємодію IL-33/ST2L, хоча вони інгібують спектр біологічних активностей ST2L. Однак антитіла, які зв'язують домен III, мають знижений або відсутній ефект інгібування або, в деяких випадках, стимулюють IL-33-індуковані відповіді тучних клітин.

У деяких варіантах втілення, описаних у даному документі, антитіла, які блокують взаємодію IL-33/ST2L та інгібують спектр біологічних активностей ST2L, у тому числі IL-33-індуковані відповіді тучних клітин, зв'язують епітоп у межах домену I людського ST2L, (RCPRQGKPSYTVDW; SEQ ID NO: 210) і, необов'язково, амінокислотні залишки ST2L T93 і F94 (нумерація залишків відповідно до SEQ ID NO: 1).

Термін "відповідь тучних клітин" або "активність тучних клітин" відноситься до IL-33-індукованого вивільнення цитокінів, таких як GM-CSF, IL-8, IL-5, IL-13 і IL-10, та алергічних медіаторів, таких як простагландин D2, із тучних клітин.

У винаході запропоновано антиген-зв'язуючі ділянки, які зв'язують домен I людського ST2L, як описано в даному документі. Структурою для перенесення антиген-зв'язуючої ділянки, як правило, є антитіло VH або VL.

Антитіла згідно даного винаходу, як описано в даному документі, можуть бути антагоністом виділеного людського або адаптованого до людини антитіла чи його фрагмента, що специфічно зв'язує домен I (SEQ ID NO: 9) людського ST2L. Типовим антитіл-зв'язуючим доменом I людського ST2L (SEQ ID NO: 9) є антитіло STLM15 (C2244), що містить послідовності HCDR1, HCDR2 і HCDR3 SEQ ID NO: 23, 27 і 31, відповідно, і послідовності LCDR1, LCDR2 і LCDR3 із SEQ ID NO: 35, 39 і 43, відповідно, або антитіло C2494 (STLM62), що містить послідовності HCDR1, HCDR2 і HCDR3 із SEQ ID NO: 24, 28 і 32, відповідно, і послідовності LCDR1, LCDR2 і LCDR3 із SEQ ID NO: 36, 40 і 44, відповідно (Таблиця 3). Додатковими типовими антитілами, що зв'язують домен I людського ST2L, є антитіла, представлені в Таблиці 16 і на фіг. 13, наприклад, антитіла STLM103, STLM107, STLM108, STLM123, STLM124, STLM208, STLM209, STLM210, STLM211, STLM212 і STLM213. Типові антагоністи людського антитіла показано на фіг. 12 і фіг. 13. Типові адаптовані до людини антагоністи наведено в Таблиці 14.

У деяких варіантах втілення, описаних у даному документі, антагоніст виділеного людського або адаптованого до людини антитіла чи його фрагмента, що специфічно зв'язує домен I (SEQ ID NO: 9) людського ST2L, блокує взаємодію IL-33/ST2L.

Антитіла можна протестувати на їхню здатність блокувати взаємодію IL-33/ST2L за допомогою стандартного аналізу ELISA. Наприклад, планшети покривають позаклітинним доменом людського ST2L (huST2L-ECD) і інкубують з антитілом, після чого вимірюють зв'язування біотинільованого IL-33 на планшетах. Антитіла, які "блокують взаємодію IL-33/ST2L" або "інгібують взаємодію IL-33/ST2L", - це антитіла, які в аналізі ELISA з використанням пластин із покриттям huST2L-ECD знижують сигнал, отриманий від біотинільованого IL-33, зв'язаного з пластиною, принаймні на 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % при концентрації антитіл 50 мкг/мл, у порівнянні із зв'язуванням IL-33 у відсутності антитіла.

Антитіла можна протестувати на інгібування ними відповідей тучних клітин шляхом оцінки їхньої інгібуючої активності, наприклад, на вивільнення GM-CSF, IL-5, IL-10 або IL-13 тучними клітинами, отриманими з людської пуповинної крові, або первинними тучними клітинами людських легенів із використанням стандартних способів і способів, наведених у прикладах *infra* (нижче). У контексті даного документа антитіла, які "інгібують відповідь тучних клітин" або "інгібують активність тучних клітин", являють собою антитіла, які знижують IL-33-індуковану 1-3 нг/мл секрецію GM-CSF, IL-5, IL-13 або IL-10 принаймні на 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % при концентрації 10 мкг/мл, у порівнянні з тучними клітинами, що не оброблені антитілом. Зазвичай тучні клітини

можна отримати з попередників CD34⁺ з пуповинної крові людини або легеневої паренхіми і малих дихальних шляхів за допомогою добре відомих способів, наведених у прикладах *infra*. Умови для культивування тучних клітин можуть впливати на ступінь інгібування для антитіла у процентах, і, отже, умови культивування і досліджень можна підтримувати згідно стандарту з використанням, наприклад, середовища StemPro-34 протягом 6-10-тижневої процедури диференціації. За 4 дні до початку аналізу вивільнення цитокінів тучні клітини щоденно стимулюють 10 нг/мл IL-4, 10 нг/мл IL-6 і 100 нг/мл SCF. Для аналізу цитокінів тучні клітини можна повторно суспендувати у свіжому середовищі StemPro-34 або RPMI, що містить 10 % FCS без антибіотиків, з 100 нг/мл SCF. Відповідні щільності посіву для аналізів становлять від 65 000 до 75 000 клітин/0,16 мл/лунку. Типовими антитілами згідно даного винаходу, описаними у даному документі, що інгібують відповіді тучних клітин, є антитіла STLM15, STLM62 і STLM208. Антитіло CNTO3914 зв'язує домен I ST2L мишей без перехресної реактивності до людського ST2L та інгібує відповіді тучних клітин у клітинах мишей.

Фахівцям у даній галузі буде зрозуміло, що відповіді тучних клітин також включають вивільнення IL-1 і IL-32 і хемокинів, таких як CCL1, CCL4, CCL5, CCL18 і CCL23, а також алергічних медіаторів, таких як цистеїнові лейкотрієни, гістамін, а також різноманітних протеаз тучних клітин, у тому числі триптази, хімази, карбоксипептидази й катепсину G. Антитіла згідно даного винаходу, описані в даному документі, можна протестувати на їхню здатність пригнічувати ці додаткові відповіді тучних клітин із використанням стандартних способів. Можна очікувати, що антитіла згідно даного винаходу, які зв'язують домен I ST2L і блокують взаємодію IL-33/ST2L, як описано в даному документі, інгібуватимуть ці додаткові відповіді тучних клітин принаймні на 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або більше при дослідженні в цих умовах при мінімальній концентрації 10 мкг/мл.

Антитіла згідно даного винаходу, як описано у даному документі, зв'язують людський ST2L з константою дисоціації (K_D) між приблизно 5×10^{-12} М до приблизно 7×10^{-10} М, прямою константою ($K_{\text{пряма}}$) до людського ST2L між приблизно 2×10^6 М $\cdot$ с $^{-1}$ до приблизно 1×10^8 М $\cdot$ с $^{-1}$ або зворотною константою ($K_{\text{зворотня}}$) до людського ST2L між приблизно 1×10^{-6} с $^{-1}$ до приблизно 1×10^{-2} с $^{-1}$. Наприклад, антитіла згідно даного винаходу, описані у даному документі, зв'язують людський ST2L з K_D меншою, ніж приблизно 7×10^{-10} М, меншою, ніж приблизно 1×10^{-10} М, меншою, ніж приблизно 5×10^{-11} М, меншою, ніж приблизно 1×10^{-11} М, або меншою, ніж приблизно 5×10^{-12} М.

Антитіла згідно даного винаходу, як описано у даному документі, можуть перехресно реагувати з *Mascas fascicularis* (супо) ST2L (SEQ ID NO: 2) і зв'язуватись з ST2L супо з константою дисоціації (K_D) між приблизно 3×10^{-12} М до приблизно 2×10^{-9} М, прямою константою ($K_{\text{пряма}}$) до ST2L супо між приблизно 4×10^6 М $\cdot$ с $^{-1}$ до приблизно 1×10^8 М $\cdot$ с $^{-1}$ або зворотною константою ($K_{\text{зворотня}}$) до ST2L супо між приблизно 7×10^{-5} с $^{-1}$ до приблизно 1×10^{-1} с $^{-1}$. Наприклад, антитіла згідно даного винаходу, описані в даному документі, зв'язують ST2L супо з K_D меншою, ніж приблизно 2×10^{-9} М, меншою, ніж приблизно 1×10^{-9} М, меншою, ніж приблизно 1×10^{-10} М, меншою, ніж приблизно 1×10^{-11} М, або меншою, ніж приблизно 3×10^{-12} М.

Афінність антитіл до ST2L можна визначити експериментально з використанням будь-якого відповідного способу. У таких способах можуть застосовуватися вимірювальні прилади ProteOn XPR36, Biacore 3000 або KinExA, аналізи ELISA або аналізи конкурентного зв'язування, відомі фахівцям у даній галузі. Виміряна афінність конкретної взаємодії антитіла/ST2L може змінюватися, якщо вимірюється в різних умовах (наприклад, осмолярність, pH). Таким чином, вимірювання афінності та інших параметрів зв'язування (наприклад, K_D , $K_{\text{пряма}}$, $K_{\text{зворотня}}$) переважно проводять зі стандартними умовами та стандартизованим буфером, такими як буфер, описаний у даному документі. Фахівцям у даній галузі буде зрозуміло, що внутрішня помилка при вимірюванні афінності, наприклад, із використанням Biacore 3000 або Proteon (вимірюється як стандартне відхилення, SD), може бути, як правило, у межах 5-33 % для вимірювання у типових межах виявлення. Таким чином, термін "приблизно" відображає типове стандартне відхилення в аналізі. Наприклад, типове SD для K_D 1×10^{-9} М становить до $\pm 0,33 \times 10^{-9}$ М.

Антитіла, які зв'язують людський ST2L з бажаною афінністю і які необов'язково перехресно реагують з ST2L супо, можна вибрати з-поміж бібліотек різновидів або фрагментів шляхом панорамування з людським і/або ST2L супо, і, необов'язково, шляхом додаткового дозрівання афінності антитіл. Антитіла можна ідентифікувати на основі інгібування ними біологічної активності ST2L із використанням будь-якого відповідного способу. У таких способах можуть застосовуватися аналізи гена-репортера або аналізи, в яких вимірюється продукування цитокінів із використанням добре відомих способів, і як описано в заявці.

Одним із варіантів втілення даного винаходу є антагоніст виділеного антитіла, який

специфічно зв'язує людський ST2L, що містить:

область, що визначає комплементарність, важких ланцюгів (HCDR) 1 (HCDR1) із SEQ ID NO: 160 (X₁X₂X₃MX₄); де

X₁ є S, F, D, I, G або V;

X₂ є Y або D;

X₃ є A, D або S; і

X₄ є S, F або I;

HCDR 2 (HCDR2) із SEQ ID NO: 161 (X₅IX₆GX₇GGX₈TX₉YADSVKG); де X₅ є A, S, T, Y або D;

X₆ є S, R, E, K, G або A;

X₇ є S, E або N;

X₈ є S, R, E, G, T, D або A; і X₉ є Y, D, N, A або S; і

HCDR 3 (HCDR3) із SEQ ID NO: 162 (X₁₀X₁₁WSTEGSFFVLDY); де

X₁₀ є D, A, R, N, Q, P, E, I, H, S, T або Y; і

X₁₁ є P, A, H, Y, E, Q, L, S, N, T, V або I.

Іншим варіантом втілення даного винаходу є антагоніст виділеного антитіла, який специфічно зв'язує людський ST2L, що містить:

область, що визначає комплементарність, легких ланцюгів (LCDR) 1 (LCDR1) із SEQ ID NO: 163 (RASQSVDDX₁₂LA); де

X₁₂ є A або D;

LCDR 2 (LCDR2) із SEQ ID NO: 90

(DASNRAT); і

LCDR 3 (LCDR3) із SEQ ID NO: 164 (QQX₁₃×14×15×16×17×18T); де

X₁₃ є F або Y;

X₁₄ є Y, I або N;

X₁₅ є N, G, D або T;

X₁₆ є W або A;

X₁₇ є P або видалено; і X₁₈ є L або I.

Антитіла згідно даного винаходу, що містять HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 і LCDR3 послідовності SEQ ID NO: 160, 161, 162, 163, 90 і 164, відповідно, можна отримати добре відомими способами мутагенезу з використанням, наприклад, HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 і LCDR3 послідовностей SEQ ID NO: 78, 81, 84, 87, 90 і 92, відповідно, як матриці. CDR важких ланцюгів і CDR легких ланцюгів із SEQ ID NO: 160, 161, 162, 163, 90 і 164, відповідно, може бути трансплантовано на каркаси людського походження, наприклад, такі каркаси, що описані *infra*. Антитіла можна проаналізувати на зв'язування із ST2L і на їхню здатність блокувати взаємодію IL-33/ST2L та інші характеристики, такі як афінність до людського ST2L і/або ST2L супо, та інгібування відповідей тучних клітин із використанням способів, описаних у даному документі.

В одному варіанті втілення антагоніст виділеного антитіла, який специфічно зв'язує людський ST2L, як описано в даному документі, містить:

HCDR1 із SEQ ID NO: 78 або 95-108;

HCDR2 із SEQ ID NO: 81, 109-118 або 120-129;

HCDR3 із SEQ ID NO: 84 або 165-185;

LCDR1 із SEQ ID NO: 87 або 130;

LCDR2 із SEQ ID NO: 90; і

LCDR3 із SEQ ID NO: 92 або 131-134.

В іншому варіанті втілення антагоніст виділеного антитіла, який специфічно зв'язує людський ST2L, містить послідовності HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 і LCDR3, як показано на фіг. 10, фіг. 11 і фіг. 12 і як описано в даному документі.

В іншому варіанті втілення антагоніст виділеного антитіла, який специфічно зв'язує людський ST2L, як описано в даному документі, містить:

HCDR1 із SEQ ID NO: 23 або 24;

HCDR2 із SEQ ID NO: 27 або 28;

HCDR3 із SEQ ID NO: 31 або 32;

LCDR1 із SEQ ID NO: 35 або 36;

LCDR2 із SEQ ID NO: 39 або 40;

і LCDR3 із SEQ ID NO: 43 або 44.

В іншому варіанті втілення антагоніст виділеного антитіла, який специфічно зв'язує людський ST2L, як описано в даному документі, містить послідовності HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 і LCDR3:

SEQ ID NO: 23, 27, 31, 35, 39 і 43, відповідно;

SEQ ID NO: 24, 28, 32, 36, 40 і 44, відповідно; (HFA CDR);

SEQ ID NO: 24, 28, 146, 36, 40 і 147, відповідно; або

SEQ ID NO: 24, 28, 146, 36, 40 і 44, відповідно.

Іншим варіантом втілення даного винаходу є антагоніст виділеного людського або адаптованого до людини антитіла чи його фрагмента, що специфічно зв'язує людський ST2L, як описано в даному документі, (SEQ ID NO: 1), що містить варіабельну область важких ланцюгів (VH), що містить каркас VH, отриманий із людських каркасних послідовностей IGHV3-23 (SEQ ID NO: 158), IGHV1-24*01 (SEQ ID NO: 148) або IGHV1-f*01 (SEQ ID NO: 149), і варіабельну область легких ланцюгів (VL), що містить каркас VL, отриманий із людських каркасних послідовностей IGKV3-11 (L6) (SEQ ID NO: 159), IGKV3-15*01 (L2) (SEQ ID NO: 150), IGKV1-9*01 (L8) (SEQ ID NO: 151), IGKV1-5*01 (L12) (SEQ ID NO: 152), IGKV1-12*01 (L5) (SEQ ID NO: 153), IGKV1-39*01 (O12) (SEQ ID NO: 154), IGKV1-27*01 (A20) (SEQ ID NO: 155) або IGKV1-33*01 (O18) (SEQ ID NO: 156).

В іншому варіанті втілення виділене антитіло, що специфічно зв'язує домен I людського ST2L, як описано в даному документі, містить VH, що включає каркас VH, отриманий із людських каркасних послідовностей VH 3-23 (SEQ ID NO: 158); і варіабельну область легких ланцюгів (VL), що містить каркас VL, отриманий із людських каркасних послідовностей V_k L6 (SEQ ID NO: 159). Каркасні послідовності людського походження добре відомі і, як правило, включають послідовності варіабельної області зародкової лінії людського імунoglobulinу, приєднані до послідовностей з'єднання (J). Каркасна амінокислотна послідовність людського походження VH 3-23, представлена у SEQ ID NO: 158, включає послідовність людської зародкової лінії VH 3-23, з'єднану з IGHJ4, і каркасна амінокислотна послідовність людського походження V_k L6, представлена у SEQ ID NO: 159, включає послідовність людської зародкової лінії V_k L6, з'єднану з IGKJ1, як описано у Shi et al., J Mol Biol 397:385-96, 2010; публ. міжнар. заявці на патент № WO2009/085462; і публ. заявці на патент США № US2010/0021477. Типові антитіла, які мають послідовність VH, отриману з людського VH 3-23, і послідовність VL, отриману з людського V_k L6, показано на фіг. 12 і фіг. 13.

Людські або адаптовані до людини антитіла, що включають варіабельні області важких або легких ланцюгів, "отриманих з" окремого каркасу або послідовності зародкової лінії, відносяться до антитіл, отриманих із системи, що використовує гени імунoglobulinу людської зародкової лінії, наприклад, із трансгенних мишей або з бібліотек фагового дисплея, як розглянуто *infra*. Антитіло, "отримане з" окремого каркасу або послідовності зародкової лінії, може містити відмінності в амінокислотах у порівнянні з послідовністю, з якої його було отримано, як наслідок, наприклад, природніх соматичних мутацій або навмисних заміщень.

В іншому варіанті втілення антагоніст виділеного людського або адаптованого до людини антитіла чи його фрагмента, який специфічно зв'язує домен I (SEQ ID NO: 9) людського ST2L, як описано в даному документі, конкурує за зв'язування з людським ST2L (SEQ ID NO: 1) із виділеним антитілом, що містить варіабельну область важких ланцюгів (VH) із SEQ ID NO: 47 і варіабельну область легких ланцюгів (VL) із SEQ ID NO: 51 (антитіло C2244).

В іншому варіанті втілення виділене антитіло згідно даного винаходу, як описано в даному документі, зв'язує людський ST2L на амінокислотних залишках 35-48 SEQ ID NO: 1 (RCPRQGKPSYTVDW; SEQ ID NO: 210). Антитіло, як описано у даному документі, може додатково зв'язувати людський ST2L на амінокислотних залишках T93 і F94 із SEQ ID NO: 1.

Аналіз конкуренції між специфічним зв'язуванням із людським ST2L антитіл згідно даного винаходу, як описано в даному документі, що містять певні амінокислотні послідовності HCDR1, HCDR2 і HCDR3, і LCDR1, LCDR2 і LCDR3 або містять певні послідовності VH і VL, можна проводити *in vitro* з використанням добре відомих способів. Наприклад, зв'язування MSD Sulfo-Tag™ NHS-ефір-міченого антитіла з людським ST2L у присутності неміченого антитіла можна проаналізувати за допомогою аналізів ELISA або Biacore, або, для демонстрації конкуренції з антитілами згідно даного винаходу, можна використати проточну цитометрію. Здатність тестованого антитіла інгібувати зв'язування C2244 із людським ST2L показує, що тестоване антитіло може конкурувати з цими антитілами за зв'язування з людським ST2L. Такі типові антитіла C2494, STLM208 і STLM213 показано в Таблиці 3 і на Фіг. 13.

Антитіла, що конкурують з C2244 за зв'язування з доменом I ST2L, як описано в даному документі, блокують взаємодію IL-33/ST2L та інгібують спектр біологічної активності ST2L, у тому числі IL-33-індуковані відповіді тучних клітин. Нейтралізуючий (тобто неінгібуючий) епітоп також присутній на домені I ST2L у ролі другої конкурентної групи антитіла (представлена антитілом C2240, яке зв'язує домен I ST2L, не конкурує з C2244 і не інгібує сигналізацію ST2L).

Антитіла згідно даного винаходу, які, як описано у даному документі, зв'язують специфічні домени або епітопи ST2L, можна отримати шляхом імунізації мишей, що експресують локуси

людського імуноглобуліну (Lonberg et al., Nature 368:856-9, 1994; Fishwild et al., Nature Biotechnology 14:845-51, 1996; Mendez et al., Nature Genetics 15:146-56, 1997, патенти США №№ 5,770,429, 7,041,870 і 5,939,598) або мишей лінії Balb/c із пептидами, що кодують епітопи, наприклад, пептидом, що має амінокислотну послідовність домену I людського ST2L: KFSKQSWGLENEALIVRCPRQGKPSYTVDWYYSQTNKS IPTQERNRVFASGQLLKFLPAAVADSGIY TCIVRSPTFNRTGYANVTIYKKQSDCNVPDYL MYSTV (SEQ ID NO: 9), або пептидом, що має амінокислотну послідовність RCPRQGKPSYTVDW (SEQ ID NO: 210), і за допомогою способу гібридоми Kohler et al., Nature 256:495-97, 1975. Отримані антитіла тестують на їхнє зв'язування з епітопом із використанням стандартних способів. Наприклад, коли структури обох окремих компонентів є відомими, щоб визначити сумісні ділянки взаємодії, можна провести стикування (докінг) "білок-білок" in silico. Для картування областей на антигені, який може бути пов'язаний з антитілом, можна здійснити воднево-дейтерійовий обмін (H/D) із комплексом антигену й антитіла. Щоб знайти амінокислоти, важливі для зв'язування антитіла, можна застосувати сегментарний і точковий мутагенез антигену.

Ідентифіковані mAb можна додатково модифікувати введенням змінених підтримуючих залишків каркасу, щоб зберегти аффіність зв'язування за допомогою способів, наприклад, розкритих у Queen et al., Proc Natl Acad Sci (USA) 86:10029-32, 1989 і Hodgson et al., Bio/Technology 9:421, 1991.

Антитіла згідно даного винаходу, як описано в даному документі, можуть бути людськими або адаптованими до людини. Антитіла згідно даного винаходу, як описано в даному документі, можуть бути типу IgA, IgD, IgE, IgG або IgM.

Антитіла, амінокислотні послідовності антиген-зв'язуючих ділянок яких є, по суті, ідентичними тим, що показані на фіг. 10, фіг. 11, фіг. 12, фіг. 13, фіг. 15, у Таблиці 3, Таблиці 9 і Таблиці 12, знаходяться в рамках даного винаходу. Як правило, це включає одне або кілька амінокислотних заміщень з амінокислотою, що має аналогічний заряд або гідрофобні або стереохімічні характеристики, і проводиться для покращення властивостей антитіл, наприклад, стабільності або аффіності. Наприклад, консервативне заміщення може включати заміщення нативного амінокислотного залишку неприродним залишком таким чином, що вплив на полярність або заряд амінокислотного залишку в цьому положенні або малий, або відсутній. Крім того, будь-який нативний залишок у поліпептиді також можна замінити аланіном, як описано вище, для аланін-скануючого мутагенезу (MacLennan et al., Acta Physiol Scand Suppl 643:55-67, 1998; Sasaki et al., Adv Biophys 35:1-24, 1998). Фахівці у даній галузі можуть визначити бажані заміщення амінокислот (консервативні або неконсервативні) на момент, коли такі заміщення є бажаними. Наприклад, заміщення амінокислот можна використати для ідентифікації залишків, важливих для функції антитіл, таких як залишки, що впливають на аффіність, або залишки, які надають небажаних властивостей, таких як агрегація. Типові заміщення амінокислот показано на фіг. 12 і фіг. 13.

На відміну від антиген-зв'язуючих ділянок, заміщення в каркасних областях також можна проводити, якщо вони не мають негативного впливу на властивості антитіла.

Каркасні заміщення можна проводити, наприклад, на залишках Vernier Zone (патент США № 6,649,055) для покращення аффіності або стабільності антитіла. Щоб зменшити можливу імуногенність, можна також проводити заміщення в тих каркасних позиціях в антитілі, які відрізняються послідовністю в порівнянні з гомологічними генними послідовностями людської зародкової лінії. Ці модифікації можна здійснити, наприклад, з антитілами, отриманими з бібліотек антитіл de novo, таких як бібліотеки pIX.

Консервативні амінокислотні заміщення охоплюють також амінокислотні залишки, що не зустрічаються в природі, як правило, включені шляхом хімічного синтезу пептидів, а не синтезом у біологічних системах. Амінокислотні заміщення можна провести, наприклад, за допомогою ПЛР-мутагенезу (патент США № 4,683,195).

Бібліотеки різновидів можна генерувати з використанням добре відомих способів, наприклад, із використанням випадкових (NNK) або не випадкових кодонів, наприклад, DVK кодонів, які кодують 11 амінокислот (ACDEGKNRSYW), і скринінгу бібліотек або різновидів із бажаними властивостями.

Незважаючи на те, що варіанти втілення, проілюстровані на Прикладах, включають пари варіабельних областей, пари повнорозмірних ланцюгів антитіл або пари областей CDR1, CDR2 і CDR3, одна з важкого ланцюга й одна з легкого ланцюга, фахівцям в даній області буде зрозуміло, що альтернативні варіанти втілення можуть включати одиночні варіабельні області важких ланцюгів або одиночні варіабельні області легких ланцюгів, одиночні повнорозмірні ланцюги антитіл або області CDR1, CDR2 і CDR3 з одного ланцюга антитіла, важкого або легкого. Одиночну варіабельну ділянку, повнорозмірний ланцюг антитіла або область CDR1,

CDR2 і CDR3 одного ланцюга можна використати для скринінгу на відповідні домени в іншому ланцюзі, два ланцюги здатні утворювати антитіло, яке специфічно зв'язує ST2L. Скринінг можна здійснити за допомогою способів скринінгу фагового дисплея з використанням, наприклад, комбінаторного ієрархічного подвійного підходу, описаного в публікації договору про патентну кооперацію (PCT) № WO1992/01047. При такому підході окремі колонії, що містять клон або H-, або L- ланцюга, використовують для інфікування повної бібліотеки клонів, що кодують інші ланцюги (L або H), і отриманий дволанцюговий специфічний антиген-зв'язуючий домен обирають відповідно до методів фагового дисплея, як описано.

У винаході запропоновано виділені домени VH і VL антитіл згідно даного винаходу, як описано в даному документі, й антитіла, що містять визначені домени VH і VL. Варіабельні області VH і VL для деяких антитіл згідно даного винаходу, як описано в даному документі, показано на фіг. 13 і в Таблиці 12.

Один із варіантів втілення даного винаходу - антагоніст виділеного людського або адаптованого до людини антитіла чи його фрагмента, який специфічно зв'язує домен I (SEQ ID NO: 9) людського ST2L, що містить VH, принаймні на 90 % ідентичний до SEQ ID NO: 191.

Інший варіант втілення даного винаходу - антагоніст виділеного людського або адаптованого до людини антитіла чи його фрагмента, який специфічно зв'язує домен I (SEQ ID NO: 9) людського ST2L, що містить VL, принаймні на 94 % ідентичний до VL SEQ ID NO: 209.

У деяких варіантах втілення даного винаходу, описаних у цьому документі, пропонується антитіло, що містить VH із SEQ ID NO: 143, 144, 145, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204 або 205.

У деяких варіантах втілення даного винаходу, описаних у цьому документі, пропонується антитіло, що містить VL із SEQ ID NO: 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 206, 207, 208 або 209.

У деяких варіантах втілення даного винаходу, описаних у цьому документі, пропонується антитіло, що містить:

VH із SEQ ID NO: 186, 187, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204 або 205 і VL із SEQ ID NO: 206;

VH із SEQ ID NO: 195 або 196 і VL із SEQ ID NO: 207;

VH із SEQ ID NO: 188, 189 або 190 і VL із SEQ ID NO: 208; або

VH із SEQ ID NO: 187, 191, 192, 193 або 194 і VL із SEQ ID NO: 209.

В іншому варіанті втілення даного винаходу пропонується антагоніст виділеного людського або адаптованого до людини антитіла чи його фрагмента, який специфічно зв'язує домен I (SEQ ID NO: 9) людського ST2L, що містить:

HCDR1 із SEQ ID NO: 97;

HCDR2 із SEQ ID NO: 114;

HCDR3 із SEQ ID NO: 84;

LCDR1 із SEQ ID NO: 130;

LCDR2 із SEQ ID NO: 90;

LCDR3 із SEQ ID NO: 134; або

VH із SEQ ID NO: 191 і VL із SEQ ID NO: 209

Людські mAb, в яких відсутні будь-які послідовності не людського походження, можна підготувати і оптимізувати з бібліотек фагового дисплея за допомогою методів, що згадуються в, наприклад, Knappik et al., J Mol Biol 296:57-86, 2000; і Krebs et al., J Immunol Meth 254:67-84 2001. У типовому способі антитіла згідно даного винаходу виділяють із бібліотек, які експресують варіабельні області важких і легких ланцюгів антитіла у вигляді гібридних білків з оболонковим білком бактеріофага PIX. Бібліотеки антитіл піддають скринінгу на зв'язування з людським ST2L-ECD та додатково характеризують отримані позитивні клони, Fab виділяють із лізатів клонів й експресують як повнорозмірні IgG. Типові бібліотеки антитіл і способи скринінгу описано в Shi et al., J Mol Biol 397:385-96, 2010; публ. міжнар. заявці на патент № WO2009/085462, і публ. США № 12/546850; патентах США №№ 5,223,409, 5,969,108 і 5,885,793).

Для заміни певних каркасних залишків на ті, що присутні у відповідній людській зародковій лінії, отримані mAb можна додатково модифікувати в їхніх каркасних областях.

Імунні ефекторні властивості антитіл згідно даного винаходу можна посилити або пригнітити через Fc-модифікації за допомогою методів, відомих фахівцям у даній галузі. Наприклад, Fc-ефекторні функції, такі як зв'язування C1q, комплемент-залежна цитотоксичність (CDC), антитіла-залежна клітинно-опосередкована цитотоксичність (ADCC), фагоцитоз, негативна регуляція рецепторів клітинної поверхні (наприклад, B- клітинного рецептора; BCR) і т. п. можна реалізувати та/або контролювати шляхом модифікування залишків у Fc, що відповідає за ці дії.

Фармакокінетичні властивості також можна посилити шляхом мутації залишків у домені Fc, що подовжують період напіврозпаду антитіл (Strohl Curr Opin Biotechnol 20:685-91, 2009). Типовими модифікаціями Fc є IgG4 S228P/L234A/L235A, IgG2 M252Y/S254T/T256E (Dall'Acqua et al., J Biol Chem 281:23514-24, 2006; або IgG2 V234A/G237A/P238S, V234A/G237A/H268Q, H268A/V309L/A330S/P331 або V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S на IgG2 (міжнар. заявка на патент № WO2011/066501) нумерація відповідно до нумерації ЕС).

Крім того, антитіла згідно даного винаходу, як описано у даному документі, можна посттрансляційно модифікувати за допомогою таких процесів, як глікозилювання, ізомеризація, деглікозилювання або ковалентна модифікація, що не зустрічається в природі, наприклад, доповнення функціональними групами поліетиленгліколю (пегілювання) і ліпідизація. Такі модифікації можуть відбуватись *in vivo* або *in vitro*. Наприклад, для покращення фармакокінетичних профілів антитіл такі антитіла згідно даного винаходу, як описано у даному документі, можна кон'югувати з поліетиленгліколем (ПЕГ). Кон'югацію можна здійснити за допомогою методів, відомих фахівцям у даній галузі. Було продемонстровано, що кон'югація терапевтичних антитіл з ПЕГ покращує фармакодинаміку без перешкоджання функції (Knigh et al., Platelets 15:409-18, 2004; Leong et al., Cytokine 16:106-19, 2001; Yang et al., Protein Eng 16:761-70, 2003).

Антитіла або їхні фрагменти згідно винаходу, як описано у даному документі, модифіковані для підвищення стабільності, селективності, перехресної реактивності, афінності, імуногенності або іншої бажаної біологічної або біофізичної властивості, знаходяться у рамках даного винаходу. Стабільність антитіла залежить від ряду факторів, у тому числі (1) складу ядра окремих доменів, що впливає на їхню внутрішню стабільність, (2) взаємодій білка/білкового інтерфейсу, які впливають на спарювання HC і LC, (3) запасу полярних і заряджених залишків, (4) мережі Н-зв'язування полярних і заряджених залишків; і (5) розподілу поверхневого заряду і полярних залишків серед інших внутрішньо- і міжмолекулярних сил (Worn et al., J Mol Biol 305:989-1010, 2001). Залишки, які мають потенціал для дестабілізації структур, можна ідентифікувати на основі кристалічної структури антитіла або, у певних випадках, молекулярного моделювання, а вплив залишків на стабільність антитіла можна проаналізувати шляхом створення та оцінки різновидів, які несуть мутації в ідентифікованих залишках. Одним із шляхів підвищення стабільності антитіла є підвищення середньої точки температурного переходу (T_m), яку вимірюють за допомогою диференціальної скануючої калориметрії (ДСК). Загалом T_m білка корелює з його стабільністю і зворотно корелює з його сприйнятливостю до розгортання і денатурації в розчині та процесів деградації, які залежать від схильності білка до розгортання (Remmele et al., Biopharm 13:36-46, 2000). У ряді досліджень виявлено кореляцію між розподілом за фізичною стабільністю композицій, виміряною методом термічної стабільності за допомогою ДСК, і фізичною стабільністю, виміряною за допомогою інших способів (Gupta et al., AAPS PharmSci 5E8, 2003; Zhang et al., J Pharm Sci 93:3076-89, 2004; Maa et al., Int J Pharm 140:155-68, 1996; Bedu-Addo et al., Pharm Res 21:1353-61, 2004; Remmele et al., Pharm Res 15:200-8, 1997). Дослідження композицій показують, що T_m Fab демонструє зв'язок з довготривалою фізичною стабільністю відповідного mAb. Відмінності амінокислот у каркасі або в CDR можуть мати значний вплив на термічну стабільність домену Fab (Yasui et al., FEBS Lett 353:143-6, 1994).

Антитіла згідно даного винаходу, які специфічно зв'язують домен I людського ST2L, як описано в даному документі, можна створити у формі біспецифічних антитіл, які також включено в рамки даного винаходу. Області VL і/або VH антитіл згідно даного винаходу можна створити з використанням опублікованих способів у формі одноланцюгових біспецифічних антитіл, таких як структури конструкцій TandAb®, (публ. міжнар. заявці на патент № WO1999/57150; публ. заявці на патент США № US2011/0206672) або у формі біспецифічних scFVs, таких як структури, що розкриті в патенті США № US5869620; публ. міжнар. заявці на патент № WO1995/15388A, публ. міжнар. заявці на патент № WO1997/14719 або публ. міжнар. заявці на патент № WO2011/036460.

Області VL і/або VH антитіл згідно даного винаходу, як описано в даному документі, можна створити у формі біспецифічних повнорозмірних антитіл, де кожен відросток антитіла зв'язує певний антиген або епітоп. Такі біспецифічні антитіла звичайно створюють шляхом модуляції взаємодій CH3 між двома важкими ланцюгами антитіл, отримуючи біспецифічні антитіла, з використанням методів, таких як ті, що описані в патенті США № US7695936; публ. міжнар. заявці на патент № WO04/111233; публ. заявці на патент США № US2010/0015133; публ. заявці на патент США № US2007/0287170; публ. міжнар. заявці на патент № WO2008/119353; публ. заявці на патент США № US2009/0182127; публ. заявці на патент США № US2010/0286374; публ. заявці на патент США № US2011/0123532; публ. міжнар. заявці на патент №

WO2011/131746; публ. міжнар. заявці на патент № WO2011/143545; або публ. заявці на патент США № US2012/0149876. Додаткові біспецифічні структури, в які можуть бути включені області VL і/або VH антитіл даного винаходу, - це, наприклад, імуноглобуліни подвійного варіабельного домену (публ. міжнар. заявці на патент № WO2009/134776) або структури, які включають різні домени димеризації для з'єднання двох відростків антитіл із різною специфічністю, таких як домени лейцинової "застібки" або димеризації колагену (публ. міжнар. заявці на патент № WO2012/022811, патент США № US5932448; патент США № US6833441).

Іншим аспектом даного винаходу є виділений полінуклеотид, що кодує будь-яку з варіабельних областей важких ланцюгів антитіла або варіабельних областей легких ланцюгів антитіла або їх фрагменти, згідно даного винаходу, або їхній комплемент.

Певні типові полінуклеотиди розкрито у цьому документі, однак інші полінуклеотиди, які, враховуючи виродженість генетичного коду або переваги кодонів у даній системі експресії, кодують антагоністи антитіла згідно даного винаходу, також знаходяться в рамках даного винаходу. Типові полінуклеотиди згідно даного винаходу представлено в SEQ ID NO: 211, 212, 213 і 214.

Іншим варіантом втілення даного винаходу є вектор, що містить полінуклеотид згідно даного винаходу. Такі вектори можуть бути плазмідними векторами, вірусними векторами, векторами для експресії бакуловірусів, векторами на основі транспозону або будь-якими іншими векторами, придатними для введення в полінуклеотиди даного винаходу в певному організмі або генетичному середовищі за допомогою будь-яких засобів.

Іншим варіантом втілення даного винаходу є клітина-хазяїн, що містить полінуклеотид згідно даного винаходу. Такі клітини-хазяїни можуть бути еукаріотичними клітинами, бактеріальними клітинами, клітинами рослин або клітинами архей. Типовими еукаріотичними клітинами є клітини ссавців, комах, птахів чи інші клітини тваринного походження. Еукаріотичні клітини ссавців включають іморталізовані клітинні лінії, такі як гібридами або клітини ліній мієломи, такі як клітинні лінії мишей SP2/0 (Американська колекція типових культур (ATCC), м. Манассас, штат Вірджинія, США CRL-1581), NS0 (Європейська колекція культур клітин (ECACC), м. Солсбері, графство Вілтшир, Великобританія, ECACC No. 85110503), FO (ATCC CRL-1646) і Ag653 (ATCC CRL-1580). Типовою лінією клітин мієломи людини є U266 (ATCC CRL-TIB-196). Інші корисні клітинні лінії включають лінії, отримані з яєчника китайського хом'ячка (CHO), такі як CHO-K1SV (Lonza Biologics, м. Уолкерсвіль, штат Меріленд, США), CHO-K1 (ATCC CRL-61) або DG44.

Інший варіант втілення даного винаходу - це спосіб продукування антитіла, яке специфічно зв'язує домен I з ST2L, що включає культивування клітини-хазяїна згідно даного винаходу і виділення антитіл, що продукуються клітиною-хазяїном. Способи отримання антитіл та їхнього очищення добре відомі у даній галузі.

Інший варіант втілення даного винаходу відноситься до способу інгібування взаємодії ST2L із IL-33 в об'єкті, що включає введення об'єкту антитіла, яке специфічно зв'язує домен I із ST2L у кількості, достатній для інгібування взаємодії ST2L і IL-33.

Способи обробки

Антагоністи ST2L згідно даного винаходу, як описано у даному документі, наприклад, антагоністи антитіл ST2L, які блокують взаємодію IL-33/ST2L і зв'язують домен I з ST2L, антитіла, які конкурують за зв'язування з людським ST2L (SEQ ID NO: 1) із виділеним антитілом, що містить варіабельну область важких ланцюгів SEQ ID NO: 47 і варіабельну область легких ланцюгів SEQ ID NO: 51, або антитіла, що зв'язують людський ST2L на амінокислотних залишках 35-48 із SEQ ID NO: 1 (RCPRQGKPSYTVDW; SEQ ID NO: 210), можна використати для модуляції імунної системи. Антитіла згідно даного винаходу, як описано у даному документі, можуть мати більший ефект антагонізму відносно біологічної активності ST2L порівняно з антитілами, які зв'язують інші домени і/або області на ST2L, оскільки антитіла згідно даного винаходу здатні ефективніше знизити IL-33-індуковані відповіді тучних клітин. Будь-які антитіла згідно даного винаходу можна використати в способах, що пропонуються в даному винаході. Типовими антитілами, які можна використати в способах згідно даного винаходу, є антитіла STLM62, STLM15, STLM103, STLM107, STLM108, STLM123, STLM124, STLM206, STLM207, STLM208, STLM209, STLM210, STLM211, STLM212, STLM213. Без наміру обмежитись будь-якою теорією передбачається, що антагоністи антитіла, які зв'язують домен I і блокують взаємодію IL-33/ST2L, можуть інгібувати утворення комплексу IL-1RAcP/IL-33/ST2L/cKit або знижувати передачу сигналу на тучні клітини, тоді як домен III-зв'язуючі антитіла, які одночасно мають здатність інгібувати рекрутування IL-1RAcP до комплексу ST2L/IL-33, можуть не мати здатності порушувати утворення більшого комплексу IL-1RAcP/IL-33/ST2L/cKit, який можна знайти виключно на тучних клітинах. Проведений аналіз мікроматриць підтверджує висловлене

припущення, що антитіла, які зв'язують домен I анти-ST2L, пригнічують більшість сигнальних шляхів тучних клітин, індукованих IL-33, і що антитіла, які зв'язують домен III анти-ST2L, здатні інгібувати лише невелику підмножину цих сигнальних шляхів. Можливо, що внаслідок того, що IL-33 зв'язується із ST2L перед приєднанням акцесорного білка IL-1RAcP, блокування зв'язування IL-33 із ST2L домен I-зв'язуючими антитілами може попередити приєднання будь-якого іншого акцесорного білка, у тому числі cKit або ще нерозпізнаних корецепторів. Домен III-зв'язуючі антитіла, які не перешкоджають зв'язуванню IL-33 із ST2L, теоретично можуть блокувати приєднання IL-1RAcP, але не приєднання інших корецепторів, у тому числі ще не розпізнаних корецепторів. Запропоновано множину моделей взаємодії IL-1RAcP із комплексами IL-1/IL-1R або ST2L/IL-33 (Lingel et al., *Structure* 17: 1398-1410, 2009; і розглянуто в публікації Thomas et al., *Nat Struct & Molec Biol* 19: 455-457, 2012). Ці моделі вказують, що IL-1RAcP може зв'язуватись з однією частиною комплексу, але не показують переконливо, з якою частиною. Тому можливо, щоб "інша частина" або "вільна частина" комплексу була доступною для приєднання альтернативних корецепторів, не заблокованих антитілом домену III, і можливими є нецільові ефекти, такі як посилення рекрутування іншого корецептора, що призводить до посилення передачі сигналів.

У способах згідно даного винаходу можна застосовувати будь-який антагоніст антитіла, який специфічно зв'язує домен I людського ST2L, антагоніст антитіла, який блокує взаємодію IL-33/ST2L і зв'язує домен I людського ST2L, антитіла, які конкурують за зв'язування з людським ST2L (SEQ ID NO: 1) із виділеним антитілом, що містить варіабельну область важких ланцюгів SEQ ID NO: 47 і варіабельну область легких ланцюгів SEQ ID NO: 51, або антитіла, які зв'язують людський ST2L на амінокислотних залишках 35-48 із SEQ ID NO: 1 (RCPRQGKPSYTVDW; SEQ ID NO: 210). Додаткові характеристики таких антитіл включають здатність антитіла блокувати взаємодію IL-33/ST2L й інгібувати відповіді тучних клітин людини.

Таким чином, антитіла згідно даного винаходу придатні для лікування ряду ST2L-опосередкованих процесів, ST2L-опосередкованих запальних захворювань і процесів, де бажаним є інгібування відповідей тучних клітин.

Способи згідно даного винаходу можна використовувати для лікування хворих тварин, що належать до будь-якої класифікації. Приклади таких тварин включають ссавців, таких як люди, гризуни, собаки, кішки і свійські тварини. Наприклад, антитіла згідно даного винаходу можна використати для профілактики і лікування ST2L-опосередкованих захворювань, таких як запальні захворювання, у тому числі астма, гіперреактивність дихальних шляхів, саркоїдоз, хронічне обструктивне захворювання легень (ХОЗЛ), ідіопатичний легеневий фіброз (ІЛФ), кістозний фіброз (муковісцидоз), запальне захворювання кишечника (ЗЗК), ревматоїдний артрит, еозинофільний езофагіт, склеродермія, atopічний дерматит, алергічний риніт, бульозний пемфігоїд, хронічна кропив'янка, діабетична нефропатія, інтерстиціальний цистит або захворювання "трансплантат проти хазяїна" (GVHD). Антитіла згідно даного винаходу можуть бути корисні у профілактиці і лікуванні імунних хвороб, опосередкованих, принаймні частково, тучними клітинами, таких як астма, екзема, свербіж, алергічний риніт, алергічний кон'юнктивіт, а також аутоімунних захворювань, таких як ревматоїдний артрит, бульозний пемфігоїд і розсіяний склероз.

Антитіла згідно даного винаходу також корисні у виготовленні лікарського засобу для такого лікування, де лікарський засіб готують для введення в дозах, визначених у даному документі.

Тучні клітини відіграють центральну роль у розвитку алергічного запалення й астми через вивільнення ними різних медіаторів (розглянуто Amin, *Respir Med* 106: 9 - 14, 2012). ST2L експресується на високому рівні на тучних клітинах, і його активація призводить до експресії багатьох прозапальних цитокінів і інших медіаторів. Для перешкодження опосередкованому тучними клітинами рекрутуванню запальних клітин і модуляції хронічного запалення пропонується інгібування активності ST2L.

Тучні клітини є швидкими респондерами на стимуляцію, в тому числі алергеном, холодним повітрям, патогеном; ушкодження епітелію цими стимулами може призвести до вивільнення IL-33 (розглянуто Zhao and Hu, *Cell & Molec Immunol* 7: 260-2, 2012).

Тучні клітини виділяють лейкотриєни, гістамін, простагландини і цитокіни, що призводить до збільшення проникності судин і бронхоспазму, а також притягують інші імунні клітини, такі як нейтрофіли, еозинофіли і Т-лімфоцити, до місця патології (Henderson et al., *JEM* 184:1483-94, 1996; White et al., *JACI* 86:599-605, 1990). Додатково вони посилюють імунну реакцію, викликаючи підвищену регуляцію молекул адгезії на ендотеліальних клітинах для збільшення міграції імунних клітин (Meng et al., *J Cell Physiol* 165:40-53, 1995). Тучні клітини відіграють важливу роль у ремоделюванні дихальних шляхів; у хворих на астму кількість тучних клітин у шарі клітин гладких м'язів дихальних шляхів (ASM) збільшена і вони секретируют медіатори для

стимуляції проліферації ASM (розглянуто Okayama et al., Curr Opin Immunol 19:687-93, 2007).

Запальний легеневий процес є прикладом запального процесу. Типові запальні легеневі процеси включають: легеневі процеси, викликані інфекцією, у тому числі ті, що пов'язані з вірусними, бактеріальними, грибковими, паразитарними або пріоновими інфекціями; алерген-індуковані легеневі процеси; легеневі процеси, викликані поллютантами, такі як азбестоз, силікоз або бериліоз; легеневі процеси, викликані аспірацією шлункового вмісту, імунною дисрегуляцією, запальні процеси з генетичною схильністю, такі як кістозний фіброз, та легеневі процеси, викликані фізичною травмою, такою як травма внаслідок штучної вентиляції легень. Ці запальні процеси також включають астму, емфізему, бронхіт, хронічне обструктивне захворювання легень (ХОЗЛ), саркоїдоз, гістіоцитоз, лімфангіоматоз, гостре пошкодження легень, гострий респіраторний дистрес-синдром, хронічні захворювання легень, бронхолегеневу дисплазію, позалікарняну пневмонію, нозокоміальну пневмонію, вентилятор-асоційовану пневмонію, сепсис, вірусну пневмонію, грипозну інфекцію, інфекцію парагрипу, ротавірусну інфекцію, людську метанемовірусну інфекцію, респіраторно-синцитіальну вірусну інфекцію та аспергільоз або інші грибкові інфекції. Типові запальні захворювання, пов'язані з інфекцією, можуть включати вірусну або бактеріальну пневмонії, в тому числі важку пневмонію, муковісцидоз, бронхіт, загострення хвороб дихальних шляхів і гострий респіраторний дистрес-синдром (ГРДС). Такі процеси, пов'язані з інфекцією, можуть включати в себе множинну інфекцій, таких як первинна вірусна інфекція та вторинна бактеріальна інфекція. Порушення регуляції сигналізації ST2L може відігравати роль у патології легеневих захворювань, таких як астма і хронічне обструктивне захворювання легень (ХОЗЛ) (розглянуто Alcorn et al., Annu Rev Physiol 72:495-516, 2010). Поширені моделі астми та запалення дихальних шляхів у тварин включають модель із стимуляцією овальбуміном, моделі метахолінової сенсibiliзації і сенсibiliзації за допомогою *Aspergillus fumigatus* (Hessel et al., Eur J Pharmacol 293:401-12, 1995). Як модель *in vitro* також можна використати інгібування продукування цитокінів і хемокінів з культивованих людських бронхіальних епітеліальних клітин, фібробластів або клітин гладких м'язів дихальних шляхів. Уведення антагоністів згідно даного винаходу в будь-яку з цих моделей можна використати для оцінки можливості застосування цих антагоністів для полегшення симптомів і зміни перебігу астми, запалення дихальних шляхів, ХОЗЛ та подібного.

Астма - це запальне захворювання легень, яке характеризується гіперреактивністю дихальних шляхів (ГДШ), бронхоспазмом, свистячим диханням, еозинофільним чи нейтрофільним запаленням, гіперсекрецією слизу, субепітеліальним фіброзом і підвищенням рівнів IgE. Пацієнти з астмою відчувають "загострення", посилення симптомів найчастіше внаслідок мікробної інфекції дихальних шляхів (наприклад, риновірусної, грипозної, гемофільної палички і т. п.). Астматичні напади можуть викликати фактори навколишнього середовища (наприклад, аскариди, комахи, тварини (наприклад, коти, собаки, кролики, миші, щури, хом'яки, морські свинки і птахи), гриби, забруднювачі повітря (наприклад, тютюновий дим), подразнюючі гази, дим, пари, аерозолі, хімічні речовини, пилок, фізичні навантаження або холодне повітря). Крім астми, декілька хронічних запальних захворювань, що вражають легені, характеризуються нейтрофільною інфільтрацією дихальних шляхів, наприклад, хронічне обструктивне захворювання легень (ХОЗЛ), бактеріальна пневмонія і муковісцидоз (Linden et al., Eur Respir J 15:973-7, 2000; Rahman et al., Clin Immunol 115:268-76, 2005), а такі захворювання, як ХОЗЛ, алергічний риніт і муковісцидоз, характеризуються гіперреактивністю дихальних шляхів (Fahy and O'Byrne, Am J Respir Crit Care Med 163:822-3, 2001). Поширені моделі астми та запалення дихальних шляхів у тварин включають модель метахолінової стимуляції після сенсibiliзації і стимуляції овальбуміном (Hessel et al., Eur J Pharmacol 293:401-12, 1995). Як модель *in vitro* також можна використати інгібування продукції цитокінів і хемокінів із культивованих людських бронхіальних епітеліальних клітин, фібробластів або клітин гладких м'язів дихальних шляхів. Уведення антагоністів антитіла згідно даного винаходу в будь-яку з цих моделей можна використати для оцінки можливості застосування цих антагоністів для полегшення симптомів і зміни перебігу астми, запалення дихальних шляхів, ХОЗЛ та подібного.

Сигналізація IL-33 через рецептор ST2L на секрецію клітин TH2, базофілів, тучних клітин і новоописаних вроджених клітин лімфоїдного типу 2 призводить до секреції IL-5 і IL-13 (цитокіну типу 2) (вроджені лімфоїдні клітини (ILC) розглянуто Spits et al., Nature Reviews Immunology 13:145-149, 2013). Сприятливий вплив терапії, спрямованої на IL-5 або IL-13 при астмі, підтверджує актуальність цих шляхів. IL-5 активує еозинофіли, і лікування підгрупи хворих із важкою астмою, з еозинофілією у мокротинні, моноклональним антитілом, яке нейтралізує IL-5, призвело до зменшення числа загострень (Nair et al. N Engl J Med. 2009; 360(10):985-93). Повідомляється, що IL-13 бере участь у синтезі IgE, секреції слизу і формуванні фіброзу. Лікування хворих із важкою астмою моноклональним антитілом анти-IL-13 призвело до

покращення функції легень у підгрупі, яка продемонструвала більш виражене покращення (Corren et al., N. Engl. J. Med., 365:1088-1098, 2011). Інші медіатори диференціальних імунологічних шляхів також беруть участь у патогенезі астми, і блокування цих медіаторів, крім ST2L, може мати додатковий терапевтичний ефект. Види лікування, які націлені на множинну

цитокінів типу 2 або висхідні шляхи утворення цитокінів типу 2, можуть бути корисними при важкому захворюванні.

Домени VH і VL антитіл ST2L згідно даного винаходу можна включити в біспецифічні антитіла і молекули, описані у даному документі, де біспецифічне антитіло специфічно зв'язує домен I із ST2L і другий антиген, такий як стромальний лімфопетин тимуса (TSLP), IL-25, IL-17RB або TSLPR.

IL-25 і TSLP, як і IL-33, за допомогою різних сигнальних комплексів запускають вивільнення цитокінів типу 2: IL-25 (IL-17E) є членом сімейства IL-17 і сигналізує через IL-17RA/IL-17RB, і TSLP є членом сімейства IL-7 і сигналізує через гетеродимери TSLPR/IL-7R α (розглянуто Koyasu et al., Immunol 132:475-481, 2011). Тварини, які мають недостатність IL-33, ST2L, IL-25, IL-17RB, TSLP або TSLPR, демонструють менш важке запалення дихальних шляхів у принаймні одній із багатьох різних типів моделей астми у мишей; однак недостатній захист від запалення дихальних шляхів може мати місце в більшості з цих моделей захворювань у тварин, збільшуючи можливість того, що вплив різних алергенів або патогенів на епітелій може викликати одночасне вивільнення IL-33, IL-25 і TSLP. Hammad et al. повідомили, що введення екстракту домашніх пилових кліщів мишам призвело до вивільнення IL-25, TSLP і IL-33 (а також IL-5 і IL-13 нижче IL-33) в дихальні шляхи (Hammad et al., Nat Med 15:210-216, 2009). Це свідчить про те, що блокування ST2L і TSLP і/або IL-25 може мати позитивні ефекти, особливо при важкому захворюванні дихальних шляхів.

В іншому варіанті втілення даного винаходу антагоністи антитіла, що специфічно зв'язує домен I людського ST2L, можна використати для створення біспецифічних молекул, які зв'язують ST2L і TSLP, ST2L і IL-25, ST2L і TSLPR, ST2L і IL-17RA або ST2L і IL-17RB.

В іншому варіанті втілення даного винаходу антагоністи антитіла, що специфічно зв'язує домен I людського ST2L, - це біспецифічне антитіло, причому антитіло додатково зв'язує TSLP, IL-25, TSLPR, IL-17RA або IL-17RB.

Антитіла, що зв'язують TSLP, IL-25, TSLPR, IL-17RA і IL-17RB, можна отримати з використанням способів, описаних у даному документі, таких як імунізація мишей з експресією локусів людського імуноглобуліну (Lonberg et al., Nature 368:856-9, 1994; Fishwild et al., Nature Biotechnology 14:845-51, 1996; Mendez et al., Nature Genetics 15:146-56, 1997, патенти США №№ 5,770,429, 7,041,870 і 5,939,598) або лінії мишей Balb/c із відповідними білками або позаклітинними доменами білків або з використанням бібліотек фагового дисплея, як описано в даному документі. Як альтернатива, існуючі антитіла до TSLP, IL-25, TSLPR, IL-17RA і IL-17RB можна використати для створення біспецифічних молекул. Типовими антитілами IL-25, які можна використати, є ті, що описані, наприклад, у публ. міжнар. заявці на патент № WO2011/123507.

Артрит, у тому числі остеоартрит, ревматоїдний артрит, травматичний артрит суглобів та подібне, належать до поширених запальних процесів, на які позитивно впливає терапевтичне застосування протизапальних білків, таких як антагоністи згідно даного винаходу. Активізація сигналізації ST2L може підтримувати запалення і додаткове пошкодження тканин у запаленому суглобі. Відомо декілька моделей ревматоїдного артрити у тварин. Наприклад, у моделі колаген-індукованого артрити (CIA) мишей розвиток хронічного запального артрити є дуже подібним до ревматоїдного артрити в людини. У ST2L-дефіцитних (ST2KO) мишей розвивалася легша форма захворювання в цій моделі, і патологія в цій моделі залежала від експресії ST2L тучними клітинами (Xu et al., PNAS 105:10913-8, 2008). У цій моделі спостерігалася знижена інфільтрація мононуклеарних і поліморфоядерних клітин, а також знижена синовіальна гіперплазія у суглобах мишей ST2KO. Дренуючі лімфовузли мишей ST2KO, які культивували з колагеном (CII), продемонстрували значне зниження рівня продукування IL-17, IFN γ та TNF α . У ST2L- дефіцитних мишей із адоптивно перенесеними тучними клітинами дикого типу (WT), отриманими з кісткового мозку (BMDC), перед стимуляцією CIA розвивалися важчі форми CIA, ніж у тих, яких щепили з BMDC ST2KO. Тому ST2L-сигналізація тучними клітинами має вирішальне значення для розвитку артрити в моделі захворювань у мишей, що подібна на ревматоїдний артрит людини. Уведення антитіл ST2L згідно даного винаходу, які інгібують відповіді тучних клітин, мишам моделі CIA можна використовувати для оцінки застосовування цих антагоністів для полегшення симптомів і зміни перебігу захворювання.

Типовими шлунково-кишковими запальними процесами є запальні захворювання кишечника (ЗЗК), виразковий коліт (UC) і хвороба Крона (CD), коліт, індукований несприятливими впливами

(наприклад, шлунково-кишкове запалення (наприклад, коліт) викликане або пов'язане з (наприклад, як побічний ефект) лікувальним режимом, таким як проведення хіміотерапії, променевої терапії, тощо), інфекційний коліт, ішемічний коліт, колагеновий або лімфоцитарний коліт, некротичний ентероколіт, коліт у таких умовах, як хронічне гранулематозне захворювання або целіакія, харчові алергії, гастрит, інфекційний гастрит або ентероколіт (наприклад, хронічний активний гастрит, пов'язаний з інфікуванням *Helicobacter pylori*) та інші форми шлунково-кишкового запалення, викликаного інфекційним агентом. Існує декілька моделей шлунково-кишкових запальних процесів у тварин. До моделей, що використовуються найбільш широко, належить модель коліту, індукованого 2,4,6-тринітробенесульфоною кислотою/етанолом (TNBS), або оксазалонова модель, які викликають хронічне запалення і виразкування товстої кишки (Neurath et al., Intern Rev Immunol 19:51-62, 2000). В іншій моделі використовують декстран сульфату натрію (DSS), який індукує гострий коліт, що проявляється кривавим проносом, втратою ваги, вкороченням товстої кишки і виразкуванням слизових із нейтрофільною інфільтрацією. Інша модель передбачає адаптивне перенесення ненавчених Т-клітин CD45RBhigh CD4 до мишей RAG або SCID. У цій моделі ненавчені Т-клітини донора атакують кишечник реципієнта, викликаючи хронічне запалення кишечника і симптоми, схожі на такі при запальних захворюваннях кишечника людини (Read and Powrie, Curr Protoc Immunol, глава 15, розділ 15.13, 2001). Уведення антагоністів згідно даного винаходу в будь-яку з цих моделей можна використати для оцінки потенційної ефективності цих антагоністів для полегшення симптомів і зміни перебігу захворювань, пов'язаних із запаленням у кишечнику, таких як запальні захворювання кишечника.

Фіброз нирок може розвинутиися або внаслідок гострого інсульту, такого як ішемія/реперфузія трансплантата (Freese et al., Nephrol Dial Transplant 16:2401-6, 2001), або хронічного процесу, такого як діабет (Ritz et al., Nephrol Dial Transplant 11 додаток 9:38-44, 1996). Патогенез, як правило, характеризується початковою запальною реакцією з подальшим стійким фіброгенезом системи клубочкової фільтрації і тубулярного інтерстицію (Liu, Kidney Int 69:213-7, 2006). Доведено, що тубулоінтерстиціальний фіброз відіграє важливу роль у патогенезі ураження нирок на термінальній стадії ниркової недостатності і клітину проксимальних каналців визначено як центральний медіатор (Phillips and Steadman, Histol Histopathol 17:247-52, 2002; Phillips, Chang Gung Med J 30:2-6, 2007). Фіброгенез у тубулоінтерстиціальному відділі частково опосередковується активацією місцевих фібробластів, які секретують прозапальні цитокіни, що стимулюють секрецію медіаторів місцевого запалення і фіброгенезу епітелієм проксимальних каналців. Крім того, цитокіни хемотаксису секретуються фібробластами і епітеліальними клітинами і забезпечують спрямований градієнт, що спрямовує інфільтрацію моноцитів/макрофагів і Т-клітин у тубулоінтерстицій. Запальний інфільтрат продукує додаткові фіброгенні і запальні цитокіни, які додатково активують вивільнення цитокінів фібробластами й епітеліальними клітинами, а також стимулює проходження епітелієм фенотипового переходу, при якому клітини депонують надлишкові компоненти позаклітинного матриксу (Simonson, Kidney Int 71:846-54, 2007).

Інші типові процеси фіброзу можуть включати фіброз печінки (у тому числі, крім іншого, алкогольний цироз, вірус-індукований цироз, аутоімунний гепатит); фіброз легень (у тому числі, крім іншого, склеродермію, ідіопатичний легеневий фіброз); фіброз нирок (у тому числі, крім іншого, склеродермію, діабетичний нефрит, гломерулонефрит, вовчаковий нефрит); фіброз шкіри (у тому числі, крім іншого, склеродермію, гіпертрофічні і келоїдні рубці, опіки); мієлофіброз; нейрофіброматоз; фіброму; кишковий фіброз; і фіброзні спайки в результаті хірургічних втручань. Фіброз може бути органоспецифічним фіброзом або системним фіброзом. Органоспецифічний фіброз може бути пов'язаний із фіброзом легень, фіброзом печінки, фіброзом нирок, фіброзом серця, фіброзом судин, фіброзом шкіри, фіброзом очей або фіброзом кісткового мозку. Фіброз легень може бути пов'язаний з ідіопатичним легеневим фіброзом, легеневим фіброзом, зумовленим медикаментами, астмою, саркоїдозом або хронічним обструктивним захворюванням легень. Фіброз печінки може бути пов'язаний із цирозом печінки, шистосомозом або холангітом. Цироз може бути вибраний з-поміж алкогольного цирозу печінки, цирозу печінки після гепатиту С, первинного біліарного цирозу печінки. Холангіт може бути склерозуючим холангітом. Фіброз нирок може бути пов'язаний із діабетичною нефропатією або вовчаковим гломерулосклерозом. Фіброз серця може бути пов'язаний із інфарктом міокарда. Судинний фіброз може бути пов'язаний з артеріальним рестенозом після ангіопластики або атеросклерозом. Фіброз шкіри може бути пов'язаний з опіковими рубцями, гіпертрофічними рубцями, келоїдом або нефрогенною фіброзуючою дерматопатією. Фіброз очей може бути пов'язаний із ретро-орбітальним фіброзом, операцією після катаракти або проліферативною вітреоретинопатією. Фіброз кісткового мозку може бути

пов'язаний з ідіопатичним мієлофіброзом або мієлофіброзом, зумовленим медикаментами. Системний фіброз може бути системним склерозом або захворюванням "трансплантат проти хазяїна".

Іншими запальними процесами і невропатіями, які можна попередити або лікувати за допомогою способів згідно даного винаходу, є ті, які викликані аутоімунними захворюваннями. До цих запальних процесів і невропатій належать системний червоний вовчак і нейродегенеративні порушення та порушення центральної нервової системи (ЦНС), у тому числі хвороба Альцгеймера, хвороба Паркінсона, хвороба Хантінгтона, біполярні розлади і бічний аміотрофічний склероз (БАС), захворювання печінки, у тому числі первинний біліарний цироз печінки, первинний склерозуючий холангіт, неалкогольна жирова хвороба печінки/стеатогепатит, фіброз, вірус гепатиту С (ВГС) і вірус гепатиту В (ВГВ), діабет й інсулінорезистентність, серцево-судинні порушення, у тому числі атеросклероз, крововилив у мозок, інсульт й інфаркт міокарда, артрит, ревматоїдний артрит, псоріатичний артрит і ювенільний ревматоїдний артрит (ЮРА), остеопороз, остеоартрит, панкреатит, фіброз, енцефаліт, псоріаз, гігантоклітинний артеріїт, запальні захворювання шкіри, трансплантацію, рак, алергії, ендокринні захворювання, загоснення ран, інші аутоімунні захворювання, гіперчутливість дихальних шляхів і клітинні, вірусні або пріонно-опосередковані інфекції або порушення.

Одним із варіантів втілення даного винаходу є спосіб лікування або попередження ST2L-опосередкованого процесу, що включає введення терапевтично ефективної кількості антагоніста виділеного людського або адаптованого до людини антитіла, що специфічно зв'язує домен I (SEQ ID NO: 9) людського ST2L, блокує взаємодію IL-33/ST2L, конкурує за зв'язування з людським ST2L (SEQ ID NO: 1) із виділеним антитілом, яке містить варіабельну область важких ланцюгів (VH) із SEQ ID NO: 47 і варіабельну область легких ланцюгів (VL) із SEQ ID NO: 51, і/або зв'язує людський ST2L на амінокислотних залишках 35-48 SEQ ID NO: 1 (RCPRQGKPSYTVDW; SEQ ID NO: 210) пацієнту, який цього потребує, протягом часу, достатнього для лікування або попередження ST2L-опосередкованого процесу.

Іншим варіантом втілення даного винаходу є спосіб інгібування відповіді тучних клітин у пацієнта, що включає введення терапевтично ефективної кількості антагоніста виділеного людського або адаптованого до людини антитіла, що специфічно зв'язує домен I (SEQ ID NO: 9) людського ST2L, блокує взаємодію IL-33/ST2L, конкурує за зв'язування з людським ST2L (SEQ ID NO: 1) із виділеним антитілом, яке містить варіабельну область важких ланцюгів (VH) із SEQ ID NO: 47 і варіабельну область легких ланцюгів (VL) із SEQ ID NO: 51, і/або зв'язує людський ST2L на амінокислотних залишках 35-48 SEQ ID NO: 1 (RCPRQGKPSYTVDW; SEQ ID NO: 210) пацієнту, який цього потребує, протягом часу, достатнього для інгібування відповіді тучних клітин.

Іншим варіантом втілення даного винаходу є спосіб інгібування взаємодії IL-33 і ST2L в об'єкта, що включає введення об'єкту антагоніста виділеного людського або адаптованого до людини антитіла, що специфічно зв'язує домен I (SEQ ID NO: 9) людського ST2L, блокує взаємодію IL-33/ST2L, конкурує за зв'язування з людським ST2L (SEQ ID NO: 1) із виділеним антитілом, яке включає варіабельну область важких ланцюгів (VH) із SEQ ID NO: 47 і варіабельну область легких ланцюгів (VL) із SEQ ID NO: 51, і/або зв'язує людський ST2L на амінокислотних залишках 35-48 SEQ ID NO: 1 (RCPRQGKPSYTVDW; SEQ ID NO: 210) у кількості, достатній для інгібування взаємодії IL-33 і ST2L.

В іншому варіанті втілення ST2L-опосередкованим процесом є астма, гіперреактивність дихальних шляхів, саркоїдоз, хронічне обструктивне захворювання легень (ХОЗЛ), ідіопатичний легеневий фіброз (ІЛФ), кістозний фіброз (муковісцидоз), запальне захворювання кишечника (ЗЗК), ревматоїдний артрит, еозинофільний езофагіт, склеродермія, atopічний дерматит, алергічний риніт, бульозний пемфігоїд, хронічна кропив'янка, діабетична нефропатія, інтерстиціальний цистит або захворювання "трансплантат проти хазяїна" (GVHD).

В іншому варіанті втілення ST2L-опосередкований процес пов'язаний із рекрутуванням запальних клітин у легенях, гіперплазією келихоподібних клітин або підвищеною секрецією слизової оболонки.

В іншому варіанті втілення ST2L-опосередкований процес пов'язаний із відповіддю тучних клітин.

В іншому варіанті втілення інгібування відповіді тучних клітин включає інгібування рівня GM-CSF, IL-5, IL-8, IL-10 або IL-13, вивільнених тучними клітинами, отриманими з людської пуповинної крові, принаймні на 50 % за допомогою 50 мкг/мл антитіла.

В іншому варіанті втілення антагоністом антитіла, який вводять пацієнту, що цього потребує, є біспецифічне антитіло, що специфічно зв'язує домен I (SEQ ID NO: 9) людського ST2L, блокує

взаємодію IL-33/ST2L, конкурує за зв'язування з людським ST2L (SEQ ID NO: 1) із виділеним антитілом, яке містить варіабельну область важких ланцюгів (VH) із SEQ ID NO: 47 і варіабельну область легких ланцюгів (VL) із SEQ ID NO: 51, і/або зв'язує людський ST2L на амінокислотних залишках 35-48 SEQ ID NO: 1 (RCPRQGKPSYTVDW; SEQ ID NO: 210), і

5 додатково зв'язує TSLP, IL-25, TSLPR, IL-17RA або IL-17RB.

Введення/фармацевтичні композиції

"Терапевтично ефективну кількість" антитіл анти-ST2L, яка ефективна при лікуванні процесів, при яких бажаною є модуляція біологічної активності ST2L, можна визначити за допомогою стандартних методів дослідження. Наприклад, дозування антитіла анти-ST2L, що

10 буде ефективним при лікуванні запального процесу, такого як астма або ревматоїдний артрит, можна визначити шляхом введення антитіла анти-ST2L у відповідні моделі захворювання тварин, такі як моделі, описані в даному документі.

Крім того, аналізи *in vitro* можна додатково використати як допоміжний засіб при визначенні оптимальних діапазонів дозування. Вибір конкретної ефективної дози можуть визначити

15 (наприклад, шляхом клінічних досліджень) фахівці у даній галузі з урахуванням декількох факторів. До таких факторів належать захворювання, яке потрібно лікувати або попередити, пов'язані симптоми, маса тіла пацієнта, імунний статус пацієнта й інші фактори, відомі фахівцям у даній галузі. Точна доза для застосування в композиції буде також залежати від способу введення та важкості захворювання і її необхідно підбирати відповідно до оцінки лікаря, що

20 проводить лікування, а також обставин кожного пацієнта. Ефективні дози можна екстраполювати з кривих доза-ефект, отриманих із дослідних систем *in vitro* або тваринних моделей випробування.

Способом введення для терапевтичного застосування антитіла згідно даного винаходу може бути будь-який відповідний спосіб, який забезпечує доставку агента до хазяїна. Фармацевтичні композиції цих антитіл особливо корисні для парентерального введення,

25 наприклад, внутрішньокірного, внутрішньом'язового, внутрішньочеревного, внутрішньовенного, підшкірного або інтраназального.

Антитіло згідно даного винаходу можна отримати у вигляді фармацевтичних композицій, що містять ефективну кількість агента як активного інгредієнта у фармацевтично прийнятному носії. Термін "носій" означає розчинник, ад'ювант, наповнювач або носій, з яким вводять активну

30 сполуку. Такі фармацевтичні носії можуть бути рідинами, такими як вода й олії, у тому числі олії з нафти, тваринного, рослинного або синтетичного походження, такі як арахісова олія, соєва олія, мінеральна олія, кунжутна олія та подібне. Наприклад, можна використати 0,4 % сольовий розчин і 0,3 % гліцин. Ці розчини повинні бути стерильними і повністю вільними від твердих частинок. Їх можна стерилізувати за допомогою загальноприйнятих, добре відомих способів стерилізації (наприклад, фільтрації). Ці композиції можуть містити фармацевтично прийнятні

35 допоміжні речовини, які необхідні для наближення до фізіологічних умов, такі як pH-регулюючі і буферні агенти, стабілізуючі, згущуючі, змашувальні і фарбуючі агенти і т. п. Концентрація антитіла згідно даного винаходу в такій фармацевтичній композиції може варіювати в широких

40 межах, тобто від менше ніж приблизно 0,5 %, звичайно або принаймні приблизно 1 %, до 15 або 20 % за вагою, і її подрібно визначати насамперед на основі необхідної дози, об'ємів рідини, в'язкості і т. п., залежно від конкретного обраного способу введення.

Таким чином, фармацевтичну композицію згідно даного винаходу для внутрішньом'язової ін'єкції можна приготувати так, щоб вона містила 1 мл стерильної буферної води і від приблизно

45 1 нг до приблизно 100 мг, наприклад, від приблизно 50 нг до приблизно 30 мг або бажаніше від приблизно 5 мг до приблизно 25 мг, антитіла анти-ST2L згідно даного винаходу. Так само фармацевтичну композицію даного винаходу для внутрішньовенної інфузії можна виготовити так, щоб вона містила приблизно 250 мл стерильного розчину Рінгера і від приблизно 1 мг до

50 приблизно 30 мг і бажаніше від 5 мг до приблизно 25 мг, антагоніста даного винаходу. Існуючі способи приготування композицій, які вводять парентерально, добре відомі і детальніше описані, наприклад, у Remington Pharmaceutical Science, 15-е вид., Mack Publishing Company, м. Істон, штат Пенсильванія, США.

Антитіла згідно даного винаходу можна ліофілізувати для зберігання і відновлювати у відповідному носії перед використанням. Доведено, що ця методика є ефективною при

55 використанні звичайних імуноглобулінів і білкових препаратів, і можна використовувати відомі у галузі методики ліофілізації й відновлення.

Даний винахід далі буде описаний з посиланням на наступні специфічні, не обмежуючі приклади.

Матеріали і способи (загальна інформація)

Аналіз інгібування зв'язку рецептора людини і яванського макака (*Macaca fascicularis*, суро) та ліганда (RLB-аналіз) 96-лунковий планшет покривали 50 мкл 4 мкг/мл людського ST2L-ECD (амінокислоти 19-328 із SEQ ID NO: 1) або 2 мкг/мл ST2L-ECD суро (амінокислоти 19-321 із SEQ ID NO: 2) із С-термінальною міткою His6 у бікарбонатному буфері при 4 °C протягом 16 год. Усі наступні стадії виконували при кімнатній температурі. Планшет блокували 200 мкл блокуючого буфера і промивали 3 рази 300 мкл промивного буфера, що містив натрій-фосфатний буферний розчин (PBS) + 0,05 % речовини Tween. 30 мкл анти-ST2L mAb різного ступеня розведення додавали у лунки й інкубували протягом 1 години. Для аналізу зв'язку людського рецептора і ліганда додавали 20 мкл біотинільованого людського IL-33 (залишки 112-270 із SEQ ID NO: 3) при кінцевій концентрації 100 нг/мл й інкубували протягом 30 хвилин. Для аналізу зв'язку рецептора яванського макака (суро ресептор) і ліганда додавали 20 мкл біотинільованого IL-33 суро (залишки 112-269 із SEQ ID NO: 4) при кінцевій концентрації 200 нг/мл й інкубували протягом 30 хвилин. Планшет промивали 3 рази 300 мкл промивного буфера. Додавали 50 мкл 0,2 мкг/мл стрептавідину-пероксидази хрому (HRP) (Jackson ImmunoResearch) й інкубували протягом 30 хвилин. Планшет 3 рази промивали 300 мкл промивного буфера, що містив PBS+0,05 % речовини Tween. У кожному лунку додавали 50 мкл субстрату тетраметилбензидину (TMB) (EMD Biosciences). Реакцію зупиняли додаванням 100 мкл 0,2 N сірчаної кислоти. OD450 вимірювали з використанням планшет-рідера Envision (Perkin Elmer).

Створення химерних конструкцій ST2L

Різні конструкції, що містять обміни доменів I, II і III людського і мишачого ST2L, розробили і створили з використанням стандартних методів молекулярної біології. Конструкції перераховано в Таблиці 1. Нумерація амінокислот відповідає людському ST2L (hST2L) (SEQ ID NO: 1; NP_057316) і мишачому ST2L (mST2L) (SEQ ID NO: 5; NP_001020773) білкам.

Таблиця 1

Назва конструкції	Походження амінокислотних залишків для кожного домена в химерних конструкціях		
	Домен I	Домен II	Домен III
HHM-ST2L	hST2L aa. 19-122	hST2L aa. 123-202	mST2L aa. 209-324
MHM-ST2L	mST2L aa. 28-128	hST2L aa. 123-202	mST2L aa. 209-324
HMH-ST2L	hST2L aa. 19-122	mST2L aa. 129-208	hST2L aa. 203-321
HH-ST2L	hST2L aa.19-122	hST2L aa. 123-205	N/A

hST2L: людський ST2L SEQ ID NO: 1

mST2L: мишачий ST2L SEQ ID NO: 5

Аналіз визначення зв'язування доменів

Зв'язування антитіл із доменом I, II і III ST2L визначали з використанням стандартного аналізу захоплення ELISA з використанням електрохемілюмінесцентного формату виявлення (технологія Meso-Scale Discovery (MSD)). 10 мкг/мл кожного антитіла наносили на кожну лунку планшета MSD HighBind (5 мкл/лунку) на 2 год. при кімнатній температурі. Планшет блокували за допомогою 150 мкл 5 % блокуючого буфера MSD протягом 2 год. при кімнатній температурі і промивали 3 рази промивним буфером HEPES, з подальшим додаванням до планшета 25 мкл міченого sulfo tag huST2L-ECD, або мишачого ST2L-ECD (амінокислоти 28-326 із SEQ ID NO: 5), або химер HHM-ST2L (SEQ ID NO: 6), або HMH-ST2L (SEQ ID NO: 8), або HH-ST2L (залишки 19-205 з SEQ ID NO: 1) у зростаючих концентраціях від 5 нМ до 40 нМ. Планшет накривали алюмінієвою фольгою й інкубували протягом 1 год. при кімнатній температурі з обережним струшуванням. Далі планшет 3 рази промивали промивним буфером HEPES. Буфер для зчитування MSD (150 мкл) додавали у кожну лунку і далі проводили зчитування планшета з використанням Sector Imager MSD 6000.

Ті антитіла, що зв'язуються людськими ST2L-ECD, HHM-ST2L і HMH-ST2L, але не мишачим ST2L-ECD, розпізнають домен I людського ST2L-ECD. Антитіла, які зв'язуються людськими ST2L-ECD і HMH-ST2L, але не мишачими HHM-ST2L і ST2L-ECD, розпізнають домен III людського ST2L-ECD. Антитіла, які зв'язуються людським і мишачим ST2L-ECD, але не HH-ST2L, розпізнають домен III людського і мишачого ST2L-ECD.

Вимірювання афінності анти-ST2L mAb

Анти-ST2L mAb, huST2L-ECD і суроST2L-ECD експресували з використанням стандартних способів. Козяче Fc $\pm$ -фрагмент-специфічне антитіло до людського IgG (№ по кат. 109-005-098) отримали від Jackson ImmunoResearch laboratories (м. Вест Гроув, штат Пенсильванія, США).

Сенсорні чіпи газово-рідинної хроматографії (ГРХ) (Bio-Rad, № по кат. 176-5011), сенсорні чіпи CM-5 (GE Healthcare, № по кат. BR100014) і реагенти для підготовки поверхні захоплення отримали від Biacore (GE Healthcare, м. Піскатауей, штат Нью-Джерсі, США) або Bio-Rad Life Sciences (Bio-Rad, м. Геркулес, штат Каліфорнія, США).

5 Взаємодії антитіл анти-ST2L із людським His6-міченим ST2L-ECD і His6-міченим ST2L-ECD супо вивчали за допомогою ProteOn із використанням XPR36 при 25 °C.

Поверхню біосенсора приготували з'єднанням козячого Fc±фрагмент-специфічного антитіла (Ab) до людського IgG із поверхнею сенсорного чіпа ГРХ з використанням інструкцій виробника з хімічного амінозв'язування. Зв'язуючим буфером був 10 мМ ацетат натрію, pH 4,5.
10 Козяче Fc μ фрагмент-специфічне антитіло до людського IgG (приблизно 4500 одиниць відповіді) іммобілізували в горизонтальній орієнтації. Антитіла анти-ST2L постачалися для дослідів очищеними або у вигляді неочищених супернатантів. В обох випадках ці антитіла розводили в PRB (PBS, pH 7,4, із додаванням 3 мМ EDTA і 0,005 % Tween 20) до досягнення концентрації приблизно 0,5 мкг/мл. Антитіла захоплювалися (60- 130 RU) у вертикальній орієнтації на чіп
15 ГРХ, модифікований антитілом до людського Fc μ . Захоплення анти-ST2L mAb супроводжувалося введенням huST2L ECD у розчин (від 0,024 нМ до 15 нМ, при 5-кратному розведенні) або супоST2L ECD у розчин (від 0,020- 5 нМ, при 4-кратному розведенні) у горизонтальній орієнтації. Асоціацію контролювали протягом 4 хвилин у всіх дослідях (200 мкл вводили при 50 мкл/хв.). Дисоціацію контролювали протягом 30 хвилин. Регенерацію поверхні
20 сенсора отримували з трьома 15- секундними впорскуваннями 10 мМ гліцину, pH 1,5. Дані узгоджували з використанням програмного забезпечення Proteon і з використанням моделі зв'язування 1:1 із масообміном. Експерименти Biacore проводили з використанням оптичного біосенсора (Biacore AB) Biacore 2000 або Biacore 3000. Усі експерименти проводили в BRB (PBS, pH 7,4, із додаванням 3 мМ EDTA і 0,005 % Tween 20) з або без 0,1 % BSA при 25 °C.

25 Поверхню біосенсора Biacore обробляли шляхом зв'язування козячого Fc μ -фрагмент-специфічного антитіла до людського IgG із карбоксиметильованою декстрановою поверхнею чіпа CM-5, з використанням інструкцій виробника з хімічного амінозв'язування. Зв'язуючим буфером був 10 мМ ацетат натрію, pH 4,5. У середньому 6000 одиниць відповіді (RU) Ab іммобілізували у кожній з чотирьох проточних камер. Анти-ST2L mAb захоплювалися
30 (приблизно 33 RU) на модифіковану антитілом до людського Fc μ поверхню сенсорного чіпа. Захоплення анти-ST2L mAb супроводжували введенням huST2L ECD у розчин (від 0,2 нМ до 15 нМ, при 3-кратному розведенні) або супоST2L ECD у розчин (від 0,2 до 15 нМ або від 0,02 до 5 нМ, при 3-кратному розведенні) у горизонтальній орієнтації. Асоціацію контролювали протягом 4 хвилин або 8 хвилин (200 мкл вводили при 50 мкл/хв або 20 мкл/хв для C2521 і C2519).
35 Дисоціацію контролювали протягом 10 хвилин або до 2,5 годин. Регенерацію поверхні сенсора отримували шляхом впорскування 50 мМ NaOH і/або впорскування 100 нМ H₃PO₄.

Дані обробляли з використанням програмного забезпечення Scrubber 1.1 g (програмного забезпечення BioLogic). Подвійне контрольне віднімання даних проводили шляхом віднімання кривих, згенерованих введенням буфера, від контрольних кривих введення аналіту з
40 відніманням для корекції частки буфера в сигналі та шумі приладів. (Myszka, Journal of Mol Recogn 12:279-84, 1999).

Після обробки дані, згенеровані для визначення кінетики й афінності, аналізували з використанням програмного забезпечення Scrubber або програмного забезпечення BIAevaluation 4.0.1 (Biacore, AB). Дані кінетики аналізували з використанням простої моделі
45 зв'язування 1:1, що включала член масообміну.

Вимірювання афінності mAb до мишачого ST2L (C1999/CNTO3914) із мишачим ST2L ECD Анти-ST2L mAb (C1999/CNTO3914) і мишачий позаклітинний домен ST2L (muST2L-ECD) експресували й очищали з використанням стандартних способів. Fc μ -фрагмент-специфічне Ab до мишачого IgG отримали від Jackson ImmunoResearch laboratories (м. Вест Гроув, штат
50 Пенсильванія, США). Сенсорні чіпи і реагенти для обробки поверхні захоплення отримали від Biacore (GE Healthcare, м. Піскатауей, штат Нью-Джерсі, США). Експериментальний рухомий буфер Biacore (BRB) містив PBS pH 7,4 з 0,005 % Tween 20 і 0,1 мг/мл BSA, і дані збирали при 25 °C.

Взаємодію антитіла анти-ST2L з muST2L-ECD вивчали на Biacore2000 при 25 °C. Поверхню біосенсора приготували з'єднанням анти-мишачого Fc-специфічного антитіла із поверхнею
55 сенсорного чіпа CM4 з використанням інструкцій виробника з хімічного амінозв'язування. C1999/CNTO3914 і muST2L-ECD розводили у BRB. C1999 було захоплено з використанням анти-мишачих Fc μ антитіл (приблизно 85 RU). Після захоплення проводили введення muST2L ECD (залишки 28-326 із SEQ ID NO: 5) у розчині (починаючи з 15 нМ, 5 концентрацій, при 3-кратному серійному розведенні). Асоціацію контролювали протягом 8 хвилин. Дисоціацію
60

контролювали протягом періоду до 6000 секунд. Регенерацію поверхні сенсора отримували за допомогою розведення фосфорної кислоти 1/100. Дані узгоджували з використанням моделі зв'язування 1:1.

Аналіз базофільної клітинної лінії людини (аналіз вивільнення цитокінів базофілами)

5 Клітини KU812 (базофільної клітинної лінії людини; ATCC, CRL-2099) наносили на стерильні 96-лункові планшети з U-подібним дном для культур тканин по 25 000 або 50 000 клітин на лунку в загальному обсязі 40 мкл живильного середовища RPMI 1640 (Invitrogen) з додаванням 10 % FBS і пеніциліну/стрептоміцину. mAb до людського ST2L і контрольні проби додавали в різних концентраціях (50 мкл/лунку) й інкубували при 37 °C. Після інкубації протягом 1 год. 10 рекомбінантний "зрілий" IL-33 (амінокислоти 111-270 із SEQ ID NO: 3) додавали при кінцевій концентрації 10 нг/мл у 10 мкл живильного середовища RPMI. Далі клітини інкубували при 37 °C протягом 18-24 годин, щоб забезпечити IL-33- опосередковану індукцію IL-5 і IL-6. Після інкубації клітини збирали і клітинний супернатант збирали для подальшого виявлення IL-33-індукованих IL-5 і IL-6 із використанням аналізу ELISA (R&D Systems) або мультиплексного аналізу на основі гранул (Millipore).

15 Аналіз вивільнення цитокінів тучними клітинами людини й аналіз вивільнення простагландину D2 (PGD₂)

Тучні клітини отримували з клітин CD34⁺ пуповинної крові людини (Lonza).

20 Заморожені флакони з >1,0×10⁶ клітин CD34⁺ пуповинної крові швидко розморожували і переносили у 50 мл конічну пробірку. Краплі підігрітого або кімнатної температури середовища Stem-Pro 34 + добавки (всього 25 мл; Invitrogen) повільно додавали до клітин. Клітини центрифугували при 1000 об./хв. протягом 15 хвилин і ресуспендували у середовищі (10 мл StemPro-34 з наступними добавками: 30 нг/мл IL-3, 100 нг/мл IL-6 і 100 нг/мл SCF. Клітини висівали у 2 лунки 6-лункового планшета і культивували протягом 1 тижня. На 4-й день 25 клітини розширювали 1:3 у середовищі Stem Pro-34 з добавками. На 7-й день неприклеєні клітини видаляли і висівали по 0,5×10⁶/мл у середовище StemPro-34, що містило 10 нг/мл IL-6 і 100 нг/мл SCF. Клітини розширювали щотижня для підтримки щільності висіву клітин 0,5×10⁶/мл, поки тучні клітини не досягали 6-10-тижневої зрілості (оцінку проводили шляхом експресії FcεR1, cKit і триптази).

30 Зрілі тучні клітини культивували по 0,5×10⁶/мл у StemPro-34 і щоденно стимулювали протягом 4 днів у IL-4 (10 нг/мл; Peprotech), IL-6 (10 нг/мл; R&D Systems) і SCF (100 нг/мл; Invitrogen). Перед аналізом клітини збирали, центрифугували при 1000 об/хв протягом 10 хв і ресуспендували у свіжому середовищі StemPro-34 або RPMI, що містив 10 % FCS без антибіотиків, з 100 нг/мл людського рекомбінантного SCF. Клітини висівали з щільністю нанесення від 65 000 до 75 000 клітин/0,16 мл/лунку у 96-лунковий планшет із плоским дном, оброблений тканинною культурою. Анти-ST2L mAb додавали до планшета для досягнення кінцевої концентрації 50, 10, 2, 0,4, 0,08, 0,016, 0,0032 мкг/мл протягом 30 хвилин перед 35 додаванням IL-33. Рекомбінантний "зрілий" людський IL-33 (залишки 111-270 із SEQ ID NO: 3) також готували при 10X (10 або 30 нг/мл) у середовищі + 100 нг/мл SCF. 20 мкл 10X IL-33 40 додавали у лунки для досягнення кінцевої концентрації 1 (фіг. 6 і фіг. 7A-7E) або 3 нг/мл (фіг. 8A-8E), і планшети інкубували протягом ночі при 37 °C, 5 % CO₂. Супернатант культури збирали через 18-24 години після стимуляції. Планшети центрифугували при 1000 об/хв протягом 10 хвилин. Супернатант видаляли і поміщали в 96-лунковий планшет з U-подібним дном і зберігали при -20 °C до проведення аналізу. Набори цитокінів людини з Millipore 45 використовували для аналізу рівнів цитокінів з використанням технології Luminex™. Рівні PGD₂ вимірювали з використанням набору Prostaglandin D2-MOX EIA від Cayman Chemical Company, відповідно до інструкцій виробника. З метою підвищення чутливості ELISA, PGD₂ в супернатантах культури тучних клітин перетворювали на MOX-PGD₂, що не розкладається (метоксиамін-PGD₂), шляхом обробки гідрохлоридом метоксиаміну (MOX-HCl).

50 Аналіз інгібування зв'язку рецептора миші і ліганда (аналіз RLB миші)

96-лунковий чистий планшет (VWR) покривали 50 мкл 2 мкг/мл козячого Fcγ- фрагмент-специфічного (Jackson ImmunoResearch) антитіла до людського IgG приблизно на 16 годин при 4 °C. Решту стадій завершували при кімнатній температурі. Лунки інкубували з блокуючим 55 буфером, промивали і додавали 50 мкл 2 мкг/мл мишачого ST2L-ECD, з'єданого з Fc людини, протягом 1 години. Планшет промивали і додавали 1 мкг/мл біотинільованого mIL-33 з анти-mST2L антитілами або без них. Планшет промивали, і проводили виявлення із стрептавідин-HRP (Jackson Immune Research), і формували сигнал із субстратом TMB (відділ RDI компанії Fitzgerald Industries), дотримуючись інструкцій виробника.

Аналізи генів-репортерів миші і людини (аналіз RGA миші або людини)

60 Клітини HEK293 висівали по 50 000 клітин на лунку у білі 96-лункові планшети з прозорим

дном, оброблені тканинною культурою (NUNC), у DMEM, 10 % FBS, й інкубували у зволоженому інкубаторі при 37 °C, 5 % CO₂ протягом 24 годин. Клітини котрансфікували векторами, що кодують кДНК ST2L-ECD людини або миші, вектором NF-κB-люциферази (Stratagene, Agilent Technologies, м. Санта-Клара, штат Каліфорнія, США) з використанням Lipofectamine™ 2000 у середовищі Opti-MEM (Invitrogen) з використанням стандартних протоколів. Після 24 годин інкубації при 37 °C, 5 % CO₂ трансфіковані клітини обробляли мишачим (R&D Systems, залишки 109-266 із SEQ ID або без них протягом 16 годин при 37 °C, 5 % CO₂. Активність люциферази вимірювали з використанням реагенту Steady-Glo® (Promega), відповідно до інструкцій виробника.

Аналіз проліферації Т-клітин мишей

Th2-клітини миші (D10.G4.1, ATCC) культивували у готовому живильному середовищі: середовище RPMI 1640 з 2 мМ L-глутаміну доводили до вмісту бікарбонату натрію 1,5 г/л, глюкози 4,5 г/л, HEPES 10 мМ і пірувату натрію 1,0 мМ, і з додаванням: 0,05 мМ 2-меркаптоетанолу, 10 мкг/мл IL-1α (R&D Systems), 10 % фетальної бичачої сироватки, 10 % щурячого фактора Т-STIM з Con A (культуральна добавка щурячого IL-2, доступна від Becton Dickinson). Клітини двічі промивали середовищем для аналізу (RPMI, 10 % FBS, без IL-1, без Т-STIM), ресуспендували до 1,25×10⁵ клітин на мл і висівали у 80 мкл середовища у білих 96-лункових планшетах з прозорим дном, оброблених тканинною культурою (NUNC, м. Рочестер, штат Нью-Йорк, США). Різні кількості мишачого IL-33 (залишки 109-266 із SEQ ID NO: 5) додавали до клітин для досягнення кінцевого об'єму для аналізу 100 мкл. При тестуванні нейтралізації антитіл контрольні антитіла (впорснуті у використане середовище гібридами) або супернатанти гібридами додавали до клітин й інкубували протягом 1 години з наступним додаванням 20 мкг/мл IL-33. Планшети культивували протягом 24 годин у зволоженому інкубаторі при 37 °C, 5 % CO₂. Кількісне визначення життєздатних клітин виконували за допомогою реагентів CellTiter-Glo® (Promega, м. Медісон, штат Вісконсин, США); протокол виконували відповідно до інструкцій виробника.

Аналіз тучних клітин, отриманих із кісткового мозку мишей

Тучні клітини мишей отримували з кісткового мозку мишей Balb/c (6 тижнів).

Клітини висівали по 300 000 клітин/лунку в середовище RPMI (без ендотоксинів), 10 % FBS, 10 % кондиціоноване для клітинної лінії середовище WEHI, 10 нг/мл IL-3 (Peprotech), 0,1 мМ незамінних амінокислот, 1 % пеніциліну/стрептоміцину (Invitrogen). Анти-ST2L mAb (100, 10, 1, 0,1 або 0,01 мкг/мл) інкубували з клітинами протягом 1 години перед додаванням рекомбінантного мишачого "зрілого" IL-33 (залишки 109-266 із SEQ ID NO: 215 (10 нг/мл; R&D Systems)). Приблизно через 24 години супернатанти збирали і заморожували до аналізу з використанням набору Millipore Mouse 22-Plex для Luminex™, відповідно до інструкцій виробника.

Аналіз ендотеліальних клітин суро

Ендотеліальні клітини аорти яванського макака, культивовані в живильному середовищі-2 клітин EGM®-2 (Lonza), висівали у 96-лункові планшети для тканинної культури по 10 000 або 20 000 клітин на лунку. 50 мкл антитіл анти-ST2L додавали до клітин, починаючи з 100 мкг/мл з наступними 4- або 5-кратними розведеннями, і інкубували при 37 °C протягом 1 години перед додаванням рекомбінантного "зрілого" IL-33 суро (SEQ ID NO: 4). До клітин потім додавали п'ятдесят мікролітрів 20 нг/мл IL-33 яванського макака і інкубували при 37 °C протягом 24 годин. Для оцінки IL-33-індукованих відповідей із продукуванням цитокінів супернатанти збирали й оцінювали рівні цитокінів за допомогою комплекту IL-8 для приматів, крім людини, для Luminex™ (Millipore), відповідно до інструкцій виробника.

Аналіз перитонеального лаважу мишей

Для збору перитонеальних клітин очередини 6 мишей Balb/c промивали загальною кількістю 3 мл PBS. Виявили, що більшість із цих клітин є лімфоцитами і макрофагами, як визначено експресією B220 і F4/80 (аналіз FACS). Приблизно 1 % становили тучні клітини cKit⁺ (CD117⁺). Клітини центрифугували, й осад ресуспендували по 1×10⁶ клітин/мл у середовищі Alpha MEM+10 % FBS+100 од./мл пеніциліну + 100 мкг/мл стрептоміцину (Invitrogen). Клітини висівали по 200 мкл на лунку в 96-лунковий планшет і залишали на 2 год. при 37 °C. Анти-ST2L mAb додавали до клітин за 30 хвилин до додавання 10 нг/мл "зрілого" мишачого IL-33 (R&D Systems; залишки 109-266 з SEQ ID NO: 215). Супернатанти збирали через 24 год. після додавання IL-33, зберігали при -20 °C до аналізу й аналізували з використанням набору Millipore Mouse 22-Plex для Luminex™, відповідно до інструкцій виробника.

Приклад 1. Утворення антитіл до щурячого ST2L

Щурів інтраперитонеально імунізували мишачими ST2-Fc (R&D System (Ser27- Ser342 із SEQ ID NO: 5), й аналізували на титри специфічних IgG. Після того як отримували достатні

титри, спленоцити виділяли і приєднували до фолікулярних клітин (FO). Отримані гібридами висівали у 96-лункові планшети або метилцелюлозу і культивували протягом 10 днів. Антиген-специфічні клони визначали відповідно до стандарту захоплення ELISA на зв'язування з mST2-Fc, і проводили перехресний скринінг відносно одного білка Fc. Специфічні до мишачого ST2 гібридами додатково аналізували на інгібування зв'язування IL-33 із ST2 в ELISA і на інгібування IL-33-індукованої проліферації Th2-клітин мишей D10.G4.1. Гібридами, які демонстрували нейтралізацію в обох аналізах - зв'язку рецептор-розведення. V-області гібридом секвенували і клонували у середовище миші IgG1. Специфічність домену ST2L-ECD досліджували з використанням стандартного імуоферментного аналізу з електрохемілюмінесцентним виявленням, з використанням різних конструкцій, що містять обміни людських і мишачих доменів.

Антитіло, секретоване гібридомою C1999, клонували у середовище миші IgG1 і назвали CNT03914. Послідовності варіабельних областей CNT03914 і CDR наведено в Таблиці 2. CNT03914 не реагує перехресно з людським ST2L і зв'язує домен I мишачого ST2L-ECD.

Таблиця 2

Назва mAb	HCDR1		HCDR2		HCDR3	
	Послідовність	SEQ ID NO:	Послідовність	SEQ ID NO:	Послідовність	SEQ ID NO:
C1999/ CNT03914	HYGMA	13	SIITDGTSTYYRDSVKG	14	QSDDYFDY	15

Назва mAb	LCDR1		LCDR2		LCDR3	
	Послідовність	SEQ ID NO:	Послідовність	SEQ ID NO:	Послідовність	SEQ ID NO:
C1999/ CNT03914	KSSQSLEYS DGDSYLE	16	GVS NRFS	17	FQATHDPFT	18

Назва mAb	Послідовність VH	SEQ ID NO:
C1999/ CNT03914	EVQLVESGGGLLQPG RSLKLSCTASGFIFSHYGM AWRQAPTKGLEWV SSIITDGTSTYYRDSVKGRFTISRDN AKNTQYLQMDSLRSED TATYYCAR QSDDYFDYWGGQVMVT VSS	19
	Послідовність VL	SEQ ID NO:
	DVVL TQTPVSLSVTLGDQASISCKSSQSLEYS DGDSYLEWYLQKPGQSP QLLIYGVS NRFS GVPDRFIGSGSGTDFTLKISRVEPEDLG VYYCFQATHDP FTFGSGTKLEIK	20

Приклад 2. Утворення мишачих антитіл до людського ST2L

Для утворення мишачих антитіл до mAb людського ST2L провели дві різні імунізації. BALB/c інтраперитонеально імунізували розчинним ST2-Fc (R&D Systems, SEQ

ID NO: 157), й аналізували на титри специфічних IgG. Після того як отримували достатні титри, спленоцити виділяли і приєднували до фолікулярних клітин (FO). Отримані гібридами висівали у 96-лункові планшети і культивували протягом 10 днів. Антиген-специфічні клони визначали за допомогою стандартного захоплення ELISA на зв'язування з C-кінцевим His6-міченим huST2L-ECD і перехресну реактивність із His6-міченим ST2L-ECD супо. Специфічні до людського ST2L гібридами, які перехресно реагують з ST2L супо, додатково досліджували на інгібування зв'язування IL-33 із huST2L в аналізі ELISA і на інгібування активації NF-κB в аналізі репортерного гена. Клоні, які демонстрували інгібування в аналізі репортерного гена або в обох аналізах - ELISA й аналізі репортерного гена, - відбирали для додаткових досліджень.

Для додаткових аналізів відібрали антитіла від гібридом C2494, C2519A і C2521A. C2519A і C2521A зв'язують людський ST2L на домені III, і C2494 зв'язує людський ST2L на домені I. Антитіло C2494 клонували в середовище людського IgG2, і повнорозмірне антитіло назвали STLM62.

Анти-ST2L mAb отримали від Genovac GmbH згідно запатентованої технології ДНК-імунізації з використанням повнорозмірних конструкцій ST2L і ревакцинації трансфікованими клітинами з метою експресії людського ST2L-ECD. Скринінг гібридом на зв'язування з людським ST2L-ECD проводили за допомогою проточної цитометрії. Було підтверджено, що клони, які продемонстрували зв'язування в цьому аналізі, зв'язували hST2L-ECD, і їх додатково

характеризували на зв'язування з ST2L-ECD суно за допомогою стандартною захоплення ELISA. Вибрані клони характеризували за допомогою інгібування зв'язку рецептор-ліганд ELISA та аналізу репортерного гена. Клоні, які демонстрували інгібування в аналізі репортерного гена або в обох - ELISA й аналізі репортерного гена, - відбирали для додаткових досліджень.

5 Для додаткового аналізу антитіло від гібридоми C2244 Genovac відбирали та клонували у середовище людського IgG2. Повнорозмірне антитіло назвали STLM15. STLM15 зв'язує ST2L на домені I.

Послідовності доменів VH, VL і CDR мишачих антитіл до людських клітин показано в Таблиці 3.

10

Таблиця 3

Назва mAb	HCDR1		HCDR2		HCDR3	
	Послідовність	SEQ ID NO:	Послідовність	SEQ ID NO:	Послідовність	SEQ ID NO:
C2519A	DYNMN	21	NINPYYGSTTYNQKFKG	25	EGDTYLAWFAY	29
C2521A	TYWMN	22	QIFPASGSTYYNEMFK _D	26	SENIYYINFQYYFAY	30
C2244/ STLM15	SDYAWN	23	FISYSGDTSFNPSLKS	27	YDGYSDY	31
C2494/ STLM62	DDYMH	24	RIDPAIGNTEYAPKFQD	28	GDFYAMDY	32

Назва mAb	LCDR1		LCDR2		LCDR3	
	Послідовність	SEQ ID NO:	Послідовність	SEQ ID NO:	Послідовність	SEQ ID NO:
C2519A	RSSQSIVYSNGNTYLE	33	KVSNRFS	37	FQGSHPPT	41
C2521A	RASQNIQTRMH	34	YASESIS	38	QQSNTWPFT	42
C2244/ STLM15	RASKSVSTSGSSYMF	35	LASNLES	39	QHSREIPYT	43
C2494/ STLM62	ITNTDIDDVH	36	EGNTLRP	40	LQSDNMLT	44

mAb	Послідовність VH	SEQ ID NO:
C2519A	EFQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYSTFDYMNWVKQSHGKSLEWI GNINPYYGSTTYNQKFKGKATLTVDKSSNTAYMHLNSLTSEDSAVYYCA REGDTYLAWFAYWGQGTTLTVSA	45
C2521A	QIQLQQSGPELVPRGTSVKISCKASGYTFLTYWMNWKQRPQGGLLEWI GQIFPASGSTYYNEMFK _D KATLTVDTSSTAYMQLSSLTSEDTAVYFCAR SENIYYINFQYYFAYWGQGTTLTVSS	46
C2244/ STLM15	EVQLQESGPGLVKPSQSLTCTVTGFSITSDYAWNWIQFPQSKLEWMG FISYSGDTSFNPSLKSRIQSVTRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCASY DGYSFDYWGQGTTLTVSS	47
C2494/ STLM62	EVQLQQSVAELVRPGASVKLSCTASAFNIK _D DYMHVVKQRPEQGLEW IGRIDPAIGNTEYAPKFQDKATMTADTSSNTAYLQLSSLTSEDTAVYYCA LGDFYAMDYWGQGTSTVTVSS	48

mAb	Послідовність VL	SEQ ID NO:
C2519A	DVLMTQTPLSLPVSLGDAQISCRSSQSIVYSNGNTYLEWYLQKPGQSPK LLIYKVSNRFSQVDFRFGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFQGSHPVPP TFGGGTKLEIK	49
C2521A	ILLTQSPAILSVPGERVSFSCRASQNIQTRMHYQQRTNGSPRLIKYA SEISIGIPSRFSGSGSGTDFTLTISSEVEDIADYYCQQSNTWPFTFGSGTKL EIK	50
C2244/ STLM15	DIVLTQSPASLAISLGQRATISCRASKSVSTSGSSYMFYQQKPGQPPKL LIYLASNLESQVDFRFGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAAAYYCQHSREIPYT FGGGTKLEIK	51
C2494/ STLM62	ETTVTQSPASLSVATGEKVTIRCITNTDIDDVHWHYQQKPGEPKLLISEG NTLRPGVPSRFSSSGYGTDFVFTIENTLSEDAVYYCLQSDNMLTFGAGT KLELK	52

Приклад 3. Утворення повністю людських антитіл ST2L Fab, що зв'язують ST2L людини, вибрали з бібліотек фагового дисплея *de novo* pIX, як описано в Shi et al., J Mol Biol 397:385-96, 2010; публ. міжнар. заявці на патент № WO2009/085462; публ. заявці на патент США № US2010/0021477). Коротко, бібліотеки створювали шляхом диверсифікації каркасів людського походження, де гени IGHV1-69*01, IGHV3-23*01 і IGHV5-51*01 зародкової лінії VH рекомбінували з людським мінігеном IGJ-4 через петлю H3, і гени O12 (IGKV1-39*01), L6 (IGKV3-11*01), A27 (IGKV3-20*01) і B3 (IGKV4-1*01) людської зародкової лінії VLкаппа рекомбінували з мінігеном IGKJ-1 для складання повних доменів VH і VL. Для диверсифікації вибрали позиції варіабельних областей важких і легких ланцюгів навколо петель H1, H2, L1, L2 і L3, що відповідають позиціям, визначеним як ті, що часто контактують із білковими і пептидними антигенами.

Відмінність послідовності в обраних позиціях обмежувалася залишками, що зустрічаються в кожній позиції в сімействах генів IGHV або IGLV зародкової лінії відповідних генів IGHV або IGLV. Відмінність на петлі H3 створювали з використанням короткої та середньої синтетичних петель довжиною 7-14 амінокислот. Розподіл амінокислот на H3 створили з метою імітації варіації амінокислот, яку спостерігали в людських антитілах. Розробку бібліотеки докладно описано в Shi et al., J Mol Biol 397:385-96, 2010. Каркаси, які використовували для створення бібліотек, назвали відповідно до генів VH і VL людської зародкової лінії їхнього походження. Для отримання 24 унікальних комбінацій VH:VL для скринінгу три бібліотеки важких ланцюгів об'єднали з чотирма легкими ланцюгами зародкової лінії або бібліотеками легких ланцюгів зародкової лінії. Усі 24 комбінації бібліотек VH:VL використали для експериментів фагового пеннінгу проти huST2L-ECD-Fc. Пеннінг бібліотек проводили з використанням з'єднання Fc huST2L-ECD (залишки 19-328 із SEQ ID NO: 1). Пеннінг проводили у 2 різних форматах: антиген (Ag) у розчині і дисплей Ag. Для Ag у розчині вкриті стрептавідином магнітні гранули блокували в PBS із 3 % знежиреним сухим молоком. З'єднання біотинільованого (Bt) антигену huST2L-ECD людського Fc (Bt-huST2L-ECD-Fc) з вищою у 10 разів концентрацією людського білка Fc, як конкурента, змішували з бібліотеками фарів Fab-pIX. Фар Fab-PIX, зв'язаний із Bt-huST2L-ECD-Fc, захоплювали на блокованих вкритих стрептавідином (SA) магнітних гранулах. Фаги відбирали протягом трьох циклів, де концентрації huST2L-ECD-Fc варіювали від 100 нМ, 10 нМ, 10 нМ у циклах від 1 до 3, відповідно. Для дисплея Ag Bt-huST2L-ECD-Fc наносили на вкриті SA магнітні гранули. Бібліотеки фарів Fab-PIX разом із 10-кратною надлишковою кількістю людського білка Fc одночасно додавали до SA магнітних гранул, на яких представлено Bt-huST2L-ECD-Fc. Використані концентрації Bt-Ag становили 100 нМ, 10 нМ, 10 нМ у циклах від 1 до 3, відповідно. Скринінг проводили для обох форматів пеннінгу за допомогою ELISA для Fab, що зв'язується з білком huST2L-ECD-Fc. Від цих виборок виділили загальну кількість 79 Fab, що зв'язувалися з hST2L-Fc. За допомогою градації ELISA визначено, що Fab-HuT2SU-39 мали найкращу загальну зв'язуючу активність.

Аналіз інгібування зв'язування IL-33 проводили на основі ELISA на 79 Fab. Загалом 32 Fab продемонстрували інгібування зв'язування IL-33 із huST2L-ECD-Fc. 46 Fab обрали для дозрівання афінності з кампанії pIX *de novo*.

Приклад 4. Дозрівання афінності повністю людських антитіл ST2L

Дозрівання афінності вибраних антитіл проводили з використанням способу дозрівання "у лінії", який описано в Shi et al., J Mol Biol 397:385-96, 2010 і WO09085462A1. У цій технології області VH Fab-клонів, отриманих від першої селекції, з'єднують з бібліотеками відповідного каркасу VL. Всі гени VH із 46 Fab, визначених у Прикладі 3, клонували у відповідні бібліотеки дозрівання VL як сукупності, відповідно до їхнього вихідного сімейства генів VL. Використані бібліотеки каркасів VL і їхні схеми диверсифікації наведено в Таблиці 4. Каркасими VL людського походження є наступні: IGKV1-39*01 (O12), IGKV3-11 (L6), IGKV3-20 (A27), IGKV4-1*01 (B3) і описані, наприклад, у публ. заявці на патент США № US2012/0108795. Для пеннінгу дозрівання афінності бібліотеки фарів спочатку додавали до Bt-huST2-ECD-Fc. Після інкубації комплекс дозрівання бібліотеки фарів/Bt-hST2L-ECD-Fc додавали до вкритих SA магнітних гранул. Концентрації Bt-huST2-Fc варіювали, відповідно, від R1 до R3 при 10 нМ, 1 нМ і 0,1 нМ. Кінцеве промивання циклу 3 проводили протягом ночі при кімнатній температурі в присутності 10 нМ неміченого huST2L-ECD-Fc з метою додаткового покращення афінності.

Таблиця 4

Схема диверсифікації бібліотеки для різних каркасів VL					
Петля	Позиція (Kabat)	A27	B3	L6	012
L1	30	SRNTD	RNDGHSY	SRNAD	SRNAD
	30a	SNR	RNDGHWY	-	
	30e		RNDGHSY	-	
	31	SNRADH	RNDGHWY	NSK _D	SNK _D G
	32	YFHQSEK	YNWR	YWDFHSAN	YHNDWFSAV
L2	50	ADGS	YWNK	ADKGYFTN	FYTNKADG
L3	91	YSHA	SYWH	RYSGF	SAYHPD
	92	YNDSHIFKG	SYGN	RHNSL	FIYHNDKGRE
	93	SNTDGHR	STER	NDKR	STHNDRG
	94	TYLVFAS	WYSH	WA	TYLVFSRGPI
	96	WYFUR	YRWH	WYFUR	LWRFYIN

Від пеннінгів дозрівання загалом отримали 161 послідовність унікальних Fab. Fab, що продемонстрували найбільше зв'язування з huST2L-ECD, перетворювали в IgG для додаткової характеристики.

5

MAb ST2M48, ST2M49, ST2M50 і ST2M51 відібрали для додаткової характеристики, і їхні послідовності VH, VL і CDR наведено в Таблиці 5. MAb ST2M48, ST2M49, ST2M50 і ST2M51 зв'язують людський ST2L на домені III і перехресно реагують із ST2L мишей.

Таблиця 5

mAb ID	HC ID	HCDR1		HCDR2		HCDR3	
		Послідовність	SEQ ID NO:	Послідовність	SEQ ID NO:	Послідовність	SEQ ID NO:
ST2M48	STLH125	TSYWIG	53	GIIPGDSYTRYSPSFQG	55	LSGRFDY	57
ST2M49	STLH149	TSYWIG	53	GIIPGDSYTRYSPSFQG	55	IGGMFDY	58
ST2M50	STLH125	TSYWIG	53	GIIPGDSYTRYSPSFQG	55	LSGRFDY	57
ST2M51	STLH130	SSY AIS	54	GIIPFGTANYAQKFQG	56	DTPQLDY	59

10

mAb ID	LC ID	LCDR1		LCDR2		LCDR3	
		Послідовність	SEQ ID NO:	Послідовність	SEQ ID NO:	Послідовність	SEQ ID NO:
ST2M48	STLL232	RASQSVRDALA	60	FASNRAT	64	QQFNTWPIT	67
ST2M49	STLL216	RASQSVANALA	61	KASNRAT	65	QQYYGWPIT	68
ST2M50	STLL228	RASQSVSNALA	62	FASNRAT	64	QQFFNWPIT	69
ST2M51	TC1L3	RASQSISSYLN	63	YASSLQS	66	QQSYSTPLT	70

Назва mAb	Послідовність VH	SEQ ID NO:
ST2M48	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWM GIIPGDSYTRYSPSFQGGQVTISADKSI STAYLQWSSLKASDTAMYYCARLS GRFDYWGQGT LVT VSS	71
ST2M49	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWM GIIPGDSYTRYSPSFQGGQVTISADKSI STAYLQWSSLKASDTAMYYCARIG GMFDYWGQGT LVT VSS	72
ST2M50	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSY AISWVRQAPGQGLEW MGGIIPFGTANYAQKFQGRVTITADESTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR YNFFFDYWGQGT LVT VSS	71
ST2M51	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSY AISWVRQAPGQGLEW MGGIIPFGTANYAQKFQGRVTITADESTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR DTPQLDYWGQGT LVT VSS	73

Назва mAb	Послідовність VL	SEQ ID NO:
ST2M48	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVRDALAWYQQKPGQAPRLLIYFA SNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQFNTWPIITFGQGT KVEIK	74
ST2M49	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVANALAWYQQKPGQAPRLLIYKA SNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQYYGWPIITFGQGT KVEIK	75
ST2M50	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDWLAWYQQKPGQAPRLLIYK ASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQYNRAPWTFGQ GTKVEIK	76
ST2M51	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYYA SSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGQGTK VEIK	77

Приклад 5. Характеристика антитіл анти-ST2L.

Антитіла, отримані від різних кампаній, як описано вище, додатково

характеризували за їхньою здатністю блокувати взаємодію IL-33/ST2L, оскільки

- 5 інгібування IL-33-індукованої сигналізації, як виміряно за допомогою аналізу репортерного гена NF- κ B, здатністю антитіл інгібувати відповіді тучних клітин, за їхньою афінністю з людським і ST2L суно і перехресною реактивністю з ST2L мишей. Картування епітопів виконували з використанням химерних конструкцій обміну людського/мишачого ST2L, як описано у розділі "Матеріали і способи". Результати експериментів показано в Таблицях 6, 7 і
- 10 8. У Таблицях 7 і 8 знак "+" вказує на те, що антитіло блокує взаємодію IL-33/ST2L, а знак "-" вказує на те, що антитіло не блокує взаємодію IL-33/ST2L. Експерименти з CNTO3914 проводили з використанням клітин мишей і реагентів завдяки відсутності перехресної реактивності до людських клітин.

Людські клітини і людські реагенти використовували в аналізах для всіх інших антитіл.

- 15 Характеризовані антитіла поділили на групи: ті, які блокують взаємодію IL-33/ST2L (mAb STLM15, STLM62 і CNTO3914), і ті, які не блокують взаємодію IL-33/ST2L (mAb C2519, C2521, ST2M48, ST2M49, ST2M50 і ST2M51). Антитіла, що блокують взаємодію IL-33/ST2L, зв'язуються з доменом I ST2L, тоді як антитіла, що не блокують взаємодію, зв'язуються з доменом III ST2L. Проаналізовані антитіла інгібували низхідну сигналізацію ST2L, згідно визначення за допомогою
- 20 аналізу репортерних генів NF- κ B і IL-33-індукованого вивільнення цитокінів базифільною клітинною лінією KU812 людини або, у випадку CNTO3914, визначення за допомогою проліферації клітин Th2 мишей. Антитіла, що зв'язуються з доменом I ST2L, інгібували на вищому рівні відповіді тучних клітин людини, як визначено секрецією цитокінів і хемокінів, у порівнянні з антитілами анти-ST2L, що зв'язують домен III ST2L. CNTO3914, який зв'язує домен I мишачого ST2L і не реагує перехресно з людським доменом, також здатний інгібувати IL-33-
- 25 індуковані відповіді тучних клітин мишей.

Таблиця 6

mAb	Відповідна гібридома	Афінність до людського ST2L			Афінність до ST2L суно		
		кпряма (M ⁻¹ s ⁻¹)	кзворотна (s ⁻¹)	K _D (pM)	кпряма (M ⁻¹ s ⁻¹)	кзворотна (s ⁻¹)	K _D (pM)
STLM15	C2244	1,02E+06	4,25E-05	42	4,81E+06	5,30E-05	11
STLM62	C2494	4,26E+06	1,19E-04	28	4,51E+07	5,39E-04	12
na	C2519	4,83E+05	8,70E-05	180	7,14E+04	3,20E-03	44800
na	C2521	6,18E+05	4,90E-05	79	4,47E+05	1,66E-03	3710
ST2M48	na	1,32E+06	7,33E-05	56	1,03E+07	2,65E-03	257
ST2M49	na	1,59E+06	1,61E-04	101	4,66E+07	1,24E-02	266
ST2M50	na	1,15E+06	5,10E-05	45	2,01E+07	2,49E-03	124
ST2M51	na	1,29E+06	4,87E-05	38	4,42E+07	3,36E-03	76

Таблиця 7

mAb	Відповідна гібридома	RLB*	RGA#	Вивільнення цитокінів базофілами	Вивільнення цитокінів тучними клітинами	Епітоп ST2L
STLM15	C2244	+	+	+	+	hD1
STLM62	C2494	+	+	+	+	hD1
	C2519	-	+	+	-	hD3
	C2521	-	+	+	-	hD3
ST2M48	NA	-	+	nt	-	h/mD3
ST2M49	NA	-	+	nt	-	h/mD3
ST2M50	NA	-	+	nt	-	h/mD3
ST2M51	NA	-	+	nt	-	h/mD3

*Інгібування зв'язку рецептор-ліганд

#Аналіз репортерних генів

hD1 = домен D1 ST2L людини

mD1 = домен D1 ST2L миші

hD3 - домен D3 ST2L домену

h/mD3 = домени D1 і D2 ST2L людини і миші

nt= не тестували

Таблиця 8

mAb	Відповідна гібридома	RLB*	RGA#	Проліферація Т-клітин	Лаваж клітин очередини	Вивільнення цитокінів тучними клітинами**	Епітоп ST2L
CNT03914	C1999	+	+	+	+	+	mD1

*Інгібування зв'язку рецептор-ліганд

#Аналіз репортерних генів

**Отримано з кісткового мозку

5 Приклад 7. Антитіло CNT03914, яке зв'язує домен I ST2L, інгібує інтраназальну IL-33-індуковану гіперреактивність дихальних шляхів (ГДШ), запалення дихальних шляхів і відповіді тучних клітин мишей.

10 Чотири послідовні щоденні інтраназальні дози по 2 мкг/мишу "зрілого" IL-33 (R&D Systems) (залишки 109-266 із SEQ ID NO:215) вводили самкам мишей BALB/c. Антитіло CNT03914 до ST2L миші дозували підшкірно з профілактичною метою, у дозі 20 мг/кг (або 2 мг/кг або 0,2 мг/кг), за 24 години до першого інтраназального введення IL-33. Контрольні миші отримували ізотипний контроль CNT05516 або PBS за 24 год. до першого інтраназального введення IL-33. Гіперреактивність дихальних шляхів (ГДШ) до наростаючих доз метахоліну вимірювали з використанням форсованих кроків з системою Flexivent (Scireq, м. Монреаль, Квебек, Канада).
15 Для вимірювання гіперреактивності дихальних шляхів (ГДШ) мишей анестезували за допомогою 100 мг/кг пентобарбіталу і 13 мг/кг фенітоїну і проводили трахеотомію перед підключенням до FlexiVent. Для отримання вихідних показників мишам розпилювали фізіологічний розчин, а потім дві дози (10 і 20 м/мл) метахоліну. Для фізіологічного розчину і кожної дози метахоліну протягом приблизно 2 хвилин збирали значення опору (R) з використанням миттєвої пертурбації. Піковий опір розраховували з використанням тільки значень із коефіцієнтом детермінації (COD) вище
20 0,9.

В окремій групі мишей проводили лікування і аналіз клітинної відповіді у легенях. Через двадцять чотири години після останнього введення ізотипу mIL-33 або PBS мишей умертвляли шляхом передозування Sleepaway®. Лаваж легень мишей проводили за допомогою 0,7 мл холодного PBS з 0,1 % BSA. Отримані бронхоальвеолярні (BAL) рідини центрифугували при
25 1200 об/хв протягом 10 хвилин і безклітинні супернатанти зберігали при -80 °C до аналізу цитокінів/хемокінів. Зразки BAL використовували для підрахунків загальної кількості клітин із використанням гемоцитометра. Для диференціальних підрахунків BAL ~ 200 клітин підраховували за цитоспіновими мазками після фарбування за Райтом-Гімзою під світловим мікроскопом. Безклітинні супернатанти збирали і зберігали при -80 °C до використання у

білкових аналізах Lumineх. Тканини легень видаляли і потім проводили перфузію через правий шлуночок з використанням 5 мл холодного стерильного PBS до необхідної перфузії. Долі легень поміщали у пробірку Fast Prep®, що містила 1 мл PBS + інгібітор протеази, заморожували і зберігали при -80 °C для профілювання цитокінів/хемокінів. Мультиплексний аналіз цитокінів/хемокінів виконували відповідно до протоколу виробника для Millipore 22-Plex для мишей. Протеазу тучних клітин мишей 1 (mMCP-1) у рідині BAL аналізували за допомогою ELISA (Moredun Scientific).

Гіперреактивність дихальних шляхів

CNTO3914 істотно інгібував гіперреактивність дихальних шляхів у моделі запалення легень, яке викликали інтраназальним введенням IL-33 (фіг. 1). CNTO3914 вводили підшкірно за 24 год. до чотирьох послідовних щоденних інтраназальних введень mIL-33 у дозі 2 мкг/мишу. Піковий опір дихальних шляхів, визначений за допомогою Flexivent, істотно знизився при дозі CNTO3914 20 мкг/кг. Кожний відрізок представляє середнє значення $\pm$ стандартна похибка середнього (SEM) для мишей в групі від трьох (CNTO5516, антитіло ізотипного контролю) до шести. Аналогічні результати отримали в двох окремих дослідженнях. Значущість визначали з використанням двофакторного дисперсійного

аналізу (двосторонній ANOVA) з повторним тестом Бонферроні, CNTO3914/IL-33 $**p < 0,05$ у порівнянні з CNTO5516/IL-33; і $***p < 0,001$ порівняно з PBS у групі, якій вводили IL-33.

Запалення дихальних шляхів

CNTO3914 суттєво інгібує рекрутування клітин при бронхоальвеолярному лаважі (BAL) у застосованій моделі (фіг. 2). CNTO3914 вводили підшкірно за 24 год. до чотирьох послідовних щоденних інтраназальних введень mIL-33 у дозі 2 мкг/мишу. Показник лейкоцитів BAL був суттєво підвищений при введенні IL-33 і значно інгібувався при застосуванні 20 мкг/кг CNTO3914. Кожний відрізок представляє середнє значення $\pm$ стандартна похибка середнього (SEM) для мишей в групі від трьох (CNTO5516, антитіло ізотипного контролю) до шести. Аналогічні результати отримали в двох окремих дослідженнях. Значущість визначали з використанням двофакторного дисперсійного аналізу (двостороннього ANOVA) з повторним тестом Бонферроні, $***p < 0,001$.

Відповіді тучних клітин *in vivo*

Тучні клітини накопичують у своїх гранулах протеази, зокрема триптази і хімази, які швидко вивільняються при активації тучних клітин. Протеаза тучних клітин мишей 1 (mMCP-1) - це β -хімаза, яку вивільняють активовані тучні клітини, і, як відомо, вона є важливою для боротьби з паразитарними гельмінтними інфекціями. (Knight et al., J Exp Med 192:1849-56, 2000; Huntley et al., Parasite Immunol 12:85-95, 1990). Визначення mMCP-1 можна використати як маркер активації тучних клітин, яка, як було продемонстровано, індукується у залежній від тучних клітин моделі запалення дихальних шляхів: домашній пиловий кліщ (Yu and Chen, J Immunol 171:3808-15, 2003). За допомогою ELISA (Moredun Scientific) визначено, що mMCP-1 був суттєво підвищений у рідині BAL, отриманій від мишей, яким вводили IL-33, і інгібувався CNTO3914 (фіг. 3) дозозалежним чином. Значущість визначали з використанням однофакторного дисперсійного аналізу (односторонній ANOVA) з повторним тестом Тьюкі, $**p < 0,01$, $***p < 0,001$ у порівнянні з групою, якій вводили IL-33.

Приклад 8. Домен I-зв'язучі антитіла анти-ST2L інгібують відповіді тучних клітин *in vitro*

Відповіді тучних клітин оцінювали за вивільненням хемокінів і цитокінів мишачими і людськими тучними клітинами, а також простагландину D2 у тучних клітинах людини.

Домен I-зв'язуче антитіло анти-ST2L CNTO3914 інгібувало IL-33-індуковане вивільнення цитокінів, у тому числі GM-CSF (фіг. 4A), IL-5 (фіг. 4B) і TNF α (фіг. 4C), тучними клітинами, отриманими з кісткового мозку мишей.

Домен I-зв'язуче антитіло mAb C2494 (STLM62) до людського ST2L інгібувало IL-33-індуковане вивільнення PGD₂ тучними клітинами, отриманими з пуповинної крові людини, індукованими 3 нг/мл IL-33 при концентраціях антитіла 2, 10 і 50 мкг/мл (фіг. 5).

Домен I-зв'язучі антитіла анти-ST2L C2494 і C2244 інгібували IL-33-індуковане вивільнення GM-CSF, IL-5, IL-8, IL-13 і IL-10 тучними клітинами, отриманими з пуповинної крові людини, при концентраціях антитіла 50 мкг/мл, 10 мкг/мл і 2 мкг/мл (фіг. 6 і 8A-8E). Ступінь інгібування залежав від визначеної концентрації цитокіну/хемокіну, аналізованого антитіла та його концентрації і використаного середовища. Розрахований середній відсоток (%) інгібування становив 50,6-100 % у всіх аналізах, що проводили при концентрації антитіла 2 мкг/мл, і 62-100 % при концентрації антитіла 50 мкг/мл (фіг. 9). Домен III-зв'язучі антитіла анти-ST2L C2521, C2519, ST2M48, ST2M49, ST2M50 і

ST2M51 продемонстрували помірне інгібування, або його відсутність, або стимуляцію IL-33-індукованого вивільнення цитокінів тучними клітинами (фіг. 7A-7E і 8A-8E) при концентраціях

антитіла 50 мкг/мл і 10 мкг/мл. Ступінь інгібування залежав від визначеної концентрації цитокіну/хемокіну, аналізованого антитіла і використаного середовища. Розрахований середній відсоток (%) інгібування становив -594,4-31,9 % у всіх аналізах, що проводили при концентрації антитіла 2 мкг/мл, і -481,5-36 % при концентрації антитіла 50 мкг/мл (фіг. 9). У деяких аналізах антитіло ST2M50 інгібувало секрецію GM-CSF, IL-5, IL-10 і IL-13 при концентрації антитіла 10 мкг/мл (фіг. 8A-8E).

Середній відсоток інгібування розраховували з використанням такої формули: $(1 - (\text{концентрація цитокіну, вивільненого в присутності mAb}) / (\text{концентрація того самого цитокіну, вивільненого у відповідь на IL-33 за відсутності mAb})) \times 100$. Концентрації цитокінів вказано в пг/мл. У деяких випадках відсоток інгібування має негативне значення, що вказує на те, що вивільнення цитокінів у присутності mAb було фактично вище, ніж вивільнення за відсутності mAb. Незначні зміни ефективності mAb можуть виникнути залежно від концентрацій IL-33, що використовують для індукування вивільнення цитокінів у тучних клітинах. Подібним чином можуть бути незначні варіації активності mAb залежно від середовища, яке використовували для аналізу (StemPro-34 проти RPMI/10 % FCS). Всі проаналізовані домен I-зв'язучі антитіла анти-ST2L інгібували всі виміряні вивільнення цитокінів і хемокінів принаймні на 50 %, що виміряно середнім відсотком інгібування при концентрації 2 мкг/мл, 10 мкг/мл або 50 мкг/мл.

Приклад 9. Домен I-зв'язучі антитіла анти-ST2L інгібують індуковане інтраназальним введенням IL-33 ремоделювання дихальних шляхів.

C57BL/6-мишам інтраназально вводили "зрілий" IL-33 (або PBS) у дозі 1 мкг/мишу (залишки 109-266 із SEQ ID NO: 215) у дні D1, D3, D5, D7 і D9 і проводили аналіз легень на 10-й або 20-й день. Антитіло CNTO3914 до ST2L миші або ізотипний контроль (CNTO5516) вводили підшкірно у дозі 2 мг/кг за 6 год. до першого інтраназального введення IL-33. Контрольні миші отримували ізотипний контроль CNTO5516 або PBS за 6 год. до першого інтраназального введення IL-33. Роздуті легені фіксували у 10 % буферному формаліні для гістологічного дослідження; барвники, які використовували для аналізу, включали H&E, Masson Trichrome і Шифф-йодну кислоту (PAS).

Введення IL-33 викликало помірну або значну гіпертрофію епітелію бронхіол і гіперплазію келихоподібних епітеліальних клітин, і перибронхіальні інфільтрати головним чином змішувалися з еозинофілами. Бронхіальна епітеліальна гіпертрофія і гіперплазія не були очевидними у тварин, які отримували CNTO3914. Барвники Masson Trichrome були необхідні для визначення кількості наявного колагену; це фарбування дозволило виявити гіпертрофію келихоподібних клітин у тварин, які отримували IL-33. У тварин, які отримували CNTO3914, інфільтрати в альвеолах і перибронхіальних областях були відсутні.

Приклад 10. Утворення повністю людських антитіл ST2L

Додаткові Fab, які зв'язують ST2L людини, вибрали з бібліотек фагового дисплея pIX de novo, по суті, як описано в Прикладі 3, за винятком того, що пеннінг бібліотек проводили з використанням химерної конструкції NHM-ST2L (SEQ ID NO: 6, Таблиця 1) з біотинільованим антигеном, захопленим на покритих стрептавідином магнітних гранулах. Бібліотеку фагів блокували в PBS-T із 3 % знежиреним сухим молоком. Для спрямування фагового відбору до Fab, які специфічно зв'язувались із амінокислотними послідовностями домену I людського ST2L, конкурентний білок, химеру NHM-ST2L (SEQ ID NO: 7, Таблиця 1) додавали до блокуючого розчину. Фаги відбирали протягом трьох циклів із подальшим скринінгом за допомогою ELISA на зв'язок Fab із білком hST2L-Fc.

Для картування специфічності домену дев'ятнадцять Fab, що зв'язувались з hST2L-Fc, виділили з цих виборок і провели додатковий скринінг на зв'язування з химерними конструкціями ST2L (Таблиця 1), а також із білками: мишачим ST2L і людським ST2L, і до того ж охарактеризували за їхньою здатністю блокувати взаємодію IL-33/hST2L. Fab ST2F1, ST2F4 і ST2F6 блокували взаємодію hIL-33/ST2L і зв'язували домен I ST2L, і їх переносили на етап дозрівання аффіності.

Таблиця 9

Fab ID	VH ID	Каркас	HCDR1		HCDR2		HCDR3	
			Послідовність	SEQ ID NO:	Послідовність	SEQ ID NO:	Послідовність	SEQ ID NO:
ST2F6	ST2H41	VH3-23	SYAMS	78	AISGSGGSTYYADSVKG	81	DPWSTEGSFFVLDY	84
ST2F4	ST2H39	VH3-23	SYWMH	79	GISSGGGSTYYADSVKG	82	DGWGTVYFPFDY	85
ST2F1	ST2H35	VH5-51	SYWIG	80	IYPGDS DTRYSPSFQG	83	DTADFRRWDFDY	86

Fab ID	VL ID	Каркас	LCDR1		LCDR2		LCDR3	
			Послідовність	SEQ ID NO:	Послідовність	SEQ ID NO:	Послідовність	SEQ ID NO:
ST2F6	ST2L24	Vk-L6	RASQSVDDALA	87	DASNRAT	90	QQFYNWPLT	92
ST2F4	ST2L23	Vk-L6	RASQSVRDDLA	88	DASNRAT	90	QQYIHAPLT	93
ST2F1	ST2L20	Vk-B3	KSSQSVLYSSNNKNYLA	89	WASTRES	91	QSQNTYPFT	94

Приклад 11. Дозрівання афінності Fab, які зв'язують людський ST2L

5 Проведено дозрівання афінності ST2F1, ST2F4 і ST2F6 із використанням способу дозрівання "у лінії", який описано в Shi et al., J Mol Biol 397:385-396, 2010 і публ. міжн.

заявці на патент № WO2009/085462, і Прикладі 4. Бібліотеки дозрівання афінності створили для ST2F1, ST2F4 і ST2F6 шляхом диверсифікації відповідних бібліотек легких ланцюгів, B3, L6 і L6, відповідно, і комбінуванням бібліотек із областями VH Fab. Схему диверсифікації для залишків легких ланцюгів для бібліотек дозрівання афінності L6 і B3

10 показано в Таблиці 10. Нумерація позицій відповідає Kabat. Для пенінгу дозрівання афінності біотинільований huST2-ECD-Fc захоплювали на покритих стрептавідином (SA) магнітних гранулах при концентраціях 10 нМ для циклу 1, 1 нМ для циклу 2 і 0,1 нМ для циклу 3. Кінцеве промивання циклу 3 проводили протягом ночі при кімнатній температурі в присутності

15 10 нМ неміченого huST2L-ECD-Fc.

Таблиця 10

Петля	Позиція	Каркас	
		L6	B3
L1	30	SRNAD	RNDGHSY
	30a	-	RNDGHWY
	30e	-	RNDGHSY
	31	NSKD	RNDGHWY
	32	YWDFHSAN	YNWR
L2	50	ADKGYFTN	YWNK
L3	91	RYS GF	SYWH
	92	RHNSL	SYGN
	93	NDKR	STER
	94	WA	WYSH
	96	WYFLIR	YRWH

Вибірки бібліотек дозрівання легких ланцюгів ST2F6 дали покращені сполучення (ST2F14, ST2F17, ST2F31 і ST2F41) (фіг. 10 і фіг. 11). Їх розглядали як Fab із використанням ProteOn, і вони продемонстрували помірні покращення афінності від 2 нМ до 400 нМ.

20 Для додаткового покращення афінності ST2F14, ST2F17, ST2F31 і ST2F41 стандартний важкий ланцюг ST2H41 у ST2F14, ST2F17, ST2F31 і ST2F41 рандомізували в позиціях HCDR1 і HCDR2 31, 32, 33, 35, 50, 52, 53, 56 і 58 по Kabat з використанням схеми диверсифікації, яку показано в Таблиці 11. Отриману бібліотеку важких ланцюгів парували з чотирма легкими ланцюгами ST2L32, ST2L35, ST2L49 і ST2L59 із покращеною афінністю,

пеннінг і скринінг цієї бібліотеки проводили, як описано для бібліотек дозрівання легких ланцюгів. Fab з покращеним зв'язуванням відносно ST2F14 виділяли і перетворювали в IgG для додаткової характеристики. Отримані антитіла (STLM103, STLM107, STLM108, STLM123, STLM124, STLM206, STLM207, STLM208, STLM209, STLM210, STLM211, STLM212, STLM213, STLM214, STLM215, STLM216, STLM217, STLM218, STLM219,

STLM220, STLM221, STLM222) (фіг. 10 і фіг. 11) мають каркаси, отримані з VH3-23 або Vk-L6. Усі антитіла зв'язують домен I ST2L і блокують взаємодію IL-33/ST2L.

Таблиця 11

Позиція	Амінокислоти
31	SDNTAY
32	SDAY
33	SDAY
35	SN
50	SDNTAY
52	SANTKDEGR
53	SANEY
56	SANTKDEGR
58	SDNTAY

Додаткові різновиди створили й експресували для ST2L257 VH STLM208 для заміщення елементу DP на початку HCDR3. Послідовності різновидів показано на Фіг.12.

Приклад 11. Адаптація каркасу людського походження (HFA) C2494

Адаптацію каркасу людського походження проводили, по суті, як описано у публ. заявці на патент США № US2009/0118127 і Fransson et al., J Mol Biol 398:214-231, 2010. Коротко, послідовності важких і легких ланцюгів порівнювали з послідовностями людської зародкової лінії (тільки алелі "01" станом на 1 жовтня 2007 р.) із використанням пошуку BLAST у базі даних IMGT (Kaas, et al., Nucl. Acids. Res. 32, D208-D210, 2004; Lefranc et al., Nucl. Acid Res., 33, D593-D597, 2005). З даного набору генів зародкової лінії людини видалили вироджені гени (100 % ідентичні на амінокислотному рівні) та гени з неспареними залишками цистеїну. Решту найближчих за сумісністю генів зародкової лінії людини, як у каркасі, так і в областях CDR, вибрали як акцепторні каркаси людського походження. На основі загальної гомології послідовностей та довжини CDR, а також подібності CDR, загалом вибрали 9 VL і 7 VH каркасів людського походження зародкової лінії. FR-4 вибрали на основі подібності послідовностей генів IGJL/IGJK зародкової лінії, JK2 для ланцюгів VL і JH1 для ланцюгів VH (Kaas, et al., Nucl. Acid Res. 32, D208-D210, 2004; Lefranc M.-P et al., Nucl. Acid Res., 33, D593-D597, 2005) з послідовністю C2494). Потім для створення різновидів HFA дані CDR з C2494 (підкреслено на фіг. 14) переносили в обрані акцепторні каркаси людського походження, за винятком тієї області, що відповідає CDR-H1 VH. Для цієї області комбінація CDR і HV або коротший HCDR2 (називається Kabat-7, див. публ. заявці на патент США № US2009/0118127) переносили з антитіла нелюдського походження до людських FR, оскільки залишки HCDR2, виділені сірим кольором на фіг. 14, не контактували з комплексами антиген-антитіло відомих структур (Almagro, J Mol Recognit. 17, 132, 2004).

Послідовність зрілого білка C2494 (VL: SEQ ID NO:52; VH: SEQ ID NO: 48) показано на фіг. 14. На фіг. 14 залишки CDR (Kabat) підкреслено, петлі HV Chothia показано нижче CDR, і залишки, перенесені у вибрані каркаси людського походження, показано під HV (HFA). Залишки HCDR2, виділені сірим кольором, не перенесли в усіх різновидах.

3D-модель гомології для фрагмента Fv з C2494 будували з використанням модуля моделювання антитіла з молекулярного операційного середовища (Molecular Operating Environment, MOE) (CCG, м. Монреаль, Канада). Дану модель використовували для оцінки порушень здатності до прояву, таких як відкриті залишки метіоніну і триптофану, потенційні елементи N-глікозилювання і деамідування. У LCDR3 є потенційно відкритий залишок Met (M94), який ґрунтується на структурній моделі Fv. Для його видалення створили та охарактеризували різновид (STLL280, O12b) з мутацією M94L. Для важкого ланцюга залишок R елемента CAR (залишки 92-94 Chothia, фіг. 14) безпосередньо перед HCDR3 може мати негативний вплив на кластер негативно заряджених залишків (залишки D31, D32, D96 і D101a Chothia, фіг. 14), які можуть бути важливими для зв'язування. Створили та охарактеризували VH із заміщенням аргініну лейцином у залишках 94 Chothia (CAR → CAL). mAb, які поєднують розроблені важкі і легкі ланцюги, разом із батьківськими C2494 експресували та аналізували на

зв'язування з людським ST2L. Від створених mAb HFA, mAb з ланцюгами VH, які мають каркаси важких ланцюгів IGHV1-24*01 (SEQ ID NO: 148) і IGHV1-f*01 (SEQ ID NO: 149), (STLH195 і STLH194), добре експресували антитіла і зв'язували ST2L при з'єднанні з різними легкими ланцюгами HFA, що містили каркаси IGKV3-15*01 (L2) (SEQ ID NO: 150), IGKV1-9*01 (L8) (SEQ ID NO: 151), IGKV1-5*01 (L12) (SEQ ID NO: 152), IGKV1-12*01 (L5) (SEQ ID NO: 153), IGKV1-39*01 (O12) (SEQ ID NO: 154), IGKV1-27*01 (A20) (SEQ ID NO: 155) або IGKV1-33*01 (O18) (SEQ ID NO: 156), (STLL280, STLL278, STLL277, STLL276, STLL275, STLL274, STLL273, STLL272).

Послідовності різновидів VH і VL з HFA представлено в Таблиці 12. Перенесені залишки підкреслено, а описані вище додаткові заміщення виділено сірим кольором. У Таблиці 13 показано SEQ ID NO: а також унікальні pDR (плазмід) і CBIS ID для кожного VH і VL HFA. З'єднання важкого і легкого ланцюгів для створених mAb, обраних для додаткової характеристики, наведено в Таблиці 14.

У Таблиці 15 представлено каркаси людського походження (з'єднані області V і J), використані для перенесення CDR C2494.

Таблиця 12.

Адаптовані до каркасу ланцюги VL (з'єднані з послідовністю JK2). CDR підкреслено.

>VL2494 (батьківський) (SEQ ID NO: 52)

ETTVTQSPASLSVATGEKVTIRCITNTDIDDVIHWYQQKPGEPKLLISEGNTLRP
GVPSRFSSSGYGTDFTVFTIENTLSEDVADYYCLQSDNMLTFGAGTKLELK

>VL2494-IGKV1-33*01 O18 (SEQ ID NO: 135)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCITNTDIDDVIHWYQQKPGKAPKLLIYEGNTLRP
GVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDATYYCLQSDNMLTFGQGTKLEIK

>VL2494-IGKV1-27*01 A20 (SEQ ID NO: 136)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCITNTDIDDVIHWYQQKPGKVPKLLIYEGNTLRP
GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYCLQSDNMLTFGQGTKLEIK

>VL2494-IGKV1-39*01 O12 (SEQ ID NO: 137)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCITNTDIDDVIHWYQQKPGKAPKLLIYEGNTLRP
GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCLQSDNMLTFGQGTKLEIK

>VL2494-IGKV1-12*01 L5 (SEQ ID NO: 138)

DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCITNTDIDDVIHWYQQKPGKAPKLLIYEGNTLRP
GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCLQSDNMLTFGQGTKLEIK

>VL2494-IGKV1-5*01 L12 (SEQ ID NO: 139)

DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCITNTDIDDVIHWYQQKPGKAPKLLIYEGNTLRP
GVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDDEFATYYCLQSDNMLTFGQGTKLEIK

>VL2494-IGKV1-9*01 L8 (SEQ ID NO: 140)

DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCITNTDIDDVIHWYQQKPGKAPKLLIYEGNTLRP
GVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCLQSDNMLTFGQGTKLEIK

>VL2494-IGKV3-15*01 L2 (SEQ ID NO: 141)

EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCITNTDIDDVIHWYQQKPGQAPRLLIYEGNTLRP
GIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCLQSDNMLTFGQGTKLEIK

>VL2494-IGKV1-39*01 O12b (SEQ ID NO: 142)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCITNTDIDDVIHWYQQKPGKAPKLLIYEGNTLRP
GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCLQSDNMLTFGQGTKLEIK

Адаптовані до каркасу ланцюги VH, з'єднані з JH1.

>VH2494 (батьківський) (SEQ ID NO: 48)

EVQLQQSVAELVRPGASVKLSCTASAFNIKDDYMHVWVKRPEQGLEWIGRIDPAIGNTEYAPKFQ
DKATMTADTSSNTAYLQLSSLTSEDFAVYYCALGDFYAMDYWGQGTSTVTVSS

>VH2494-IGHV1-f*01 (SEQ ID NO: 143)

EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSAFNKDDYMHVWVQAPGKGLEWMGRIDPAIGNTEYAEKF
QG RVTITADTSTDYAMELSSLRSEDTAVYYCATGDFYAMDYWGQGTSTVTVSS

>VH2494-IGHV1-24*01 (SEQ ID NO: 144)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCVSAFNKDDYMHVVRQAPGKGLEWMGRIDPAIGNTEYAPK
FQD RVTMTEDTSTDYAMELSSLRSEDTAVYYCATGDFYAMDYWGQGTSTVTVSS

Таблиця 13

	Варіантний HFA	pDR#	CBIS ID	SEQ ID NO:
Ланцюги VH	>VH2494-IGHV1-24*01	9870	STLH195	144
HFA	>VH2494-IGHV1-f*01	9871	STLH194	143
Ланцюги VL	>VL2494-IGKV1-39*01 O12b	9865	STLL280	142

Таблиця 13

	Варіантний HFA	pDR#	CBIS ID	SEQ ID NO:
HFA	>VL2494-IGKV3-15*01 L2	9873	STLL278	141
	>VL2494-IGKV1-9*01 L8	9874	STLL277	140
	>VL2494-IGKV1-5*01 L12	9875	STLL276	139
	>VL2494-IGKV1-12*01 L5	9876	STLL275	138
	>VL2494-IGKV1-39*01 012	9877	STLL274	137
	>VL2494-IGKV1-27*01 A20	9878	STLL273	136
	>VL2494-IGKV1-33*01 018	9879	STLL272	135

Таблиця 14

		Ланцюги VH		
		Батьківський*	>VH2494-IGHV1-24*01	>VH2494-IGHV1-f*01
Ланцюги VL	pRD#	pDR4211	pDR9870	pDR9871
Батьківський*	pDR4212	STLM126	STLM186	STLM196
>VL2494-IGKV1-39*01 012b	pDR9865	STLM127	STLM187	STLM197
>VL2494-IGKV3-15*01 L2	pDR9873	STLM129	STLM189	STLM199
>VL2494-IGKV1-9*01 L8	pDR9874	STLM130	STLM190	STLM200
>VL2494-IGKV1-5*01 L12	pDR9875	STLM131	STLM191	STLM201
>VL2494-IGKV1-12*01 L5	pDR9876	STLM132	STLM192	STLM202
>VL2494-IGKV1-39*01 012	pDR9877	STLM133	STLM193	STLM203
>VL2494-IGKV1-27*01 A20	pDR9878	STLM134	STLM194	STLM204
>VL2494-IGKV1-33*01 018	pDR9879	STLM135	STLM195	STLM205

*Батьківський = VH і VL C2494

Таблиця 15

Каркаси, використані для людини Адаптація каркасу (HFA)		Послідовність	SEQ ID NO:
Походження області V каркасу	Походження області J каркасу		
IGHV1-24*01	JH1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYTLTELSMHWVRQA PGKGLEWMGGFDPE DGETIYAQKFQGRVTMTEDTSTDATYMESSLRSEDTAVYY CATWGQGTTLTVSS	148
IGHV1-f*01	JH1	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTDYMHWWVQQA PGKGLEWMGLVDPED GETIYAEKFQGRVTITADTSTDATYMESSLRSEDTAVYYCA TWGQGTTLTVSS	149
IGKV3-15*01 L2	JK2	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPG QAPRLLIYGASTRATGI PARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQQYNWPTFGQ GTKLEIK	150
IGKV1-9*01 L8	JK2	DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGK APKLLIYAASLTQSGVP SRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQQLNSYPTFGQGT KLEIK	151
IGKV1-5*01 L12	JK2	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPG KAPKLLIYDASSLESGV PSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDDEFATYYCQQYNSYSTFGQ GTKLEIK	152

Таблиця 15

Каркаси, використані для людини Адаптація каркасу (HFA)		Послідовність	SEQ ID NO:
Походження області V каркасу	Походження області J каркасу		
IGKV1-12*01 L5	JK2	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITCRASQGISSWLAWYQQKPG KAPKLLIYAASSLQSG VPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQANSFPTFGQ GTKLEIK	153
IGKVI-39*01 O12	JK2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITCRASQSISSYLNWYQQKPG KAPKLLIYAASSLQSGVP SRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPTFGQG TKLEIK	154
IGKV1-27*01 A20	JK2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITCRASQGISNYLAWYQQKPG KVPKLLIYAASLTQSGV PSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYCQKYNAPTFTGQ GTKLEIK	155
IGKVI-33*01 O18	JK2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITCQASQDISNYLNWYQQKPG KAPKLLIYDASNLETGV PSRFSGSGSGTDFTFTISLQPEDATYYCQQYDNLPTFGQG TKLEIK	156

Приклад 12. Створення мутантів аланіну та зародкової лінії людини для сканування паратопів

- 5 Сайт-спрямований мутагенез проводили для оцінки значення зв'язування окремих залишків CDR, а також деяких залишків, які мають потенційний вплив на інші характеристики антитіла. На основі вищевказаної молекулярної моделі Fv C2494 передбачено, що підмножина оброблених розчинником залишків CDR причетна до зв'язування антигена. Вони пройшли мутацію до аланіну та/або відповідного "подібного до людського" залишку, який є відповідним залишком у
- 10 найбільш сумісному гені зародкової лінії. Заміщення D101aA (залишки Chothia), (D104A у SEQ ID NO: 48) у VH C2494 знизило кзворотну приблизно у 4 рази, з $1,43 \times 10^{-4}$ до $3,2 \times 10^{-5}$.

- Оскільки заміщення D101aA знизило кзворотну Fab C2494 зв'язку до ST2L, очікували, що та сама мутація може також підвищити зворотний коефіцієнт у різновидах C2494 HFA. Таким чином, D101aA (нумерація Chothia) включили у VH із STLH194 (>VH2494-IGHV1- f*01, SEQ ID NO: 143) для створення VH STLH201 (SEQ ID NO: 145). STLH201 парували з 7 легкими ланцюгами STLL280, STLL277, STLL276, STLL275, STLL274, STLL273 і STLL272 (Таблиця 13 і
- 15 Таблиця 14) для створення mAb STLM226, STLM227, STLM228, STLM229, STLM230, STLM231 і STLM232, які додатково характеризували. Тому mAb STLM226, STLM227, STLM228, STLM229, STLM230, STLM231 і STLM232 мають ідентичні послідовності LCDR1, LCDR2, LCDR3, HCDR1 і HCDR2, при порівнянні з батьківським антитілом C2494, і відмінний HCDR3 (SEQ ID NO: 146, GDFYAMAY). Крім того, антитіло STLM266 VL STLM280 мало унікальний LCDR3: LQSDNLLT (SEQ ID NO: 147)

- STLH201 (SEQ ID NO: 145):
EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSAFNIKDDYMHVWVQQAPGKGLEWMGRIDPAIGNTEYAEKF
- 25 QG RVTITADTSTDYAMELSSLRSEDTAVYYCATGDFYAMAYWGQGLTVTVSS

Заміщення D101aA включення HCDR3 (нумерація Chothia):

SEQ ID NO: 146: GDFYAMAY

Антитіло STLM266 VL STLM280 мало унікальний LCDR3: LQSDNLLT (SEQ ID NO: 147)

Приклад 13. Характеристика антитіл анти-ST2L

- 30 Антитіла, отримані з фагового дисплея, гібридами й операції з адаптації каркасів людського походження характеризували в перебігу різних аналізів, у тому числі зв'язування з huST2L-ECD, супоST2L-ECD, вимірювання афінності, зв'язування з людськими/мишачими химерами для визначення зв'язування домену, аналізів інгібування рецептор-ліганд, аналізів репортерного гена й аналізів відповіді тучних клітин.

- 35 Афінність антитіл, отриману в операціях фагового дисплея, до людського і ST2L супо, а також специфічність їхнього зв'язування з людським ST2L показано в Таблиці 16. Усі антитіла в

Таблиці 16 зв'язували домен I людського ST2L.

Таблиця 16

	Аффінітність до людського ST2L			Аффінітність до ST2L суро			Зв'язування домену ST2L-ECD
	кпряма ($M^{-1}s^{-1}$)	кзворотна (s^{-1})	KD (pM)	кпряма ($M^{-1}s^{-1}$)	кзворотна (s^{-1})	KD (pM)	
STLM103	3,97E+06	1,63E-04	41	6,42E+06	2,02E-04	31	D1
STLM107	2,90E+07	3,41E-04	12	1,00E+08	6,50E-04	7	D1
STLM108	2,29E+06	2,22E-04	97	2,05E+07	5,98E-04	29	D1
STLM123	1,37E+07	2,08E-04	15	1,00E+08	5,19E-04	5	D1
STLM124	1,65E+07	7,56E-04	46	8,71E+07	2,57E-03	30	D1
STLM206	6,39E+06	1,60E-04	25	9,40E+07	5,83E-04	6	D1
STLM207	8,33E+06	3,95E-04	48	1,00E+08	2,07E-03	21	D1
STLM208	5,97E+06	6,76E-05	11	1,39E+07	7,02E-05	5	D1
STLM209	6,59E+06	1,70E-04	26	3,39E+07	3,11E-04	9	D1
STLM210	1,21E+07	2,27E-04	19	5,70E+07	5,28E-04	9	D1
STLM211	1,70E+07	4,83E-04	29	1,00E+08	1,39E-03	14	D1
STLM212	1,24E+07	3,98E-04	32	1,43E+07	3,46E-04	24	D1
STLM213	7,54E+06	1,08E-04	14	1,64E+07	1,24E-04	8	D1
STLM214	9,16E+06	2,99E-04	33	7,20E+06	2,64E-04	37	D1
STLM215	6,91E+06	1,72E-04	25	3,54E+07	3,69E-04	10	D1
STLM216	9,63E+06	1,58E-04	16	7,89E+07	2,64E-04	3	D1
STLM217	7,27E+06	1,26E-04	17	3,81E+07	1,38E-04	4	D1
STLM218	9,89E+06	2,24E-04	23	1,45E+07	2,65E-04	18	D1
STLM219	7,54E+06	2,01E-04	27	1,07E+07	2,30E-04	22	D1
STLM220	5,80E+06	9,53E-05	16	1,60E+07	1,40E-04	9	D1
STLM221	2,73E+06	9,61E-05	35	6,04E+06	1,30E-04	22	D1
STLM222	8,22E+06	3,01E-04	37	1,18E+07	3,45E-04	29	D1
STLM226	2,16E+07	1,93E-03	90	1,00E+08	3,01E-02	301	D1
STLM227	2,66E+07	1,70E-03	64	1,00E+08	2,94E-02	294	D1
STLM228	2,01E+07	1,04E-03	52	1,00E+08	1,55E-02	155	D1
STLM229	1,29E+07	4,45E-04	35	1,00E+08	8,50E-03	85	D1
STLM230	1,11E+07	4,26E-04	38	5,06E+07	7,30E-03	144	D1
STLM231	1,97E+07	9,13E-04	46	8,27E+07	1,43E-02	172	D1
STLM232	1,78E+07	4,49E-04	25	1,00E+08	7,97E-03	80	D1

- Аффінітність до антитіл анти-ST2L в операції HFA відносно батьківського (STLM62, C2494) наведено в Таблиці 17. Аффінітність аналізували за допомогою ProteOn. Експерименти проводили при 25 °C із використанням буфера PBS-TE Proteon (PBS, 0,005 % P20 і 3 мМ ЕДТА) як рухомого буфера. Для проведення експериментів сенсорний чіп ГРХ приготували шляхом ковалентної іммобілізації козячих анти-людських Fc (~ 5800 RU), захоплено 122-146 одиниць відповіді (RU) Mab. Захоплення Mab супроводжували введенням ST2L-ECD від 0,024-15 нМ (5-кратні розведення) протягом 4 хв. (200 мкл, при 50 мкл/хв). Дисоціацію контролювали протягом 30 хвилин для всіх реакцій. Регенерацію приконували з використанням двох 15-секундних впорскувань 10 мМ гліцину, рН 1,5. Дані узгоджували 1:1 із моделлю дрейфу базової лінії.

- Темпи асоціації для зразків є швидкими, для побудови кривої та оцінки аффінітності використали модель Ленгмюра з масообміном. Усі зразки мали швидші зворотні показники, ніж такі у батьківського клону і контрольного Mab. Різниця у зворотних показниках була головною причиною нижчої аффінітності різновидів HFA у порівнянні з батьківським антитілом.

Таблиця 17

Зразок	Аффінітність до людського ST2L			Аффінітність до ST2L суро		
	кпряма ($M^{-1}s^{-1}$)	кзворотна (s^{-1})	KD (pM)	кпряма ($M^{-1}s^{-1}$)	кзворотна (s^{-1})	KD (pM)
STLM62*	1,84E+07	1,59E-04	8,67	3,84E+07	4,57E-04	12,35
STLM187	3,37E+07	1,59E-02	473,00	1,00E+08	1,10E-01	1100,00
STLM190	1,00E+08	5,34E-02	534,00	1,00E+08	1,02E-01	1020,00
STLM191	8,46E+07	2,47E-02	292,00	1,00E+08	6,66E-02	666,00

Таблиця 17

Зразок	Афінність до людського ST2L			Афінність до ST2L суно		
	кпряма ($M^{-1}s^{-1}$)	кзворотна (s^{-1})	KD (pM)	кпряма ($M^{-1}s^{-1}$)	кзворотна (s^{-1})	KD (pM)
STLM192	2,11E+07	8,85E-03	420,00	1,00E+08	9,99E-02	999,00
STLM193	4,77E+07	1,27E-02	267,00	1,00E+08	9,32E-02	932,00
STLM194	1,00E+08	7,03E-02	703,00	1,00E+08	1,90E-01	1900,00
STLM195	2,49E+07	6,73E-03	271,00	1,00E+08	7,19E-02	719,00
STLM197	1,83E+07	1,62E-03	88,50	2,97E+07	6,88E-03	232,00
STLM199	2,17E+07	8,97E-04	41,40	7,78E+07	6,57E-03	84,50
STLM200	2,35E+07	1,43E-03	60,80	8,23E+07	1,10E-02	134,00
STLM201	1,76E+07	8,52E-04	48,40	3,55E+07	4,10E-03	116,00
STLM202	2,24E+07	1,19E-03	52,90	7,75E+07	1,04E-02	134,00
STLM203	2,04E+07	9,67E-04	47,30	5,88E+07	6,56E-03	111,00
STLM204	2,97E+07	2,41E-03	81,30	1,00E+08	2,05E-02	205,00
STLM205	1,73E+07	6,95E-04	40,10	4,04E+07	4,04E-03	100,00

*STLM62=C2494, батьківське антитіло

Таблиця 18

Походження	mAb	RLB IC50, $\mu g/ml$	RGA IC50, $\mu g/ml$	Аналіз ендотеліальних клітин суно	Вивільнення цитокінів базофілами
Фаговий дисплей	STLM103	0,47	1,92	NT	+
	STLM107	0,44	1,10	NT	++
	STLM108	0,23	2,34	++	++
	STLM116	0,29	6,71	NT	+
	STLM123	0,28	1,25	NT	++
	STLM124	0,35	0,87	++	++
	STLM206	0,40	0,67	++	++
	STLM207	0,36	2,30	NT	++
	STLM208	0,47	0,61	++	++
	STLM209	0,32	0,97	++	++
	STLM210	0,30	2,10	NT	++
	STLM211	0,28	2,52	NT	++
	STLM212	0,33	4,32	NT	+
	STLM213	0,34	0,49	++	++
	STLM214	0,28	2,52	NT	++
	STLM215	0,29	1,30	NT	++
	STLM216	0,30	1,86	NT	++
	STLM217	0,49	1,69	NT	++
	STLM218	0,42	1,33	NT	++
	STLM219	0,29	3,16	NT	++
	STLM220	0,39	0,60	NT	++
	STLM221	0,39	2,79	NT	+
	STLM222	0,25	1,88	NT	++
	STLM226	0,26	0,25	++	++
	STLM227	0,17	0,23	++	++
	STLM228	0,20	0,28	++	++
HFA	STLM229	0,29	0,32	++	++
	STLM230	0,28	0,15	++	++
	STLM231	0,26	1,10	+	+
	STLM232	0,31	0,15	++	++
Гібридома C2494	STLM62*	0,70	0,11	++	++

++ Сильне інгібування
 + Деяке (часткове) інгібування
 - Відсутнє інгібування
 NT не тестували
 * Тестували як гібридому
 RLB = Інгібування зв'язку рецептор-ліганд RGA = Аналіз репортерних генів

Вибрані антитіла аналізували на відповіді тучних клітин вимірюванням інгібування 3 нг/мл IL-33-індукованого вивільнення IL-5, IL-13 і IL-8 тучними клітинами, отриманими з пуповинної крові людини, як описано з використанням 100 мкг/мл, 10 мкг/мл, 1 мкг/мл, 0,1 мкг/мл або 0,01 мкг/мл антитіла в RPMI+10 % FCS. У даних умовах аналізу всі аналізовані антитіла інгібували IL-33-індуковане вивільнення цитокінів IL-5, IL-13 і IL-8 приблизно на 40-100 % при концентрації антитіла 100 мкг/мл, у порівнянні з контрольним зразком, індукованим IL-33.

Приклад 14. Антитіло анти-ST2L інгібує низхідні сигнальні шляхи у базофілах людини

Антитіла анти-ST2L аналізували на їхню здатність інгібувати сигналізацію p38 MAPK у базофілах людини.

Цільну кров збирали в пробірки з гепарином і доводили до кімнатної температури (КТ) до початку аналізу. 1 мл аліквоти крові переносили в 50 мл конічні пробірки та додавали антитіло анти-ST2L (STLB252) або ізотипний контроль (CINTO 8937), розведені в PBS, для досягнення кінцевої концентрації 2, 20 або 200 мкг/мл. Пробірки обережно збовтували для перемішування і поміщали у термостат при 37 °C х 30 хвилин, обережно збовтуючи через 15 хвилин. Кров потім фарбували міченими флуорохромом антитілами до антигенів клітинної поверхні (CD123-FITC, CRTH2-PCP-Cy5.5 і CD45-APC-C7) і пробірки інкубували при 37 °C протягом 15 хвилин. 1 мл нагрітого культурального середовища (RPMI-1640/10 % FBS/1 % пеніцилін-стрептоміцин) додавали у кожну пробірку перед додаванням розведеного у нагрітому культуральному середовищі IL-33 для досягнення кінцевої концентрації 10 нг/мл. Зразки інкубували при 37 °C х 10 хвилин перед додаванням 20 мл підігрітого буфера BD Phosflow Lyse/Fix у кожну пробірку, з метою одночасного лізису еритроцитів і фіксації зразків. Вміст пробірок перемішували шляхом 10-кратного перевертання й інкубували при 37 °C х 10 хвилин. Зразки промивали 20 мл стерильного PBS КТ, ресуспендували в 2 мл буфера 1x BD Perm/Wash КТ й інкубували при КТ 30 хвилин. Зразки промивали один раз 2 мл буфера BD Perm/Wash та потім ресуспендували в 400 мкл буфера BD Perm/Wash. Додавали PE-мічене антитіло до p38-MAPK (vCell Signaling, № по кат. 6908S), і зразки інкубували 30 хв. при кімнатній температурі із захистом від світла. Зразки промивали один раз 5 мл буфера Perm/Wash перед ресуспендуванням у 100 мкл буфера FACS і переносили в 96- лунковий планшет із круглим дном. Зразки аналізували з використанням проточного цитометра BD LSRII із застосуванням системи з високою пропускною здатністю (HTS), збираючи якомога більше подій для кожного зразка. Дані аналізували з використанням програмного забезпечення FloJo. Базофіли визначали як CD45+CRTH2+CD123+, й оцінювали відсоток p38 MAPK-позитивних базофілів для кожного режиму. Попередня інкубація цільної крові з анти-ST2L mAb (STLB252) призвела до дозозалежного інгібування IL-33-індукованого фосфорилування p38-MAPK, тоді як з ізотипним контролем (CINTO 8937) такого впливу не спостерігали. Антитіла до людського ST2L специфічно блокували активацію базофілів через рекомбінантний людський IL-33 у середовищі цільної крові. Результати свідчать про те, що антитіла анти-ST2L інгібують сигналізацію ендегенним IL-33 in vivo.

Таблиця 19

IL-33 (10 нг/мл)	STLB252 (мкг/мл)	Ізотипний контроль (мкг/мл)	Відсоток фосфорильованого p38 MAPK
-	0	0	2,2
+	0	0	80,6
+	2	0	44,4
+	20	0	15,7
+	200	0	1,2
+	0	2	76,7
+	0	20	79
+	0	200	77

Приклад 15. З'єднання мішені антитілом анти-ST2L in vivo

Модель рекрутування базальних клітин при інтраназальному введенні mIL-33 протягом 6 годин, in vivo

Разову дозу 1,2 мкг/мишу mIL-33 (R&D Systems #3626-ML/CF) або PBS вводили самцям мишей Balb/c (віком 6-8 тижнів, Taconic). Щуряче антитіло CNTO 3914 до мишачого ST2L або при 2, 0,2, 0,06 або 0,02 мг/кг, за 24 години до першого інтраназального введення mIL-33. mAb CNTO 5516 ізотипного контролю (ITC) вводили підшкірно в дозі 2 мг/кг. Через шість годин після введення mIL-33 (або PBS) мишей умертвляли та збирали кров для аналізу сироватки. Бронхоальвеолярний лаваж (BAL) проводили шляхом введення двох об'ємів 0,7 мл PBS/0,1 % BSA в легені і вилучення промивної рідини. Продукти BAL центрифугували (1200 об/хв, протягом 10 хвилин), і клітинний осад ресуспендували в 200 мкл PBS для загального та диференціального підрахунку кількості клітин з використанням гемоцитометра (на фарбованих за Райтом - Гімзою цитоспінових препаратах).

Вимірювання CNTO 3914 у сироватці мишей

Планшети MSD SA-STD блокували за допомогою буфера для аналізу по 50 мкл на лунку протягом 5 хвилин. Для видалення буфера для аналізу планшети перевертали і вибивали рідину постукуванням на паперових рушниках. До буфера для аналізу додавали 50 мкл на лунку 1,4 мкг/мл біотинільованої мишачої химери ST2L/IL1R4/FC (R&D System) й інкубували протягом ночі в холодильнику. 150 мкл буфера для аналізу додавали в кожен лунку попередньо покритих планшетів без видалення реагенту покриття й інкубували протягом 30 хвилин. Планшети тричі промивали промивним буфером на мийці планшетів. Для видалення залишків промивного буфера по планшетах злегка постукували на паперових рушниках. У кожен лунку планшета додавали 50 мкл на лунку зразка CNTO 3914. Планшет інкубували протягом однієї години з обережним вихровим перемішуванням при кімнатній температурі. Планшети тричі промивали промивним буфером на мийці планшетів. У кожен лунку планшета додавали по 50 мкл на лунку титрування рутеній-міченого мишачого антитіла до мишачого IgG1b (BD Biosciences). Планшет інкубували протягом однієї години з обережним вихровим перемішуванням при кімнатній температурі. Планшети тричі промивали промивним буфером на мийці планшетів. У кожен лунку планшета додавали по 150 мкл буфера для зчитування. Планшети негайно зчитували на рівні люмінесценції на приладі MSD sector imager 6000 Reader.

Аналіз цільної крові

Кров розводили 1:4 в середовищі DMEM+1 % розчин пеніциліну + стрептоміцин +/- 10 нг/мл мишачого IL-33 у фільтрувальних пробірках Sarstedt. Пробірки інкубували при 37 °C протягом ночі, а потім вимірювали рівні цитокінів та хемокинів у супернатантах із використанням набору Millipore Milliplex Mouse Cytokine/Chemokine, відповідно до інструкцій виробника.

Результати

Антитіло анти-ST2L виявили в сироватці мишей через 24 години після введення CNTO 3914 у дозі 0,2 або 2 мг/кг (фіг. 16A).

Інтраназальне введення IL-33 через 6 год. індукувало рекрутування клітин у дихальні шляхи (фіг. 16B). Введення анти-ST2L mAb знижувало рекрутування клітин BAL; 0,2 мг/кг були мінімальною дозою, необхідною для того, щоб прослідкувати значне інгібування рекрутування клітин BAL (фіг. 16B). Статистичну значимість розраховували з використанням однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA.

Цільна кров, яку стимулювали мишачим IL-33, продемонструвала підвищення рівнів цитокінів та хемокинів, у тому числі IL-6 (фіг. 16C) і MCP-1 (фіг. 16D), через 24 години. У мишей, яким вводили 20 мг/кг або 2 мг/кг анти-ST2L mAb CNTO 3914, рівні IL-6 і MCP-1 у плазмі були нижчими порівняно з CNTO5516 (контроль ізотипу антитіла до мишачого IgG1), що свідчить про залучення мішені. Мінімальна доза, яка корелювала з інгібуванням в аналізі цільної крові, 2 мг/кг, також інгібувала рекрутування клітин BAL (фіг. 16b).

У сукупності ці дані підтверджують, що анти-ST2L mAb досягали сайту дії і передбачуваний фармакологічний ефект було досягнуто (свідчить про залучення мішені).

Приклад 16. Епітопи антитіл анти-ST2L

Картування епітопів і дослідження конкуренції проводили для відбору антитіл анти-ST2L.

Аналізи конкурентного зв'язування

Аналізи конкурентного зв'язування проводили для оцінки різних зв'язуючих груп епітопів для анти-ST2L mAb. На планшет MSD HighBind (Meso Scale Discovery, м. Гейтерсберг, штат Меріленд, США) наносили 5 мкл (10 мкг/мл) білка ST2L-ECD на лунку на 2 год. при кімнатній температурі. У кожен лунку додавали сто п'ятдесят мікролітрів 5 % буфера MSD Blocker A (Meso Scale Discovery, м. Гейтерсберг, штат Меріленд, США) й інкубували протягом 2 год. при кімнатній температурі. Планшети тричі промивали за допомогою 0,1 М буфера HEPES, pH 7,4,

із подальшим додаванням суміші флуоресцентного барвника MSD (sulfo tag, ефір NHS), яким було мічено окреме антитіло анти-ST2L з різними конкурентами. 10 або 30 нМ міченого антитіла інкубували зі зростаючими концентраціями конкуруючих антитіл, від 1 нМ до 2 або 5 мкМ, а потім додавали у призначені лунки по 25 мкл суміші. Після 2-годинної інкубації з обережним струшуванням при кімнатній температурі планшети промивали 3 рази 0,1 М буфером HEPES (pH 7,4). Буфер для зчитування MSD Read Buffer T розбавляли дистильованою водою (4-кратно), розподіляли в об'ємі по 150 мкл/лунку й аналізували за допомогою SECTOR Imager 6000.

Для аналізів конкурентності використовували наступні антитіла: нейтралізуючі антитіла STLM208, STLM213, C2244 (STLM15) і C2494 (STLM62), що зв'язують домен I ST2L, антитіло C2539, що зв'язує домен III ST2L, та не нейтралізуюче антитіло анти-ST2L C2240, що зв'язує домен I людського ST2L. На фіг. 17A і 17B представлено експерименти з дослідження конкуренції. На основі експерименту визначили відсіки епітопів: BinA: mAb C2244, C2494, STLM208 або STLM213; BinB: mAb C2240, BinC: C2539. Антитіла, що блокують взаємодію IL33/ST2L й інгібують відповіді тучних клітин, виявили в одному і тому ж відсіку епітопа, і вони перехресно конкурують одне з одним. Зведені дані конкуренції показано в Таблиці 20.

Таблиця 20

Конкурент	Мічене антитіло			
	C2240	C2539	C2244	C2494
C2240	+	-	-	-
C2539	-	+	-	-
C2244	-	-	+	+
C2494	-	-	+	+
STLM208	-	-	+	+
STLM213	-	-	+	+

Картування епітопів: аналіз обміну H/D

Для обміну H/D використали процедуру аналізу пертурбації антитіла, схожу з описаною раніше (Hamuro, Y., et al., Journal of Biomolecular Techniques, 14:171-182, 2003; Horn, J. R., et al., Biochemistry, 45: 8488-8498, 2006), з деякими модифікаціями. Рекombінантний ST2-ECD (експресований з HEK293E з C-кінцевою His-міткою) (залишки 18-328 із SEQ ID NO: 157) інкубували в розчині дейтерованої води протягом заданих часових проміжків, що призвело до включення дейтерію на рівні здатних до обміну атомів водню. Дейтерований ST2-ECD захоплювали на колонку, що містила іммобілізовані молекули Fab C2244 анти-ST2L, і потім промивали водним буфером. Після зворотного обміну проводили елюцію білка ST2-ECD з колонки та визначали локалізацію фрагментів, що містили дейтерій, за допомогою обробки протеазою та мас-спектрометричного аналізу.

На фіг. 18 показано спрощену карту обміну H/D людського ST2-ECD (розчинний ST2) у комплексі з Fab C2244. Залишки 18-31 ST2-ECD із SEQ ID NO: 119 (амінокислотні залишки RCPRQGKPSYTVDW; SEQ ID NO: 210) були захищені Fab (відповідні до залишків 35-48 повнорозмірного ST2L із SEQ ID NO: 1). Дані вказують на те, що C2244 зв'язується з епітопом RCPRQGKPSYTVDW; SEQ ID NO: 210, і що антитіла, які конкурують з C2244 (C2494, STLM208 або STLM213), з високою ймовірністю зв'язуються з тим самим епітопом або епітопом, що перекривається.

Картування епітопів за допомогою мутагенезу

Деякі мутанти ST2L утворили так, що вони мали заміщення на відповідні мишачі залишки на домені I ST2L. Проаналізовані антитіла не вступають у перехресну реакцію з мишачим ST2L, отже, можна очікувати, що різновиди ST2L із зруйнованим та/або ослабленим зв'язком вказують на залишки епітопу на сайтах заміщення на ST2L. Різновиди перетворили у конструкцію HH-ST2L із залишками 19-205 повнорозмірного ST2L із SEQ ID NO: 1 із використанням стандартних способів. Антитіла проаналізували на зв'язування з різновидами ST2L за допомогою ELISA або Proteon.

Поверхневий плазмонний резонанс

Дослідження зв'язування проводили з використанням системи ProteOn XPR36 Protein Interaction Array (Bio-Rad) (Bravman T, et al. Anal Biochem 358:281-288, 2006). Суміш анти-людських/анти-мишачих Fc (Jackson ImmunoResearch, № по кат. 109-005-098/115-005-071) іммобілізували на сенсорному чіпі GPX за допомогою хімічного амінозв'язування. Далі окреме анти-ST2L mAb захоплювали проточним (1 мкг/мл) розчином антитіла, який готували у PBS, що

містив 0,5 % Nonidet P-40 і 0,5 % Na-дезоксихолату. Сигнал на поверхнях досягав ~ 250 резонансних одиниць (RU, 1 RU=1 пг білка/мм²) на поверхнях з анти-Fc-покриттям, підтверджуючи, що ці антитіла специфічно захоплюють анти-ST2L mAb. Після повороту рідинної системи на 90° дикий тип ST2L-D1D2 або варіантні білки (0,5 мг/мл в PBS, що містив 0,5 % Nonidet P-40 і 0,5 % Na-дезоксихолату) вводили в паралельні проточні канали. Усі аналізи проводили при 25 °C. ST2L-D1D2-залежні сигнали на поверхнях отримали за допомогою подвійного порівняння, віднімаючи відповідь, яку спостерігали на поверхнях, що іммобілізували лише антитіла, і сигнал, що спостерігали при введенні лише вектора (що дозволяє провести корекцію відносно незалежних від зв'язування відповідей). Отримані сенсограми узгоджували за допомогою найпростішої моделі взаємодії 1:1 (програмне забезпечення для аналізу Proteon), щоб отримати відповідні константи швидкості асоціації та дисоціації (k_a і k_d).

На фіг. 19 представлено створені різновиди ST2L й аффіність антитіл анти-ST2L ST2B206 і ST2B252 до різновидів. Різновид 93NL94 (заміщення 93TF94→93NL94) знижував аффіність зв'язування STL2M208 і STLB252 у приблизно 5 разів: від приблизно $10,8 \times 10^{-12}$ М до приблизно $49,5 \times 10^{-12}$ М. Відсутність значного зниження аффіності зв'язування означає, що енергія взаємодії між антитілом і ST2L-D1D2 є сумою області епітопів (RCPRQGKPSYTVDW; SEQ ID NO: 210), визначеною аналізом обміну H/D і додатковою участю даного сайту 93NL94. Нумерація залишків відповідає повнорозмірному людському ST2L із SEQ ID NO: 1.

Приклад 17. Антитіла, які зв'язують домен I ST2L, інгібують первинні відповіді тучних клітин легень людини *in vitro*

Здатність антитіл, які зв'язують домен I ST2L, до інгібування відповідей тучних клітин легень оцінювали за вивільненням хемокінів і цитокінів в первинних тучних клітинах легень людини.

Виділення первинних тучних клітин легень людини

Первинні тучні клітини легень людини виділяли з нормальної тканини некурців, отриманої від Міжнародного інституту прогресу медицини (International Institute for the Advancement of Medicine). Клітини диспергували з паренхіми легень і малих дихальних шляхів через подрібнення, промивання й обробку тканини паренхіми протягом ночі при 37 °C ферментами колагеназою та гіалуронідазою. Клітини збирали, промивали та піддавали збагаченню з використанням набору CD117 Microbead (для людини) від MACS Miltenyi Biotec для позитивного відбору тучних клітин із популяції. Перед проведенням експериментів тучні клітини культивували протягом 6 тижнів у StemPro-34+200 нг/мл фактора стовбурових клітин. Через два тижні після виділення клітини фенотипово характеризували з використанням проточної цитометрії для визначення відсотка чистоти тучних клітин. Клітини, що використовували в наступних аналізах, були на 89 % подвійно позитивними на CD117 (C-набір або рецептор фактора стовбурових клітин) і Fc RI (рецептор з високою аффіністю до IgE). Крім того, вони були на 94,2 % позитивними на ST2L; тим самим підтверджуючи їхній фенотип тучних клітин.

Аналіз вивільнення цитокінів із первинних тучних клітин легень людини

Первинні тучні клітини легень людини, які культивували у StemPro-34+200 нг/мл фактора стовбурових клітин протягом приблизно 6 тижнів, збирали і промивали центрифугуванням у середовищі RPMI (10 % FCS, інактивованій нагріванням). Клітини підраховували і висівали в середовище RPMI/10 % FCS при щільності 65 000 клітин у 96- лунковому планшеті. Домен I- зв'язуючі анти-ST2L Mab додавали до первинних тучних клітин легень і давали зв'язатися протягом 30 хвилин при 37 °C перед стимуляцією IL-33. З метою ініціації накопичення різних медіаторів у культуральному супернатанті клітини стимулювали 3 нг/мл IL-33 протягом 24 годин. Культуральний супернатант збирали і зберігали у замороженому вигляді до аналізу зі звичайним набором Milliplex 9-Plex.

Домен I-зв'язуюче антитіло анти-ST2L STL2M208 інгібувало IL-33-індуковане вивільнення GM-CSF (фіг. 20A), IL-5 (фіг. 20B), IL-8 (фіг. 20C) й IL-13 (фіг. 20D) у первинних тучних клітинах легень людини при концентраціях антитіла 100 мкг/мл, 10 мкг/мл і 1 мкг/мл. Аналогічні результати отримали з використанням тучних клітин, отриманих з пуповинної крові (дані не показано).

ПЕРЕЛІК ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

<110> Duffy, Karen
 Fursov, Natalie
 Hall, LeRoy
 Healey, Catherine
 Lamb, Roberta
 Luo, Jinqun
 Malaviya, Ravi
 Naso, Michael
 Pratta, Michael
 Tornetta, Mark
 Wheeler, John
 Wu, Sheng-Jiu

<120> ST2L антагоністи і способи їх застосування

<130> JBI5003WOPCT

<140> PCT/US13/38637

<141> 2013-04-29

<150> US 61/640,407

<151> 2012-04-30

<150> US 61/640,238

<151> 2012-04-30

<150> US 13/798,204

<151> 2013-03-13

<150> US 13/798,226

<151> 2013-03-13

<160> 215

<170> PatentIn, версія 3.5

<210> 1

<211> 556

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Gly Phe Trp Ile Leu Ala Ile Leu Thr Ile Leu Met Tyr Ser Thr
1 5 10 15

Ala Ala Lys Phe Ser Lys Gln Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu
20 25 30

Ile Val Arg Cys Pro Arg Gln Gly Lys Pro Ser Tyr Thr Val Asp Trp
35 40 45

Tyr Tyr Ser Gln Thr Asn Lys Ser Ile Pro Thr Gln Glu Arg Asn Arg
50 55 60

Val Phe Ala Ser Gly Gln Leu Leu Lys Phe Leu Pro Ala Ala Val Ala
65 70 75 80

Asp Ser Gly Ile Tyr Thr Cys Ile Val Arg Ser Pro Thr Phe Asn Arg
85 90 95

Thr Gly Tyr Ala Asn Val Thr Ile Tyr Lys Lys Gln Ser Asp Cys Asn
100 105 110

Val Pro Asp Tyr Leu Met Tyr Ser Thr Val Ser Gly Ser Glu Lys Asn
115 120 125

Ser Lys Ile Tyr Cys Pro Thr Ile Asp Leu Tyr Asn Trp Thr Ala Pro
130 135 140

Leu Glu Trp Phe Lys Asn Cys Gln Ala Leu Gln Gly Ser Arg Tyr Arg
145 150 155 160

Ala His Lys Ser Phe Leu Val Ile Asp Asn Val Met Thr Glu Asp Ala
165 170 175

Gly Asp Tyr Thr Cys Lys Phe Ile His Asn Glu Asn Gly Ala Asn Tyr
180 185 190

Ser Val Thr Ala Thr Arg Ser Phe Thr Val Lys Asp Glu Gln Gly Phe
195 200 205

Ser Leu Phe Pro Val Ile Gly Ala Pro Ala Gln Asn Glu Ile Lys Glu
210 215 220

Val Glu Ile Gly Lys Asn Ala Asn Leu Thr Cys Ser Ala Cys Phe Gly
225 230 235 240

Lys Gly Thr Gln Phe Leu Ala Ala Val Leu Trp Gln Leu Asn Gly Thr
245 250 255

Lys Ile Thr Asp Phe Gly Glu Pro Arg Ile Gln Gln Glu Glu Gly Gln
260 265 270

Asn Gln Ser Phe Ser Asn Gly Leu Ala Cys Leu Asp Met Val Leu Arg
275 280 285

Ile Ala Asp Val Lys Glu Glu Asp Leu Leu Leu Gln Tyr Asp Cys Leu
290 295 300

Ala Leu Asn Leu His Gly Leu Arg Arg His Thr Val Arg Leu Ser Arg
305 310 315 320

Lys Asn Pro Ile Asp His His Ser Ile Tyr Cys Ile Ile Ala Val Cys
325 330 335

Ser Val Phe Leu Met Leu Ile Asn Val Leu Val Ile Ile Leu Lys Met
340 345 350

Phe Trp Ile Glu Ala Thr Leu Leu Trp Arg Asp Ile Ala Lys Pro Tyr
355 360 365

Lys Thr Arg Asn Asp Gly Lys Leu Tyr Asp Ala Tyr Val Val Tyr Pro
370 375 380

Arg Asn Tyr Lys Ser Ser Thr Asp Gly Ala Ser Arg Val Glu His Phe
385 390 395 400

Val His Gln Ile Leu Pro Asp Val Leu Glu Asn Lys Cys Gly Tyr Thr
405 410 415

Leu Cys Ile Tyr Gly Arg Asp Met Leu Pro Gly Glu Asp Val Val Thr
420 425 430

Ala Val Glu Thr Asn Ile Arg Lys Ser Arg Arg His Ile Phe Ile Leu
435 440 445

Thr Pro Gln Ile Thr His Asn Lys Glu Phe Ala Tyr Glu Gln Glu Val
450 455 460

Ala Leu His Cys Ala Leu Ile Gln Asn Asp Ala Lys Val Ile Leu Ile
465 470 475 480

Glu Met Glu Ala Leu Ser Glu Leu Asp Met Leu Gln Ala Glu Ala Leu
485 490 495

Gln Asp Ser Leu Gln His Leu Met Lys Val Gln Gly Thr Ile Lys Trp
500 505 510

Arg Glu Asp His Ile Ala Asn Lys Arg Ser Leu Asn Ser Lys Phe Trp
 515 520 525

Lys His Val Arg Tyr Gln Met Pro Val Pro Ser Lys Ile Pro Arg Lys
 530 535 540

Ala Ser Ser Leu Thr Pro Leu Ala Ala Gln Lys Gln
 545 550 555

<210> 2

<211> 556

<212> PRT

<213> Macaca fascicularis

<400> 2

Met Gly Leu Trp Ile Leu Ala Ile Leu Thr Ile Leu Val Tyr Ser Thr
 1 5 10 15

Ala Ala Lys Phe Ser Lys Gln Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu
 20 25 30

Ile Val Arg Cys Pro Arg Gln Gly Lys Ser Ser Tyr Ile Val Asp Trp
 35 40 45

Tyr Tyr Ser Gln Thr Asn Lys Ser Ile Pro Thr Gln Glu Arg Asn Arg
 50 55 60

Val Phe Ala Ser Gly Gln Leu Leu Lys Phe Leu Pro Ala Glu Val Ala
 65 70 75 80

Asp Ser Gly Ile Tyr Thr Cys Ile Val Arg Ser Pro Thr Phe Asn Arg
 85 90 95

Thr Gly Tyr Ala Asn Val Thr Ile Tyr Lys Lys Gln Pro Asp Cys Asn
 100 105 110

Val Pro Asp Tyr Leu Met Tyr Ser Thr Val Ser Gly Ser Glu Lys Asn
 115 120 125

Ser Lys Ile Tyr Cys Pro Thr Ile Asp Leu Tyr Asn Trp Thr Ala Pro
 130 135 140

Leu Glu Trp Phe Lys Asn Cys Gln Ala Leu Gln Gly Ser Arg Tyr Lys
 145 150 155 160

Ala His Lys Ser Phe Leu Val Ile Asp Asn Val Met Thr Asp Asp Ala
 165 170 175

Gly Asp Tyr Thr Cys Lys Phe Ile His Asn Glu Asn Gly Ala Asn Tyr
 180 185 190

Ser Val Thr Ala Thr Arg Ser Phe Thr Val Lys Asp Glu Gln Gly Phe
 195 200 205

Ser Leu Phe Pro Val Ile Arg Ala Pro Ala His Asn Glu Thr Lys Glu
 210 215 220

Val Glu Ile Gly Glu Asn Thr Asn Leu Thr Cys Ser Ala Cys Phe Gly
 225 230 235 240

Lys Gly Ala Gln Phe Leu Ala Thr Val Gln Trp Gln Leu Asn Gly Asn
 245 250 255

Lys Ile Thr Asp Phe Ser Glu Pro Arg Ile Gln Gln Glu Glu Gly Gln

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

Ala Val Glu Thr Asn Ile Arg Lys Ser Arg Arg His Ile Phe Ile Leu
435 440 445

Thr Pro Gln Ile Thr His Asn Glu Glu Phe Ala Tyr Glu Gln Glu Val
450 455 460

Ala Leu His Ser Ala Leu Ile Gln Asn Asp Ser Lys Val Ile Leu Ile
465 470 475 480

Glu Met Glu Ala Leu Ser Glu Leu Asp Met Leu Gln Ala Glu Ala Leu
485 490 495

Gln Asp Ser Leu Arg His Leu Met Glu Val Gln Gly Thr Ile Lys Trp
500 505 510

Arg Glu Asp His Val Ala Asn Lys Arg Ser Leu Asn Ser Lys Phe Trp
515 520 525

Lys His Val Arg Tyr Gln Met Pro Val Pro Ser Lys Met Pro Arg Lys
530 535 540

Ala Ser Ser Leu Thr Ser Leu Ala Ala Gln Lys Gln
545 550 555

<210> 3

<211> 270

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Met Lys Pro Lys Met Lys Tyr Ser Thr Asn Lys Ile Ser Thr Ala Lys
1 5 10 15

Trp Leu His Ala Asn Asn Lys Glu His Ser Val Glu Leu His Lys Cys
195 200 205

Glu Lys Pro Leu Pro Asp Gln Ala Phe Phe Val Leu His Asn Met His
210 215 220

Ser Asn Cys Val Ser Phe Glu Cys Lys Thr Asp Pro Gly Val Phe Ile
225 230 235 240

Gly Val Lys Asp Asn His Leu Ala Leu Ile Lys Val Asp Ser Ser Glu
245 250 255

Asn Leu Cys Thr Glu Asn Ile Leu Phe Lys Leu Ser Glu Thr
260 265 270

<210> 4

<211> 269

<212> PRT

<213> Macaca fascicularis

<400> 4

Met Lys Pro Lys Met Lys Tyr Ser Thr Asn Lys Ile Ser Thr Ala Lys
1 5 10 15

Arg Lys Asn Thr Ala Ser Lys Ala Leu Cys Phe Lys Leu Gly Lys Ser
20 25 30

Gln Gln Lys Ala Lys Glu Val Cys His Val Tyr Phe Met Lys Leu Arg
35 40 45

Ser Gly Leu Met Ile Lys Lys Glu Ala Cys Tyr Phe Arg Arg Glu Thr
50 55 60

Thr Lys Arg Pro Ser Leu Lys Thr Gly Gly Lys His Lys Gly His Leu
65 70 75 80

Val Leu Ala Ala Cys Gln Gln Gln Ser Thr Val Glu Cys Phe Ala Phe
85 90 95

Gly Ile Ser Gly Val Pro Lys Tyr Thr Arg Ala Leu His Asp Ser Ser
100 105 110

Ile Thr Gly Ile Ser Pro Ile Thr Glu Ser Leu Ala Ser Leu Ser Thr
115 120 125

Tyr Asn Asp Gln Ser Ile Thr Phe Ala Leu Glu Asp Glu Ser Tyr Glu
130 135 140

Ile Tyr Val Glu Asp Leu Lys Lys Asp Lys Lys Lys Asp Lys Val Leu
145 150 155 160

Leu Ser Tyr Tyr Glu Ser Gln His Pro Ser Ser Glu Ser Gly Asp Gly
165 170 175

Val Asp Gly Lys Met Leu Met Val Thr Leu Ser Pro Thr Lys Asp Phe
180 185 190

Trp Leu Gln Ala Asn Asn Lys Glu His Ser Val Glu Leu His Lys Cys
195 200 205

Glu Lys Pro Leu Pro Asp Gln Ala Phe Phe Val Leu His Asn Arg Ser
210 215 220

Phe Asn Cys Val Ser Phe Glu Cys Lys Thr Asp Pro Gly Val Phe Ile
225 230 235 240

Gly Val Lys Asp Asn His Leu Ala Leu Ile Lys Val Asp Tyr Ser Glu
245 250 255

Asn Leu Gly Ser Glu Asn Ile Leu Phe Lys Leu Ser Glu
260 265

<210> 5

<211> S67

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 5

Met Ile Asp Arg Gln Arg Met Gly Leu Trp Ala Leu Ala Ile Leu Thr
1 5 10 15

Leu Pro Met Tyr Leu Thr Val Thr Glu Gly Ser Lys Ser Ser Trp Gly
20 25 30

Leu Glu Asn Glu Ala Leu Ile Val Arg Cys Pro Gln Arg Gly Arg Ser
35 40 45

Thr Tyr Pro Val Glu Trp Tyr Tyr Ser Asp Thr Asn Glu Ser Ile Pro
50 55 60

Thr Gln Lys Arg Asn Arg Ile Phe Val Ser Arg Asp Arg Leu Lys Phe
65 70 75 80

Leu Pro Ala Arg Val Glu Asp Ser Gly Ile Tyr Ala Cys Val Ile Arg
85 90 95

Ser Pro Asn Leu Asn Lys Thr Gly Tyr Leu Asn Val Thr Ile His Lys
100 105 110

Lys Pro Pro Ser Cys Asn Ile Pro Asp Tyr Leu Met Tyr Ser Thr Val
115 120 125

Arg Gly Ser Asp Lys Asn Phe Lys Ile Thr Cys Pro Thr Ile Asp Leu
130 135 140

Tyr Asn Trp Thr Ala Pro Val Gln Trp Phe Lys Asn Cys Lys Ala Leu
145 150 155 160

Gln Glu Pro Arg Phe Arg Ala His Arg Ser Tyr Leu Phe Ile Asp Asn
165 170 175

Val Thr His Asp Asp Glu Gly Asp Tyr Thr Cys Gln Phe Thr His Ala
180 185 190

Glu Asn Gly Thr Asn Tyr Ile Val Thr Ala Thr Arg Ser Phe Thr Val
195 200 205

Glu Glu Lys Gly Phe Ser Met Phe Pro Val Ile Thr Asn Pro Pro Tyr
210 215 220

Asn His Thr Met Glu Val Glu Ile Gly Lys Pro Ala Ser Ile Ala Cys
225 230 235 240

Ser Ala Cys Phe Gly Lys Gly Ser His Phe Leu Ala Asp Val Leu Trp
245 250 255

Gln Ile Asn Lys Thr Val Val Gly Asn Phe Gly Glu Ala Arg Ile Gln
260 265 270

Glu Glu Glu Gly Arg Asn Glu Ser Ser Ser Asn Asp Met Asp Cys Leu

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

Gln Val Phe Val Leu Ala Pro His Met Met His Ser Lys Glu Phe Ala
450 455 460

Tyr Glu Gln Glu Ile Ala Leu His Ser Ala Leu Ile Gln Asn Asn Ser
465 470 475 480

Lys Val Ile Leu Ile Glu Met Glu Pro Leu Gly Glu Ala Ser Arg Leu
485 490 495

Gln Val Gly Asp Leu Gln Asp Ser Leu Gln His Leu Val Lys Ile Gln
500 505 510

Gly Thr Ile Lys Trp Arg Glu Asp His Val Ala Asp Lys Gln Ser Leu
515 520 525

Ser Ser Lys Phe Trp Lys His Val Arg Tyr Gln Met Pro Val Pro Glu
530 535 540

Arg Ala Ser Lys Thr Ala Ser Val Ala Ala Pro Leu Ser Gly Lys Ala
545 550 555 560

Cys Leu Asp Leu Lys His Phe
565

<210> 6

<211> 300

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> ST2L мишача-людська химера HHM

<400> 6

Lys Phe Ser Lys Gln Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu Ile Val

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

Thr Ala Thr Arg Ser Phe Thr Val Glu Glu Lys Gly Phe Ser Met Phe
180 185 190

Pro Val Ile Thr Asn Pro Pro Tyr Asn His Thr Met Glu Val Glu Ile
195 200 205

Gly Lys Pro Ala Ser Ile Ala Cys Ser Ala Cys Phe Gly Lys Gly Ser
210 215 220

His Phe Leu Ala Asp Val Leu Trp Gln Ile Asn Lys Thr Val Val Gly
225 230 235 240

Asn Phe Gly Glu Ala Arg Ile Gln Glu Glu Glu Gly Arg Asn Glu Ser
245 250 255

Ser Ser Asn Asp Met Asp Cys Leu Thr Ser Val Leu Arg Ile Thr Gly
260 265 270

Val Thr Glu Lys Asp Leu Ser Leu Glu Tyr Asp Cys Leu Ala Leu Asn
275 280 285

Leu His Gly Met Ile Arg His Thr Ile Arg Leu Arg
290 295 300

<210> 7

<211> 297

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> ST2L мишача-людська химера MHM

<400> 7

Lys Ser Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu Ile Val Arg Cys Pro

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

Arg Ser Phe Thr Val Glu Glu Lys Gly Phe Ser Met Phe Pro Val Ile
180 185 190

Thr Asn Pro Pro Tyr Asn His Thr Met Glu Val Glu Ile Gly Lys Pro
195 200 205

Ala Ser Ile Ala Cys Ser Ala Cys Phe Gly Lys Gly Ser His Phe Leu
210 215 220

Ala Asp Val Leu Trp Gln Ile Asn Lys Thr Val Val Gly Asn Phe Gly
225 230 235 240

Glu Ala Arg Ile Gln Glu Glu Glu Gly Arg Asn Glu Ser Ser Ser Asn
245 250 255

Asp Met Asp Cys Leu Thr Ser Val Leu Arg Ile Thr Gly Val Thr Glu
260 265 270

Lys Asp Leu Ser Leu Glu Tyr Asp Cys Leu Ala Leu Asn Leu His Gly
275 280 285

Met Ile Arg His Thr Ile Arg Leu Arg
290 295

<210> 8

<211> 303

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<221> ST2L мишана-людська химера NMH

<400> 8

Lys Phe Ser Lys Gln Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu Ile Val

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

Thr Ala Thr Arg Ser Phe Thr Val Lys Asp Glu Gln Gly Phe Ser Leu
180 185 190

Phe Pro Val Ile Gly Ala Pro Ala Gln Asn Glu Ile Lys Glu Val Glu
195 200 205

Ile Gly Lys Asn Ala Asn Leu Thr Cys Ser Ala Cys Phe Gly Lys Gly
210 215 220

Thr Gln Phe Leu Ala Ala Val Leu Trp Gln Leu Asn Gly Thr Lys Ile
225 230 235 240

Thr Asp Phe Gly Glu Pro Arg Ile Gln Gln Glu Glu Gly Gln Asn Gln
245 250 255

Ser Phe Ser Asn Gly Leu Ala Cys Leu Asp Met Val Leu Arg Ile Ala
260 265 270

Asp Val Lys Glu Glu Asp Leu Leu Leu Gln Tyr Asp Cys Leu Ala Leu
275 280 285

Asn Leu His Gly Leu Arg Arg His Thr Val Arg Leu Ser Arg Lys
290 295 300

<210> 9
<211> 104
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 9

Lys Phe Ser Lys Gln Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu Ile Val
1 5 10 15

Arg Cys Pro Arg Gln Gly Lys Pro Ser Tyr Thr Val Asp Trp Tyr Tyr
20 25 30

Ser Gln Thr Asn Lys Ser Ile Pro Thr Gln Glu Arg Asn Arg Val Phe
35 40 45

Ala Ser Gly Gln Leu Leu Lys Phe Leu Pro Ala Ala Val Ala Asp Ser
50 55 60

Gly Ile Tyr Thr Cys Ile Val Arg Ser Pro Thr Phe Asn Arg Thr Gly
65 70 75 80

Tyr Ala Asn Val Thr Ile Tyr Lys Lys Gln Ser Asp Cys Asn Val Pro
85 90 95

Asp Tyr Leu Met Tyr Ser Thr Val
100

<210> 10
<211> 80
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 10

Ser Gly Ser Glu Lys Asn Ser Lys Ile Tyr Cys Pro Thr Ile Asp Leu
1 5 10 15

Tyr Asn Trp Thr Ala Pro Leu Glu Trp Phe Lys Asn Cys Gln Ala Leu
20 25 30

Gln Gly Ser Arg Tyr Arg Ala His Lys Ser Phe Leu Val Ile Asp Asn
35 40 45

Val Met Thr Glu Asp Ala Gly Asp Tyr Thr Cys Lys Phe Ile His Asn
50 55 60

Glu Asn Gly Ala Asn Tyr Ser Val Thr Ala Thr Arg Ser Phe Thr Val
65 70 75 80

<210> 11

<211> 115

<212> FRT

<213> Homo sapiens

<400> 11

Ser Leu Phe Pro Val Ile Gly Ala Pro Ala Gln Asn Glu Ile Lys Glu
1 5 10 15

Val Glu Ile Gly Lys Asn Ala Asn Leu Thr Cys Ser Ala Cys Phe Gly
20 25 30

Lys Gly Thr Gln Phe Leu Ala Ala Val Leu Trp Gln Leu Asn Gly Thr
35 40 45

Lys Ile Thr Asp Phe Gly Glu Pro Arg Ile Gln Gln Glu Glu Gly Gln
50 55 60

Asn Gln Ser Phe Ser Asn Gly Leu Ala Cys Leu Asp Met Val Leu Arg
65 70 75 80

Ile Ala Asp Val Lys Glu Glu Asp Leu Leu Leu Gln Tyr Asp Cys Leu
85 90 95

Ala Leu Asn Leu His Gly Leu Arg Arg His Thr Val Arg Leu Ser Arg
100 105 110

Lys Asn Pro Ile

115

<210> 12

<211> 101

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 12

Lys Ser Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu Ile Val Arg Cys Pro
1 5 10 15

Gln Arg Gly Arg Ser Thr Tyr Pro Val Glu Trp Tyr Tyr Ser Asp Thr
20 25 30

Asn Glu Ser Ile Pro Thr Gln Lys Arg Asn Arg Ile Phe Val Ser Arg
35 40 45

Asp Arg Leu Lys Phe Leu Pro Ala Arg Val Gln Asp Ser Gly Ile Tyr
50 55 60

Ala Cys Val Ile Arg Ser Pro Asn Leu Asn Lys Thr Gly Tyr Leu Asn
65 70 75 80

Val Thr Ile His Lys Lys Pro Pro Ser Cys Asn Ile Pro Asp Tyr Leu
85 90 95

Met Tyr Ser Thr Val
100

<210> 13

<211> 5

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 13

His Tyr Gly Met Ala

1 5

<210> 14

<211> 17

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 14

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

1 5 10 15

Gly

<210> 15

<211> 8

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 15

Gln Ser Asp Asp Tyr Phe Asp Tyr

1 5

<210> 16

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 16

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Glu Tyr Ser Asp Gly Asp Ser Tyr Leu Glu

1 5 10 15

<210> 17

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 17

Gly Val Ser Asn Arg Phe Ser

1 5

<210> 18

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 18

Phe Gln Ala Thr His Asp Pro Phe Thr

1 5

<210> 19

<211> 117

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 19

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

1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser His Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gln Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gln Ser Asp Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Val Met
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser
 115
 <210> 20
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 20
 Asp Val Val Leu Thr Gln Thr Pro Val Ser Leu Ser Val Thr Leu Gly
 1 5 10 15
 Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Glu Tyr Ser
 20 25 30
 Asp Gly Asp Ser Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gly Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ile Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Pro Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Ala
85 90 95

Thr His Asp Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 21
<211> 5
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 21

Asp Tyr Asn Met Asn
1 5

<210> 22
<211> 5
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 22

Thr Tyr Trp Met Asn
1 5

<210> 23
<211> 6
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 23

Ser Asp Tyr Ala Trp Asn
1 5

<210> 24
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 24

Asp Asp Tyr Met His
 1 5

<210> 25
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 25

Asn Ile Asn Pro Tyr Tyr Gly Ser Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 26
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 26

Gln Ile Phe Pro Ala Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Met Phe Lys
 1 5 10 15

Asp

<210> 27

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 27

Phe Ile Ser Tyr Ser Gly Asp Thr Ser Phe Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 28

<211> 17

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 28

Arg Ile Asp Pro Ala Ile Gly Asn Thr Glu Tyr Ala Pro Lys Phe Gln
1 5 10 15

Asp

<210> 29

<211> 11

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 29

Glu Gly Asp Thr Tyr Leu Ala Trp Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 30

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 30

Ser Gln Asn Ile Tyr Tyr Ile Asn Phe Gln Tyr Tyr Phe Ala Tyr
1 5 10 15

<210> 31

<211> 8

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 31

Tyr Asp Gly Tyr Ser Phe Asp Tyr
1 5

<210> 32

<211> 8

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 32

Gly Asp Phe Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5

<210> 33

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 33

Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val Tyr Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu
1 5 10 15

<210> 34

<211> 11

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 34

Arg Ala Ser Gln Asn Ile Gly Thr Arg Met His

1 5 10

<210> 35

<211> 15

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 35

Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Ser Ser Tyr Met Phe

1 5 10 15

<210> 36

<211> 11

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 36

Ile Thr Asn Thr Asp Ile Asp Asp Val Ile His

1 5 10

<210> 37

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 37

Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser

1 5

<210> 38

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 38

Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser

1 5

<210> 39

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 39

Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser

1 5

<210> 40

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 40

Glu Gly Asn Thr Leu Arg Pro

1 5

<210> 41

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 41

Phe Gln Gly Ser His Val Pro Pro Thr

1 5

<210> 42

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 42

Gln Gln Ser Asn Thr Trp Pro Phe Thr

1 5

<210> 43

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 43

Gln His Ser Arg Glu Ile Pro Tyr Thr

1 5

<210> 44

<211> 8

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 44

Leu Gln Ser Asp Asn Met Leu Thr

1 5

<210> 45

<211> 120

<212> PRT

<213> Синтетическая последовательность

<230>

<223> C2519A VH

<400> 45

Glu Phe Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Asn Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Asn Ile Asn Pro Tyr Tyr Gly Ser Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Glu Gly Asp Thr Tyr Leu Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
115 120

<210> 46

<211> 124

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> C2521A VH

<400> 46

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

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Leu Thr Tyr

```

                20                25                30

Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
    35                40                45

Gly Gln Ile Phe Pro Ala Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Met Phe
    50                55                60

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
    65                70                75                80

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

Ala Arg Ser Glu Asn Ile Tyr Tyr Ile Asn Phe Gln Tyr Tyr Phe Ala
    100                105                110

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

<210> 47
<211> 117
<212> PRT
<213> Синтезана последицама

<220>
<223> C2244/ STLMI5 VH

<400> 47

Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1                5                10                15

Ser Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Thr Gly Phe Ser Ile Thr Ser Asp
    20                25                30

```


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

Met Gly Phe Ile Ser Tyr Ser Gly Asp Thr Ser Phe Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Ile Ser Val Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe
65 70 75 80

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

Ala Ser Tyr Asp Gly Tyr Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 48

<211> 117

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> C2494A/ STLM62 VH

<400> 48

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Val Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Ala Phe Asn Ile Lys Asp Asp
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Ala Ile Gly Asn Thr Glu Tyr Ala Pro Lys Phe
50 55 60

Gln Asp Lys Ala Thr Met Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Leu Gly Asp Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 49
<211> 112
<212> FRT
<213> Синтетична послідовність

<220>
<223> C2519A VL

<400> 49

Asp Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val Tyr Ser
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
85 90 95

Ser His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 50

<211> 106

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> C2521A VL

<400> 50

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

Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asn Ile Gly Thr Arg Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile Lys
35 40 45

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

50 55 60

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

Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Thr Trp Pro Phe Thr
85 90 95

Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 51
<211> 111
<212> PRT
<213> Синтетична послідовність

<220>
<223> C2244/ STLM15 VL

<400> 51

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Ile Ser Leu Gly
1 5 10 15

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser
20 25 30

Gly Ser Ser Tyr Met Phe Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
50 55 60

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

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

Glu Ile Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 52

<211> 106

<212> PRT

<213> СИНТЕТИЧЕСКАЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ.

<220>

<223> C2494A/ STLMS2 VL

<400> 52

Glu Thr Thr Val Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Val Ala Thr Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Ile Arg Cys Ile Thr Asn Thr Asp Ile Asp Asp Val
20 25 30

Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Glu Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Ser Glu Gly Asn Thr Leu Arg Pro Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Ser
50 55 60

Ser Gly Tyr Gly Thr Asp Phe Val Phe Thr Ile Glu Asn Thr Leu Ser
65 70 75 80

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

Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
 100 105

<210> 53
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Синтетична послідовність

<220>
 <223> STLM48, STLM49, STLM50 HCDR1

<400> 53

Thr Ser Tyr Trp Ile Gly
 1 5

<210> 54
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Синтетична послідовність

<220>
 <223> STLM51 HCDR1

<400> 54

Ser Ser Tyr Ala Ile Ser
 1 5

<210> 55
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Синтетична послідовність

<220>
 <223> STLM48, STLM49, STLM50 HCDR2

<400> 55

Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
1 5 10 15

Gln Gly

<210> 56

<211> 17

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> STLM51 HCDR2

<400> 56

Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 57

<211> 7

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> STLM48, STLM50 HCDR3

<400> 57

Leu Ser Gly Arg Phe Asp Tyr

1 5

<210> 58

<211> 7

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> STLM49 HCDR1

<400> 58

Ile Gly Gly Met Phe Asp Tyr

1 5

<210> 59

<211> 7

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> STLM51 HCDR3

<400> 59

Asp Thr Pro Gln Leu Asp Tyr

1 5

<210> 60

<211> 11

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> STLM48 LCDR1

<400> 60

Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Asp Ala Leu Ala

1 5 10

<210> 61

<211> 11

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> STLM49 LCDR1

<400> 61

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ala Asn Ala Leu Ala

1 5 10

<210> 62

<211> 11

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> STLM50 LCDR1

<400> 62

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Ala Leu Ala

1 5 10

<210> 63

<211> 11

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> STLM51 LCDR1

<400> 63

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 64

<211> 7

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> STLM48, STLM50 LCDR2

<400> 64

Phe Ala Ser Asn Arg Ala Thr

1 5

<210> 65

<211> 7

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> STLM49 LCDR2

<400> 65

Lys Ala Ser Asn Arg Ala Thr

1 5

<210> 66

<211> 7

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> STLM51 LCDR2

<400> 66

Tyr Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 67

<211> 9

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> STLM48 LCDR3

<400> 67

Gln Gln Phe Asn Thr Trp Pro Ile Thr
1 5

<210> 68

<211> 9

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> STLM49 LCDR3

<400> 68

Gln Gln Tyr Tyr Gly Trp Pro Ile Thr
1 5

<210> 69

<211> 9

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> STLM50 LCDR3

<400> 69

Gln Gln Phe Phe Asn Trp Pro Ile Thr
1 5

<210> 70

<211> 9

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> STLM51 LCDR3

<400> 70

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu Thr

1 5

<210> 71

<211> 116

<212> PRT

<213> Синтетическая полипептидная

<220>

<223> STLM48, STLM50 VH

<400> 71

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

1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

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

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 72

<211> 116

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> STLM49 VH

<400> 72

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

1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Ile Gly Gly Met Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 73

<211> 116

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<221> STLM51 VR

<490> 73

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Asp Thr Pro Gln Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 74

<211> 107

<212> PRT

<213> Онкорегиона неоплазмичес

<220>

<223> STLM48 VL

<400> 74

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

1

5

10

15

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

20

25

30

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

35

40

45

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

50

55

60

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

65

70

75

80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Thr Trp Pro Ile

85

90

95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100

105

<210> 75

<211> 107

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> STL49 VL

<400> 75

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ala Asn Ala
20 25 30

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

Tyr Lys Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Gly Trp Pro Ile
85 90 95

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

<210> 75

<211> 107

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> STLM50 VL

<400> 76

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Asp Trp
20 25 30

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

Tyr Lys Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Arg Ala Pro Trp
85 90 95

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

<210> 77

<211> 107

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> STLM51 VL

<400> 77

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

```

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

```

```

<210> 78
<211> 5
<212> PRT
<213> Синтетична послідовність

```

```

<220>
<223> ST2F6 HCDR1

```

```

<400> 78

```

```

Ser Tyr Ala Met Ser
1           5

```

```

<210> 79
<211> 5

```

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> ST2F4 HCDR1

<400> 79

Ser Tyr Trp Met His

1 5

<210> 80

<211> S

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> ST2F1 HCDR1

<400> 80

Ser Tyr Trp Ile Gly

1 5

<210> 81

<211> 17

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> ST2F6 HCDR2

<400> 81

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

1 5 10 15

Gly

<210> 82
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Синтетична послідовність

<220>
 <223> ST2F4 HCDR2

<400> 82

Gly Ile Ser Ser Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 83
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Синтетична послідовність

<220>
 <223> ST2F1 HCDR2

<400> 83

Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln
 1 5 10 15

Gly

<210> 84
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Синтетична послідовність

<220>

<223> ST2F6 HCDR3

<400> 84

Asp Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 85

<211> 12

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> ST2F4 HCDR3

<400> 85

Asp Gly Trp Gly Thr Val Tyr Phe Pro Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 86

<211> 12

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> ST2F1 HCDR3

<400> 86

Asp Thr Ala Asp Phe Arg Arg Trp Asp Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 87

<211> 11

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> ST2F6 LCDR1

<400> 87

Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Asp Ala Leu Ala
1 5 10

<210> 88

<211> 11

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> ST2F4 LCDR1

<400> 88

Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Asp Asp Leu Ala
1 5 10

<210> 89

<211> 17

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> ST2F1 LCDR1

<400> 89

Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15

Ala

<210> 90

<211> 7

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> ST2F6, ST2F4 LCDR2

<400> 90

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr

1 5

<210> 91

<211> 7

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> ST2F1 LCDR2

<400> 91

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser

1 5

<210> 92

<211> 9

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> ST2F6 LCDR3

<400> 92

Gln Gln Phe Tyr Asn Trp Pro Leu Thr

1 5

<210> 93

<211> 9

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> ST2F4 LCDR3

<400> 93

Gln Gln Tyr Ile His Ala Pro Leu Thr
1 5

<210> 94

<211> 9

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> ST2F1 LCDR3

<400> 94

Gln Gln Ser Asn Thr Tyr Pro Phe Thr
1 5

<210> 95

<211> 5

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> ST2H112, ST2H137 HCDR1

<400> 95

Phe Tyr Asp Met Phe

1 5

<210> 96

<211> 5

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> ST2H52 HCDR1

<400> 96

Asp Tyr Ala Met Phe

1 5

<210> 97

<211> 5

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> ST2H50, ST2H232, ST2H257, ST2H231 HCDR1

<400> 97

Ile Tyr Asp Met Ile

1 5

<210> 98

<211> 5

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> ST2H228 HCDR1

<400> 98

Ser Tyr Asp Met Ile

1 5

<210> 99

<211> 5

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> ST2H318 HCDR1

<400> 99

Asp Asp Ala Met Ile

1 5

<210> 100

<211> 5

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> ST2H316 HCDR1

<400> 100

Gly Tyr Ala Met Ile

1 5

<210> 101

<211> 5

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> ST2H314 HCDR1

<400> 101

Val Tyr Asp Met Ile

1 5

<210> 102

<211> 5

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> ST2H202 HCDR1

<400> 102

Phe Tyr Asp Met Ile

1 5

<210> 103

<211> 5

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність.

<220>

<223> ST2H179, ST2H172, ST2H173 HCDR1

<400> 103

Ser Tyr Asp Met Phe

1 5

<210> 104

<211> 5

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність.

<220>

<223> ST2H163 HCDR1

<400> 104

Val Tyr Asp Met Phe

1 5

<210> 105

<211> 5

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність.

<220>

<223> ST2H162 HCDR1

<400> 105

Val Asp Ser Met Phe

1 5

<210> 106

<211> 5

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> ST2H139 HCDR1

<400> 106

Gly Tyr Asp Met Phe

1 5

<210> 107

<211> 5

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> ST2H136 HCDR1

<400> 107

Ile Tyr Asp Met Phe

1 5

<210> 108

<211> 5

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> ST2H129 HCDR1

<400> 108

Ile Tyr Ser Met Phe

1 5

<210> 109

<211> 17

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> ST2H112 HCDR3

<400> 109

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

1 5 10 15

Gly

<210> 110

<211> 17

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> ST2H52 HCDR3

<400> 110

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

1 5 10 15

Gly

<210> 111

<211> 17

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> ST2H50 HCDR3

<400> 111

Thr	Ile	Lys	Gly	Glu	Gly	Gly	Gly	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys
1				5				10						15	

Gly

<210> 112

<211> 17

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> ST2H232 HCDR3

<400> 112

Thr	Ile	Arg	Gly	Glu	Gly	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys
1				5				10						15	

Gly

<210> 113

<211> 17

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> ST2H228 HCDR3

<400> 113

Thr Ile Arg Gly Glu Gly Gly Thr Thr Ala Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 114
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Синтетична послідовність
 <220>
 <223> ST2H257 HCDR3
 <400> 114

Ser Ile Arg Gly Glu Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 115
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Синтетична послідовність
 <220>
 <223> ST2H231 HCDR3
 <400> 115

Thr Ile Arg Gly Glu Gly Gly Gly Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 116
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Синтетична послідовність

<220>
 <223> ST2H318 HCDR3

<400> 116

Tyr Ile Gly Gly Asn Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 117
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Синтетична послідовність

<220>
 <223> ST2H316 HCDR3

<400> 117

Tyr Ile Glu Gly Glu Gly Gly Glu Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 118
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Синтетична послідовність

<220>

<223> ST2H314 HCDR3

<400> 118

Thr Ile Arg Gly Glu Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 119

<211> 311

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 119

Ala Lys Phe Ser Lys Gln Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu Ile
1 5 10 15

Val Arg Cys Pro Arg Gln Gly Lys Pro Ser Tyr Thr Val Asp Trp Tyr
20 25 30

Tyr Ser Gln Thr Asn Lys Ser Ile Pro Thr Gln Glu Arg Asn Arg Val
35 40 45

Phe Ala Ser Gly Gln Leu Leu Lys Phe Leu Pro Ala Glu Val Ala Asp
50 55 60

Ser Gly Ile Tyr Thr Cys Ile Val Arg Ser Pro Thr Phe Asn Arg Thr
65 70 75 80

Gly Tyr Ala Asn Val Thr Ile Tyr Lys Lys Gln Ser Asp Cys Asn Val
85 90 95

Pro Asp Tyr Leu Met Tyr Ser Thr Val Ser Gly Ser Glu Lys Asn Ser
100 105 110

Lys Ile Tyr Cys Pro Thr Ile Asp Leu Tyr Asn Trp Thr Ala Pro Leu
115 120 125

Glu Trp Phe Lys Asn Cys Gln Ala Leu Gln Gly Ser Arg Tyr Arg Ala
130 135 140

His Lys Ser Phe Leu Val Ile Asp Asn Val Met Thr Glu Asp Ala Gly
145 150 155 160

Asp Tyr Thr Cys Lys Phe Ile His Asn Glu Asn Gly Ala Asn Tyr Ser
165 170 175

Val Thr Ala Thr Arg Ser Phe Thr Val Lys Asp Glu Gln Gly Phe Ser
180 185 190

Leu Phe Pro Val Ile Gly Ala Pro Ala Gln Asn Glu Ile Lys Glu Val
195 200 205

Glu Ile Gly Lys Asn Ala Asn Leu Thr Cys Ser Ala Cys Phe Gly Lys
210 215 220

Gly Thr Gln Phe Leu Ala Ala Val Leu Trp Gln Leu Asn Gly Thr Lys
225 230 235 240

Ile Thr Asp Phe Gly Glu Pro Arg Ile Gln Gln Glu Glu Gly Gln Asn
245 250 255

Gln Ser Phe Ser Asn Gly Leu Ala Cys Leu Asp Met Val Leu Arg Ile
260 265 270

Ala Asp Val Lys Glu Glu Asp Leu Leu Leu Gln Tyr Asp Cys Leu Ala
275 280 285

Leu Asn Leu His Gly Leu Arg Arg His Thr Val Arg Leu Ser Arg Lys
290 295 300

Asn Pro Ser Lys Glu Cys Phe
305 310

<210> 120
<211> 17
<212> PRT
<213> Синтетична послідовність

<220>
<223> ST2H202 HCDR3

<400> 120

Thr Ile Arg Gly Glu Gly Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 121
<211> 17
<212> PRT
<213> Синтетична послідовність

<220>
<223> ST2H179 HCDR3

<400> 121

Asp Ile Lys Gly Glu Gly Gly Arg Thr Ala Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 122

<211> 17

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> ST2H172 HCDR3

<400> 122

Ala Ile Ala Gly Glu Gly Gly Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 123

<211> 17

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> ST2H173 HCDR3

<400> 123

Asp Ile Lys Gly Glu Gly Gly Ala Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 124

<211> 17
 <212> PRT
 <213> Синтетична послідовність

<220>
 <223> ST2H163 HCDR3

<400> 124

Asp Ile Lys Gly Glu Gly Gly Glu Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 125
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Синтетична послідовність

<220>
 <223> ST2H162 HCDR3

<400> 125

Ser Ile Glu Gly Asn Gly Gly Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 126
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Синтетична послідовність

<220>
 <223> ST2H139 HCDR3

<400> 126

Asp Ile Gly Gly Glu Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 127

<211> 17

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> ST2H137 HCDR3

<400> 127

Asp Ile Arg Gly Glu Gly Gly Gly Thr Ala Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 128

<211> 17

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> ST2H136 HCDR3

<400> 128

Tyr Ile Arg Gly Glu Gly Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 129
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Синтетична послідовність

<220>
 <223> ST2H129 HCDR3

<400> 129

Asp Ile Gly Gly Glu Gly Gly Gly Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 130
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Синтетична послідовність

<220>
 <223> ST2L32 LCDR1

<400> 130

Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Asp Asp Leu Ala
 1 5 10

<210> 131
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Синтетична послідовність

<220>
 <223> ST2L32 LCDR3

<400> 131

Gln Gln Tyr Ile Gly Ala Pro Ile Thr
1 5

<210> 132

<211> 9

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> ST2L35 LCDR3

<400> 132

Gln Gln Tyr Ile Asp Ala Pro Leu Thr
1 5

<210> 133

<211> 8

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> ST2L49 LCDR3

<400> 133

Gln Gln Tyr Asn Asp Ala Ile Thr
1 5

<210> 134

<211> 9

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> ST2L59 LCDR3

<400> 134

Gln Gln Tyr Ile Thr Ala Pro Leu Thr

1

5

<210> 135

<211> 106

<212> PRT

<213> Синтетична пептидоаминокислота

<220>

<223> VL2494-IGKV3-33*01 C18

<400> 135

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1

5

10

15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ile Thr Asn Thr Asp Ile Asp Asp Val

20

25

30

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

35

40

45

Tyr Glu Gly Asn Thr Leu Arg Pro Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50

55

60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65

70

75

80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Ser Asp Asn Met Leu Thr

85

90

95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100

105

<210> 136
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Синтетична послідовність

<220>
 <223> VL2494-IGKV1-27*01 A20

<400> 136

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ile Thr Asn Thr Asp Ile Asp Asp Val
 20 25 30

Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Glu Gly Asn Thr Leu Arg Pro Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

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

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 137
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Синтетична послідовність

<220>

<223> VL2494-IGKV1-39*01012

<400> 137

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ile Thr Asn Thr Asp Ile Asp Asp Val
20 25 30

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

Tyr Glu Gly Asn Thr Leu Arg Pro Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 138

<211> 106

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> VL2494-IGKV1-12*01 L5

<400> 138

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ile Thr Asn Thr Asp Ile Asp Asp Val
20 25 30

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

Tyr Glu Gly Asn Thr Leu Arg Pro Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 139

<211> 106

<212> PRT

<213> СИНТЕТИЧНА ПОСЛІДОВНІСТЬ

<220>

<223> VL2494-IGKV1-5*01 L12

<400> 139

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ile Thr Asn Thr Asp Ile Asp Asp Val

```

                20                25                30

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

Tyr Glu Gly Asn Thr Leu Arg Pro Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
      50                55                60

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

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Ser Asp Asn Met Leu Thr
      85                90                95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
      100                105

<210> 140
<211> 106
<212> PRT
<213> Синтетична послідовність

<220>
<223> VL2494-IGKV1-9*01 L8

<400> 140

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1                5                10                15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ile Thr Asn Thr Asp Ile Asp Asp Val
      20                25                30

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

```

Tyr Glu Gly Asn Thr Leu Arg Pro Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 141

<211> 106

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> VL2494-IGKV3-15*01 L2

<400> 141

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Ile Thr Asn Thr Asp Ile Asp Asp Val
20 25 30

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

Tyr Glu Gly Asn Thr Leu Arg Pro Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
65 70 75 80

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

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 142

<211> 106

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> VL2494-IGKV1-39*01_012b

<400> 142

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ile Thr Asn Thr Asp Ile Asp Asp Val
20 25 30

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

Tyr Glu Gly Asn Thr Leu Arg Pro Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Ser Asp Asn Leu Leu Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 143

<211> 117

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> VR2494-IGHV1-f*01

<400> 143

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Ala Phe Asn Ile Lys Asp Asp
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Gln Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Ala Ile Gly Asn Thr Glu Tyr Ala Glu Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Thr Gly Asp Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Glu Gly Thr Leu

100

105

110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 144

<211> 117

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> VH2494-IGHV1-24*01

<400> 144

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

1

5

10

15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Ser Ala Phe Asn Ile Lys Asp Asp

20

25

30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met

35

40

45

Gly Arg Ile Asp Pro Ala Ile Gly Asn Thr Glu Tyr Ala Pro Lys Phe

50

55

60

Gln Asp Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr

65

70

75

80

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

85

90

95

Ala Thr Gly Asp Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100

105

110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 145

<211> 117

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> VM STER201

<400> 145

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

1

5

10

15

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Ala Phe Asn Ile Lys Asp Asp

20

25

30

Tyr Met His Trp Val Gln Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met

35

40

45

Gly Arg Ile Asp Pro Ala Ile Gly Asn Thr Glu Tyr Ala Glu Lys Phe

50

55

60

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

65

70

75

80

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

85

90

95

Ala Thr Gly Asp Phe Tyr Ala Met Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100

105

110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 146

<211> 8

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> HCDR3 of STLM226-STLM232

<400> 146

Gly Asp Phe Tyr Ala Met Ala Tyr

1 5

<210> 147

<211> 8

<212> PRT

<213> Синтетична послідовність

<220>

<223> STLM266 VL

<400> 147

Leu Gln Ser Asp Asn Leu Leu Thr

1 5

<210> 148

<211> 109

<212> PRT

<213> Синтетична

<220>

<223> IGHV1-24*01 каркас

<400> 148

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Leu Thr Glu Leu
20 25 30

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

Gly Gly Phe Asp Pro Glu Asp Gly Glu Thr Ile Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Thr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
100 105

<210> 149

<211> 109

<212> PRT

<213> CИHTETИPBA

<220>

<223> IGHV1-f*01 καρκα

<400> 149

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

20 25 30
 Tyr Met His Trp Val Gln Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Leu Val Asp Pro Glu Asp Gly Glu Thr Ile Tyr Ala Glu Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Thr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 100 105
 <210> 150
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> СИНТЕТИЧЕС.
 <220>
 <223> IGKV3-15*01 L2 «архив»
 <400> 150
 Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Gln Ile Lys
100 105

<210> 151

<211> 106

<212> PRT

<213> CCHCTGFWKKS

<220>

<223> IGKVL-9*01 L8 KAPKAC

<400> 151

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Leu Asn Ser Tyr Pro Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 152

<211> 106

<212> PRT

<213> Синтетична

<220>

<223> IGKV1-5*01 L12

<400> 152

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp
20 25 30

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

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 153

<211> 106

<212> PRT

<213> Синтетична

<220>

<223> IGKV1-12*01 L5

<400> 153

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30

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

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100

105

<210> 154

<211> 106

<212> PRT

<213> CMTTETWNA

<220>

<223> IGKV1-39*01 012

<400> 154

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 155

<211> 106

<212> PRT

<213> Синтетична

<220>

<223> IGKV1-27*01 A20

<400> 155

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

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

Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Lys Tyr Asn Ser Ala Pro Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 156

<211> 106

<212> PRT

<213> Синтетична

<220>

<223> IGKV1-33*01 O18

<400> 156

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

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

Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 157

<211> 328

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 157

Met Gly Phe Trp Ile Leu Ala Ile Leu Thr Ile Leu Met Tyr Ser Thr
1 5 10 15

Ala Ala Lys Phe Ser Lys Gln Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu

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

Ser Val Thr Ala Thr Arg Ser Phe Thr Val Lys Asp Glu Gln Gly Phe
195 200 205

Ser Leu Phe Pro Val Ile Gly Ala Pro Ala Gln Asn Glu Ile Lys Glu
210 215 220

Val Glu Ile Gly Lys Asn Ala Asn Leu Thr Cys Ser Ala Cys Phe Gly
225 230 235 240

Lys Gly Thr Gln Phe Leu Ala Ala Val Leu Trp Gln Leu Asn Gly Thr
245 250 255

Lys Ile Thr Asp Phe Gly Glu Pro Arg Ile Gln Gln Glu Glu Gly Gln
260 265 270

Asn Gln Ser Phe Ser Asn Gly Leu Ala Cys Leu Asp Met Val Leu Arg
275 280 285

Ile Ala Asp Val Lys Glu Glu Asp Leu Leu Leu Gln Tyr Asp Cys Leu
290 295 300

Ala Leu Asn Leu His Gly Leu Arg Arg His Thr Val Arg Leu Ser Arg
305 310 315 320

Lys Asn Pro Ser Lys Glu Cys Phe
325

<210> 158

<211> 109

<212> PRT

<213> Синтетична

<220>

<223> VH 3-23 карнас

<400> 158

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser 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 Lys Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
100 105

<210> 159

<211> 106

<212> PRT

<213> Cdkreemasa

<220>

<223> Vx L6 napko (IGKV3-11)

<400> 159

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

Gln Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Thr
85 90 95

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

<210> 160

<211> 5

<212> PRT

<213> Синтетична

<220>

<223> HCDRI. консенсусний

<220>

<221> Xaa1

<222> (1) .. (1)

<223> Xaa1 @ S, F, D, I, G a60 V

<220>

<221> Xaa2

<222> (2) .. (2)

<223> Xaa2 є Y або D

<220>

<221> Xaa3

<222> (3) .. (3)

<223> Xaa3 є A, D або S

<220>

<221> Xaa4

<222> (5) .. (5)

<223> Xaa4 є S, F або I

<400> 160

Xaa Xaa Xaa Met Xaa

1 S

<210> 161

<211> 17

<212> PRT

<213> Синтетична

<220>

<223> HCDR2 консенсуєний

<220>

<221> Xaa1

<222> (1) .. (1)

<223> Xaa1 є A, S, T, Y або D

<220>

<221> Xaa2

<222> (3) .. (3)

<223> Xaa2 є S, R, E, K, G або A

<220>

<221> Xaa3

<222> (5) .. (5)

<223> Xaa3 є S, E або N

<220>

<221> Xaa4
 <222> (8)..(8)
 <223> Xaa4 e S, R, E, G, T, D aSo A

<220>
 <221> Xaa5
 <222> (10)..(10)
 <223> Xaa5 e Y, D, N, A aSo S

<400> 161

Xaa Ile Xaa Gly Xaa Gly Gly Xaa Thr Xaa Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 162
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Синтетична

<220>
 <223> HCDR3 консенсусний

<220>
 <221> Xaa1
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa1 e D, A, R, N, Q, P, E, I, H, S, T aSo Y

<220>
 <221> Xaa2
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa2 e F, A, H, Y, E, Q, L, S, N, T, V aSo I

<400> 162

Xaa Xaa Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr
 1 5 10

<210> 163
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Синтетична
 <220>
 <223> LCDR1 консенсусний

<220>
 <221> Xaa1
 <222> (9) .. (9)
 <223> Xaa1 є A або D

<400> 163

Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Asp Xaa Leu Ala
 1 5 10

<210> 164
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Синтетична
 <220>
 <223> LCDR3 консенсусний

<220>
 <221> Xaa1
 <222> (3) .. (3)
 <223> Xaa1 є F або Y

<220>
 <221> Xaa2
 <222> (4) .. (4)
 <223> Xaa2 є Y, I або N

<220>
 <221> Xaa3
 <222> (5) .. (5)

<223> Xaa3 e N, G, D або T

<220>

<221> Xaa4

<222> (6) ... (6)

<223> Xaa4 e W або A

<220>

<221> Xaa5

<222> (7) ... (7)

<223> Xaa5 e P або видалено

<220>

<221> Xaa6

<222> (8) ... (8)

<223> Xaa6 e L або I

<400> 164

Gln Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Thr

1 5

<210> 165

<211> 14

<212> PRT

<213> Синтетична

<220>

<223> STLH255 HCDR3

<400> 165

Ala Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 166

<211> 14

<212> PRT

<213> Синтетична

<220>

<223> STLH256 HCDR3

<400> 166

Arg Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 167

<211> 14

<212> PRT

<213> Синтетична

<220>

<223> STLH257 HCDR3

<400> 167

Asn Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 168

<211> 14

<212> PRT

<213> Синтетична

<220>

<223> STLH258 HCDR3

<400> 168

Gln Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 169

<211> 14

<212> PRT

<213> Синтетична

<220>

<223> STLH259 HCDR3

<400> 169

Glu Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 170

<211> 14

<212> PRT

<213> Синтетична

<220>

<223> STLH260 HCDR3

<400> 170

Ile Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 171

<211> 14

<212> PRT

<213> Синтетична

<220>

<223> STLH261 HCDR3

<400> 171

His Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 172

<211> 14

<212> PRT

<213> Синтетична

<220>

<223> STLH262 HCDR3

<400> 172

Ser Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 173

<211> 14

<212> PRT

<213> Синтетична

<220>

<223> STLH263 HCDR3

<400> 173

Thr Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 174

<211> 14

<212> PRT

<213> Синтетична

<220>

<223> STLH264 HCDR3

<400> 174

Tyr Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 175

<211> 14

<212> PRT

<213> Синтетична

<220>

<223> STLH265 HCDR3

<400> 175

Asp Ala Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr
 1 5 10

<210> 176
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Синтетична

<220>
 <223> STLH266 HCDR3

<400> 176

Asp His Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr
 1 5 10

<210> 177
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Синтетична

<220>
 <223> STLH267 HCDR3

<400> 177

Asp Tyr Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr
 1 5 10

<210> 178
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Синтетична

<220>
 <223> STLH268 HCDR3

<400> 178

Asp Glu Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 179

<211> 14

<212> PRT

<213> CMTCTCTGGA

<220>

<223> STLH269 HCDR3

<400> 179

Asp Gln Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 180

<211> 14

<212> PRT

<213> CMTCTCTGGA

<220>

<223> STLH270 HCDR3

<400> 180

Asp Leu Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 181

<211> 14

<212> PRT

<213> CMTCTCTGGA

<220>

<223> STLH271 HCDR3

<400> 181

Asp Ser Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 182
<211> 14
<212> PRT
<213> Синтетична

<220>
<223> STLH272 HCDR3

<400> 182

Asp Asn Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 183
<211> 14
<212> PRT
<213> Синтетична

<220>
<223> STLH273 HCDR3

<400> 183

Asp Thr Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 184
<211> 14
<212> PRT
<213> Синтетична

<220>
<223> STLH274 HCDR3

<400> 184

Asp Val Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 185

<211> 14

<212> PRT

<213> Синтетична

<220>

<223> STLH275 HCDR3

<400> 185

Asp Ile Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 186

<211> 123

<212> PRT

<213> Синтетична

<220>

<223> ST2H52

<400> 186

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

1 5 10 15

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

50 55 60

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

65	70	75	80
Leu Gln Met Asn Ser	Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
85	90	95	
Ala Arg Asp Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr			
100	105	110	
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser			
115	120		
<210> 187			
<211> 123			
<212> PRT			
<213> Синтетична			
<220>			
<223> ST2H50			
<400> 187			
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly			
1	5	10	15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ile Tyr			
20	25	30	
Asp Met Ile Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			
35	40	45	
Ser Thr Ile Lys Gly Glu Gly Gly Gly 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 Asp Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr
100 105 110

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

<210> 188

<211> 123

<212> PRT

<213> CRRGRTGRRH

<220>

<223> ST2H318

<400> 188

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

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

Ser Tyr Ile Gly Gly Asn Gly Gly Thr 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 Asp Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr
100 105 110

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

<210> 189

<211> 123

<212> PRT

<213> СИНТЕТИЧЕСКАЯ

<220>

<223> ST2H316

<400> 189

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

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

Ser Tyr Ile Glu Gly Glu Gly Gly Glu 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 Asp Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr
100 105 110

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

<210> 190

<211> 123

<212> PRT

<213> Синтетическая

<220>

<223> ST2H314

<400> 190

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

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

Ser Thr Ile Arg Gly Glu Gly Gly Gly 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 Asp Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr			
	100	105	110
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser			
	115	120	
<210>	191		
<211>	123		
<212>	PRT		
<213>	Смещение		
<220>			
<223>	ST2H257		
<400>	191		
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly			
1	5	10	15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ile Tyr			
	20	25	30
Asp Met Ile Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			
	35	40	45
Ser Ser Ile Arg Gly Glu Gly Gly Gly 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
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
	85	90	95

Ala Arg Asp Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr
 100 105 110

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

<210> 192

<211> 123

<212> PRT

<213> Синтетическая

<220>

<223> ST2H232

<400> 192

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

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

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

Ser Thr Ile Arg Gly Glu 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 Asp Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr
 100 105 110

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

<210> 193
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> СИНТЕТИКА

<220>
 <223> ST2H231

<400> 193

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

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

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

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

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

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

Ala Arg Asp Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr
100 105 110

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

<210> 194

<211> 123

<212> PRT

<213> Синтетична

<220>

<223> ST2H228

<400> 194

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

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

Ala Arg Asp Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr

100 105 110

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

<210> 195
<211> 123
<212> PRT
<213> Синтетична

<220>
<223> ST2H202

<400> 135

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

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

<210> 196

<211> 123

<212> PRT

<213> Синтетична

<220>

<223> ST2H179

<400> 196

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

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

Ser Asp Ile Lys Gly Glu Gly Gly Arg Thr Ala Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Asp Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr
100 105 110

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

<210> 197

<211> 123

<212> PRT

<213> Сиктетична

<220>

<223> ST2H173

<400> 197

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

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

Ser Asp Ile Lys Gly Glu Gly Gly Ala Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Asp Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr
100 105 110

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

<210> 198

<211> 123

<212> PRT

<213> Синтетична

<220>

<223> ST2H172

<400> 198

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

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

Ser Ala Ile Ala Gly Glu Gly Gly Arg 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 Asp Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 199

<211> 123

<212> PRT

<213> Синтетична

<220>

<223> ST2H163

<400> 199

Glu Val Gln Leu Leu 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 Val Tyr
20 25 30

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

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

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

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

Ala Arg Asp Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr
100 105 110

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

<210> 200

<211> 123

<212> PRT

<213> СМНТЕРИЧНА

<220>

<223> ST2H162

<400> 200

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Val Asp
20 25 30

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

Ser Ser Ile Glu Gly Asn Gly Gly Ala 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 Asp Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr
100 105 110

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

<210> 201

<211> 123

<212> PRT

<213> Синтетическая

<220>

<223> ST2H139

<400> 201

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

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

Ala Arg Asp Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr
100 105 110

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

<210> 202
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> Синтетична

<220>
 <223> ST2H137

<400> 202

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

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

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

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

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

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

Ala Arg Asp Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr
 100 105 110

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

<210> 203

<211> 123

<212> PRT

<213> Синтетическая

<220>

<223> ST2H136

<400> 203

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

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

Ser Tyr Ile Arg Gly Glu Gly Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Asp Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr
100 105 110

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

<210> 204

<211> 123

<212> PRT

<213> CMSTETKURA

<220>

<223> ST2H129

<400> 204

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

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

Ala Arg Asp Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr
100 105 110

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

<210> 205

<211> 123

<212> PRT

<213> Синтетическая

<220>

<223> ST2H112

<400> 205

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

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

Ala Arg Asp Pro Trp Ser Thr Glu Gly Ser Phe Phe Val Leu Asp Tyr
100 105 110

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

<210> 206

<211> 107

<212> PRT

<213> Синтетическая

<220>

<223> ST2L32

<400> 206

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Asp Asp
20 25 30

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ile Gly Ala Pro Ile
85 90 95

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

<210> 207

<211> 107

<212> PRT

<213> CYNSTYDHA

<220>

<223> ST2L35

<400> 207

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Asp Asp
20 25 30

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ile Asp Ala Pro Leu
85 90 95

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

<210> 208

<211> 106

<212> PRT

<213> Синтетическая

<220>

<223> ST2L49

<400> 208

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Asp Asp
20 25 30

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asp Ala Ile Thr
85 90 95

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

<210> 209

<211> 107

<212> PRT

<213> Системна

<220>

<223> ST2L59

<400> 209

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Asp Asp
20 25 30

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

35

40

45

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

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ile Thr Ala Pro Leu
85 90 95

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

<210> 210

<211> 14

<212> FRT

<213> Синтетична

<220>

<223> ST2L enlon

<400> 210

Arg Cys Pro Arg Gln Gly Lys Pro Ser Tyr Thr Val Asp Trp
1 5 10

<210> 211

<211> 369

<212> DNA

<213> Синтетична

<220>

<223> КДНК VH для STL208

<400> 211

gaggtgcagc tgctggagag cggcggcggc ctggtgcagc ccggcggcag cctgcgcctg 60

```

agctgcgcgc ccagcggcct cacccttcagc atctacgaca tgatctgggt gcgccaggcc 120
cccggaagg gcttgagtg ggtcagcagc atccggcgcg agggcgcgcg cactactac 180
gcgcacagcg tgaaggcccg cttcaccatc agcgcgcaca acagcaagaa caccctgtac 240
ctgcagatga acagcctgcg cgcgcaggac accgcctgt actactgcgc ccgcgacccc 300
tggagcaccg agggcagctt cttcgtgctg gactactggg gccagggcac cctggtgacc 360
gtgagcagc 369

```

<210> 212
 <211> 321
 <212> DNA
 <213> Синтетична.

<220>
 <223> КДНК VL для STLM208

```

<400> 212
gagatcgtgc tgaccagag ccccgccacc ctgagcctga gcccgcgcga gcgcgccacc 60
ctgagctgcc gcgcagcca gagcgtggac gacgacctgg cctggtacca gcagaagccc 120
ggccaggccc cccgcctgct gatctacgac gccagcaacc gcgcacccgg catccccgcc 180
cgcttcagcg gcagcggcag cggcaccgac ttcacctga ccatcagcag cctggagccc 240
gaggacttcg ccgtgtacta ctgcacgag tacatcaccg ccccccctgac cttcggccag 300
ggcaccaagg tggagatcaa g 321

```

<210> 213
 <211> 351
 <212> DNA
 <213> Синтетична

<220>
 <223> КДНК VH для c2244

<400> 213

gagggtgcagc ttcaggagtc aggacctggc ctggtgaaac cttctcagtc tctgtccctc 60
acctgcactg tcactggctt ctcaatcacc agtgattatg cctggaaactg gatccggcag 120
tttcaggaa gcaagctaga gtggatgggc ttcataagct acagtgggtga cactagcttc 180
aacccatctc tcaaaagtgc aatctctgtc actcgagaca catccaagaa ccagttcttc 240
ctgcagttga attctgtgac tactgaggac acagccacat attactgtgc aagttatgat 300
ggttactcat ttgactactg gggccaaggc actactctca cagtctcttc a 351

<210> 214

<211> 333

<212> DNA

<213> Синтетична

<220>

<221> «ДНК VL для C2244

<400> 214

gacattgtgc tgadccaatc tccagcttcc ttagctatat ctctggggca gagggccacc 60
atctcatgca gggccagcaa aagtgtcagt acatctggct ctagttatat gttctggtac 120
caacagaaac caggacagcc acccaactc ctcatctatc ttgcattcaa cctagaatct 180
ggggtccctg ccaggttcag tggcagtggg tctgggacag acttcacct caacatacat 240
cctgtggagg aggaggatgc tgcagcctat tactgtcaac acagtaggga gattccgtac 300
acgttcggag gggggaccaaa gctggaaata aaa 333

<210> 215

<211> 266

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 215

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

Lys Lys Leu Met Val Asn Met Ser Pro Ile Lys Asp Thr Asp Ile Trp
 180 185 190

Leu His Ala Asn Asp Lys Asp Tyr Ser Val Glu Leu Gln Arg Gly Asp
 195 200 205

Val Ser Pro Pro Glu Gln Ala Phe Phe Val Leu His Lys Lys Ser Ser
 210 215 220

Asp Phe Val Ser Phe Glu Cys Lys Asn Leu Pro Gly Thr Tyr Ile Gly
 225 230 235 240

Val Lys Asp Asn Gln Leu Ala Leu Val Glu Glu Lys Asp Glu Ser Cys
 245 250 255

Asn Asn Ile Met Phe Lys Leu Ser Lys Ile
 260 265

5

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

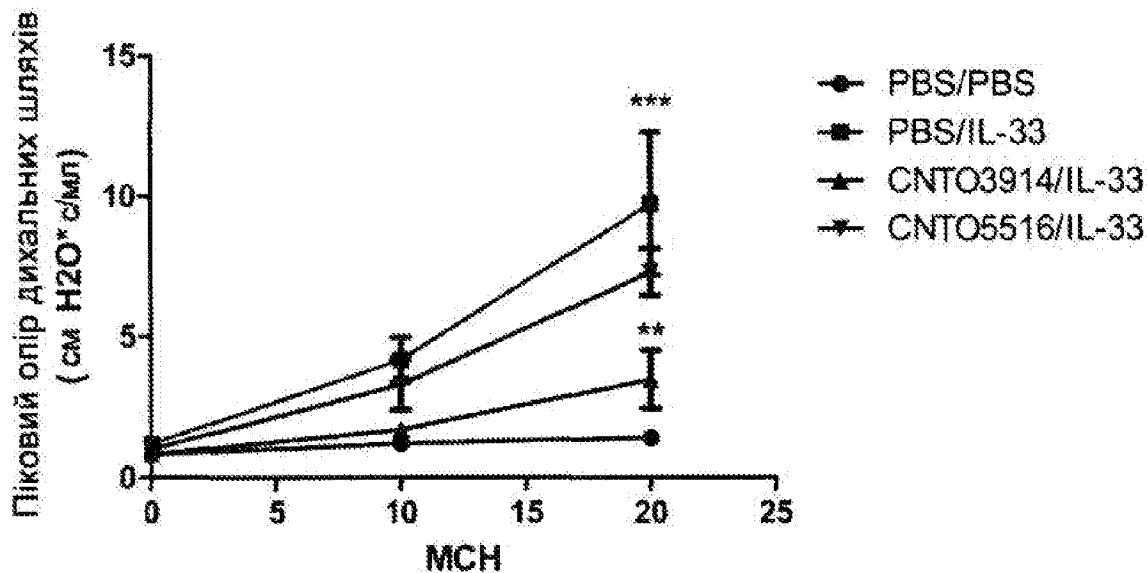
1. Виділене людське або адаптоване до людини антитіло або його фрагмент, що специфічно зв'язується з доменом I (SEQ ID NO: 9) людського ST2L, які містять ділянку, яка визначає комплементарність, важкого ланцюга (HCDR) 1 (HCDR1), HCDR 2 (HCDR2), HCDR 3 (HCDR3), ділянку, яка визначає комплементарність, легкого ланцюга (LCDR) 1 (LCDR1), LCDR 2 (LCDR2) і LCDR 3 (LCDR3), де HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 і LCDR3 містять:
- SEQ ID NO: 78, 81, 84, 87, 90 і 92 відповідно;
 - SEQ ID NO: 78, 81, 84, 130, 90 і 131 відповідно;
 - SEQ ID NO: 78, 81, 84, 130, 90 і 132 відповідно;
 - SEQ ID NO: 78, 81, 84, 130, 90 і 133 відповідно;
 - SEQ ID NO: 78, 81, 84, 130, 90 і 134 відповідно;
 - SEQ ID NO: 95, 109, 84, 130, 90 і 131 відповідно;
 - SEQ ID NO: 96, 110, 84, 130, 90 і 131 відповідно;
 - SEQ ID NO: 97, 111, 84, 130, 90 і 131 відповідно;
 - SEQ ID NO: 96, 110, 84, 130, 90 і 134 відповідно;
 - SEQ ID NO: 97, 111, 84, 130, 90 і 134 відповідно;
 - SEQ ID NO: 97, 112, 84, 130, 90 і 134 відповідно;
 - SEQ ID NO: 98, 113, 84, 130, 90 і 134 відповідно;
 - SEQ ID NO: 97, 114, 84, 130, 90 і 134 відповідно;
 - SEQ ID NO: 97, 115, 84, 130, 90 і 134 відповідно;
 - SEQ ID NO: 99, 116, 84, 130, 90 і 133 відповідно;
 - SEQ ID NO: 100, 117, 84, 130, 90 і 133 відповідно;
 - SEQ ID NO: 101, 118, 84, 130, 90 і 133 відповідно;
 - SEQ ID NO: 102, 120, 84, 130, 90 і 132 відповідно;

- s) SEQ ID NO: 103, 121, 84, 130, 90 і 132 відповідно;
 t) SEQ ID NO: 103, 122, 84, 130, 90 і 131 відповідно;
 u) SEQ ID NO: 103, 123, 84, 130, 90 і 131 відповідно;
 v) SEQ ID NO: 104, 124, 84, 130, 90 і 131 відповідно;
 5 w) SEQ ID NO: 105, 125, 84, 130, 90 і 131 відповідно;
 x) SEQ ID NO: 106, 126, 84, 130, 90 і 131 відповідно;
 y) SEQ ID NO: 95, 127, 84, 130, 90 і 131 відповідно;
 z) SEQ ID NO: 107, 128, 84, 130, 90 і 131 відповідно;
 aa) SEQ ID NO: 108, 129, 84, 130, 90 і 131 відповідно;
 10 bb) SEQ ID NO: 97, 114, 165, 130, 90 і 134 відповідно;
 cc) SEQ ID NO: 97, 114, 166, 130, 90 і 134 відповідно;
 dd) SEQ ID NO: 97, 114, 167, 130, 90 і 134 відповідно;
 ee) SEQ ID NO: 97, 114, 168, 130, 90 і 134 відповідно;
 ff) SEQ ID NO: 97, 114, 169, 130, 90 і 134 відповідно;
 15 gg) SEQ ID NO: 97, 114, 170, 130, 90 і 134 відповідно;
 hh) SEQ ID NO: 97, 114, 171, 130, 90 і 134 відповідно;
 ii) SEQ ID NO: 97, 114, 172, 130, 90 і 134 відповідно;
 jj) SEQ ID NO: 97, 114, 173, 130, 90 і 134 відповідно;
 kk) SEQ ID NO: 97, 114, 174, 130, 90 і 134 відповідно;
 20 ll) SEQ ID NO: 97, 114, 175, 130, 90 і 134 відповідно;
 mm) SEQ ID NO: 97, 114, 176, 130, 90 і 134 відповідно;
 nn) SEQ ID NO: 97, 114, 177, 130, 90 і 134 відповідно;
 oo) SEQ ID NO: 97, 114, 178, 130, 90 і 134 відповідно;
 pp) SEQ ID NO: 97, 114, 179, 130, 90 і 134 відповідно;
 25 qq) SEQ ID NO: 97, 114, 180, 130, 90 і 134 відповідно;
 rr) SEQ ID NO: 97, 114, 181, 130, 90 і 134 відповідно;
 ss) SEQ ID NO: 97, 114, 182, 130, 90 і 134 відповідно;
 tt) SEQ ID NO: 97, 114, 183, 130, 90 і 134 відповідно;
 uu) SEQ ID NO: 97, 114, 184, 130, 90 і 134 відповідно;
 30 vv) SEQ ID NO: 97, 114, 185, 130, 90 і 134 відповідно;
 ww) SEQ ID NO: 23, 27, 31, 35, 39 і 43 відповідно;
 xx) SEQ ID NO: 24, 28, 32, 36, 40 і 44 відповідно;
 yy) SEQ ID NO: 24, 28, 146, 36, 40 і 147 відповідно або
 zz) SEQ ID NO: 24, 28, 146, 36, 40 і 44 відповідно.
 35 2. Виділене антитіло за п. 1, де HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR1 і LCDR3 містять SEQ ID NO: 97, 114, 84, 130, 90 і 134 відповідно.
 3. Виділене антитіло за п. 1 або 2, яке містить варіабельну ділянку важкого ланцюга (VH) і варіабельну ділянку легкого ланцюга (VL), де:
 40 а) VH містить каркас VH, отриманий з людської каркасної послідовності IGHV3-23 (SEQ ID NO: 158), IGHV1-24*01 (SEQ ID NO: 148) або IGHV1-f*01 (SEQ ID NO: 149) і
 б) VL містить каркас VL, отриманий з людської каркасної послідовності IGKV3-11 (L6) (SEQ ID NO: 159), IGKV3-15*01 (L2) (SEQ ID NO: 150), IGKV1-9*01 (L8) (SEQ ID NO: 151), IGKV1-5*01 (L12) (SEQ ID NO: 152), IGKV1-12*01 (L5) (SEQ ID NO: 153), IGKV1-39*01 (O12) (SEQ ID NO: 154), IGKV1-27*01 (A20) (SEQ ID NO: 155) або IGKV1-33*01 (O18) (SEQ ID NO: 156).
 45 4. Виділене антитіло за п. 3, де:
 а) каркас VH отримують з IGHV3-23 (SEQ ID NO: 158) людини і
 б) каркас VL отримують з IGKV3-11 (L6) (SEQ ID NO: 159) людини.
 5. Виділене антитіло за п. 3 або 4, де VH і VL містять:
 50 а) SEQ ID NO: 186 і SEQ ID NO: 206 відповідно;
 б) SEQ ID NO: 187 і SEQ ID NO: 206 відповідно;
 в) SEQ ID NO: 197 і SEQ ID NO: 206 відповідно;
 г) SEQ ID NO: 198 і SEQ ID NO: 206 відповідно;
 55 д) SEQ ID NO: 199 і SEQ ID NO: 206 відповідно;
 е) SEQ ID NO: 200 і SEQ ID NO: 206 відповідно;
 в) SEQ ID NO: 201 і SEQ ID NO: 206 відповідно;
 г) SEQ ID NO: 202 і SEQ ID NO: 206 відповідно;
 д) SEQ ID NO: 203 і SEQ ID NO: 206 відповідно;
 е) SEQ ID NO: 204 і SEQ ID NO: 206 відповідно;
 60 ж) SEQ ID NO: 205 і SEQ ID NO: 206 відповідно;
 з) SEQ ID NO: 195 і SEQ ID NO: 207 відповідно;

- m) SEQ ID NO: 196 і SEQ ID NO: 207 відповідно;
 n) SEQ ID NO: 188 і SEQ ID NO: 208 відповідно;
 o) SEQ ID NO: 189 і SEQ ID NO: 208 відповідно;
 p) SEQ ID NO: 190 і SEQ ID NO: 208 відповідно;
 5 q) SEQ ID NO: 187 і SEQ ID NO: 209 відповідно;
 r) SEQ ID NO: 191 і SEQ ID NO: 209 відповідно;
 s) SEQ ID NO: 192 і SEQ ID NO: 209 відповідно;
 t) SEQ ID NO: 193 і SEQ ID NO: 209 відповідно або
 u) SEQ ID NO: 194 і SEQ ID NO: 209 відповідно.
- 10 6. Виділене антитіло за п. 5, де VH і VL містять SEQ ID NO: 191 і SEQ ID NO: 209, відповідно.
 7. Виділене антитіло за будь-яким з пп. 1-6, де виділене антитіло стосується типу IgG1, IgG2, IgG3 або IgG4.
 8. Виділене антитіло за п. 7, де Fc-ділянка виділеного антитіла містить заміну.
 9. Виділене антитіло за п. 8, в якому заміна містить M252Y/S254T/T256E, V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S або S228P/L234A/L235A, де нумерація залишків відповідає прийнятій в ЄС нумерації.
- 15 10. Виділене антитіло за будь-яким з пп. 1-9, де виділене антитіло блокує взаємодію IL-33/ST2L.
 11. Виділене антитіло за будь-яким з пп. 1-10, де виділене антитіло має константу дисоціації ($K_{дис}$) з людським ST2L від приблизно 5×10^{-12} М до приблизно 7×10^{-10} М, константу швидкості асоціації ($K_{ас}$) з людським ST2L від приблизно 2×10^6 М⁻¹ с⁻¹ до приблизно 1×10^8 М⁻¹ с⁻¹, або константу швидкості дисоціації ($K_{дис}$) з людським ST2L від приблизно 1×10^{-6} с⁻¹ приблизно 1×10^{-2} с⁻¹.
- 20 12. Виділене антитіло за будь-яким з пп. 1-11, де виділене антитіло має константу дисоціації ($K_{дис}$) з ST2L *Macaca fascicularis* (яванської макаки) (SEQ ID NO: 2) від приблизно 3×10^{-12} М до приблизно 2×10^{-9} М, константу швидкості асоціації ($K_{ас}$) з ST2L яванської макаки від приблизно 4×10^6 М⁻¹ с⁻¹ до приблизно 1×10^8 М⁻¹ с⁻¹, або константу швидкості дисоціації ($K_{дис}$) з ST2L яванської макаки від приблизно 7×10^{-5} с⁻¹ до 1×10^{-1} с⁻¹.
- 25 13. Виділений полінуклеотид, який кодує виділене антитіло за будь-яким з пп. 1-12.
 14. Вектор, що містить виділений полінуклеотид за п. 13.
- 30 15. Клітина-хазяїн, що містить вектор за п. 14.
 16. Спосіб отримання антитіла, який включає культивування клітини-хазяїна за п. 15 і виділення антитіла з клітини-хазяїна.
 17. Фармацевтична композиція, що містить виділене антитіло за будь-яким з пп. 1-12 і фармацевтично прийнятний носій.
- 35 18. Спосіб лікування або запобігання ST2L-опосередкованому захворюванню, що включає введення терапевтично ефективної кількості виділеного антитіла за будь-яким з пп. 1-12 або фармацевтичної композиції за п. 17 пацієнту, який потребує лікування, протягом періоду часу, достатнього для лікування або запобігання ST2L-опосередкованому захворюванню.
 19. Спосіб за п. 18, в якому ST2L-опосередковане захворювання являє собою астму, гіперреактивність дихальних шляхів, саркоїдоз, хронічне обструктивне легеневе захворювання (COPD), ідіопатичний легеневий фіброз (IPF), муковісцидоз, запальне захворювання кишечника (ЗЗК), еозинофільний езофагіт, склеродерму, atopічний дерматит, алергійний риніт, бульозний пемфігоїд, хронічну кропивницю, діабетичну нефропатію, ревматоїдний артрит, інтерстиціальний цистит або реакцію "трансплантат проти хазяїна" (GVHD) або пов'язане з рекрутингом запальних клітин в легені, гіперплазією келихоподібних клітин, збільшеною секрецією слизу або відповіддю мастоцитів.
- 40 20. Спосіб інгібування відповіді мастоцитів у пацієнта, що включає введення терапевтично ефективної кількості виділеного антитіла за будь-яким з пп. 1-12 або фармацевтичної композиції за п. 17 пацієнту, який потребує лікування, протягом періоду часу, достатнього для інгібування відповіді мастоцитів.
- 45 21. Спосіб за п. 20, в якому інгібування відповіді мастоцитів включає інгібування рівня вивільнення GM-CSF, IL-5, IL-8, IL-10 або IL-13 мастоцитами пуповинної крові людини щонайменше на 50 % антитілом в концентрації 50 мкг/мл.
 22. Спосіб інгібування у суб'єкта взаємодії IL-33 і ST2L, що включає введення суб'єкту виділеного антитіла за будь-яким з пп. 1-12 і фармацевтичної композиції за п. 17 в кількості, достатній для інгібування взаємодії IL-33 і ST2L.
- 55 23. Спосіб за п. 22, в якому суб'єкт має ST2L-опосередковане захворювання.
 24. Спосіб за п. 23, в якому ST2L-опосередковане захворювання являє собою астму, гіперреактивність дихальних шляхів, саркоїдоз, хронічне обструктивне легеневе захворювання (COPD), ідіопатичний легеневий фіброз (IPF), муковісцидоз, запальне захворювання кишечника
- 60

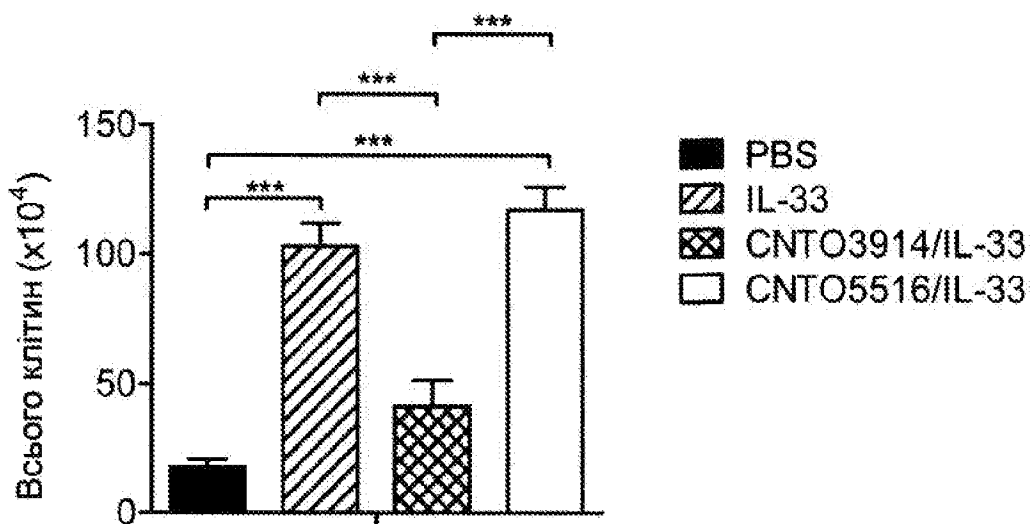
(33К), еозинофільний езофагіт, склеродерму, atopічний дерматит, алергійний риніт, бульозний пемфігоїд, хронічну кропивницю, діабетичну нефропатію, ревматоїдний артрит, інтерстиціальний цистит або реакцію "трансплантат проти хазяїна" (GVHD) або пов'язане з рекрутингом запальних клітин в легені, гіперплазією келихоподібних клітин, збільшеною секрецією слизу або відповіддю мастоцитів.

5



Фіг. 1

Всього BAL для ANOVA



Фіг. 2

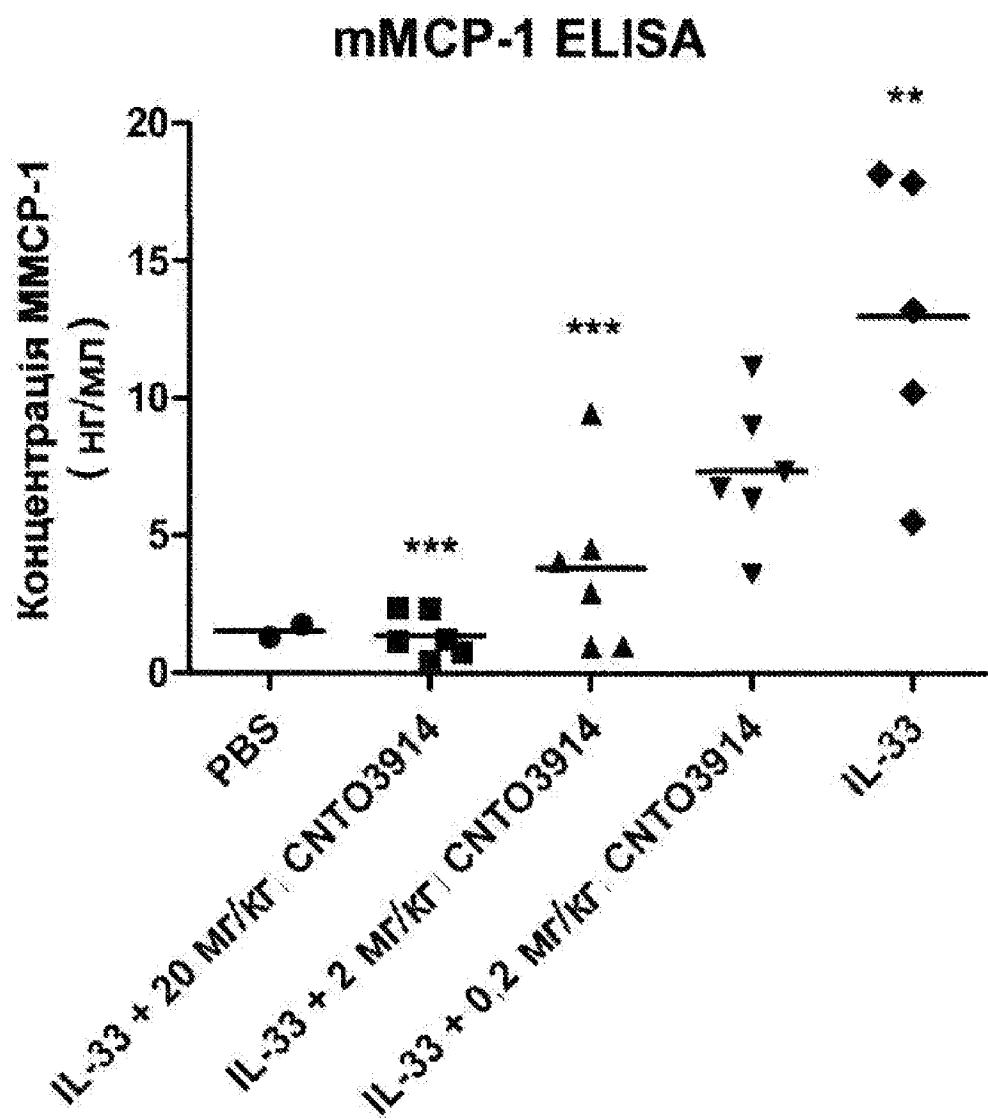
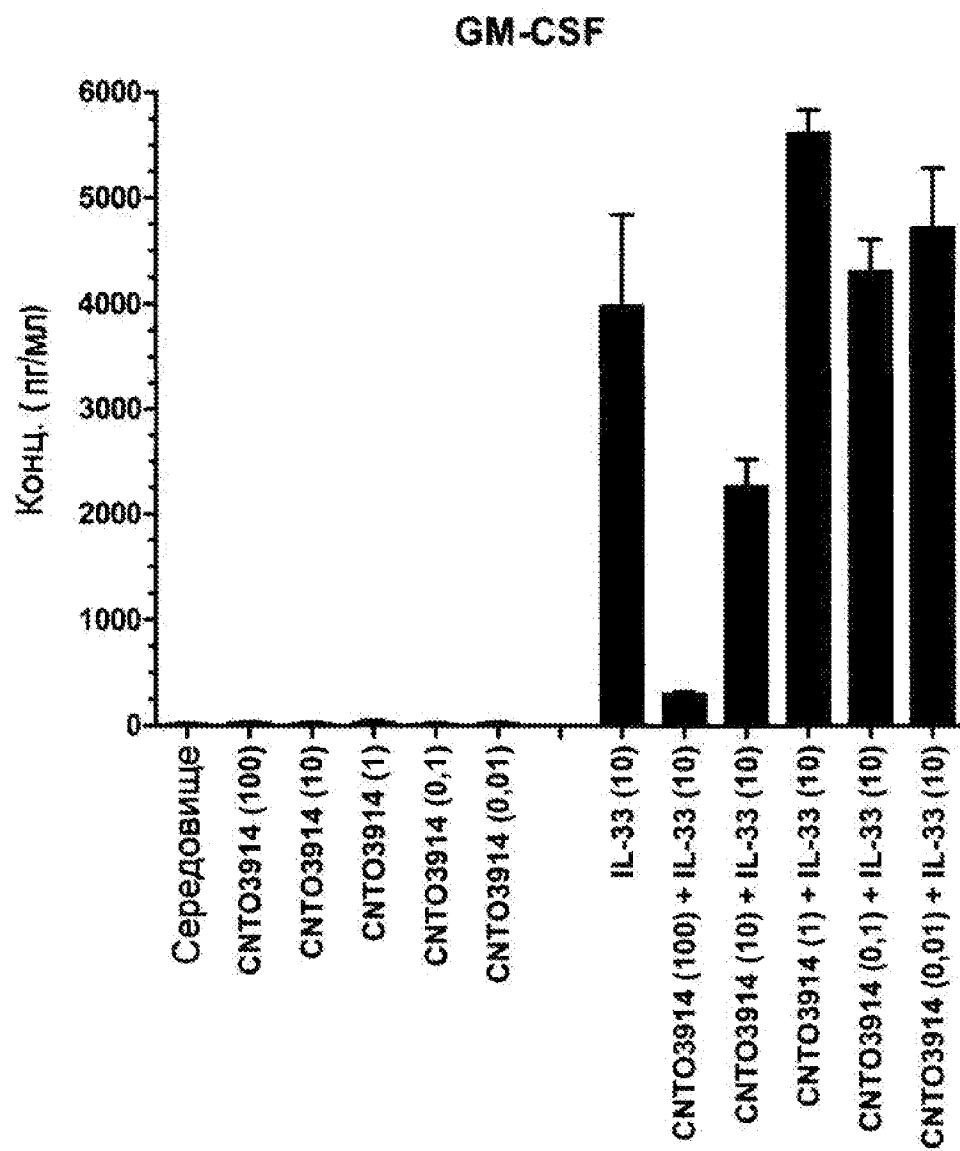
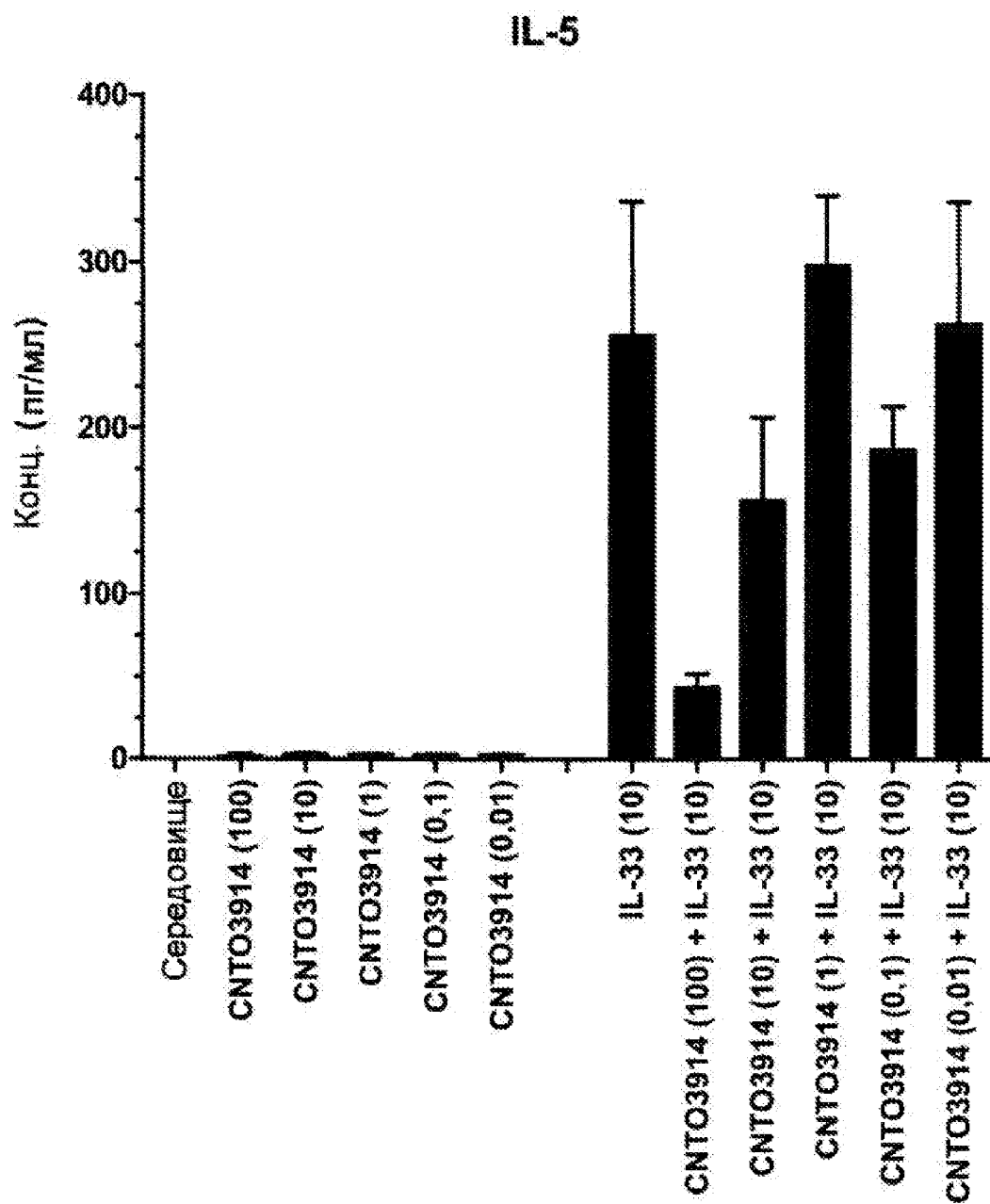


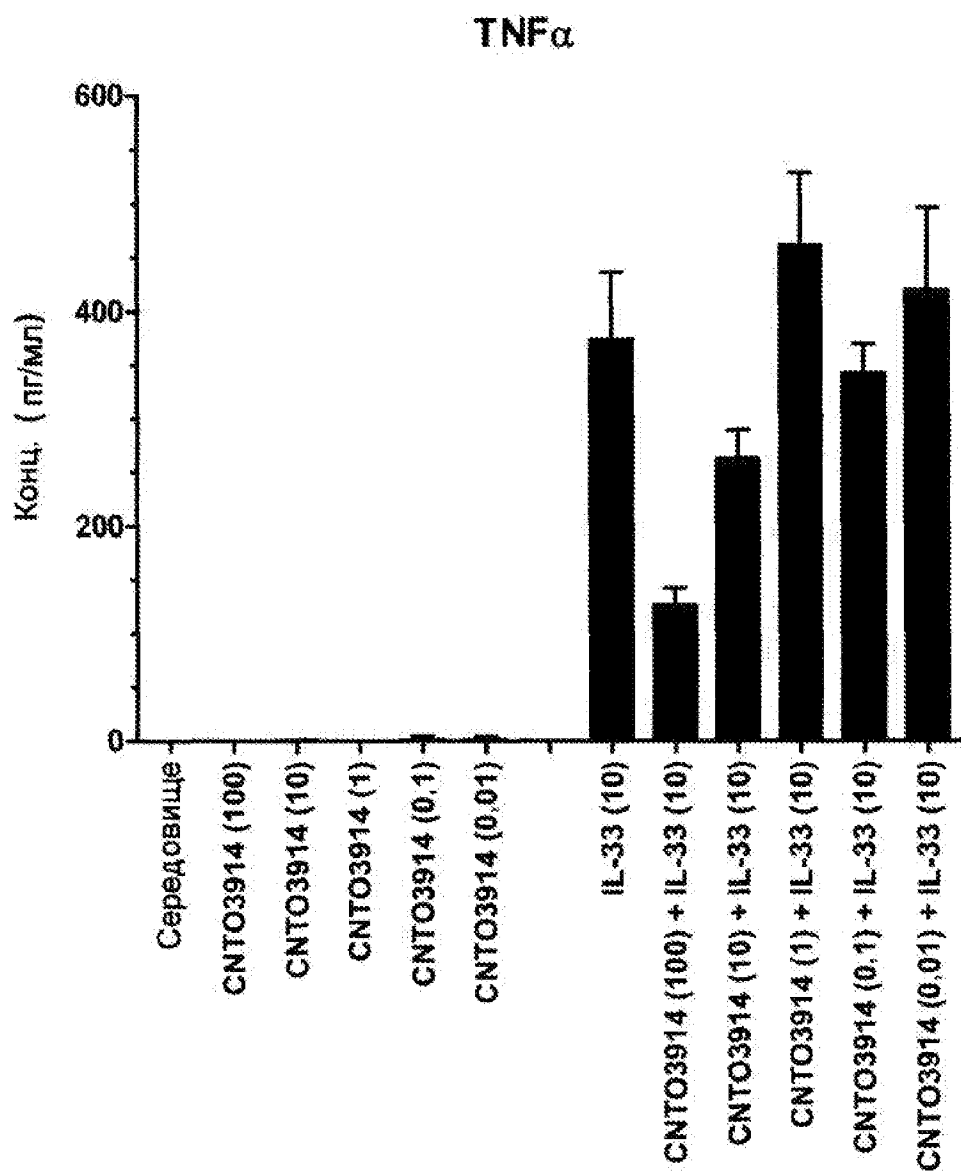
Fig. 3



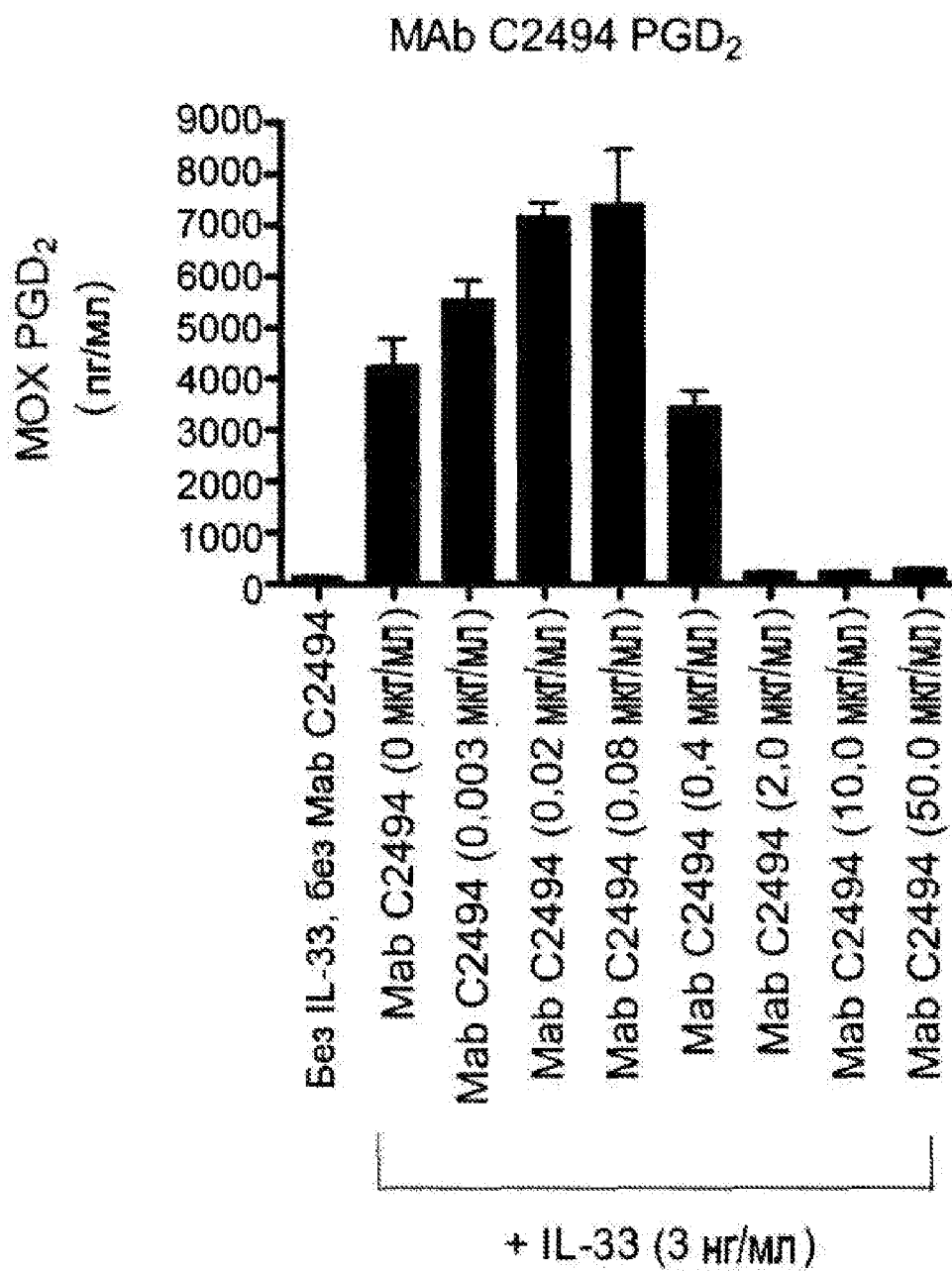
Фиг. 4А



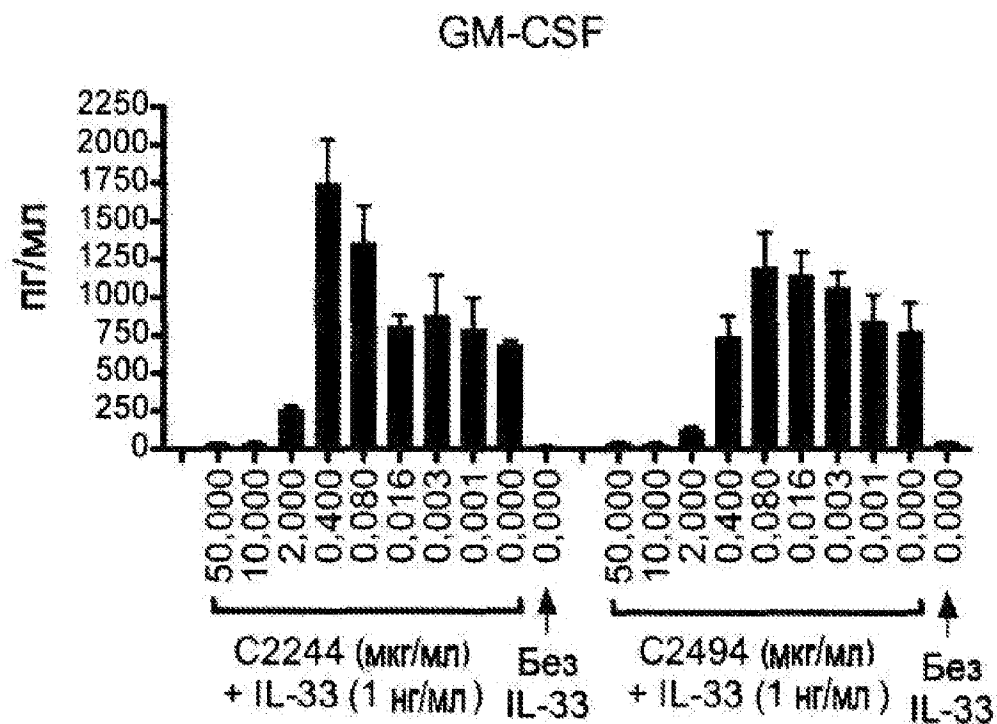
Фиг. 4В



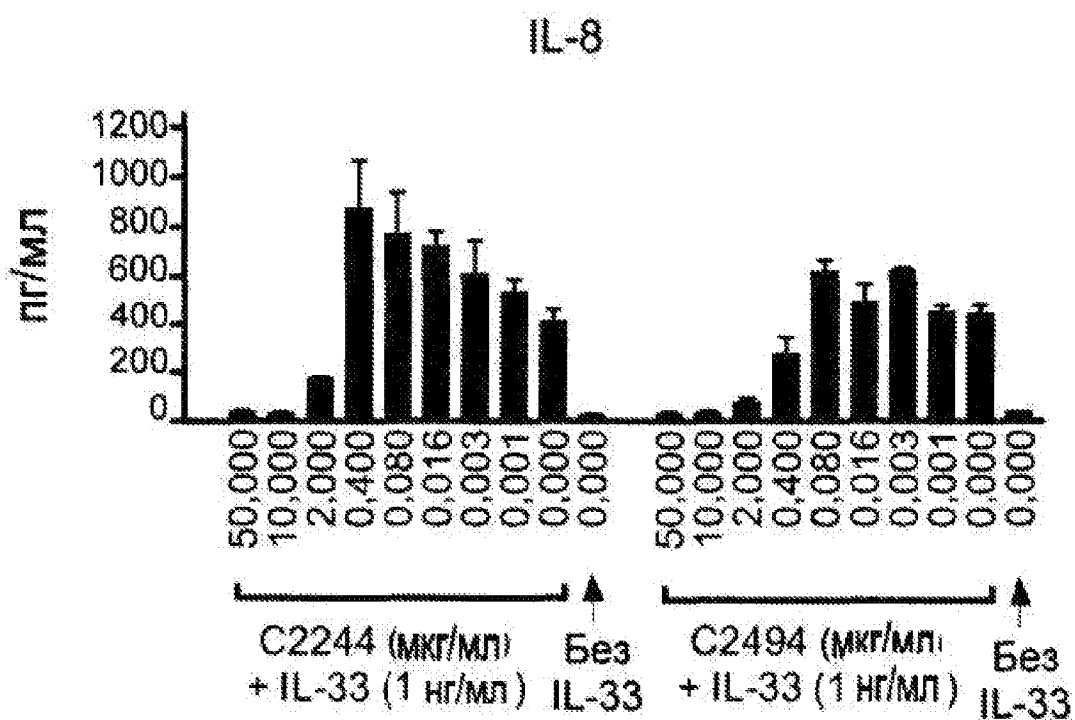
Фиг. 4С



Фиг. 5



Фиг. 6А



Фиг. 6В

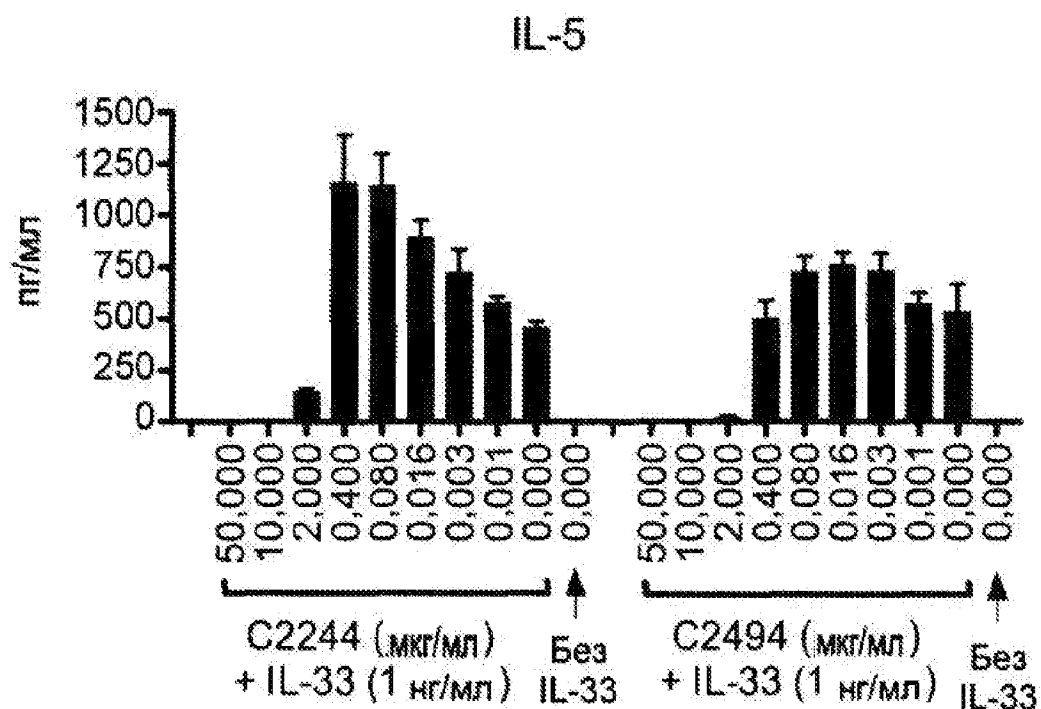


Fig. 6C

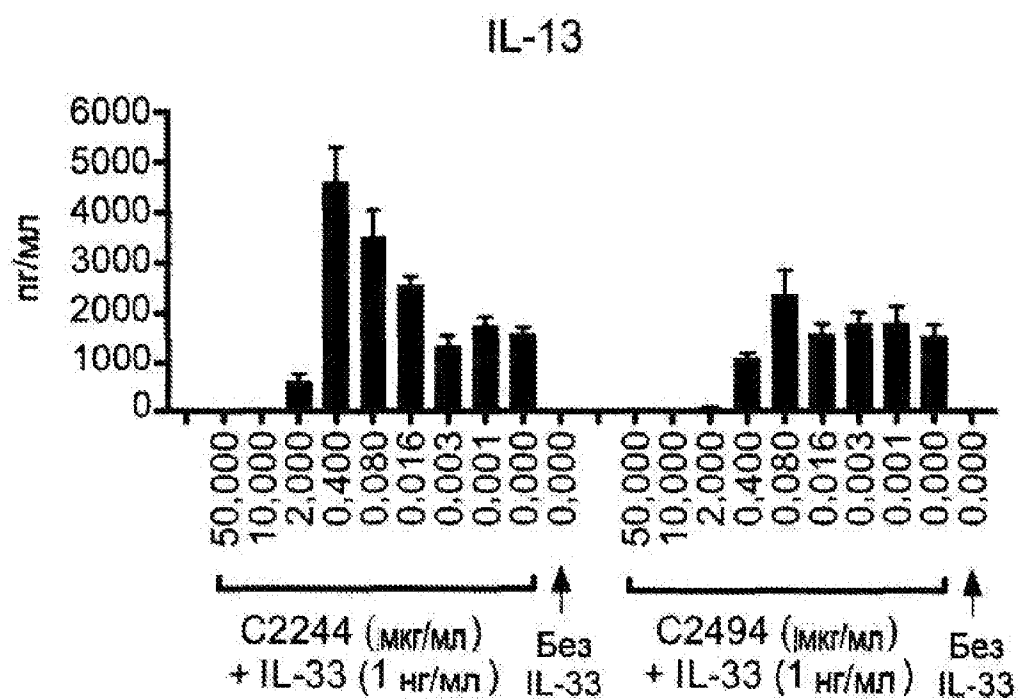


Fig. 6D

IL-10

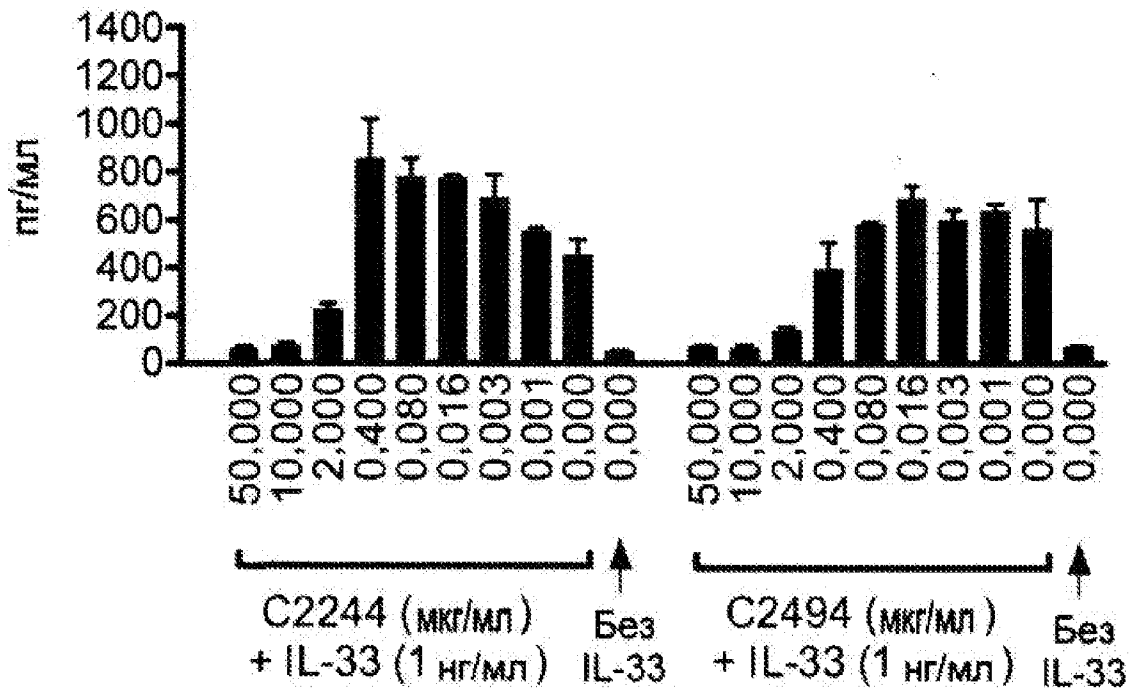


Fig. 6E

GM-CSF

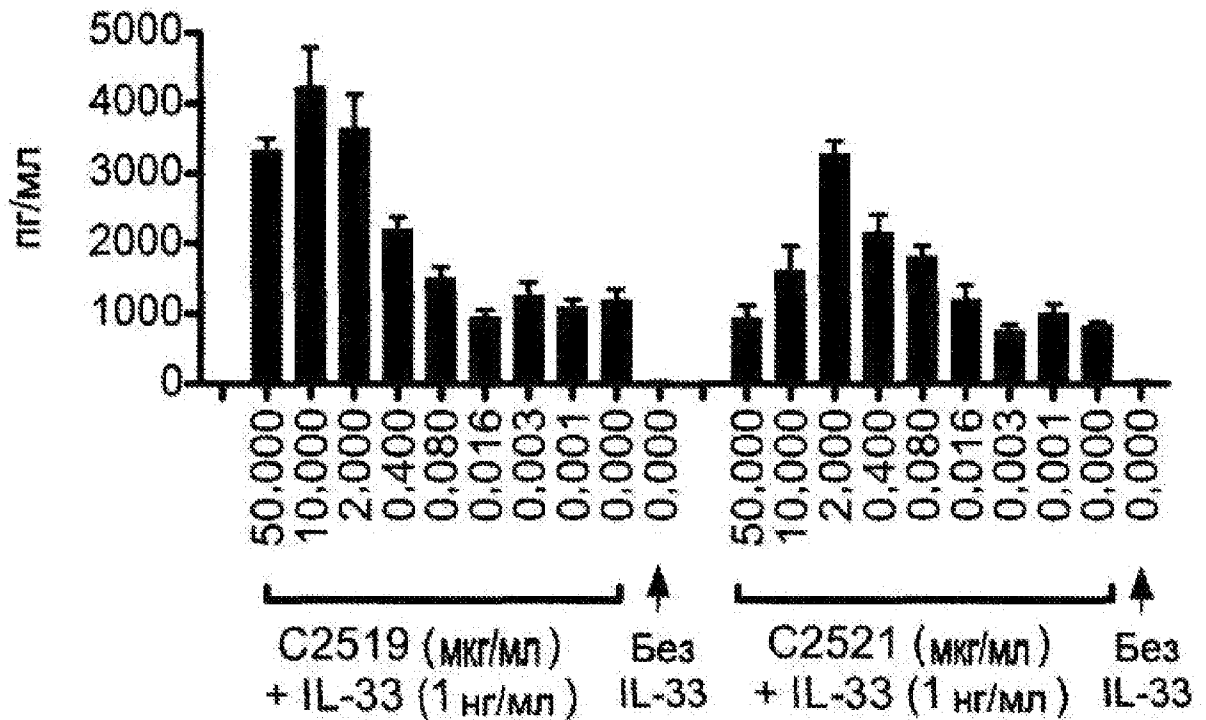


Fig. 7A

IL-8

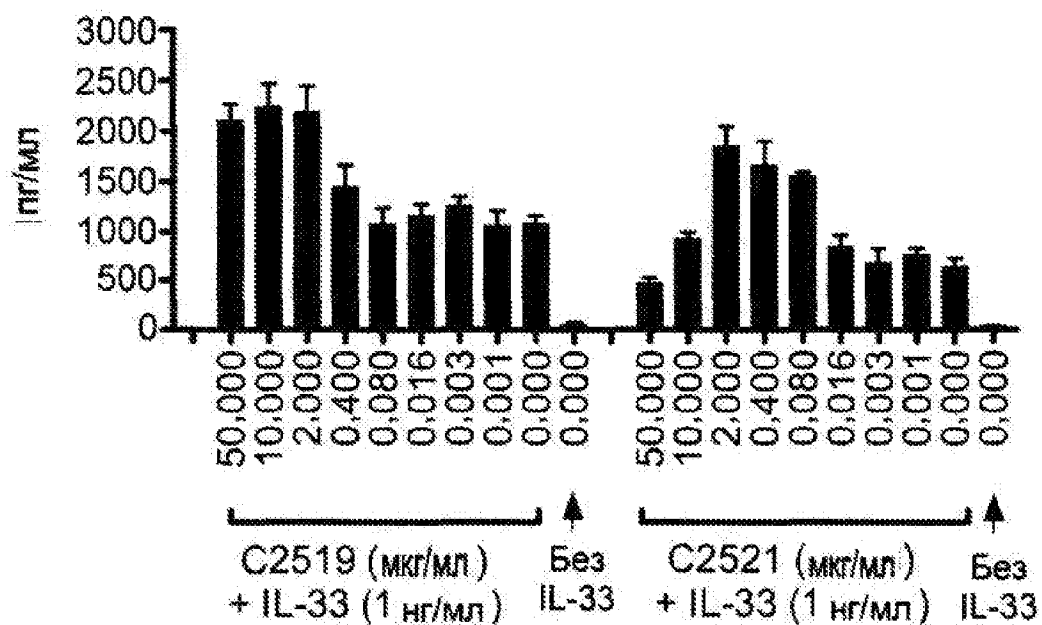


Fig. 7B

IL-5

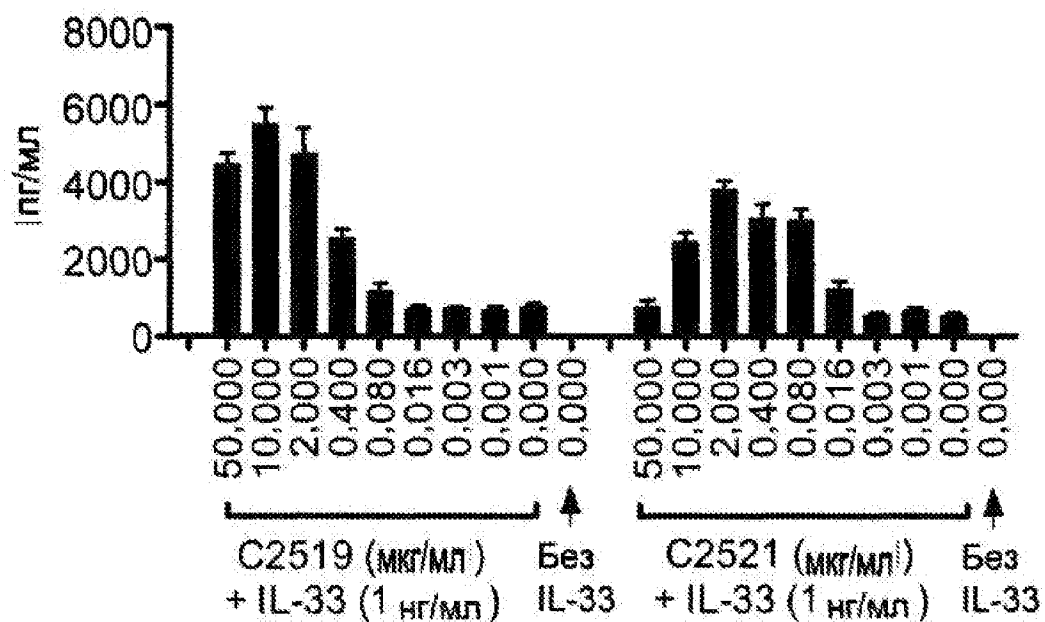


Fig. 7C

IL-13

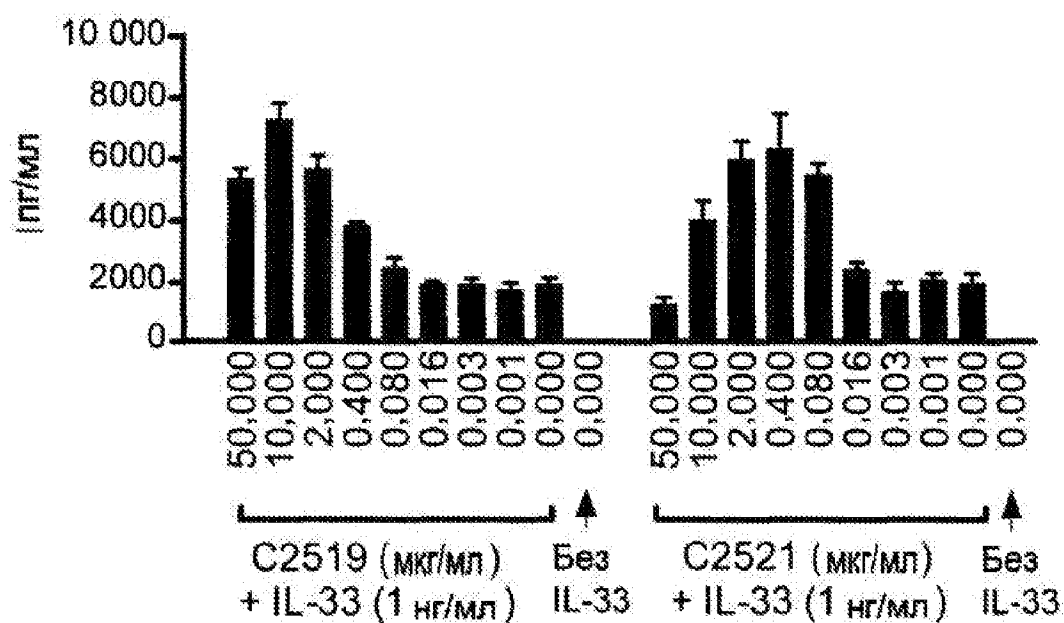


Fig. 7D

IL-10

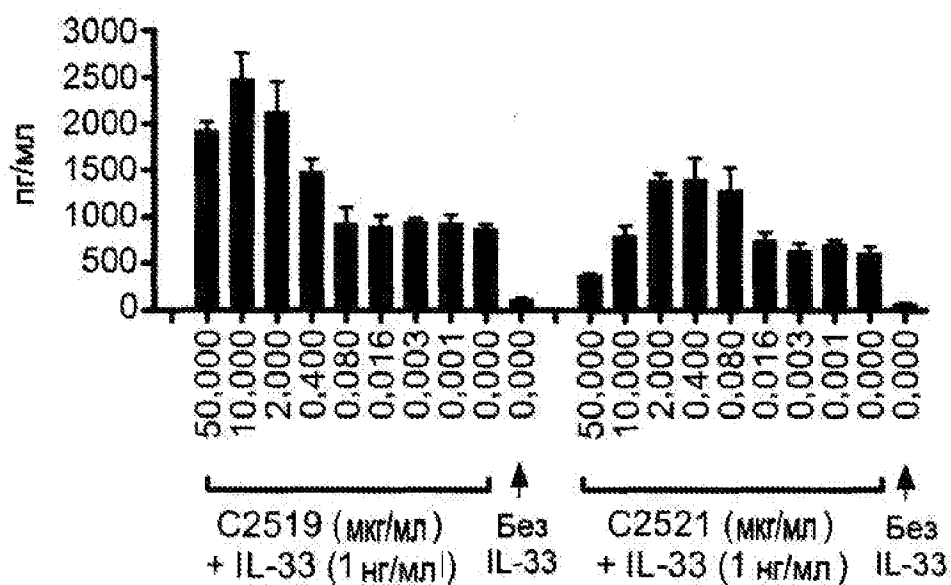
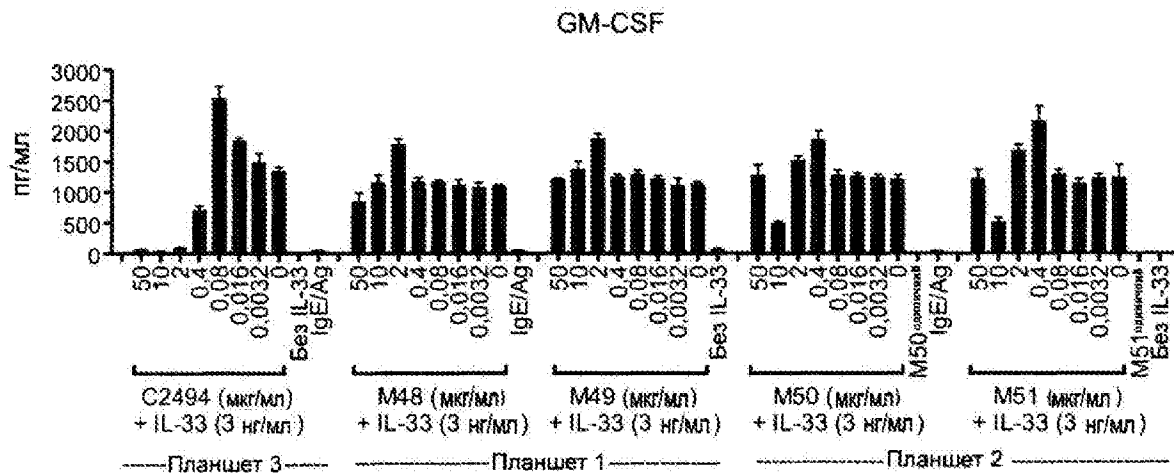
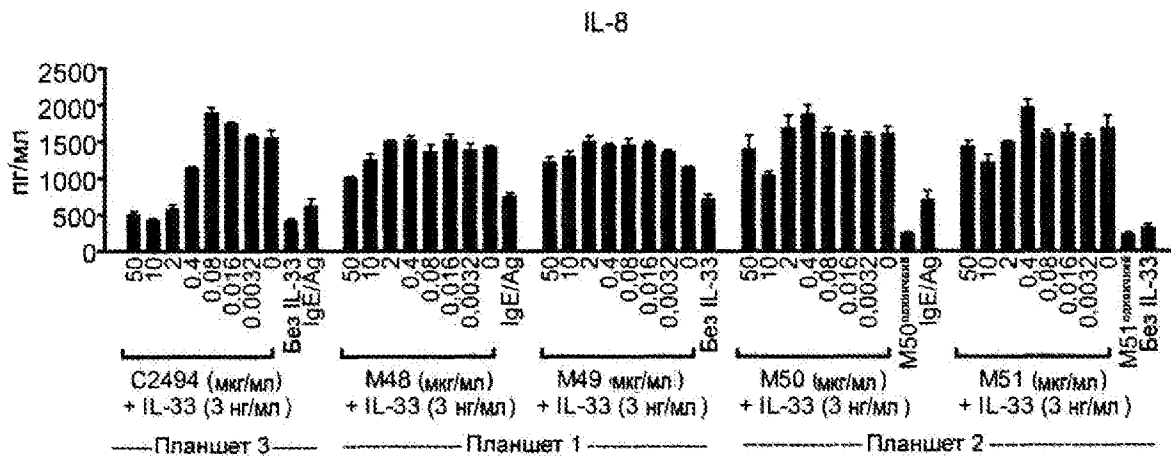


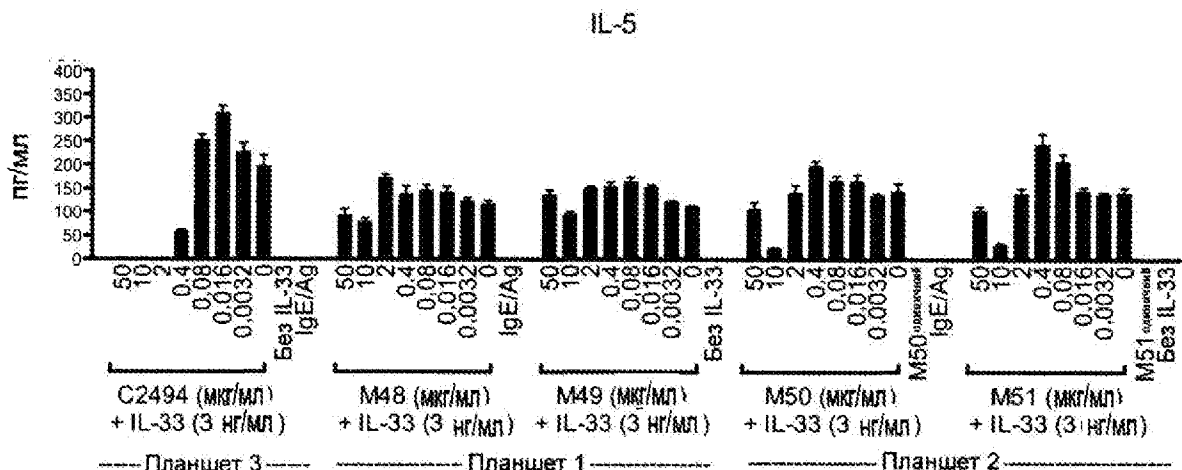
Fig. 7E



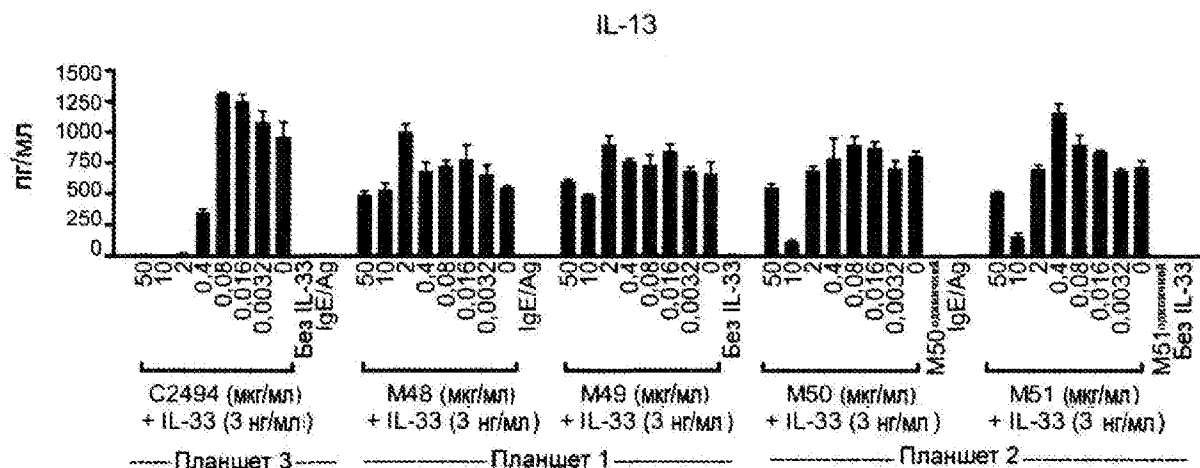
Фиг. 8А.



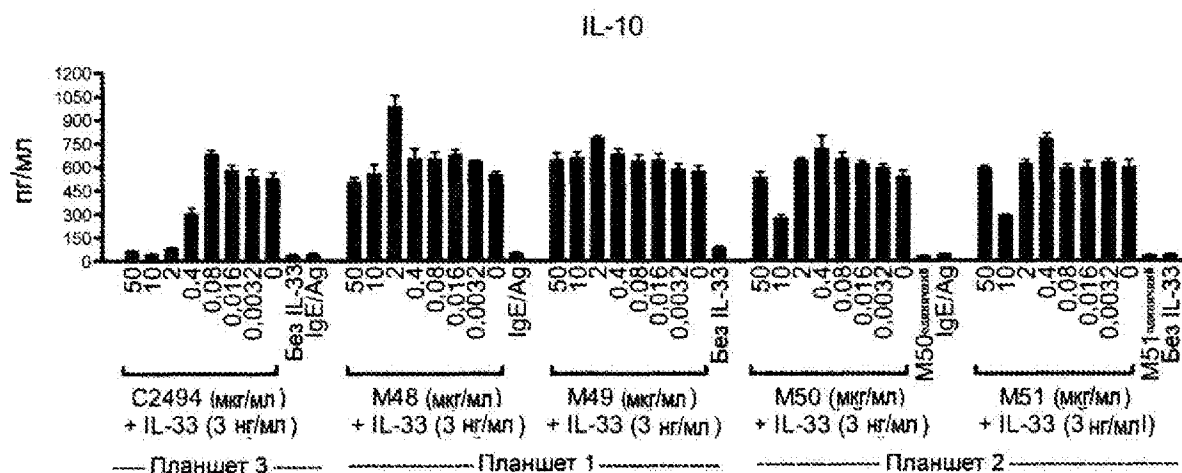
Фиг. 8В



Фиг. 8С



Фіг. 8D



Фіг. 8E

Стимуляція з 1 нг/мл IL-33 у середовищі stemPro-34 + 100 нг/мл SCF

ST2L- домен*	Mab	Середній відсоток інгібування з 50 мкг/мл Mab					Середній відсоток інгібування з 2 мкг/мл Mab				
		GM-CSF	IL-5	IL-8	IL-10	IL-13	GM-CSF	IL-5	IL-8	IL-10	IL-13
D1	C2244	95.3	99.4	91.6	86.3	100.0	62.1	68.3	57.1	50.6	62.5
D1	C2494	95.3	99.4	93.5	87.3	100.0	84.1	96.2	83.0	76.1	95.8
D3	C2519	-179.9	-481.5	-95.5	-120.6	-180.0	-205.3	-516.3	-103.3	-144.5	-195.6
D3	C2521	-12.2	-39.4	25.5	38.8	35.0	-295.3	-594.4	-190.0	-130.6	-207.8

Стимуляція з 3 нг/мл IL-33 у RPMI/10% FCS + 100 нг/мл SCF

ST2L- домен*	Mab	Середній відсоток інгібування з 50 мкг/мл Mab					Середній відсоток інгібування з 2 мкг/мл Mab				
		GM-CSF	IL-5	IL-8	IL-10	IL-13	GM-CSF	IL-5	IL-8	IL-10	IL-13
D1	C2494	95.0	99.4	67.0	87.8	99.3	92.9	99.6	62.2	84.7	98.8
D3	ST2M48	23.2	20.7	28.7	8.3	11.0	-61.6	-46.1	-5.8	-79.1	-80.8
D3	ST2M49	-7.0	-20.9	-5.7	-12.4	9.3	-65.4	-33.1	-30.0	-36.8	-35.7
D3	ST2M50	-5.7	25.7	13.2	2.0	31.9	-26.0	1.6	-4.4	-18.7	14.9
D3	ST2M51	1.9	27.3	15.0	1.3	28.6	-35.3	1.2	11.8	-3.6	3.0

*Антитіло домену ST2L зв'язується з

Фіг. 9.

Назва mAb/Fab	Назва VH	HCDR1		HCDR2		HCDR3	
		Послідовність	SEQ ID NO:	Послідовність	SEQ ID NO:	Послідовність	SEQ ID NO:
ST2F6	ST2H41	SYAMS	78	AISGSGGSTYYADSVKG	81	DPWSTEGSFFVLDY	84
ST2F14	ST2H41	SYAMS	78	AISGSGGSTYYADSVKG	81	DPWSTEGSFFVLDY	84
ST2F17	ST2H41	SYAMS	78	AISGSGGSTYYADSVKG	81	DPWSTEGSFFVLDY	84
ST2F31	ST2H41	SYAMS	78	AISGSGGSTYYADSVKG	81	DPWSTEGSFFVLDY	84
ST2F41	ST2H41	SYAMS	78	AISGSGGSTYYADSVKG	81	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM103	ST2H112	FYDMF	95	SIRGEGGRTDYADSVKG	109	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM107	ST2H52	DYAMF	96	AIEGEGGETNYADSVKG	110	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM108	ST2H50	IYDMI	97	TIKGEGGGTYYADSVKG	111	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM123	ST2H52	DYAMF	96	AIEGEGGETNYADSVKG	110	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM124	ST2H50	IYDMI	97	TIKGEGGGTYYADSVKG	111	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM206	ST2H232	IYDMI	97	TIRGEGGSTYYADSVKG	112	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM207	ST2H228	SYDMI	98	TIRGEGGTAYADSVKG	113	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM208	ST2H257	IYDMI	97	SIRGEGGGTYYADSVKG	114	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM209	ST2H231	IYDMI	97	TIRGEGGGTYYADSVKG	115	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM210	ST2H318	DDAMI	99	YIGGGGGTYYADSVKG	116	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM211	ST2H316	DYAMI	100	YIEGEGGETYYADSVKG	117	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM212	ST2H314	VYDMI	101	TIRGEGGGTYYADSVKG	118	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM213	ST2H202	FYDMI	102	TIRGEGGGTNYADSVKG	120	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM214	ST2H179	SYDMF	103	DIKGEGGRTAYADSVKG	121	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM215	ST2H172	SYDMF	103	AIAGEGGRTYYADSVKG	122	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM216	ST2H173	SYDMF	103	DIKGEGGATNYADSVKG	123	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM217	ST2H163	VYDMF	104	DIKGEGGETSYADSVKG	124	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM218	ST2H162	VD5MF	105	SIEGNGGATYYADSVKG	125	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM219	ST2H139	GYDMF	106	DIGGEGGSTNYADSVKG	126	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM220	ST2H137	FYDMF	95	DIRGEGGGTAYADSVKG	127	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM221	ST2H136	IYDMF	107	YIRGEGGGTNYADSVKG	128	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM222	ST2H129	IYSME	108	DIGGEGGGTSYADSVKG	129	DPWSTEGSFFVLDY	84

Фіг. 10

Назва mAb/Fab	Назва VL	LCDR1		LCDR2		LCDR3	
		Послідовність	SEQ ID NO:	Послідовність	SEQ ID NO:	Послідовність	SEQ ID NO:
ST2F6	ST2L34	RASQSVDDDLA	87	DASNRAT	90	QQFYNWPLT	92
ST2F14	ST2L32	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYIGAPIT	131
ST2F17	ST2L35	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYIDAPLT	132
ST2F31	ST2L49	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYNDAIT	133
ST2F41	ST2L59	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYITAPLT	134
STLM103	ST2L32	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYIGAPIT	131
STLM107	ST2L32	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYIGAPIT	131
STLM108	ST2L32	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYIGAPIT	131
STLM123	ST2L59	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYITAPLT	134
STLM124	ST2L59	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYITAPLT	134
STLM206	ST2L59	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYITAPLT	134
STLM207	ST2L59	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYITAPLT	134
STLM208	ST2L59	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYITAPLT	134
STLM209	ST2L59	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYITAPLT	134
STLM210	ST2L49	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYNDAIT	133
STLM211	ST2L49	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYNDAIT	133
STLM212	ST2L49	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYNDAIT	133
STLM213	ST2L35	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYIDAPLT	132
STLM214	ST2L35	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYIDAPLT	132
STLM215	ST2L32	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYIGAPIT	131
STLM216	ST2L32	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYIGAPIT	131
STLM217	ST2L32	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYIGAPIT	131
STLM218	ST2L32	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYIGAPIT	131
STLM219	ST2L32	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYIGAPIT	131
STLM220	ST2L32	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYIGAPIT	131
STLM221	ST2L32	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYIGAPIT	131
STLM222	ST2L32	RASQSVDDDLA	130	DASNRAT	90	QQYIGAPIT	131

Фіг. 11

Назва mAb	Назва VH	Назва VL	H-CDR1		H-CDR2		H-CDR3	
			Послідовність	SEQ ID NO:	Послідовність	SEQ ID NO:	Послідовність	SEQ ID NO:
STLM208	STLH257	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKG	114	DPWSTEGSFFVLDY	84
STLM352	STLH255	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKG	114	APWSTEGSFFVLDY	165
STLM351	STLH256	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKG	114	RPWSTEGSFFVLDY	166
STLM350	STLH257	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKG	114	NPWSTEGSFFVLDY	167
STLM349	STLH258	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKG	114	QPWSTEGSFFVLDY	168
STLM348	STLH259	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKG	114	EPWSTEGSFFVLDY	169
STLM347	STLH260	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKG	114	IPWSTEGSFFVLDY	170
STLM346	STLH261	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKG	114	HPWSTEGSFFVLDY	171
STLM345	STLH262	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKG	114	SPWSTEGSFFVLDY	172
STLM344	STLH263	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKG	114	TPWSTEGSFFVLDY	173
STLM343	STLH264	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKG	114	YPWSTEGSFFVLDY	174
STLM342	STLH265	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKG	114	DAWSTEGSFFVLDY	175
STLM341	STLH266	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKG	114	DHWSTEGSFFVLDY	176
STLM340	STLH267	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKG	114	DYWSTEGSFFVLDY	177
STLM339	STLH268	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKG	114	DEWSTEGSFFVLDY	178
STLM338	STLH269	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKG	114	DQWSTEGSFFVLDY	179
STLM337	STLH270	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKG	114	DLWSTEGSFFVLDY	180
STLM336	STLH271	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKG	114	DSWSTEGSFFVLDY	181
STLM335	STLH272	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKG	114	DNWSTEGSFFVLDY	182
STLM334	STLH273	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKG	114	DTWSTEGSFFVLDY	183
STLM333	STLH274	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKG	114	DVWSTEGSFFVLDY	184
STLM332	STLH275	ST2L59	IYDMI	97	SIRGEGGGTYADSVKG	114	DIWSTEGSFFVLDY	185

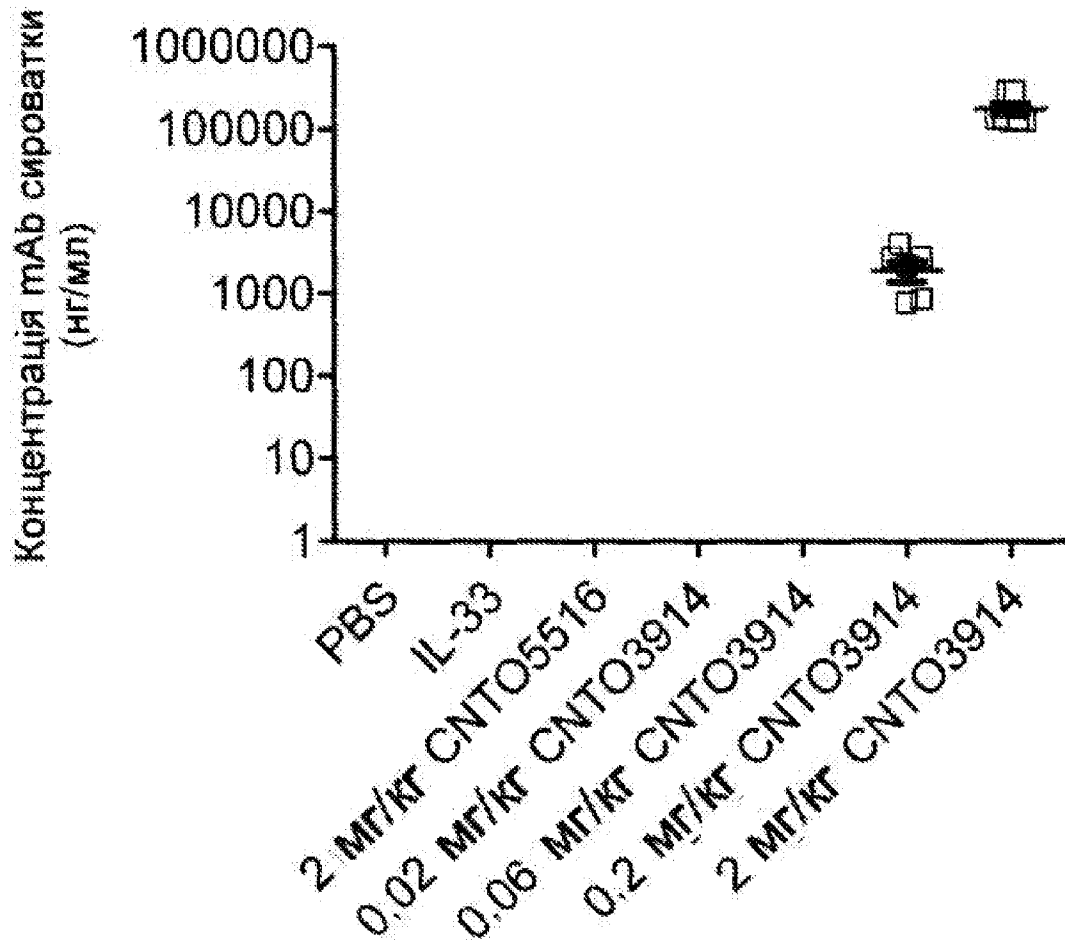
Фір. 12

mAb	VHID	Послідовність	SEQ ID NO:
STLM103	ST2H112	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFEYDMFVVRQAPGKOLEWVSITPGEGGRTDYAD SVKGRFTTISRDNSEKNTLYLQMNSLRPAEDTAVYYCARDPWSTEGSEFFVLDYWGQGTLLVTVSS	205
STLM107	ST2H52	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFEYDMFVVRQAPGKOLEWVSITPGEGGRTDYAD SVKGRFTTISRDNSEKNTLYLQMNSLRPAEDTAVYYCARDPWSTEGSEFFVLDYWGQGTLLVTVSS	186
STLM108	ST2H50	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFEYDMFVVRQAPGKOLEWVSITPGEGGRTDYAD SVKGRFTTISRDNSEKNTLYLQMNSLRPAEDTAVYYCARDPWSTEGSEFFVLDYWGQGTLLVTVSS	187
STLM123	ST2H52	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFEYDMFVVRQAPGKOLEWVSITPGEGGRTDYAD SVKGRFTTISRDNSEKNTLYLQMNSLRPAEDTAVYYCARDPWSTEGSEFFVLDYWGQGTLLVTVSS	186
STLM124	ST2H50	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFEYDMFVVRQAPGKOLEWVSITPGEGGRTDYAD SVKGRFTTISRDNSEKNTLYLQMNSLRPAEDTAVYYCARDPWSTEGSEFFVLDYWGQGTLLVTVSS	187
STLM206	ST2H232	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFEYDMFVVRQAPGKOLEWVSITPGEGGRTDYAD SVKGRFTTISRDNSEKNTLYLQMNSLRPAEDTAVYYCARDPWSTEGSEFFVLDYWGQGTLLVTVSS	192
STLM207	ST2H228	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFEYDMFVVRQAPGKOLEWVSITPGEGGRTDYAD SVKGRFTTISRDNSEKNTLYLQMNSLRPAEDTAVYYCARDPWSTEGSEFFVLDYWGQGTLLVTVSS	194
STLM208	ST2H257	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFEYDMFVVRQAPGKOLEWVSITPGEGGRTDYAD SVKGRFTTISRDNSEKNTLYLQMNSLRPAEDTAVYYCARDPWSTEGSEFFVLDYWGQGTLLVTVSS	191
STLM209	ST2H231	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFEYDMFVVRQAPGKOLEWVSITPGEGGRTDYAD SVKGRFTTISRDNSEKNTLYLQMNSLRPAEDTAVYYCARDPWSTEGSEFFVLDYWGQGTLLVTVSS	193
STLM210	ST2H318	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFEYDMFVVRQAPGKOLEWVSITPGEGGRTDYAD SVKGRFTTISRDNSEKNTLYLQMNSLRPAEDTAVYYCARDPWSTEGSEFFVLDYWGQGTLLVTVSS	188
STLM211	ST2H316	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFEYDMFVVRQAPGKOLEWVSITPGEGGRTDYAD SVKGRFTTISRDNSEKNTLYLQMNSLRPAEDTAVYYCARDPWSTEGSEFFVLDYWGQGTLLVTVSS	189
STLM212	ST2H314	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFEYDMFVVRQAPGKOLEWVSITPGEGGRTDYAD SVKGRFTTISRDNSEKNTLYLQMNSLRPAEDTAVYYCARDPWSTEGSEFFVLDYWGQGTLLVTVSS	190
STLM213	ST2H202	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFEYDMFVVRQAPGKOLEWVSITPGEGGRTDYAD SVKGRFTTISRDNSEKNTLYLQMNSLRPAEDTAVYYCARDPWSTEGSEFFVLDYWGQGTLLVTVSS	195
STLM214	ST2H179	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFEYDMFVVRQAPGKOLEWVSITPGEGGRTDYAD SVKGRFTTISRDNSEKNTLYLQMNSLRPAEDTAVYYCARDPWSTEGSEFFVLDYWGQGTLLVTVSS	196
STLM215	ST2H172	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFEYDMFVVRQAPGKOLEWVSITPGEGGRTDYAD SVKGRFTTISRDNSEKNTLYLQMNSLRPAEDTAVYYCARDPWSTEGSEFFVLDYWGQGTLLVTVSS	198
STLM216	ST2H173	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFEYDMFVVRQAPGKOLEWVSITPGEGGRTDYAD SVKGRFTTISRDNSEKNTLYLQMNSLRPAEDTAVYYCARDPWSTEGSEFFVLDYWGQGTLLVTVSS	197
STLM217	ST2H163	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFEYDMFVVRQAPGKOLEWVSITPGEGGRTDYAD SVKGRFTTISRDNSEKNTLYLQMNSLRPAEDTAVYYCARDPWSTEGSEFFVLDYWGQGTLLVTVSS	199
STLM218	ST2H162	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFEYDMFVVRQAPGKOLEWVSITPGEGGRTDYAD SVKGRFTTISRDNSEKNTLYLQMNSLRPAEDTAVYYCARDPWSTEGSEFFVLDYWGQGTLLVTVSS	200
STLM219	ST2H139	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFEYDMFVVRQAPGKOLEWVSITPGEGGRTDYAD SVKGRFTTISRDNSEKNTLYLQMNSLRPAEDTAVYYCARDPWSTEGSEFFVLDYWGQGTLLVTVSS	201
STLM220	ST2H137	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFEYDMFVVRQAPGKOLEWVSITPGEGGRTDYAD SVKGRFTTISRDNSEKNTLYLQMNSLRPAEDTAVYYCARDPWSTEGSEFFVLDYWGQGTLLVTVSS	202
STLM221	ST2H136	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFEYDMFVVRQAPGKOLEWVSITPGEGGRTDYAD SVKGRFTTISRDNSEKNTLYLQMNSLRPAEDTAVYYCARDPWSTEGSEFFVLDYWGQGTLLVTVSS	203
STLM222	ST2H129	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFEYDMFVVRQAPGKOLEWVSITPGEGGRTDYAD SVKGRFTTISRDNSEKNTLYLQMNSLRPAEDTAVYYCARDPWSTEGSEFFVLDYWGQGTLLVTVSS	204

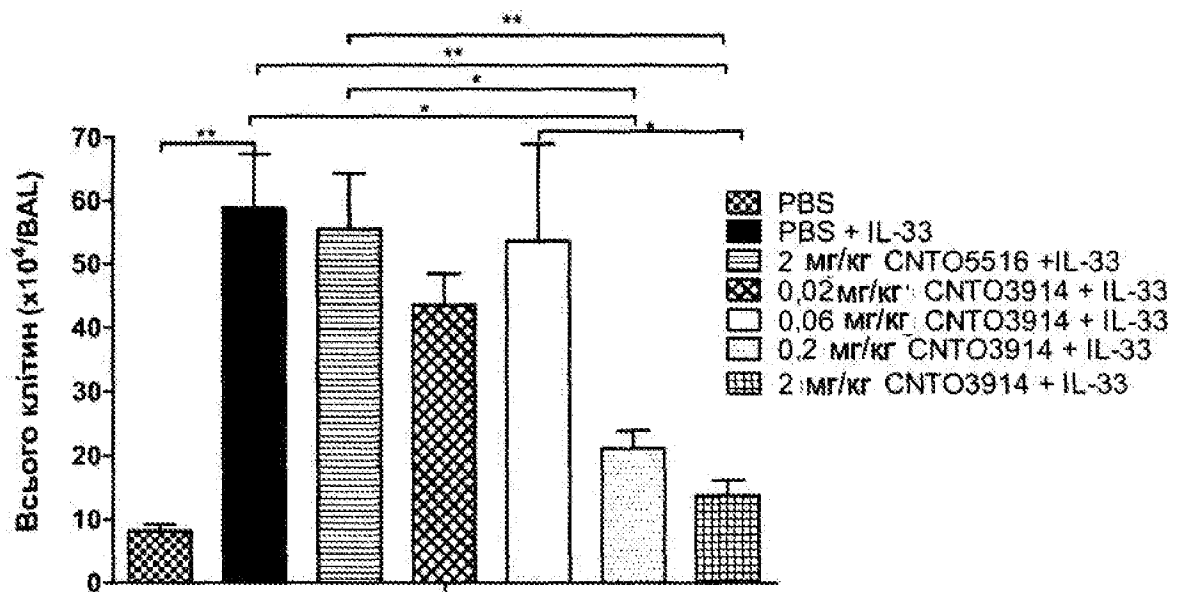
Фіг. 13А

mAb	VH ID	Послідовність	SEQ ID NO:
STLM103	ST2L32	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDDLAWYQQKPGQAPRLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQYIGAPITFGQGTKVEIK	206
STLM107	ST2L32	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDDLAWYQQKPGQAPRLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQYIGAPITFGQGTKVEIK	206
STLM108	ST2L32	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDDLAWYQQKPGQAPRLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQYIGAPITFGQGTKVEIK	206
STLM123	ST2L59	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDDLAWYQQKPGQAPRLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQYITAPLTFGQGTKVEIK	209
STLM124	ST2L59	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDDLAWYQQKPGQAPRLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQYITAPLTFGQGTKVEIK	209
STLM206	ST2L59	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDDLAWYQQKPGQAPRLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQYITAPLTFGQGTKVEIK	209
STLM207	ST2L59	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDDLAWYQQKPGQAPRLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQYITAPLTFGQGTKVEIK	209
STLM208	ST2L59	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDDLAWYQQKPGQAPRLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQYITAPLTFGQGTKVEIK	209
STLM209	ST2L59	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDDLAWYQQKPGQAPRLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQYITAPLTFGQGTKVEIK	209
STLM210	ST2L49	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDDLAWYQQKPGQAPRLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQYNDATFGQGTKVEIK	208
STLM211	ST2L49	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDDLAWYQQKPGQAPRLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQYNDATFGQGTKVEIK	208
STLM212	ST2L49	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDDLAWYQQKPGQAPRLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQYNDATFGQGTKVEIK	208
STLM213	ST2L35	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDDLAWYQQKPGQAPRLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQYIDAPLTFGQGTKVEIK	207
STLM214	ST2L35	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDDLAWYQQKPGQAPRLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQYIDAPLTFGQGTKVEIK	207
STLM215	ST2L32	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDDLAWYQQKPGQAPRLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQYIGAPITFGQGTKVEIK	206
STLM216	ST2L32	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDDLAWYQQKPGQAPRLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQYIGAPITFGQGTKVEIK	206
STLM217	ST2L32	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDDLAWYQQKPGQAPRLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQYIGAPITFGQGTKVEIK	206
STLM218	ST2L32	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDDLAWYQQKPGQAPRLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQYIGAPITFGQGTKVEIK	206
STLM219	ST2L32	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDDLAWYQQKPGQAPRLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQYIGAPITFGQGTKVEIK	206
STLM220	ST2L32	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDDLAWYQQKPGQAPRLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQYIGAPITFGQGTKVEIK	206
STLM221	ST2L32	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDDLAWYQQKPGQAPRLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQYIGAPITFGQGTKVEIK	206
STLM222	ST2L32	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDDDLAWYQQKPGQAPRLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQYIGAPITFGQGTKVEIK	206

Фіг. 13B

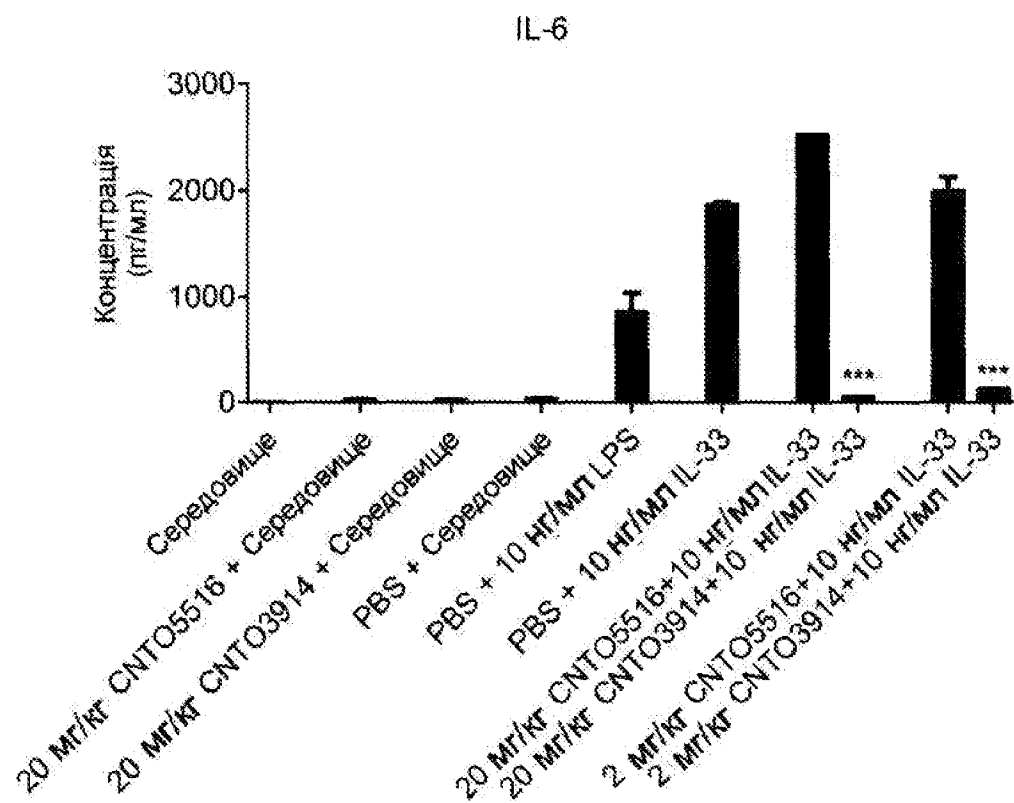


Фіг. 16А



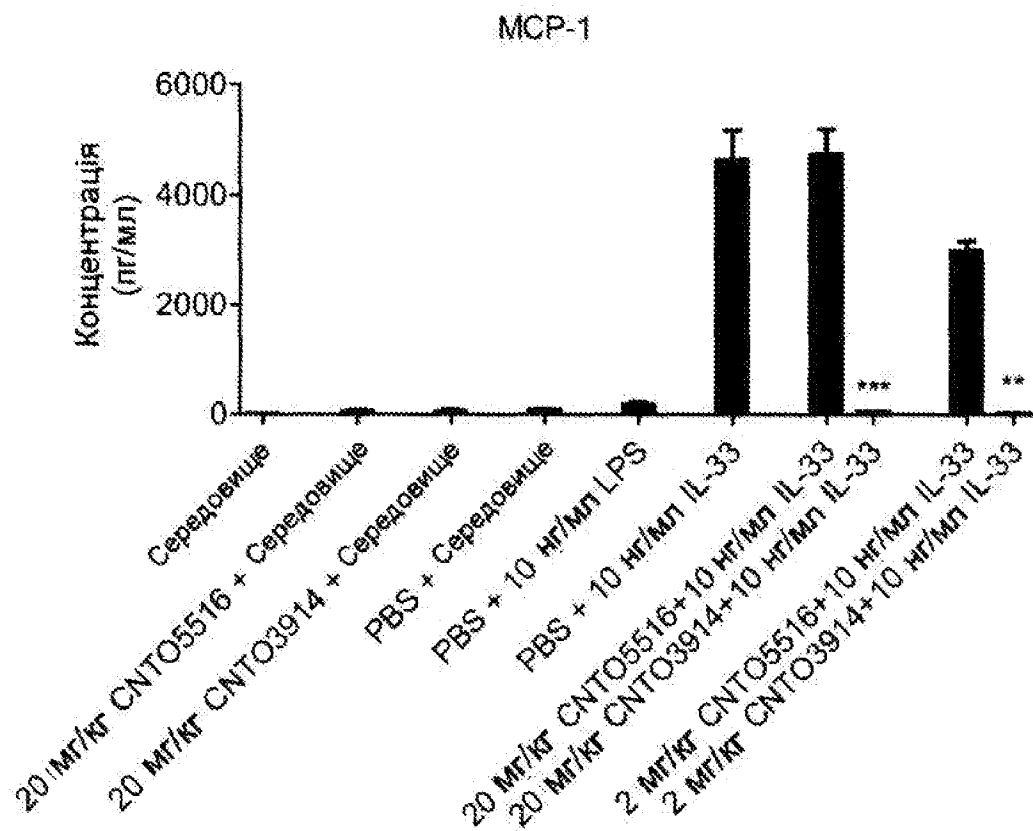
Статистична значимість з використанням однофакторного ANOVA
 *= $p < 0.05$; **= $p < 0.01$ та ***= $p < 0.001$

Фіг. 16В



Статистичну значимість mAb порівнювали з ізотипним контролем при тій самій концентрації

Фіг. 16C



Статистичну значимість mAb порівнювали з ізотипним контролем при тій самій концентрації

Фіг. 16D

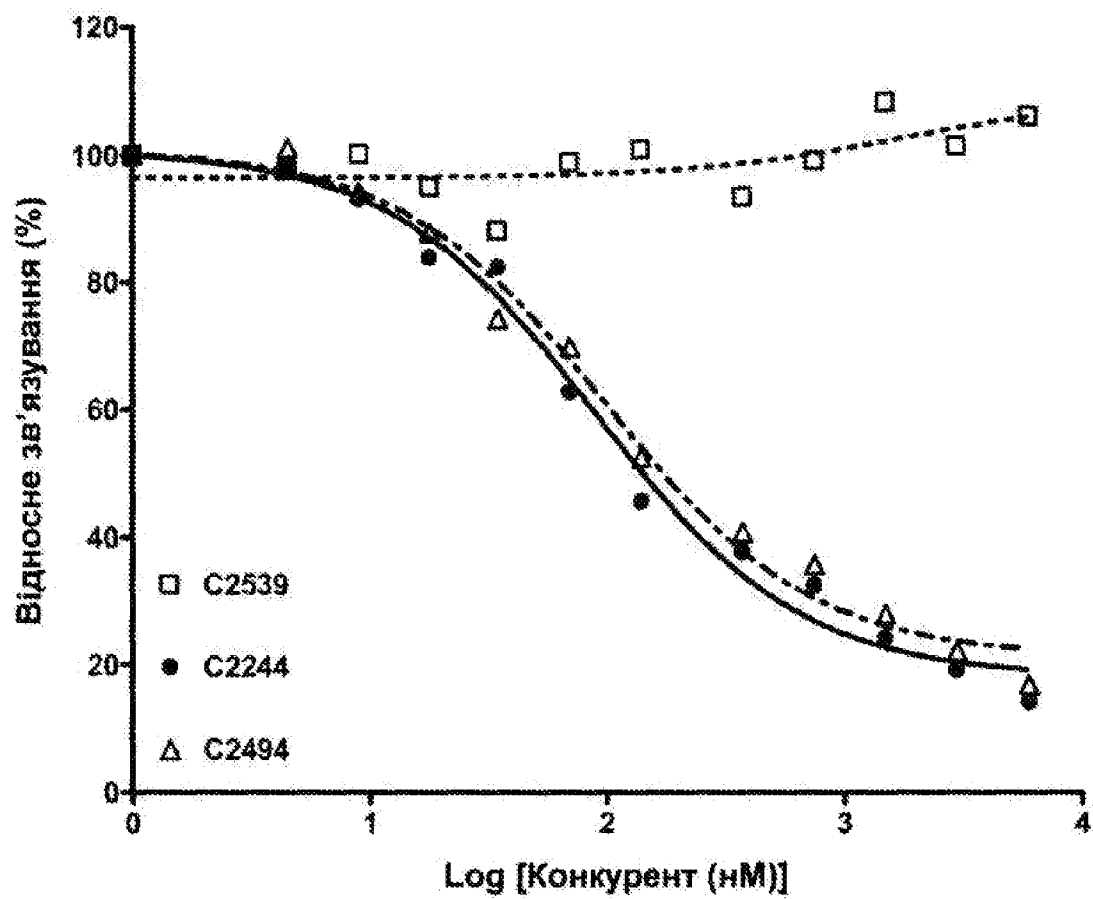
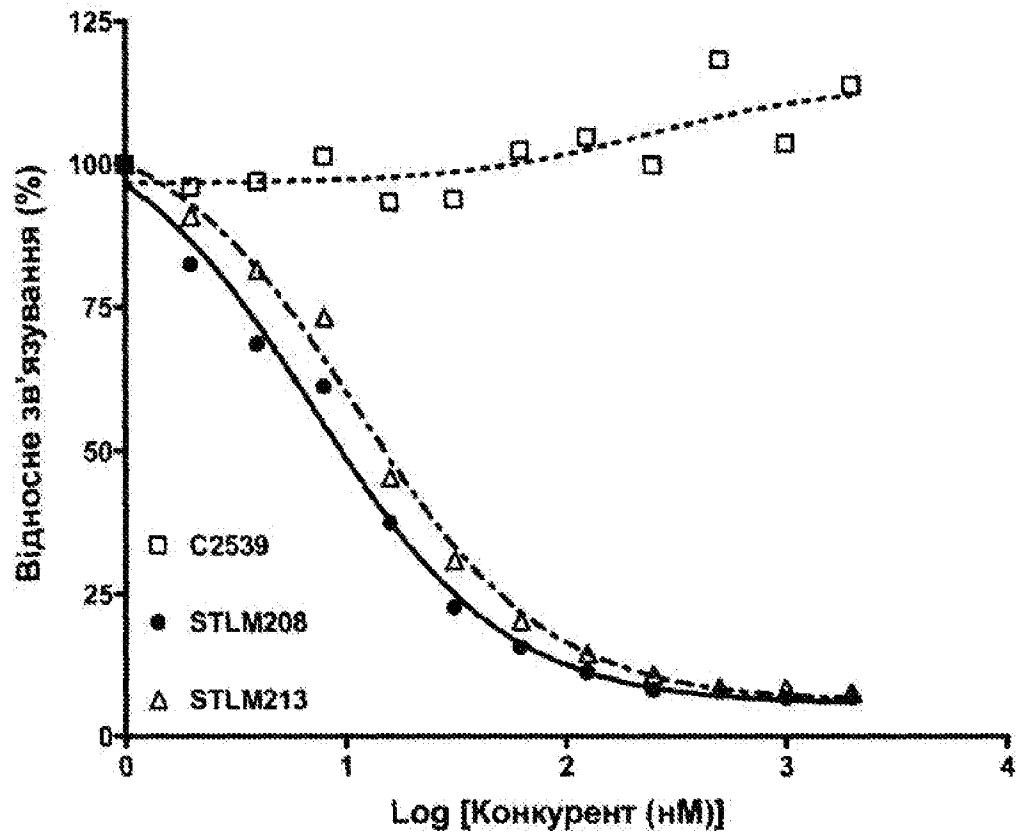
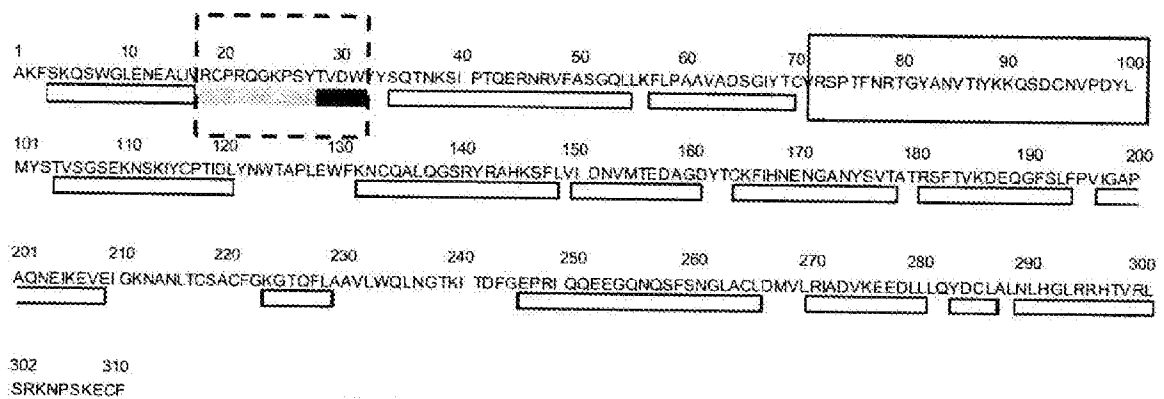


Fig. 17A



Фіг. 17В

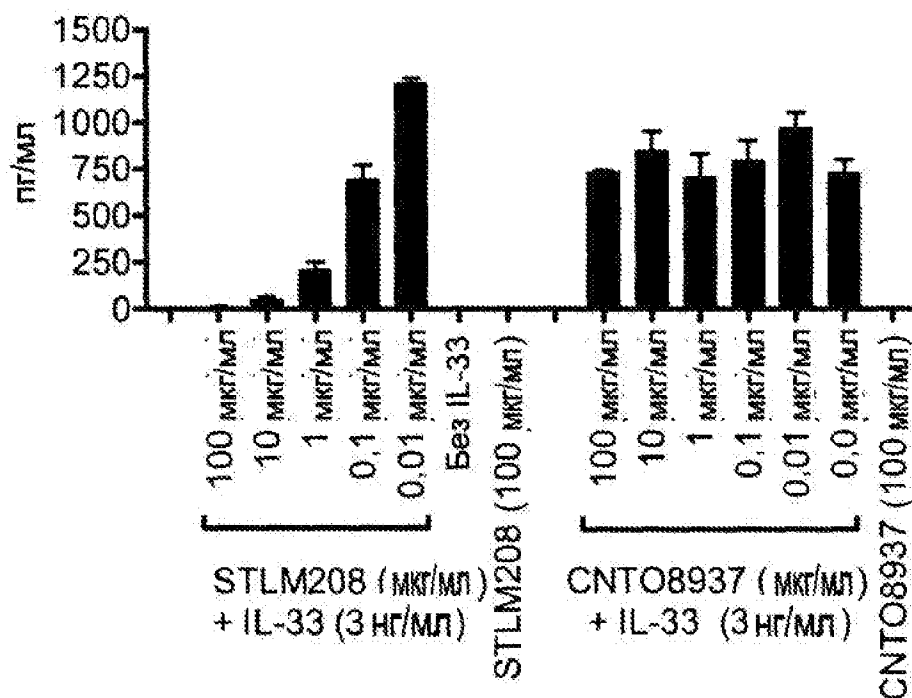


Фіг. 18

Різновид ST2L	Антитіло					
	STLB206 (STLM208)			STLB252		
	ka	kd	K _D	ka	kd	K _D
	1/Mc	1/c	nM	1/Mc	1/c	nM
Дикий тип	1.14E+07	1.22E-04	10.8	8.85E+06	1.22E-04	13.8
¹⁸ AKF ₂₀ -->TEG	1.30E+07	2.29E-04	19.3	8.34E+06	1.93E-04	23.2
K ₅₅ E	1.26E+07	1.29E-04	10	1.07E+07	1.26E-04	11.8
E ₆₁ K	1.55E+07	1.26E-04	8.1	1.56E+07	1.21E-04	7.8
⁶⁹ GQL ₇₁ -->RDR	1.02E+07	9.27E-05	9.6	8.06E+06	9.36E-05	11.6
A ₇₈ R	1.24E+07	1.30E-04	10.4	1.08E+07	1.23E-04	11.4
A ₈₀ E	1.15E+07	1.27E-04	11	1.13E+07	1.39E-04	12.4
⁹³ TF ₉₄ -->NL	1.27E+07	6.25E-04	49.5	1.07E+07	5.22E-04	48.9
¹⁰⁸ QSD ₁₁₀ -->PPS	1.28E+07	1.19E-04	10	8.99E+06	1.17E-04	13

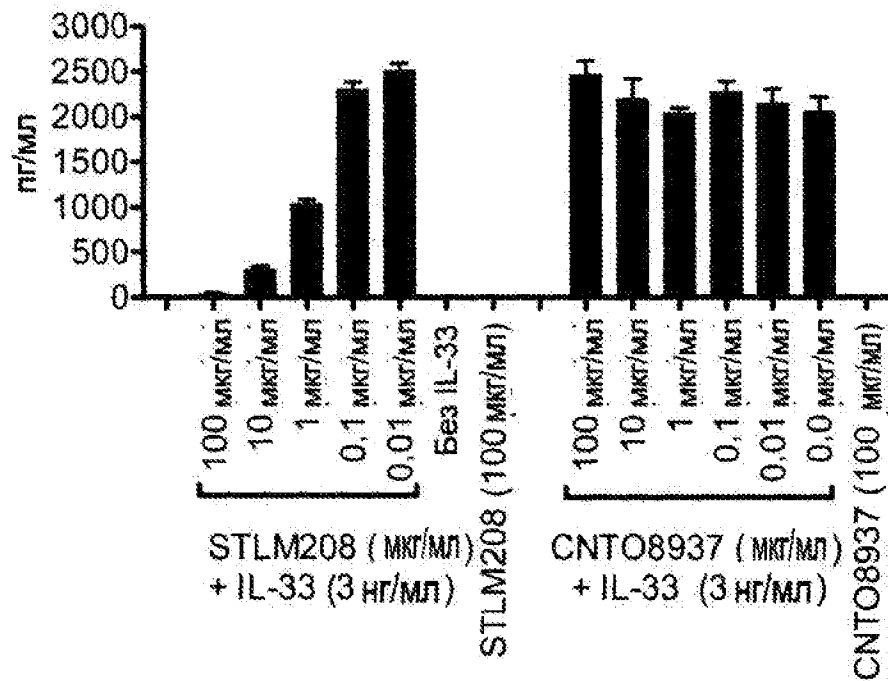
Фіг. 19

Первинні тучні клітини легень людини
GM-CSF



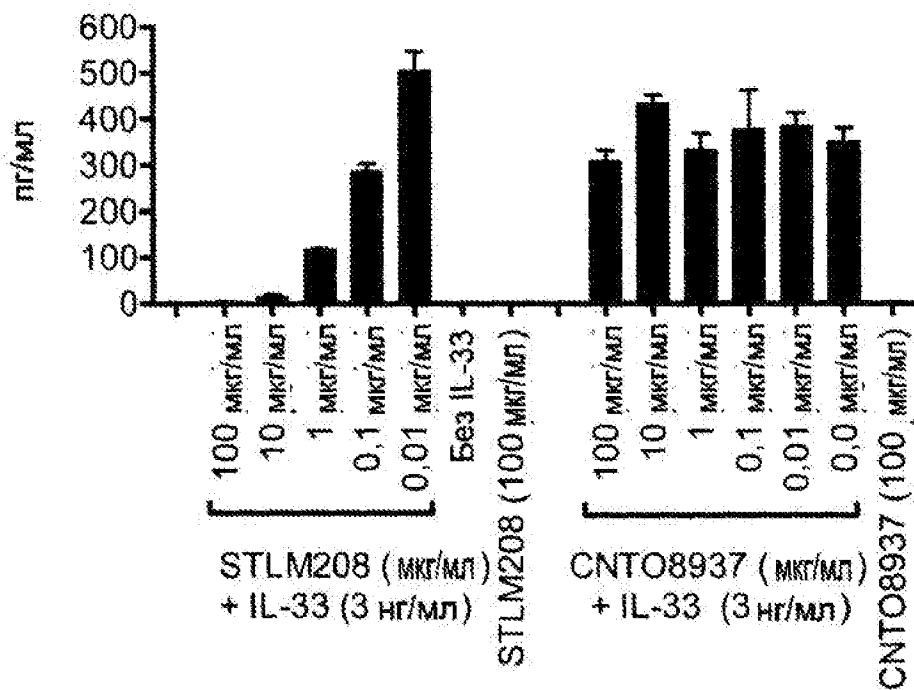
Фіг. 20A.

Первинні тучні клітини легень людини
IL-5



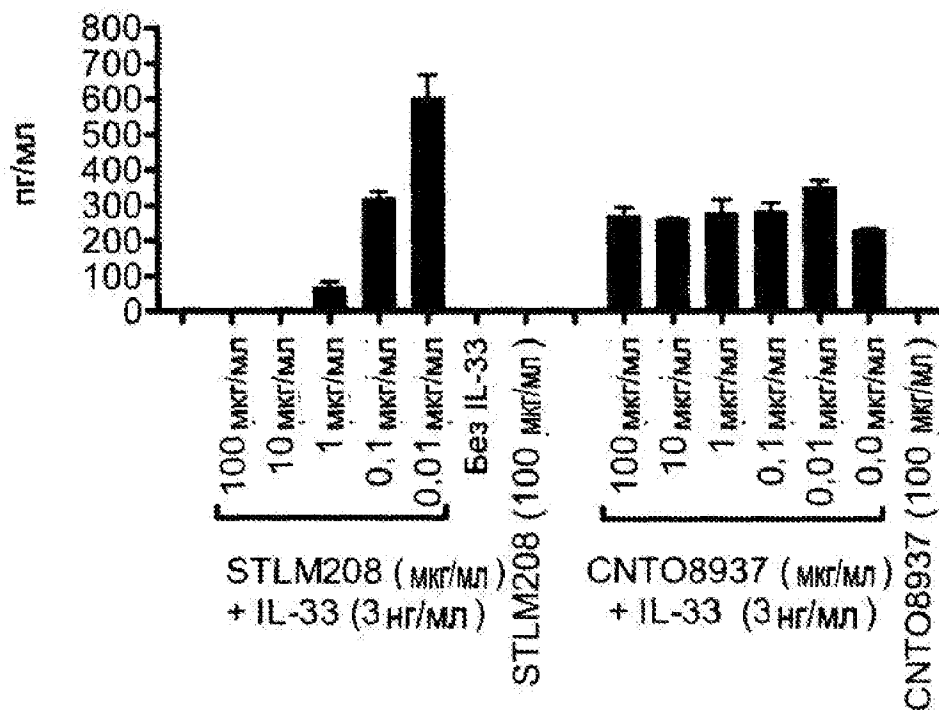
Фіг. 20B

Первинні тучні клітини легень людини
IL-8



Фіг. 20C

Первинні тучні клітини легень людини
IL-13



Фіг. 20D

Комп'ютерна верстка Л. Ціхановська

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601