

**УКРАЇНА****(19) UA****(11) 119328****(13) C2****(51) МПК****C07K 16/28** (2006.01)**C12N 15/13** (2006.01)**A61K 39/395** (2006.01)**A61P 11/06** (2006.01)

**МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ**

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки: а 2016 02101	(72) Винахідник(и): Сато Хірому (JP), Ямадзуку Дайсуке (JP), Араі Кадзунорі (JP), Огіно Мако (JP)
(22) Дата подання заявки: 08.08.2014	(73) Власник(и): АСТЕЛЛАС ФАРМА ІНК., 5-1, Nihonbashi-Honcho 2-chome, Chuo-ku, Tokyo 1038411, Japan (JP)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 10.06.2019	(74) Представник: Мошинська Ніна Миколаївна, реєстр. №115
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 2013-165676	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: JP 2011511638 A, 14.04.2011 JP 2009523426 A, 25.06.2009 JP 2010530233 A, 09.09.2010 WO 2012007495 A1, 19.01.2012
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 09.08.2013	
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: JP	
(41) Публікація відомостей про заявку: 25.04.2016, Бюл.№ 8	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.06.2019, Бюл.№ 11	
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: РСТ/JP2014/071008, 08.08.2014	

(54) АНТИТІЛО ДО TSLP-РЕЦЕПТОРА ЛЮДИНИ**(57) Реферат:**

Винахід стосується антитіла до TSLP-рецептора людини або його антигензв'язувального фрагмента, у тому числі антитіла, в якому глутамінова кислота на N-кінці важкого ланцюга антитіла або його антигензв'язувального фрагмента модифікована в піроглутамінову кислоту. Винахід також стосується експресійного вектора, клітини-хазяїна, способу отримання антитіла, фармацевтичної композиції, яка містить таке антитіло, та застосування антитіла для виготовлення фармацевтичної композиції для профілактики або лікування астми.

UA 119328 C2

ОПИС
ГАЛУЗЬ ТЕХНІКИ
[0001]

Даний винахід стосується нових антитіл до TSLP-рецептору людини.

5 ПЕРЕДУМОВИ ВІНАХОДУ
[0002]

Тимусний стромальний лімфопоетин (TSLP) є цитокіном, який продукується епітеліальними клітинами у відповідь на прозапальні стимули. У основному, TSLP посилює алергічну запальну відповідь за допомогою активації дендритних клітин і тучних клітин. Дендритні клітини експресують TSLP-рецептор і α -ланцюг IL-7-рецептора, які є членами сімейства гемопоетичних рецепторів, і TSLP зв'язується з гетеродимером, що складається з TSLP-рецептора і α -ланцюга IL-7-рецептора, тим самим активуючи дендритні клітини. Дендритні клітини, активовані TSLP, експресують запальні хемокіни, такі як регульований тимусом і активацією хемокін (TARC (CCL17)), хемокін макрофагального походження (MDC (CCL22)) і подібні до них (Nat. Immunol., 2002, Vol. 7, p. 673-680). Відомо, що TARC і MDC є Th2-хемокінами і зв'язуються з Th2-клітинами в місці запалення (Int. Immunol., 1999, Vol. 11, p. 81-88). Далі, дендритні клітини, активовані TSLP, індують диференціювання наївних Т-клітин в Th2-клітини, а Th2-клітини продукують IL-4, IL-5, IL-13 і TNF, і викликають запальну реакцію (Nat. Immunol., 2002, Vol. 7, p. 673 to 680).

[0003]

20 Повідомлялося про те, що активація дендритних клітин за допомогою TSLP через такі TSLP-рецептори бере участь в патології захворювань, включаючи такі алергічні запальні захворювання, як астма і системний склероз.

[0004]

25 Що стосується астми, то раніше повідомлялося, що в трансгенних мишах, в яких експресія TSLP посилена специфічно в легенях, викликана запальна відповідь в дихальних шляхах супроводжується збільшенням кількості IgE і Th2-цитокінів в легенях, і це веде до астматичної патології (Nat. Immunol., 2005, Vol. 6, p. 1047-1053). Крім того, в мишах нокаутних по TSLP-рецептору або в моделі астми, в якій вводяться антитіла до TSLP-рецептору, спостерігалось зниження продукції Th2-цитокінів і IgE в крові і поліпшення респіраторних функцій ((J. Exp. Med., 2005, Vol. 202, p. 829-839 і Clin. Immunol., 2008, Vol. 129, p. 202-210). В доповнення, повідомлялося, що у пацієнтів, які страждають на астму, експресія TSLP, TARC і MDC збільшувалася в астматичних дихальних шляхах, корелюючи з тяжкістю захворювання (J. Immunol., 2005, Vol. 174, p. 8183-8190 і J. Immunol., 2008, Vol. 181, p. 2790-2798).

[0005]

35 Відносно системного склерозу повідомлялося, що TSLP надекспресований в шкірі у пацієнтів з системним склерозом (Arthritis Rheum., 2013, Vol. 65, p. 1335-1346), і що експресія IL-13 і IL-17 в запаленій ділянці шкіри була майже повністю придушена, а частка колагену в гістопатології була значно поліпшена в блеомицин-індукованій моделі склеродерми з використанням мишей нокаутних по TSLP-рецептору (Ann. Rheum. Dis., 2013, Vol. 72, p. 2018-2023).

[0006]

45 Відповідно, коли може бути розроблене моноклональне антитіло, яке специфічно зв'язується з TSLP-рецептором людини і інгібує дія TSLP людини через TSLP-рецептор, очікується, що таке антитіло буде корисним для профілактики і лікування різних захворювань, при яких TSLP людини і TSLP-рецептор людини залучені до патології хвороби.

[0007]

50 Як антитіла до TSLP-рецептору людини, для яких дослідження вже ведуться, опубліковані 13H5 як мишаче моноклональне антитіло і hu13H5 як його гуманізоване антитіло (патентний документ 1), 1D6.C9 як мишаче моноклональне антитіло і Nv115-3B-IgG1 і NV115-3B-IgG4 як його химерні антитіла (патентний документ 1), NV164-2 і NV163-1 як повністю людські антитіла (патентний документ 3), і TSLPR-012_141 як гуманізоване моноклональне антитіло, отримане з хом'яка.

[0008]

55 У 13H5, нейтралізуюча активність підтверджена в методі аналізу TSLP-індукованої проліферації з використанням клітин лінії Ba/F3, які стабільно експресують TSLP-рецептор, але нейтралізуюча активність hu13H5 досі не підтверджена (патентний документ 1). Додатково, основуючись на описі патентних документів 2-4, з антитіл, описаних в цих документах, TSLPR-4_8 має найвищу нейтралізуючу активність (патентні документи 2-4). TSLPR-012_012 було оцінено за допомогою різних тестів на нейтралізуючу активність. Наприклад, в методі аналізу
60 TSLP-індукованої проліферації з використанням клітин Ba/F3, які стабільно експресують TSLP-

рецептор, в методі аналізу TSLP-індукованої продукції TARC, MDC і IL-8 з використанням отриманих з периферичної крові дендритних клітин людини, в методі аналізу TSLP-індукованої продукції Th2-цитокінів з використанням отриманих з периферичної крові дендритних клітин людини і в системах спільного культивування з наївними Т-клітинами і т. п. було підтверджено, що TSLPR-141_141 демонструють нейтралізуючу активність (патентний документ 2). Однак як лікарське антитіло бажано використовувати антитіло з найвищою нейтралізуючою активністю.

[0009]

Основні фактори, які визначають ефективне дозування препарату антитіла включають в себе зв'язувальну активність і нейтралізуючу активність антитіла проти антигену, а також кількість антигену, яка присутня в організмі. Збільшення зв'язувальної активності і нейтралізуючої активності приводить до зниження дозування, і, як наслідок, приводить до скорочення фінансового тягаря і медичних витрат пацієнтів, будучи надто корисними поліпшеннями.

[0010]

Таким чином, для профілактики і лікування різних захворювань необхідно отримати антитіло до TSLP-рецептору людини, яке перевершує по активності звичайні антитіла до TSLP-рецептору людини.

ПОПЕРЕДНІЙ РІВЕНЬ ТЕХНІКИ
ПАТЕНТНИЙ ДОКУМЕНТ

[0011]

[Патентний документ 1] WO з 2009/100324

[Патентний документ 2] WO з 2007/112146

[Патентний документ 3] WO з 2008/155365

[Патентний документ 4] WO з 2012/007495

ОПИС ВИНАХОДУ

ПРОБЛЕМИ, ЩО ВИРІШУЮТЬСЯ ЗА ДОПОМОГОЮ ВИНАХОДУ

[0012]

Задачею даного винаходу є створення антитіла до TSLP-рецептору людини, яке специфічно зв'язується з TSLP-рецептором людини і інгібує дію TSLP людини через TSLP-рецептор людини.

ЗАСОБИ РОЗВ'ЯЗАННЯ ПРОБЛЕМ

[0013]

В результаті інтенсивних досліджень авторів даного винаходу по отриманню антитіла до TSLP-рецептору людини, було запропоноване антитіло до TSLP-рецептору людини, яке містить варіабельну область важкого ланцюга, що складається з амінокислотної послідовності з номерами амінокислот 1-118 з SEQ ID NO: 1, і варіабельну область легкого ланцюга, що складається з амінокислотної послідовності з номерами амінокислот 1-108 з SEQ ID NO: 3. Було виявлено, що антитіло до TSLP-рецептору людини інгібує експресію мРНК TARC і продукцію білка MDC, індувану TSLP (приклади 5 і 6), і придушує алергічну реакцію в моделі сенсibiliзації до аскаридного антигену у мавп (приклад 7), за допомогою чого даний винахід був виконаний.

[0014]

А саме, даний винахід включає в себе наступні матеріали або способи, які є корисними в медицині або промисловості:

(1) Антитіло до TSLP-рецептору людини або його антигензв'язувальний фрагмент, які містять варіабельну область важкого ланцюга, що складається з амінокислотної послідовності з номерами амінокислот 1-118 з SEQ ID NO: 1, і варіабельну область легкого ланцюга, що складається з амінокислотної послідовності з номерами амінокислот 1-108 з SEQ ID NO: 3.

(2) Антитіло до TSLP-рецептору людини або його антигензв'язувальний фрагмент за п. (1) вище, де константна область важкого ланцюга антитіла являє собою константну область Igγ1 людини.

(3) Антитіло до TSLP-рецептору людини або його антигензв'язувальний фрагмент за п. (1) вище, де константна область легкого ланцюга антитіла являє собою константну область Igκ людини.

(4) Антитіло до TSLP-рецептору людини або його антигензв'язувальний фрагмент за п. (1) вище, де константна область важкого ланцюга антитіла являє собою константну область Igγ1 людини, і константна область легкого ланцюга антитіла являє собою константну область Igκ людини.

(5) Антигензв'язувальний фрагмент за будь-яким одним з пп. (1)-(4) вище, де антигензв'язувальний фрагмент являє собою одноланцюжковий фрагмент варіабельної області, Fab, Fab' або F(ab')₂.

(6) Антитіло до TSLP-рецептору людини за п. (1) вище, що містить важкий ланцюг, який складається з амінокислотної послідовності, представленої в SEQ ID NO: 1, і легкий ланцюг, який складається з амінокислотної послідовності, представленої в SEQ ID NO: 3.

(7) Антитіло до TSLP-рецептору людини за п. (1) вище, що містить важкий ланцюг, який складається з амінокислотної послідовності з номерами амінокислот 1-447 з SEQ ID NO: 1, і легкого ланцюга, що складається з амінокислотної послідовності, представленої в SEQ ID NO: 3.

(8) Полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує варіабельну область важкого ланцюга антитіла за п. (1) вище.

(9) Полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує варіабельну область легкого ланцюга антитіла за п. (1) вище.

(10) Експресійний вектор, що містить полінуклеотид за п. (8) і/або (9) вище.

(11) Клітина-хазяїн, трансформована експресійним вектором за п. (10) вище, яка вибрана з групи, яка складається з пп. (a)-(d):

(a) Клітина-хазяїн, трансформована експресійним вектором, що містить полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує варіабельну область важкого ланцюга антитіла до TSLP-рецептору людини за п. (1) вище, і полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує варіабельну область легкого ланцюга цього антитіла;

(b) Клітина-хазяїн, трансформована експресійним вектором, що містить полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує варіабельну область важкого ланцюга антитіла до TSLP-рецептору людини за п. (1) вище, і експресійним вектором, що містить нуклеотидну послідовність, яка кодує варіабельну область легкого ланцюга цього антитіла;

(c) Клітина-хазяїн, трансформована експресійним вектором, що містить полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність варіабельної області важкого ланцюга антитіла до TSLP-рецептору людини за п. (1) вище; і

(d) Клітина-хазяїн, трансформована експресійним вектором, що містить полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність варіабельної області легкого ланцюга антитіла до TSLP-рецептору людини за п. (1) вище.

(12) Клітина-хазяїн, трансформована експресійним вектором з (10) вище, які були відібрані з групи, яка складається з (a) до (d):

(a) Клітина-хазяїн, трансформована експресійним вектором, що містить полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує варіабельну область важкого ланцюга антитіла до TSLP-рецептору людини за п. (6) вище, і полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує варіабельну область легкого ланцюга цього антитіла;

(b) Клітина-хазяїн, трансформована експресійним вектором, що містить полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує варіабельну область важкого ланцюга антитіла до TSLP-рецептору людини за п. (6) вище, і експресійним вектором, що містить полінуклеотид, що містить нуклеотидну послідовність, яка кодує легкий ланцюг цього антитіла;

(c) Клітина-хазяїн, трансформована експресійним вектором, що містить полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує важкий ланцюг антитіла до TSLP-рецептору людини за п. (6) вище; і

(d) Клітина-хазяїн, трансформована експресійним вектором, що містить полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує легкий ланцюг антитіла до TSLP-рецептору людини за п. (6) вище.

(13) Спосіб отримання антитіла до TSLP-рецептору людини або його антигензв'язувального фрагмента, який включає культивування клітин-хазяїв за п. (11) вище для експресії антитіла до TSLP-рецептору людини або його фрагмента.

(14) Спосіб отримання антитіла до TSLP-рецептору людини, який включає культивування клітини-хазяїна за п. (12) вище для експресії антитіла до TSLP-рецептору людини.

(15) Антитіло до TSLP-рецептору людини або його антигензв'язувальний фрагмент, що отримується способом за п. (13) вище.

(16) Антитіло до TSLP-рецептору людини, що отримується способом за п. (14) вище.

(17) Фармацевтична композиція, що містить антитіло до TSLP-рецептору людини або його антигензв'язувальний фрагмент за будь-яким одним з пп. (1)-(7), (15) і (16) вище і фармацевтично прийнятний наповнювач.

(18) Фармацевтична композиція за п. (17) вище, яка являє собою фармацевтичну композицію для профілактики або лікування астми.

(19) Спосіб профілактики або лікування астми, який включає введення терапевтично ефективної кількості антитіла до TSLP-рецептору людини або його антигензв'язувального фрагмента за будь-яким одним з пп. (1)-(7), (15) і (16) вище.

5 (20) Антитіло до TSLP-рецептору людини або його антигензв'язувальний фрагмент за будь-яким одним з пп. (1)-(7), (15) і (16) вище для застосування при профілактики або лікуванні астми.

(21) Антитіло до TSLP-рецептору людини або його антигензв'язувальний фрагмент за будь-яким одним з пп. (1)-(7), (15) і (16) вище для виробництва фармацевтичної композиції для профілактики або лікування астми.

10 Антитіло до TSLP-рецептору людини або його антигензв'язувальний фрагмент за пп. (1)-(7), (15) і (16), який вище включає в себе злитий білок антитіла або його антигензв'язувального фрагмента з іншим пептидом або білком і модифікації, що включають модифікуючий агент, пов'язаний з ними.

ЕФЕКТИ ВИНАХОДУ

15 [0015]

Антитіло до TSLP-рецептору людини за даним винаходом зв'язується з TSLP-рецептором людини, має нейтралізуючу активність відносно дії TSLP людини через рецептор TSLP людини і може використовуватися як агент для профілактики і лікування алергічних запальних захворювань, такої як астма або системний склероз.

20 КОРОТКИЙ ОПИС КРЕСЛЕНЬ

[0016]

[Фіг. 1] На фіг. 1 показана інгібуюча активність повністю людського антитіла T7-27 на концентрацію IgE, специфічних до аскаридного антигену, в моделі сенсibilізації аскаридним антигеном у мавп. Вертикальна вісь представляє відносну плазматичну концентрацію IgE, специфічних до аскаридного антигену, для відповідних зразків, коли плазматична концентрація IgE, специфічних до аскаридного антигену, на 22-й день від одного індивідуума з групи носія прийнята за 2000 Од./мл. Показані концентрація IgE в 1-й день в групі носія і групі, якій вводили антитіло (до введення рідкого аскаридного антигену, ресуспендованого в алюміній-гідроксидному гелі), концентрація IgE на 22-й день в групі носія і концентрація IgE на 22-й день в групі, якій вводили антитіло.

[Фіг. 2] На фіг. 2 показана інгібуюча дія повністю людського T7-27 специфічну на аскаридний антиген шкірну реакцію в моделі сенсibilізації аскаридним антигеном у мавп. Показані результати введення фосфатно-сольового буфера (PBS) і 100 мкг/мл розчину аскаридного антигену на 22-й день. Вертикальна вісь представляє величину (дельта в мм), що є результатом віднімання діаметра шкірної реакції, викликаной PBS від діаметра шкірної реакції, викликаной розчином аскаридного антигену.

[Фіг. 3] На фіг. 3 показана інгібуюча дія антитіла до TSLP-рецептору на реакцію гіперреактивності дихальних шляхів в мишачій моделі астми. Вертикальна вісь представляє значення PenH, що використовується як показник функції дихання (**p<0,01, *p<0,05, ##p<0,01, #p<0,05).

[Фіг. 4] На фіг. 4 показана інгібуюча дія антитіла до TSLP-рецептору на інфільтрацію еозинофілів в мишачій моделі астми. Вертикальна вісь представляє кількість еозинофілів в клітинній суспензії BALF (**p<0,01).

45 [Фіг. 5] На фіг. 5 показана інгібуюча дія антитіла до TSLP-рецептору на експресію мРНК TARC в мишачій моделі астми. Вертикальна вісь представляє рівень експресії мРНК TARC.

Варіанти здійснення винаходу

[0017]

Далі, даний винахід буде описаний більш детально.

[0018]

50 Існує п'ять класів антитіл: IgG, IgM, IgA, IgD і IgE, і базова структура молекули антитіла складається з важких ланцюгів з молекулярною масою від 50000 до 70000 і легких ланцюгів з молекулярною масою від 20000 до 30000 загалом для кожного класу. Важкий ланцюг, який звичайно складається з поліпептидного ланцюга, що містить 440 амінокислотних залишків, має характерну структуру для кожного з класів, і називається Igγ, Igμ, Igα, Igδ і Igε аналогічно з IgG, IgM, IgA, IgD і IgE, відповідно. Додатково, IgG включає чотири підкласи IgG1, IgG2, IgG3, і IgG4, і їх важкі ланцюги відповідно називаються Igγ1, Igγ2, Igγ3 і Igγ4. Легкий ланцюг звичайно містить 220 амінокислотних залишків, серед яких відомо два типи, тип L і тип K, і вони називаються Igλ і Igκ. У білковій конфігурації базової структури молекул антитіл два гомологічні важкі ланцюги і два гомологічні легкі ланцюги пов'язані дисульфідними (S-S зв'язки) і нековалентними зв'язками, і їх молекулярна вага складає від 150000 до 190000. Два типи легких ланцюгів

можуть бути пов'язані з будь-яким важким ланцюгом. Відповідні молекули антитіла, як правило, складаються з двох ідентичних легких ланцюгів і двох ідентичних важких ланцюгів.

[0019]

Відносно внутрішніх S-S зв'язків, у важкому ланцюгу присутні чотири S-S зв'язки (п'ять в $I\mu$ і $I\epsilon$), і два з них присутні в легкому ланцюгу; одна петля утворюється на 100-110 амінокислотних залишків, і дана просторова структура схожа у всіх петель і називається структурною одиницею або доменом. Домен, розташований на аміноконцевій (N-кінцевій) стороні обох важкого і легкого ланцюгів, амінокислотна послідовність якого не постійна навіть у разі представників одного класу (підкласу) з однієї і тієї ж тварини, називається варіабельною областю, і відповідні домени називаються варіабельною областю важкого ланцюга (V_H) і варіабельною областю легкого ланцюга (V_L). Амінокислотна послідовність з карбоксильної (C-кінцевої) сторони від варіабельної області майже незмінна для кожного класу або підкласу і називається константною областю (кожний з доменів називається C_H1 , C_H2 , C_H3 і C_L , відповідно).

[0020]

Ділянка розпізнавання антигену в антитілі складається з V_H і V_L , і його специфічність зв'язування залежить від амінокислотної послідовності в даній ділянці. З іншого боку, такі види біологічної активності, як зв'язування з системою комплементу і різними клітинами, відображають відмінності в структурах константних областей серед різних класів Ig. Відомо, що змінюваність варіабельних областей легких і важких ланцюгів в основному лімітована трьома невеликими гіперваріабельними областями, присутніми в обох ланцюгах, і ці області називаються областями, які визначають комплементарність (CDR: CDR1, CDR2 і CDR3, починаючи з N-кінця). Інша ділянка варіабельної області називається каркасною областю (FR) і є відносно постійною.

[0021]

Крім того, різні види антигензв'язувальних фрагментів, що містять V_H і V_L антитіла, мають антигензв'язувальну активність. Наприклад, одноланцюжковий фрагмент варіабельної області (scFv), Fab, Fab' і $F(ab')_2$ приведені як приклади типових антигензв'язувальних фрагментів. Fab є моновалентним антигензв'язувальним фрагментом, який утворений легким ланцюгом і фрагментом важкого ланцюга, що включає в себе V_H , C_H1 і ділянку шарнірної області. Fab' є моновалентним антигензв'язувальним фрагментом, який утворений легким ланцюгом і фрагментом важкого ланцюга, що включає в себе V_H , C_H1 і ділянку шарнірної області, і залишки цистеїну, які утворюють S-S зв'язки між важкими ланцюгами, включені в ділянку шарнірної області. $F(ab')_2$ є бівалентним антигензв'язувальним фрагментом, що має димерну структуру, в якій два Fab'-фрагменти зв'язані один з одним за допомогою S-S зв'язків в шарнірній області. scFv є моновалентним антигензв'язувальним фрагментом, який складається з V_H і V_L , з'єднаних за допомогою лінкерного пептиду.

[0022]

<Антитіло до TSLP-рецептору людини за даним винаходом>

Антитіло до TSLP-рецептору людини або його антигензв'язувальний фрагмент за даним винаходом являє собою антитіло до TSLP-рецептору людини або його антигензв'язувальний фрагмент, що має наступні характеристики.

Антитіло до TSLP-рецептору людини або його антигензв'язувальний фрагмент, який містить варіабельну область важкого ланцюга, що складається з амінокислотної послідовності з номерами амінокислот 1-118 з SEQ ID NO: 1, і варіабельну область легкого ланцюга, що складається з амінокислотної послідовності з номерами амінокислот 1-108 з SEQ ID NO: 3.

[0023]

Переважно, щоб антитіло до TSLP-рецептору людини або його антигензв'язувальний фрагмент за даним винаходом мали вищеописані характеристики і додатково містили константну область важкого ланцюга і константну область легкого ланцюга. Як константна область можуть бути вибрані будь-які підкласи константних областей (наприклад, константна область $I\gamma1$, $I\gamma2$, $I\gamma3$ і $I\gamma4$ як константна область важкого ланцюга і константні області $I\mu$ або $I\kappa$ як константні області легкого ланцюга), але переважна константна область $I\gamma1$ людини як константна область важкого ланцюга і константна область $I\kappa$ людини як константна область легкого ланцюга.

[0024]

Константна область $I\gamma1$ людини включає в себе, наприклад, константну область $I\gamma1$ людини, що складається з амінокислотної послідовності з номерами амінокислот 119-448 з SEQ ID NO:1.

[0025]

Константна область Igk людини включає в себе, наприклад, константну область Igk людини, що складається з амінокислотної послідовності з номерами амінокислот 109-214 з SEQ ID NO:3. [0026]

Крім того, як антитіло до TSLP-рецептору людини або його антигензв'язувального фрагмента за даним винаходом, переважним є антитіло до TSLP-рецептору людини або його антигензв'язувальний фрагмент, що містить описану вище варіабельну область важкого ланцюга і варіабельну область легкого ланцюга, в яких константною областю важкого ланцюга є константна область Igγ1 людини, а константною областю легкого ланцюга є константна область Igk людини.

У одному варіанті здійснення антигензв'язувальним фрагментом за даним винаходом є scFv, Fab, Fab', або F(ab')₂. [0027]

Будь-який фахівець в даній галузі може сконструювати антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент, злиті з іншим пептидом або білком, а так само може сконструювати модифікацію, що має зв'язаний з нею модифікуючий агент, використовуючи відомі в даній галузі способи. Антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент за даним винаходом включає антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент в формі такого злитого білка або модифікації. Наприклад, антитіло до TSLP-рецептору людини або його антигензв'язувальний фрагмент, які містять варіабельну область важкого ланцюга, що складається з амінокислотної послідовності з номерами амінокислот 1-118 з SEQ ID NO:1, і варіабельну область легкого ланцюга, що складається з амінокислотної послідовності з номерами амінокислот 1-108 з SEQ ID NO:3, включає антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент, злиті з іншим пептидом або білком, і модифікацію, при якій модифікуючий агент зв'язаний з ними. Інший пептид або білок, що використовується для злиття, конкретно не обмежений, за умови, що він не знижує зв'язувальну активність антитіла або його антигензв'язувального фрагмента; їх приклади включають сироватковий альбумін людини, різні тегові пептиди, штучні пептиди зі спіральними мотивами, мальтозозв'язувальні білки, глутатіон-S-трансферазу, різні токсини, інші пептиди або білки, здатні сприяти мультимеризації, і т. п. Модифікуючий агент, що використовується для модифікації, конкретно не обмежений, за умови, що він не знижує зв'язувальну активність антитіла або його антигензв'язувального фрагмента; їх приклади включають поліетиленгліколь, ланцюги цукру, фосфоліпіди, ліпосоми, низькомолекулярні сполуки і т. п.

У одному варіанті здійснення антитіло до TSLP-рецептору людини за даним винаходом є антитілом до TSLP-рецептору людини, що має наступні характеристики. [0028]

Антитіло до TSLP-рецептору людини, що містить важкий ланцюг, який складається з амінокислотної послідовності, представленої у в SEQ ID NO:1, і легкий ланцюг, який складається з амінокислотної послідовності, представленої в SEQ ID NO:3.

У випадку, коли антитіло експресується в клітинах, відомо, що антитіло модифікується після трансляції. Приклади посттрансляційної модифікації включають в себе видалення лізину з С-кінця важкого ланцюга за допомогою карбоксипептидази, модифікацію глутамінової кислоти або глутаміну на N-кінці важкого ланцюга в піроглутамінову кислоту за допомогою піроглутамінування і т. п. Відомо, що лізин на С-кінці важкого ланцюга видалений, і більша частина глутаміну на N-кінці важкого ланцюга модифікована в піроглутамінову кислоту (Journal of Pharmaceutical Sciences, 2008, Vol. 97, p. 2426). Крім того, також відомо, що модифікація після трансляції не впливає на активність антитіла в даній галузі (Analytical Biochemistry, 2006, Vol. 348, p. 24-39).

Антитіло за даним винаходом включає в себе антитіло, модифіковане після трансляції під час експресії в клітинах, таке як антитіло, яке містить видалений з С-кінця важкого ланцюга лізин, антитіло, в якому глутамін або глутамінова кислота на N-кінці важкого ланцюга модифіковані в піроглутамінову кислоту за допомогою піроглутамінування, і т. п. в доповненні до антитіла, що містить повнорозмірний важкий ланцюг. Додатково, антигензв'язувальний фрагмент за даним винаходом включає в себе антигензв'язувальний фрагмент, модифікований після трансляції під час експресії в клітинах, такий як антигензв'язувальний фрагмент, в якому глутамін або глутамінова кислота на N-кінці важкого ланцюга модифіковані в піроглутамінову кислоту за допомогою піроглутамінування.

[0030]

[0031]

[0032]

Наприклад, антитіло до TSLP-рецептору людини за винаходом включає в себе антитіло до TSLP-рецептору людини, описане нижче.

Антитіло до TSLP-рецептору людини, що містить важкий ланцюг, який складається з амінокислотної послідовності, представленої в SEQ ID NO:1, в якій глутамінова кислота в позиції 1 в SEQ ID NO:1 модифікована в піроглутамінову кислоту і/або видалений лізин з амінокислотним номером 448 в SEQ ID NO:1, і легкий ланцюг, який складається з амінокислотної послідовності, представленої в SEQ ID NO:3.

[0033]

Даний винахід включає антитіло до TSLP-рецептору людини або його антигензв'язувальний фрагмент, що має наступні характеристики.

Антитіло до TSLP-рецептору людини або його антигензв'язувальний фрагмент, які містять варіабельну область важкого ланцюга, що містить CDR1, яка складається з амінокислотної послідовності з номерами амінокислот 31-35 з SEQ ID NO:1, CDR2, яка складається з амінокислотної послідовності з номерами амінокислот 50-66 з SEQ ID NO:1, і CDR3, яка складається з амінокислотної послідовності з номерами амінокислот 99-107 з SEQ ID NO:1, і варіабельну область легкого ланцюга, що містить CDR1, яка складається з амінокислотної послідовності з номерами амінокислот 24-34 з SEQ ID NO:3, CDR2, яка складається з амінокислотної послідовності з номерами амінокислот 50-56 з SEQ ID NO:3, і CDR3, яка складається з амінокислотної послідовності з номерами амінокислот 89-97 з SEQ ID NO:3.

[0034]

Антитіло до TSLP-рецептору людини або його антигензв'язувальний фрагмент за даним винаходом зв'язується з TSLP-рецептором людини. Як для антитіла, так і для його антигензв'язувального фрагмента, зв'язування з TSLP-рецептором людини підтверджують з використанням способу вимірювання активності зв'язування в даній галузі. Приклади способів вимірювання активності зв'язування включають спосіб твердофазний імуоферментний аналіз (ELISA) або спосіб поверхневого плазмонного резонансу (SPR). У разі використання ELISA, у використаному для прикладу способі, злитий білок TSLP-рецептора і Fc людини (злитий білок TSLP-рецептор людини-Fc людини (кодується нуклеотидною послідовністю SEQ ID NO:5)) іммобілізується на ELISA-планшеті, а досліджуване антитіло додається до нього для проходження реакції. Після реакції, проводять взаємодію з вторинним антитілом, таким як анти-IgG антитіло і т. п., міченим ферментом, таким як пероксидаза хрину (HRP), і відмивають його, після чого можна підтвердити, чи зв'язується досліджуване антитіло з TSLP-рецептором людини за допомогою вимірювання активності з використанням реагенту для виявлення активності (наприклад, у випадку мічення HRP-BM-хемілюмінесцентного ELISA-субстрату (POD) (Roche Diagnostics. Inc.)). У разі використання SPR, наприклад, можливе використання Biacore (зарєєстрована торгова марка) 2000 (GE Healthcare Japan Corporation). У використаному для прикладу способі, досліджуване антитіло іммобілізоване на поверхні сенсорного чипа, а злитий білок TSLP-рецептора людини і мишачий Fc (злитий білок TSLP-рецептор людини-Fc миші (кодується нуклеотидною послідовністю SEQ ID NO:6)) додається в потік. Підтвердити, чи зв'язується антитіло, що тестується, з TSLP-рецептором людини, можна, аналізуючи константу швидкості зв'язування (ka), константу швидкості дисоціації (kd), і константу дисоціації (KD) між антитілом і TSLP-рецептором людини.

[0035]

Додатково, антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент за даним винаходом включають антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент, що зв'язується з TSLP-рецептором, отриманим з інших тварин (наприклад, TSLP-рецептором мавпи) і зв'язувальна активність з цими рецепторами може бути виміряна з використанням цих же способів.

[0036]

Переважно, щоб антитіло до TSLP-рецептору людини або його антигензв'язувальний фрагмент за даним винаходом зв'язувалися з TSLP-рецептором людини і мали нейтралізуючу активність відносно TSLP-рецептора людини. Нейтралізуюча активність відносно TSLP-рецептора людини означає активність, інгібуючу будь-яку біологічну активність TSLP шляхом зв'язування з TSLP-рецептором людини, і може бути оцінена на основі однієї або декількох біологічної активності TSLP людини через TSLP-рецептор людини як показник. Приклади такої нейтралізуючої активності включають інгібуючу активність відносно TSLP-індукованої експресії мРНК TARC і інгібуючу активність відносно TSLP-індукованої продукції білка MDC з використанням моноклеарних клітин периферичної крові людини (PBMC), а способи, описані в прикладах 5 і 6 нижче, можуть бути використані як специфічні способи оцінки.

[0037]

Для більш детальної оцінки ефектів антитіла до TSLP-рецептору людини або його антигензв'язувального фрагмента за даним винаходом можна використати дослідження *in vivo*. Наприклад, в прикладі 7, приведеному нижче, описано, що можна оцінити ефекти антитіла до TSLP-рецептору людини *in vivo* за допомогою тесту на придушення алергічної реакції з використанням моделі сенсibilізації аскаридним антигеном у мавп.

[0038]

Антитіло до TSLP-рецептору людини або його антигензв'язувальний фрагмент за винаходом можуть бути легко отримані фахівцем в даній галузі з використанням відомого способу в даній галузі на основі інформації про послідовність варіабельної області важкого ланцюга і варіабельної області легкого ланцюга антитіла до TSLP-рецептору людини за винаходом, описаного в даній специфікації. Антитіло до TSLP-рецептору людини або його антигензв'язувальний фрагмент за даним винаходом конкретно не обмежені, але вони можуть бути отримані відповідно до способу, описаного в розділі <Спосіб отримання антитіла до TSLP-рецептору людини за винаходом>, приведеному нижче.

[0039]

Антитіло до TSLP-рецептору людини або його антигензв'язувальний фрагмент за даним винаходом додатково очищають при необхідності і вводять в рецептуру відповідно до звичайного способу. Вони можуть бути використані для профілактики або лікування захворювань, при яких TSLP людини і TSLP-рецептор людини беруть участь в патології захворювання, що включає алергічні запальні захворювання, такі як астма і системний склероз.

[0040]

<Полінуклеотид за даним винаходом>

Полінуклеотид за даним винаходом включає полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує варіабельну область важкого ланцюга антитіла до TSLP-рецептору людини за даним винаходом, і полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує варіабельну область легкого ланцюга антитіла до TSLP-рецептору людини за даним винаходом.

[0041]

У одному варіанті здійснення полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує варіабельну область важкого ланцюга антитіла до TSLP-рецептору людини за даним винаходом, являє собою полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує варіабельну область важкого ланцюга, що складається з амінокислотної послідовності з номерами амінокислот 1-118 з SEQ ID NO:1.

[0042]

Полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує варіабельну область важкого ланцюга, представлену амінокислотною послідовністю з номерами амінокислот 1-118 з SEQ ID NO:1, включає, наприклад, полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність з номерами основ 1-354 з SEQ ID NO:2.

[0043]

У переважному варіанті здійснення полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує варіабельну область важкого ланцюга антитіла до TSLP-рецептору людини за даним винаходом, являє собою полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує важкий ланцюг, який складається з амінокислотної послідовності, представлені в SEQ ID NO:1.

[0044]

Полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує важкий ланцюг, який складається з амінокислотної послідовності, представлені в SEQ ID NO:1, включає, наприклад, полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, представлену в SEQ ID NO:2.

[0045]

У одному варіанті здійснення полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує варіабельну область легкого ланцюга антитіла до TSLP-рецептору людини за даним винаходом, являє собою полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує варіабельну область легкого ланцюга, що складається з амінокислотної послідовності з номерами амінокислот 1-108 з SEQ ID NO:3.

[0046]

Полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує варіабельну область легкого ланцюга, що складається з амінокислотної послідовності з номерами амінокислот 1-108 з SEQ ID NO:3, включає, наприклад, полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність з номерами основ 1-324 з SEQ ID NO:4.

[0047]

У переважному варіанті здійснення полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує варіабельну область легкого ланцюга антитіла до TSLP-рецептору людини за даним винаходом, являє собою полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує легкий ланцюг, який складається з амінокислотної послідовності, представленої в SEQ ID NO:3.

5 [0048]

Полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує легкий ланцюг, який складається з амінокислотної послідовності, представленої в SEQ ID NO:3, включає, наприклад, полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, представлену в SEQ ID NO:4.

[0049]

10 Полінуклеотид за даним винаходом може бути легко отриманий фахівцем в даній галузі з використанням відомого способу в даній галузі на основі нуклеотидної послідовності. Наприклад, полінуклеотид за даним винаходом може бути синтезований з використанням відомого способу синтезу генів в даній галузі. Способи синтезу генів, включають, наприклад, різні способи, відомі фахівцям в даній галузі, такі як спосіб синтезу генів антитіл, описаний в WO 90/07861.

15 [0050]

<Експресійний вектор за даним винаходом, трансформована клітина-хазяїн за даним винаходом, спосіб отримання антитіла до TSLP-рецептору людини за даним винаходом і отримане цим способом антитіло до TSLP-рецептору людини>

20 Експресійний вектор за даним винаходом включає експресійний вектор, що включає полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує варіабельну область важкого ланцюга антитіла до TSLP-рецептору людини за даним винаходом, і/або полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує варіабельну область легкого ланцюга антитіла до TSLP-рецептору людини за даним винаходом.

25 [0051]

Переважні експресійні вектори за даним винаходом, включають експресійний вектор, що містить полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує важкий ланцюг антитіла до TSLP-рецептору людини за даним винаходом, експресійний вектор, що містить полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує легкий ланцюг антитіла до TSLP-рецептору людини за даним винаходом, або експресійний вектор, що містить полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує важкий ланцюг антитіла до TSLP-рецептору людини за даним винаходом, і полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує легкий ланцюг цього антитіла.

[0052]

35 Експресійний вектор, що використовується для експресії полінуклеотиду за даним винаходом, конкретно не обмежений, за умови що полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує варіабельну область важкого ланцюга антитіла до TSLP-рецептору людини за даним винаходом, і/або полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує варіабельну область легкого ланцюга антитіла до TSLP-рецептору людини за даним винаходом, можуть бути проекспресовані в різних еукаріотичних клітинах-хазяях (наприклад, клітинах тварин, клітинах комах, клітинах рослин і дріжджів) і/або прокаріотичних клітинах-хазяях (наприклад, *Escherichia coli*), і можуть бути отримані кодовані ними поліпептиди. Приклади експресійних векторів включають плазмідні вектори, вірусні вектори (наприклад, аденовірусні або ретровірусні) і т. п. Переважно використання pEE6.4 або pEE12.4 (Lonza, Inc.).

40 Крім того, гени антитіл можуть бути проекспресовані шляхом перенесення фрагмента гена варіабельної області в експресійні вектори, що вже містять константні області генів Ig людини, такі як AG-γ1 або AG-κ (наприклад, см WO 94/20632).

[0053]

Експресійний вектор за даним винаходом може включати промотор, який функціонально пов'язаний з полінуклеотидом за даним винаходом. Приклади промотору для експресії полінуклеотиду за винаходом в клітинах тварин включають отримані з вірусів промотори, такі як CMV, RSV, або SV40, промотор актину, промотор EF1α (фактора елонгації 1α) і промотор білка теплового шоку. Приклади промоторів для експресії в бактеріях (наприклад, в *Escherichia*) включають в себе Trp-промотор, lac-промотор, λPL-промотор і tac-промотор. Крім того,

50 приклади промоторів для експресії в дріжджах включають GAL1-промотор, GAL10-промотор, PH05-промотор, PGK-промотор, GAP-промотор і ADH-промотор.

[0054]

Трансформована клітина-хазяїн за даним винаходом включає в себе клітину-хазяїна, трансформовану експресійним вектором за даним винаходом, яка вибрана з групи, яка складається з наступних пп. (a)-(d):

60

(а) клітина-хазяїн, трансформована експресійним вектором, що включає полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує варіабельну область важкого ланцюга антитіла до TSLP-рецептору людини за даним винаходом, і полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує варіабельну область легкого ланцюга цього антитіла;

5 (b) клітина-хазяїн, трансформована експресійним вектором, що включає полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує варіабельну область важкого ланцюга антитіла до TSLP-рецептору людини за даним винаходом, і експресійним вектором, що включає полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує варіабельну область легкого ланцюга цього антитіла;

10 (c) клітина-хазяїн, трансформована експресійним вектором, що включає полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує варіабельну область важкого ланцюга антитіла до TSLP-рецептору людини за даним винаходом; і

(d) клітина-хазяїн, трансформована експресійним вектором, що включає полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує варіабельну область легкого ланцюга антитіла до TSLP-рецептору людини за даним винаходом.

[0055]

У одному варіанті здійснення трансформована клітина-хазяїн за даним винаходом являє собою клітину-хазяїна, трансформовану експресійним вектором за даним винаходом, яка вибрана з групи, яка складається з наступних пп.(а)-(d):

20 (а) клітина-хазяїн, трансформована експресійним вектором, що включає полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує важкий ланцюг антитіла до TSLP-рецептору людини за даним винаходом, і полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує легкий ланцюг цього антитіла;

25 (b) клітина-хазяїн, трансформована експресійним вектором, що включає полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує важкий ланцюг антитіла до TSLP-рецептору людини за даним винаходом, і експресійним вектором, що включає полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує легкий ланцюг цього антитіла;

30 (c) клітина-хазяїн, трансформована експресійним вектором, що включає полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує важкий ланцюг антитіла до TSLP-рецептору людини за даним винаходом; і

(d) клітина-хазяїн, трансформована експресійним вектором, що включає полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує легкий ланцюг антитіла до TSLP-рецептору людини за даним винаходом.

[0056]

35 У разі використання клітини тварини, клітини комахи або дріжджів як клітини-хазяїна, експресійний вектор за даним винаходом може містити кодон ініціації і кодон термінації. У цьому випадку експресійний вектор за даним винаходом може містити енхансерну послідовність, нетрансльовану область на 5'-стороні і 3'-стороні генів, що кодують антитіло за даним винаходом або варіабельну область важкого ланцюга або варіабельну область легкого ланцюга, секреторну сигнальну послідовність, сплайсингову сполуку, сайт поліаденілювання або реплікон. При використанні *Escherichia coli* як клітини-хазяїна, експресійний вектор за даним винаходом може містити кодон ініціації, кодон термінації, термінаторну область і реплікон. У цьому випадку експресійний вектор за даним винаходом може містити селективний маркер (наприклад, гени стійкості до тетрацикліну, гени стійкості до ампіциліну, гени стійкості до канаміцину, гени стійкості до неоміцину або гени дигідрофолатредуктази), який звичайно використовується при необхідності.

[0057]

Переважні приклади трансформованої клітини-хазяїна за даним винаходом включають в себе клітину-хазяїна, трансформовану експресійним вектором, що включає полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує важкий ланцюг антитіла до TSLP-рецептору людини за даним винаходом, і полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує легкий ланцюг цього антитіла, і клітини-хазяїна, трансформованої експресійним вектором, що включає полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує важкий ланцюг антитіла до TSLP-рецептору людини за даним винаходом, і експресійним вектором, що включає полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує легкий ланцюг цього антитіла.

[0058]

60 Трансформована клітина-хазяїн особливо не обмежена, за умови, що клітина-хазяїн підходить для використовуваного експресійного вектора, трансформована експресійним вектором і може експресувати антитіло. Приклади трансформованої клітини-хазяїна включають різні клітини, такі як природні клітини або штучно створені клітини, які звичайно

використовуються в галузі даного винаходу (наприклад, клітини тварин (наприклад, клітини CHO-K1SV), клітини комах (наприклад, Sf9), бактерії (наприклад, Escherichia), дріжджі (наприклад, Saccharomyces або Pichia) і т. п.). Переважно використовувати клітини, що культивуються, такі як клітини CHO-K1SV, клітини CHO-DG 44, клітини 293 або клітини NS0.

5 [0059]

Спосіб трансформації клітини-хазяїна конкретно не обмежений, але, наприклад, можна використовувати кальцій-фосфатний спосіб або електропораційний спосіб.

[0060]

10 Способи отримання антитіла до TSLP-рецептору людини або його антигензв'язувального фрагмента за даним винаходом включають в себе спосіб отримання антитіла до TSLP-рецептору людини або його антигензв'язувального фрагмента, який включає культивування трансформованої клітини-хазяїна за даним винаходом для експресії антитіла до TSLP-рецептору людини або його антигензв'язувального фрагмента.

[0061]

15 Антитіло до TSLP-рецептору людини або його антигензв'язувальний фрагмент за даним винаходом включає антитіло до TSLP-рецептору людини або його антигензв'язувальний фрагмент, отримані способом отримання антитіла до TSLP-рецептору людини або його антигензв'язувального фрагмента за даним винаходом.

[0062]

20 Спосіб отримання антитіла до TSLP-рецептору людини або його антигензв'язувального фрагмента за даним винаходом конкретно не обмежений, за умови, що спосіб включає культивування трансформованої клітини-хазяїна за даним винаходом для експресії антитіла до TSLP-рецептору людини або його антигензв'язувального фрагмента. Переважна клітина-хазяїн, що використовується в способі, включає як переважний приклад трансформовану клітину-хазяїна за даним винаходом, яка описано вище.

[0063]

Трансформовані клітини-хазяїни можна культивувати за допомогою відомих способів. Умови культивування, наприклад, температуру, pH культурального середовища і час культивування, вибирають відповідно. У випадку, коли клітина-хазяїн являє собою тваринну клітину, приклади культурального середовища включають культуральне середовище MEM, що містить приблизно від 5 % до 20 % фетальної бичачої сироватки (Science, 1959, Vol. 130, No. 3373, p. 432-7), культуральне середовище DMEM (Virology, 1959, Vol. 8, p. 396), а також культуральне середовище RPMI 1640 (J. Am. Med. Assoc., 1967, Vol. 199, p. 519) і культуральне середовище 199 (Exp. Biol. Med., 1950, Vol. 73, p. 1-8). Значення pH культурального середовища, переважно, становить приблизно від 6 до 8, а культивування звичайно проводять при температурі приблизно 30 °C-40 °C протягом приблизно 15-72 годин при вентиляції повітрям і перемішуванні при необхідності. У випадку, коли клітина-хазяїн являє собою клітину комах, як культуральне середовище, наприклад, може використовуватися культуральне середовище Грейса (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1985, Vol. 82, p. 8404), доповнене фетальною бичачою сироваткою. Значення pH культурального середовища, переважно, становить приблизно 5-8, а культивування звичайно проводять при температурі приблизно 20 °C-40 °C протягом приблизно 15-100 годин при вентиляції повітрям і перемішуванні при необхідності. У випадку, коли клітина-хазяїн являє собою Escherichia coli або дріжджі, як культуральне середовище, наприклад, підходить рідке культуральне середовище, що містить джерело поживних речовин. Переважно, щоб поживне культуральне середовище включало джерело вуглецю, неорганічне джерело азоту або органічне джерело азоту, необхідне для росту трансформованої клітини-хазяїна. Приклади джерела вуглецю включають глюкозу, декстран, розчинний крохмаль, сахарозу, а приклади неорганічного джерела азоту або органічного джерела азоту включають солі амонію, нітратні солі, амінокислоти, рідкий кукурудзяний екстракт, пептон, казеїн, м'ясний екстракт, соєву макуху і картопляний екстракт. Інші поживні речовини (наприклад, неорганічні солі (наприклад, хлорид кальцію, дигідрофосфат натрію і хлорид магнію), вітаміни і антибіотики (наприклад, тетрациклін, неоміцин, ампіцилін і канаміцин)) можуть бути включені за бажанням. Значення pH культурального середовища, переважно, становить приблизно від 5 до 8. У випадку, коли клітина-хазяїн являє собою Escherichia coli, переважні приклади культурального середовища включають культуральне середовище LB і культуральне середовище M9 (Mol. Clo., Cold Spring Harbor Laboratory, Vol. 3, A2.2). Культивування звичайно проводять при температурі приблизно 14 °C-43 °C протягом приблизно 3-24 годин при вентиляції повітрям і перемішуванні при необхідності. У випадку, коли клітина-хазяїн представляє дріжджі, як культуральне середовище, наприклад, може бути використане мінімальне середовище Беркхолдера (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1980, Vol. 77, p. 4505). Культивування звичайно проводять при температурі приблизно

20 °C-35 °C протягом приблизно 14-144 годин при вентиляції повітрям і перемішуванні при необхідності. При проведенні культивування вищеописаним способом можна експресувати антитіло до TSLP-рецептору людини або його антигензв'язувальний фрагмент за даним винаходом.

5 [0064]

У доповнення до культивування трансформованих клітин-хазяїв за даним винаходом для експресії антитіла до TSLP-рецептору людини або його антигензв'язувального фрагмента спосіб отримання антитіла до TSLP-рецептору людини або його антигензв'язувального фрагмента за даним винаходом може включати в себе виділення, переважно екстракцію або
10 очищення, антитіла до TSLP-рецептору людини або його антигензв'язувального фрагмента з трансформованих клітин-хазяїв. Приклади способу виділення або очищення включають способи, в яких використовується розчинність, такі як висолювання і спосіб осадження розчинником; способи, в яких використовується відмінність в молекулярній масі, такі як діаліз, ультрафільтрація, гель-фільтрація; способи, в яких використовується електричний заряд, такі як
15 іонообмінна хроматографія і гідроксилапатитна хроматографія; способи, в яких використовується специфічна спорідненість, такі як афінна хроматографія; способи, в яких використовується відмінність в гідрофобності, такі як зворотнофазова високоефективна рідинна хроматографія; і способи, в яких використовуються відмінності в ізоелектричних точках, такі як ізоелектрофокусуючий форез. Переважно, щоб антитіла, які накопичуються в культуральному
20 супернатанті, можна було очищати за допомогою різних хроматографічних методів, наприклад, колонковою хроматографією з використанням колонки з білком А або колонки з білком G.

[0065]

<Фармацевтична композиція за даним винаходом>

Фармацевтичні композиції за даним винаходом включають в себе фармацевтичну
25 композицію, що містить антитіло до TSLP-рецептору людини або його антигензв'язувальний фрагмент за даним винаходом і фармацевтично прийнятні допоміжні речовини. Фармацевтична композиція за даним винаходом може бути отримана способом, що звичайно використовується з допоміжними речовинами, а саме, з допоміжними речовинами для медицини або з носіями для медицини, що звичайно використовуються в даній галузі. Приклади лікарських форм
30 фармацевтичних композицій включають парентеральні препарати, такі як препарати для ін'єкцій і препарати для краплинного вливання, і вони можуть бути введені внутрішньовенно, підшкірно або аналогічним шляхом. При отриманні лікарських препаратів, допоміжні речовини, носії і добавки відповідно до лікарської форми можуть бути використані в фармацевтично прийнятному діапазоні.

35 [0066]

Фармацевтичні композиції за даним винаходом можуть включати в себе множину видів антитіл до TSLP-рецептору людини або їх антигензв'язувальних фрагментів за даним винаходом. Наприклад, даний винахід включає фармацевтичну композицію, що містить
40 антитіло, в якому видалений лізин на С-кінці важкого ланцюга, антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент з посттрансляційною модифікацією на N-кінці, антитіло, в якому видалений лізин на С-кінці важкого ланцюга і проведена посттрансляційна модифікація на N-кінці, і/або антитіло, яке має лізин на С-кінці важкого ланцюга і не має посттрансляційної модифікації на N-кінці.

[0067]

45 Наприклад, фармацевтична композиція за даним винаходом, що містить антитіло до TSLP-рецептору людини за даним винаходом, включає в себе фармацевтичну композицію, яка містить два або декілька видів антитіла до TSLP-рецептору людини за пп. (1)-(4) нижче.

(1) Антитіло до TSLP-рецептору людини, що включає важкий ланцюг, який складається з амінокислотної послідовності з номерами амінокислот 1-447 з SEQ ID NO:1, і легкий ланцюг,
50 який складається з амінокислотної послідовності, представленої в SEQ ID NO:3.

(2) Антитіло до TSLP-рецептору людини, що включає важкий ланцюг, який складається з амінокислотної послідовності, представленої в SEQ ID NO:1, в якій глутамінова кислота з амінокислотним номером 1 модифікована в піроглутамінову кислоту, і легкий ланцюг, який
55 складається з амінокислотної послідовності, представленої в SEQ ID NO:3.

(3) Антитіло до TSLP-рецептору людини, що включає важкий ланцюг, який складається з амінокислотної послідовності з номерами амінокислот 1-447 з SEQ ID NO:1, в якій глутамінова кислота з амінокислотним номером 1 модифікована в піроглутамінову кислоту, і легкий ланцюг,
який складається з амінокислотної послідовності, представленої в SEQ ID NO:3.

(4) Антитіло до TSLP-рецептору людини, що включає важкий ланцюг, який складається з амінокислотної послідовності, представленої в SEQ ID NO:1, і легкий ланцюг, який складається з амінокислотної послідовності, представленої в SEQ ID NO:3.

[0068]

5 Кількість антитіла до TSLP-рецептору або його антигензв'язувального фрагмента за даним винаходом, що додається в лікарський препарат, варіює залежно від ступеня вираженості симптомів пацієнта, віку пацієнта, лікарської форми препарату, що використовується, титру зв'язування антитіла і т. п., і, наприклад, може бути використана кількість, що додається, з приблизно від 0,001 мг/кг до 100 мг/кг.

10 [0069]

Фармацевтична композиція за даним винаходом може бути використана як фармацевтична композиція для профілактики або лікування захворювань, при яких TSLP людини і TSLP-рецептор людини беруть участь в патології захворювання, таких як астма.

[0070]

15 Даний винахід включає фармацевтичну композицію для профілактики або лікування астми, що містить антитіло до TSLP-рецептору людини або його антигензв'язувальний фрагмент за даним винаходом. Крім того, даний винахід включає спосіб профілактики або лікування астми, що включає введення терапевтично ефективної кількості антитіла до TSLP-рецептору людини або його антигензв'язувального фрагмента за даним винаходом. Додатково, даний винахід
20 включає антитіло до TSLP-рецептору людини або його антигензв'язувальний фрагмент за даним винаходом для застосування в профілактиці або ліванні астми. Додатково, даний винахід включає використання антитіла до TSLP-рецептору людини або його антигензв'язувального фрагмента за даним винаходом для виробництва фармацевтичної композиції для профілактики або лікування астми.

25 [0071]

Даний винахід був описаний в загальному значенні, а для кращого розуміння будуть приведені конкретні приклади, на які дається посилання, але вони є тільки прикладами і не обмежують даний винахід.

[Приклади]

30 [0072]

Відносно частин, в яких використовуються комерційно доступні набори або реактиви, тести проводяться відповідно до прикладеного протоколу, якщо не вказане інше. Крім того, для зручності, концентрація моль/л виражена як М. Наприклад, 1 М водний розчин гідроксиду натрію означає 1 моль/л водного розчину гідроксиду натрію.

35 [0073]

(Приклад 1: отримання злитого білка TSLP-рецептор-Fc)

Для оцінки зв'язувальної активності антитіла були отримані злитий білок TSLP-рецептора людини і Fc людини (злитий білок TSLP-рецептор людини-Fc людини), злитий білок TSLP-рецептор людини і Fc миші (злитий білок TSLP-рецептор людини-Fc миші) і злитий білок TSLP-рецептора мавпи і Fc людини (злитий білок TSLP-рецептор мавпи-Fc людини). Ген злитого білка TSLP-рецептора людини-Fc людини (SEQ ID NO:5), ген злитого білка TSLP-рецептора людини-Fc миші (SEQ ID NO:6) і ген злитого білка TSLP-рецептора мавпи-Fc людини (SEQ ID NO:7), відповідно, рекомбінували з вектором для експресії в клітинах ссавців, GS-вектором pEE12.4 (Lonza, Inc.). Отриманими векторами трансфікували клітини FreeStyle 293 (Life Technologies, Inc.) з використанням трансфекційного реагенту 293fectin (Life Technologies, Inc.), і клітини культивували в безсироватковій культуральній системі використання експресійного середовища FREESTYLE 293 (Life Technologies, Inc.) протягом одного тижня, а потім, відповідно, були отримані супернатанти, що містять злитий білок TSLP-рецептора людини-Fc людини, злитий білок TSLP-рецептора людини-Fc миші і злитий білок TSLP-рецептора мавпи-Fc людини. Відповідні злиті білки TSLP-рецептор-Fc очищали з використанням колонки для очищення білків - колонки з білком G (GE Healthcare Corporation Japan) з отриманих культуральних супернатантів.

[0074]

(Приклад 2: отримання мутованих білків TSLP з Flag-тегом)

55 Для оцінки нейтралізуючої активності антитіла були отримані мутований білок TSLP людини з Flag-тегом (мутований TSLP людини-Flag) і мутований білок TSLP мавпи з Flag-тегом (мутований TSLP мавпи-Flag). Ген мутованого TSLP людини або мавпи з Flag-тегом (SEQ ID NO:8 або 9 (які, відповідно, кодують амінокислотні послідовності TSLP дикого типу людини або мавпи, в які для попередження втрати активності внаслідок розщеплення фуриновою протеазою була внесена мутація в сайт розщеплення), відповідно, рекомбінували з GS-
60

вектором pEE12.4. Отриманими векторами трансфікували клітини FreeStyle 293 з використанням 293fectin, і клітини культивували в безсироватковій культуральній системі з використанням експресійного середовища FreeStyle 293 протягом одного тижня, а потім, відповідно, отримували культуральні супернатанти, що містять мутований білок TSLP людини з Flag-тегом або мутований білок TSLP мавпи з Flag-тегом. Відповідні мутовані білки TSLP з Flag-тегом очищали з отриманих культуральних супернатантів за допомогою афінного гелю з анти-FLAG антитілом M2 (Sigma, Inc.).

[0075]

(Приклад 3: отримання повністю людського антитіла до TSLP-рецептору людини)

Мишу з технології отримання моноклональних антитіл людини, "VeloImmune" (технологія отримання антитіл VeloImmune, Regeneron, Inc. (патент США № 6596541)) імунізували ад'ювантом для стимуляції імунної відповіді, TSLP рецептором людини-Fc (R & D, Inc.) і експресуючими TSLP-рецептор людини клітинами Ba/F3 (отриманими шляхом перенесення векторів, що кодують ген TSLP-рецептора людини (SEQ ID NO:10) і ген α -ланцюга IL-7-рецептора людини (SEQ ID NO:11), в мишачі клітини Ba/F3 (RIKEN: RCB0805)). Відповідно до звичайного способу виділяли селезінку або лімфатичний вузол імунізованої миші, збирали лімфоцити і зливали з клітинами мишачої мієломи SP2/0 (ATCC CRL-1581), таким чином отримуючи гібридами. Гібридами моноклонізували, а потім культивували в гібридомному культуральному середовищі CD (Life Technologies, Inc.), яке є безсироватковим середовищем. Антитіла очищали з отриманих культуральних супернатантів з використанням набору для очищення антитіл Protein G Purification kit (Proteus, Inc.).

[0076] Для оцінки зв'язувальної активності антитіл, відповідно проводили ELISA з використанням злитого білка TSLP-рецептора людини-Fc людини і злитого білка TSLP-рецептора мавпи-Fc людини, отриманих в прикладі 1. Крім того, для оцінки нейтралізуючої активності антитіл, проводили аналіз інгібування зростання клітин на клітинах Ba/F3, які експресують TSLP-рецептор людини, при стимуляції мутованими білками TSLP мавпи з Flag-тегом, отриманими в прикладі 2, і проводили аналіз інгібування продукції білка MDC на цільній крові мавпи при стимуляції мутованими білками TSLP мавпи з Flag-тегом, отриманими в прикладі 2.

[0077]

За допомогою описаних вище тестів було виявлено, що антитіло (химерне антитіло), яке називається T7-27, мало зв'язувальну активність і нейтралізуючу активність відносно TSLP-рецепторів людини і мавпи. Гени, що кодують важкий ланцюг і легкий ланцюг антитіла з гібридами, яка продукує T7-27, були клоновані, і була визначена їх послідовність.

[0078]

У вищеописаному антитілі варіабельна область отримана від людини, а константна область отримана від миші. З цієї причини, експресійні вектори, що містять гени важкого ланцюга і легкого ланцюга були сконструйовані за допомогою GS-векторів, і було отримане повністю людське антитіло. Більш конкретно, гени, що кодують сигнальні послідовності (Nigel Whittle et al., Protein Engineering 1987; 1(6): 499 to 505.) були сполучені з 5'-стороною генів варіабельної області важкого ланцюга антитіла T7-27, а гени константної області (що складаються з нуклеотидної послідовності з номерами основ 355-1344 з SEQ ID NO:2) Ig γ 1 людини були сполучені з їх 3'-стороною, а потім гени важкого ланцюга були вставлені в GS-вектор pEE6.4. Крім того, гени, що кодують сигнальні послідовності (Nigel Whittle et al., указано вище) були сполучені з 5'-стороною генів варіабельної області легкого ланцюга антитіла, а гени константної області (що складаються з нуклеотидної послідовності з номерами основ 325-642 з SEQ ID NO:4) Ig κ людини були сполучені з їх 3'-стороною, а потім гени легкого ланцюга були вставлені в GS-вектор pEE12.4.

[0079]

Нуклеотидна послідовність, яка кодує важкий ланцюг повністю людського антитіла з отриманого T7-27 (повністю людське T7-27) показана в SEQ ID NO: 2, амінокислотна послідовність, що кодується нею, показана в SEQ ID NO:1, і нуклеотидна послідовність, яка кодує легкий ланцюг антитіла показана в SEQ ID NO:4, а амінокислотна послідовність, що кодується нею, показана в SEQ ID NO:3. Варіабельна область важкого ланцюга повністю людського T7-27 складається з амінокислотної послідовності з номерами амінокислот 1-118 в SEQ ID NO:1, а CDR1, CDR2 і CDR3 важкого ланцюга, відповідно, складаються з амінокислотних послідовностей з номерами амінокислот 31-35, 50-66 і 99-107 в SEQ ID NO:1. Варіабельна область легкого ланцюга повністю людського T7-27 складається з амінокислотної послідовності з номерами амінокислот 1-108 в SEQ ID NO: 3, а CDR1, CDR2 і CDR 3 легкого

ланцюга, відповідно, складаються з амінокислотних послідовностей з номерами амінокислот 24-34, 50-56 і 89-97 в SEQ ID NO:3.

[0080]

Антитіло було проефексоване з використанням двох варіантів способів транзійної експресії і конститутивної експресії з описаними вище GS-векторами, в якій гени важкого ланцюга і легкого ланцюга антитіла були, відповідно, вставлені. У разі транзійної експресії, експресійні вектори обох важкого і легкого ланцюгів трансфікували з використанням 293fectin в клітини FreeStyle 293, що культивуються в кількості приблизно 1000000 клітин/мл в експресійному середовищі FreeStyle 293, і потім культивували протягом 7 днів. У альтернативному варіанті, експресійні вектори обох важкого і легкого ланцюгів, описаних вище, трансфікували з використанням методу електропорації в приблизно 10000000 клітин CHO-K1SV (Lonza, Inc.), а потім культивували в середовищі CD-CHO (Life Technologies, Inc.) протягом 7 днів. Культуральні супернатанти очищали з використанням колонки з білком А або колонки з білком G (GE Healthcare Corporation Japan), і таким чином отримували очищене повністю людське антитіло. У разі конститутивної експресії, GS-вектори, в які гени важкого ланцюга і легкого ланцюга антитіла були, відповідно, вставлені, розрізали рестриктазою по сайтах NotI і PvuI і проводили лігування з використанням набору для лігування Ligation-Convenience Kit (NIPPONGENE, Inc.) або лігуючого реагенту Ligation-high (TOYOBO, Inc.), а потім були сконструйовані GS вектори, в які були вставлені обидва гени важкого ланцюга і легких ланцюгів. Експресійні вектори кодували повнорозмірний важкий ланцюг і легкий ланцюг, і антитіло було проефексоване шляхом трансфекції в клітини CHO-K1SV. Культуральні супернатанти очищали з використанням колонки з білком А або колонки з білком G (GE Healthcare Corporation Japan), і таким чином отримували очищене повністю людське антитіло. В результаті аналізу амінокислотної модифікації очищеного повністю людського T7-27 було показано, що в значній частині очищеного антитіла сталося видалення лізину на С-кінці важкого ланцюга.

[0081]

(Приклад 4: оцінка зв'язувальної активності за допомогою SPR-аналізу)

Для більш точного вимірювання зв'язувальної активності повністю людського T7-27 проводили SPR-аналіз. У даному прикладі як порівняльне антитіло було використане антитіло до TSLP-рецептору людини, TSLPR-012_141 (патентний документ 4).

[0082]

У SPR-аналізі, аналіз проводили з використанням Biacore (zareestrovana torгова марка) 2000 (GE Healthcare Japan Corporation). Відповідні антитіла до TSLP-рецептору людини іммобілізували на поверхні сенсорного чипа CM5 з використанням наборів Human Antibody Capture Kit і Amine Coupling Kit (GE Healthcare Japan Corporation). Отриманий в прикладі 1 злитий білок TSLP-рецептора людини з мишачим Fc серійно розводили розчином HBS-EP (GE Healthcare Corporation Japan), і 100 мкл розчину додавали в потік, що має швидкість потоку 50 мкл/хв. За допомогою цієї системи вимірювання були обчислені константа швидкості зв'язування (ka), константа швидкості дисоціації (kd) і константа дисоціації (KD) злитого білка TSLP-рецептора людини-Fc миші і антитіла до TSLP-рецептору людини з використанням програмного забезпечення для аналізу даних ((BIA Evaluation) (таблиця 1)).

Таблиця 1

Активність зв'язування TSLP-рецептору людини за допомогою SPR-аналізу

	KD (M)	Kd (1/c)
Повністю людське T7-27	$0,41 \times 10^{-8}$	$1,25 \times 10^{-4}$
TSLPR-012_141	$1,26 \times 10^{-8}$	$3,38 \times 10^{-4}$

[0083]

У результаті, стало зрозуміло, що повністю людське T7-27 мало приблизно в 3 рази більш сильну зв'язувальну активність в порівнянні з TSLPR-012_141.

[0084]

(Приклад 5: оцінка інгібування індукованої TSLP експресії мПНК TARC з використанням PBMC людини)

Для оцінки нейтралізуючої активності повністю людського T7-27, проводили оцінку інгібування індукованої TSLP експресії мПНК TARC в мононуклеарних клітинах периферичної крові (PBMC) людини. Оскільки PBMC людини включають дендритні клітини, які експресують TSLP-рецептор, PBMC людини можуть бути використані для оцінки антитіла до TSLP-

рецептору. Як порівняльне антитіло використовували TSLPR-012_141. Оскільки за результатами випробувального прикладу 1, описаного нижче, була виявлена кореляція між поліпшенням патології в моделі астми і інгібуванням в крові експресії мРНК TARC з використанням антитіла до TSLP-рецептору, дана система оцінки являє собою систему оцінки, яка вказує на ефективність відносно патології.

[0085]

Висівали 200000 клітин PBMC людини (AllCells, Inc.) на ямку в 96-ямкових планшетах (Gleiner, Inc.) в 160 мкл культурального середовища RPMI1640 (Life Technologies, Inc.). Готували серії розведення (7 точок з кінцевою концентрацією в діапазоні від 0,1 нг/мл до 100 нг/мл) мутованого білка TSLP людини з Flag-тегом, отриманого в прикладі 2, в культуральному середовищі RPMI164, і по 20 мкл цього розведення додавали в культуру, а потім інкубували протягом 24 годин в CO₂-інкубаторі зі встановленою температурою 37 °C. Потім отримували відповідні антитіла до TSLP-рецептору людини в середовищі RPMI1640, так що кінцева концентрація становила 0,3 мкг/мл, додавали в культуру в кількості 20 мкл і додатково інкубували протягом 72 годин. Як контрольні зразки, відповідно, готували ямку, в яку додавали культуральне середовище RPMI1640 замість мутованого білка TSLP людини з Flag-тегом, і ямку, в яку додавали культуральне середовище RPMI1640 замість антитіла. Видаляли 200 мкл культуральної рідини, а потім загальну РНК виділяли в 30 мкл води з використанням набору RNeasy 96 (Qiagen, Inc.) для очищення РНК. Згодом, 10 мкл РНК використовували для реакції зворотної транскрипції з використанням набору для зворотної транскрипції, High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Life Technologies, Inc.). Потім рівень експресії мРНК TARC вимірювали ПЛП-способом TaqMan з використанням TaqMan-зонда для TARC (Ccl17, Hs00171074, Life technologies, Inc), TaqMan-зонда для β-актину (Actb, Hs99999903, Life Technologies, Inc.), суміші Express qPCR SuperMix (A10313, Life Technologies, Inc.) і 2 мкл кДНК. Експеримент проводили в двох повторях для відповідних антитіл, і результати вимірювання були проаналізовані з використанням методу порівняння CT, а потім розраховували рівень експресії мРНК TARC. Після чого була розрахований ступінь інгібування антитілами при кожній концентрації TSLP. Ступінь інгібування для ямки, в яку було додане культуральне середовище RPMI1640 замість мутованого білка TSLP людини з Flag-тегом був прийнятий як 100 %, а середнє значення для ямки, в яку були, відповідно, були додані 30 нг/мл і 100 нг/мл мутованого білка TSLP людини з Flag-тегом, приймали як ступінь інгібування 0 %. Проводили аналіз розрахованого ступеня інгібування і обчислювали концентрацію TSLP, що має 50 % ступінь інгібування антитілом 0,3 мкг/мл (таблиця 2) шляхом апроксимації трипараметричної логарифмічної кривої. Оскільки ця концентрація TSLP стає вищою, нейтралізуюча активність відносно до TSLP випробуваного антитіла стає сильнішою.

Таблиця 2

Активність інгібування TSLP-індукованої експресії мРНК TARC з використанням PBMC

	Концентрація TSLP (нг/мл)
Повністю людське T7-27	1,25
TSLPR-012_141	0,08

[0086]

У результаті, було з'ясовано, що повністю людське антитіло T7-27 мало приблизно в 12 раз вищу активність інгібування індукованої TSLP людини експресії мРНК TARC людини в порівнянні з TSLPR-012_141.

[0087]

(Приклад 6: Оцінка інгібування TSLP-індукованої продукції білка MDC виробництва з використанням PBMC людини)

Проводили оцінку інгібування TSLP-індукованої продукції білка MDC в PBMC людину для дослідження нейтралізуючої активності повністю людського антитіла T7-27. Як порівняльне антитіло використовували TSLPR-012_141.

[0088]

Кров людини розводили однаковим об'ємом PBS і нашаровували на такий же об'єм Ficoll-Paque PLUS (GE Healthcare Японії Corporation), а потім центрифугували протягом 30 хвилин при кімнатній температурі і 400×g, таким чином отримуючи PBMC людини. Висівали приблизно 300000 клітин PBMC людини на ямку в 96-ямкові планшети (Gleiner, Inc.) в 100 мкл

культурального середовища RPMI1640 (Life Technologies, Inc.). Мутований білок TSLP людини з Flag-тегом, отриманий в прикладі 2, розводили в культуральному середовищі RPMI1640 таким чином, щоб його кінцева концентрація стала 5 нг/мл, і додавали в культуру клітин в кількості 10 мкл з подальшою інкубацією протягом 24 год. в CO₂-інкубаторі, температура якого була встановлена на 37 °C. Потім готували серійне розведення (5 точок з кінцевою концентрацією в діапазоні від 0,1 нг/мл до 10 мкг/мл) відповідного антитіла до TSLP-рецептору людини в культуральному середовищі RPMI164 і додавали по 10 мкл в культуру клітин з подальшою інкубацією протягом 5 днів. Як контрольний зразок, відповідно, готували ямку, в яку додавали культуральне середовище RPMI1640 замість мутованого білка TSLP людини з Flag-тегом, і ямку, в яку додавали культуральне середовище RPMI1640 замість антитіла. Згодом збирали культуральні супернатанти і кількість продукованого MDC оцінювали за допомогою набору Human CCL22/MDC Quantikine Kit (ELISA R&D, Inc.) з використанням супернатантів, розбавлених PBS в 20 разів (Life Technologies, Inc.). Експеримент проводили в двох повторях для відповідних антитіл і розраховували ступінь інгібування для кожної концентрації антитіла. Ступінь інгібування для ямки, в яку було додане культуральне середовище RPMI1640 замість мутованого білка TSLP людини з Flag-тегом, був прийнятий за 100 %, а ступінь інгібування в ямці, в яку було додане культуральне середовище RPMI1640 замість антитіла, був прийнятий за 0 %. Концентрацію антитіла, що дає 50 % ступеня інгібування, розраховували як IC 50 (таблиця 3) шляхом апроксимації трипараметричної логарифмічної кривої.

Таблиця 3

Оцінка інгібування TSLP-індукованої продукції білка
MDC з використанням РВМС людини

	IC 50 (нг/мл)
Повністю людське Т7-27	0,12
TSLPR-012_141	1,10

[0089]

У результаті було з'ясовано, що повністю людське антитіло Т7-27 мало приблизно в 9 разів вищу активність інгібування TSLP-індукованої продукції білка MDC в порівнянні з TSLPR-012_141.

[0090]

(Приклад 7: оцінка повністю людського Т7-27 в моделі сенсibilізації аскаридним антигеном мавп)

Поява специфічних до аскаридного антигену IgE індукується при сенсibilізації мавп аскаридним антигеном, а реакція шкіри викликається алергічною реакцією.

Рідкий аскаридний антиген (DNP-Ascaris (LSL, Inc.)), ресуспендований в алюміній-гідроксидному гелі (що далі називається галунами) (0,5 мг/мл DNP-Ascaris, ресуспендованого в PBS з концентрацією галунів 50 мг/мл, далі називається рідкий аскаридний антиген в галунах) вводили в 1 день, 8-й день і 15-й день самцям яванської макаки в кількості 3,6 мл/кг внутрішньоочеревинно і кількості 0,4 мл/кг внутрішньом'язово для сенсibilізації. Крім того, аналогічно обробленим групам були організовані нормальна група (необроблена група, n=2), група носія (група, якій водили розчинник (20 мМ буферний розчин цитрату натрію/120 мМ NaCl (pH 6,0)) внутрішньовенно за один день до сенсibilізації, n=3) і група введення антитіла (група, якій вводили 10 мг/кг повністю людського антитіла Т7-27 (розбавленого розчинником) внутрішньовенно за один день до сенсibilізації, n=3).

Крім того, галуни були приготовані наступним способом.

Сульфат алюмінію (14-18-гідрати) (Wako, Inc.) розчиняли в надчистій воді для приготування 1М розчину, і розчин фільтрували через фільтр 0,22 мкм, а потім до нього додавали 1М розчин гідроксиду натрію (Nacalai Tesque) до тих пір, поки не випадав білий осад. Видаляли надосадову рідину, осад промивали надчистою водою 5 разів, а потім додатково промивали PBS (WAKO, Inc.) три рази. Промитий осад білого кольору дрібно подрібнювали в гомогенізаторі (CH-6010, KINEMATICA, Inc.) при охолодженні льодом, з подальшим центрифугуванням протягом 5 хвилин при 2000 об./хв. і температурі 4 °C з використанням центрифуги (himac CR21, Hitachi, Ltd.). Потім видаляли надосадову рідину, і осад два рази промивали PBS. Отриманий осад ресуспендували в PBS, щоб отримати галуни.

[0091]

Вимірювання плазматичних IgE, специфічних до аскаридного антигену

Кров послідовно збирали у вищеописаних макак в 1-й день (до введення рідкого аскаридного антигену в галунах), 8-й день, 15-й день і 22-й день, і плазму відбирали після центрифугування (1800×g, 4 °C, 10 хвилин). Концентрацію специфічних до аскаридного антигену IgE в плазмі вимірювали, використовуючи наступний спосіб.

DNP-Ascaris готували в PBS таким чином, щоб його концентрація становила 100 мкг/мл, і додавали в 96-ямокві нерозбірні планшети Nunc-Immuno™ MicroWell™ (Nunc Inc.) в кількості 100 мкл, а потім іммобілізували при кімнатній температурі протягом ночі. Блокувальний агент (Blocking One, Nacalai Tesque) додавали в кількості 200 мкл і залишали на 30 хвилин, після чого розчин видаляли. Далі, відповідно, додавали в кількості 100 мкл виділену плазму і зразок калібрувальної кривої. Як зразок калібрувальної кривої, концентрація плазматичних IgE, специфічних до аскаридного антигену від однієї тварини з групи, якій вводили носій, на 22-й день була прийнята як 2000 Од./мл, і були приготовані і використані серійне розведення (2000 мОд./мл - 16 мОд./мл) в розчині для розведення (5 % Blocking One в PBS). Інкубацію проводили при кімнатній температурі протягом 1 години, з подальшим 5-кратним промиванням в Т-PBS (0,05 % Tween-20 в PBS), а потім додавали 100 мкл HRP-міченого антитіла для детекції IgE (A80-108P, Bethyl Inc.), розведеного в 10000 разів в розчині для розведення. Після чого інкубацію проводили при кімнатній температурі протягом 1 години з подальшим 5-кратним промиванням Т-PBS. У кінці, вимірювання проводили з використанням набору для колірної детекції пероксидази (ML-1120T, Sumilon Inc.). Оптичну густину вимірювали на Spectramax (Molecular Devices, Inc.). Результати для 1-го і 22-го дні показані на фіг. 1.

[0092]

Шкірний тест

На 22-й день, PBS, 1, 10 і 100 мкг/мл розчини аскаридного антигену (розчину, в якому DNP-Ascaris ресуспендований в PBS) вводили внутрішньошкірно в двох точках, відповідно (всього 8 точок на одну тварину) на поголому животі кожного індивідуума в групі, що отримувала носій, і в групі, якій вводили антитіло, в кількості 100 мкл. У нормальній групі, внутрішньошкірно вводили PBS і 100 мкг/мл розчини аскаридного антигену в 4-х точках, відповідно (всього 8 точок на одну тварину), на поголому животі кожної тварини в кількості 100 мкл. Через 20 хвилин після сенсibilізації шкіри, шкірну реакцію фіксували шляхом вимірювання діаметра за допомогою ноніусного штангенциркуля. Для кожної тварини величина, в якій діаметр шкірної реакції на введення PBS був віднятий від діаметра шкірної реакції на введення аскаридного антигену, приведена як різниця (дельта) в мм. Результати при введенні аскаридного антигену в концентрації 100 мкг/мл показані на фіг. 2. Потрібно зазначити, що у разі введення розчину аскаридного антигену в концентрації 1 і 10 мкг/мл не розвивалася шкірна реакція, достатня для оцінки досліджуваного антитіла.

[0093]

Обчислювали середнє значення і стандартну помилку для кожної групи і обчислювали ступінь інгібування, приймаючи значення в 1-й день (значення перед введенням рідкого аскаридного антигену у галунах) за 100 % і значення в групі носія на 22-й день за 0 % у вимірюванні плазматичних IgE, специфічних до аскаридного антигену.

[0094]

Як показано на фіг. 1, повністю людське антитіло T7-27 знижувало (97 %-е інгібування) концентрацію IgE, специфічних до аскаридного антигену, в моделі сенсibilізації аскаридним антигеном мавп в порівнянні з групою носія.

[0095]

Як показано на фіг. 2, повністю людське антитіло T7-27 знижувало шкірну реакцію на аскаридний антиген при введенні 100 мкг/мл розчину аскаридного антигену в моделі сенсibilізації аскаридним антигеном мавп в порівнянні з групою носія.

[0096]

З результатів, описаних вище, було з'ясовано, що повністю людське антитіло T7-27 придушувало алергічну реакцію, викликану IgE, специфічними до аскаридного антигену, в моделі сенсibilізації аскаридним антигеном мавп.

[0097]

(Випробувальний приклад 1: оцінка антитіла до TSLP-рецептору в мишачій моделі астми при сенсibilізації кліщовим антигеном)

Мишача модель сенсibilізації кліщовим антигеном відома як модель астми, і патологічний стан включає підвищення реактивності дихальних шляхів і інфільтрацію еозинофілів в бронхоальвеолярний лаваж.

Сенсibilізацію проводили шляхом внутрішньоочеревинного введення мишам NC/Nga (Charles River, Inc.) кліщового антигену (Dp) (LSL, Inc.) в дозуванні 100 мкг Dp на 0,5 мл

фізіологічного розчину на мишу в 0-й день (точка початку сенсibilізації) і 5-й день. Запалення дихальних шляхів викликали назальним введенням кліщового антигену з дозуванням 100 мкг DP на 50 мкл фізіологічного розчину на мишу на 12-й день і 19-й день. Антитіло проти мишачого TSLP-рецептора (WAKO, Inc.), розчинене в PBS (WAKO, Inc.), вводили групі введення антитіла підшкірно в дозуванні (0,1, 1, 10 мг/кг) в 1-й день, 2-й день, 5-й день, 8-й день, 11-й день, 14-й день і 18-й день (дні введення антитіла) один раз на день. Як позитивну контрольну групу створювали групу введення дексаметазону (група Dex). Дексаметазон, розчинений в PBS, вводили групі Dex внутрішньоочеревинно в дозуванні 3 мг/кг з 12-го по 19-й день один раз на день. Набір оброблених груп був наступним.

[Експериментальні групи]

Нормальна група (n=10):

Необроблені тварини

Група фізіологічного розчину (n=6):

Кліщовий антиген вводили внутрішньоочеревинно в 0-й день і 5-й день, фізіологічний розчин вводили інтраназально в 12-й день і 19-й день, і PBS вводили підшкірно в день введення антитіла.

Група PBS (n=10):

Кліщовий антиген вводили внутрішньоочеревинно в 0-й день і 5-й день, кліщовий антиген вводили інтраназально в 12-й день і 19-й день, і PBS вводили підшкірно в день введення антитіла.

Група введення антитіла (0,1, 1, 10 мг/кг) (n=10 для кожного дозування):

Кліщовий антиген вводили внутрішньоочеревинно в 0-й день і 5-й день, кліщовий антиген вводили інтраназально в 12-й день і 19-й день, і антитіло вводили підшкірно в день введення антитіла.

Група Dex (n=10):

Кліщовий антиген вводили внутрішньоочеревинно в 0-й день і 5-й день, кліщовий антиген вводили інтраназально в 12-й день і 19-й день, і дексаметазон вводили внутрішньоочеревинно з 12-го дня до 19-го дня.

[0098]

Мишу вміщували в не обмежуючу рух камеру тільки для мишей на 20-й день. Датчик, в якому використовувався пневмотахограф, був прикріплений до камери і підключений до аналізатора дихальної функції BioSystem XA (Buxco, Inc.), і зміну тиску всередині камери відносно атмосферного тиску детектували за допомогою датчика. Концентрацію хлориду ацетил- β -метил холіну (Sigma, Inc.) (0,25, 0,5, 1, 2, 4 мг/мл), розчиненого в фізіологічному розчині, послідовно підвищували, і потім вводили через дихальний отвір за допомогою небулайзера для вивчення реактивності дихальних шляхів. P_{enH}, автоматично розрахований по зміні тиску у внутрішній частині камери, використовували як показник дихальної функції. Результати вимірювань показані на фіг. 3.

[0099]

Далі, після збору крові у мишей з порожнистої вени черевної порожнини, їх умертвляли шляхом знекровлення. Канюлю інтубували в трахею, і бронхоальвеолярний лаваж здійснювали 0,1 %-м розчином фетальної бичачої сироватки (BioWest, Inc.) в PBS, а потім збирали рідину після бронхоальвеолярного лаважу (BALF). BALF центрифугували, видаляли супернатант, осад ресуспендували в 500 мкл фізіологічного розчину, і отримували суспензію BALF-клітин. Кількість еозинофілів в BALF-клітинній суспензії вимірювали з використанням мультипозиційного автоматичного аналізатора клітин крові XT-2000i (Sysmex, Inc.). Результати вимірювань показані на фіг. 4.

[0100]

Отриману кров розводили в 10 разів культуральним середовищем RPMI1640 (Life Technologies, Inc.). Розбавлену кров висівали в кількості 1 мл на планшет (IWAKI Co. Ltd.). Мишачий TSLP (R&D, Inc.) розводили в PBS так, щоб його кінцева концентрація становила 0 або 10 нг/мл, і додавали по 100 мкл цих розчинів. Інкубацію проводили при 37 °C протягом 24 годин в атмосфері 5 % CO₂, а загальну РНК виділяли в 30 мкл води з використанням набору RNeasy 96 Kit (Qiagen, Inc.). Далі, 10 мкл РНК використовували в реакції зворотної транскрипції з використанням набору High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Life Technologies, Inc.). Далі, рівень експресії мРНК TARC вимірювали за допомогою ПЛП-способу TaqMan з використанням TaqMan-зонда для TARC (Ccl17, Mm01244826 g1, Life technologies, Inc.), TaqMan-зонда для β -актину (Actb, Mm00607939 s1, Life technologies, Inc.), суміші Express qPCR SuperMix (A10313, Life Technologies, Inc.) і 2 мкл кДНК. Рівень експресії був розрахований шляхом аналізу

результатів вимірювання з використанням методу порівняння СТ. Результати при 10 нг/мл TSLP показані на фіг. 5.

[0101]

Були обчислені середні значення і стандартні помилки для відповідних груп. Тест Стьюдента використовували для визначення достовірної відмінності між групою PBS і нормальною групою, групою PBS і групою Dex, відповідно. Для визначення достовірної відмінності між групою PBS і групою введення антитіла використовували множинне порівняння Даннета. У обох випадках, достовірна відмінність була присутньою у випадку $p < 0,05$.

[0102]

Як показано на фіг. 3, в групі, якій вводили антитіло, інгібуючу дію на гіперреактивність дихальних шляхів, індуковану 1 мг/мл хлориду ацетил- β -метил холіну, було знайдено в мишачій моделі астми в порівнянні з групою PBS. Стало зрозуміло, що антитіло до TSLP-рецептору поліпшує дихальну функцію в моделі астми.

[0103]

Як показано на фіг. 4, в групі, якій вводили антитіло, інгібуюча дія на інфільтрацію еозинофілів в бронхоальвеолярний лаваж була виявлена в порівнянні з групою PBS.

[0104]

Як показано на фіг. 5, в групі, якій вводили антитіло, інгібуюча дія на експресію мРНК TARC була знайдена в порівнянні з групою PBS.

[0105]

Результати, представлені на фіг. 3 і 4, підтверджували, що антитіло до TSLP-рецептору поліпшувало патологічний стан в моделі астми. Крім того на основі результатів, представлених на фіг. 3-5, була виявлена кореляція між поліпшенням патологічного стану і інгібуванням експресії мРНК TARC після введення антитіла до рецептору анти-TSLP, і стало очевидно, що позитивний вплив на патологічний стан може бути оцінений по інгібуючому ефекту на експресію мРНК TARC якості показника.

Промислова застосовність

[0106]

Антитіло до TSLP-рецептору людини за даним винаходом є корисним для профілактики і лікування різних захворювань, в яких TSLP людини і TSLP-рецептор людини беруть участь в патології захворювання. Крім того, способи отримання полінуклеотидів, експресійних векторів і клітин-хазяїв за даним винаходом можуть використовуватися для отримання антитіла до TSLP-рецептору людини.

[Вільний текст списку послідовностей]

[0107]

У ряді заголовків <223> в списку послідовностей приведений опис "Штучна послідовність". Зокрема, нуклеотидними послідовностями, приведеними в SEQ ID NO:2 і SEQ ID NO:4 зі списку послідовностей, є нуклеотидні послідовності важкого ланцюга і легкого ланцюга повністю людського антитіла T7-27, відповідно, а амінокислотними послідовностями, приведеними в SEQ ID NO:1 і SEQ ID NO:3, є амінокислотні послідовності важкого ланцюга і легкого ланцюга, що кодуються SEQ ID NO:2 і SEQ ID NO:4, відповідно. Нуклеотидними послідовностями, приведеними в SEQ ID NO:5, 6, 7, 8, і 9 зі списку послідовностей, є нуклеотидні послідовності, що кодують злитий білок TSLP-рецептора людини з Fc людини, злитий білок TSLP-рецептора людини з Fc миші, злитий білок TSLP-рецептора мавпи з Fc людини, мутований білок TSLP людини з Flag-тегом і мутований білок TSLP мавпи з Flag-тегом, відповідно.

ПЕРЕЛІК ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

<110> Astellas Pharma Inc.

<120> Нове антитіло проти TSLP-рецептора людини

<130> A14014A00

<150> JP2013-165676

<151> 2013-08-09

<160> 11

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 448

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Н-ланцюг антитіла проти TSLP-рецептора людини

<400> 1

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 Arg Ser Ser
 20 25 30

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

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Pro 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

Val Lys Glu Gly Gly Ser Arg Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
 115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
 130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
 145 150 155 160
 Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
 165 170 175
 Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
 180 185 190
 Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
 195 200 205
 Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
 210 215 220
 His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
 225 230 235 240
 Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 245 250 255
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 260 265 270
 Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 275 280 285
 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
 290 295 300
 Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 305 310 315 320
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 325 330 335
 Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 340 345 350
 Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 355 360 365
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 370 375 380
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp

385 390 395 400

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

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

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 2

<211> 1347

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Ген Н-ланцюга антитіла проти TSLP-рецептора людини

<400> 2

gaggtgcagc	tggtggagtc	tgggggaggg	ttggtacagc	cggggggggtc	cctgagactc	60
tctgtgcag	cctctggatt	cacctttcgc	agctctgcc	tgcatgggt	ccgccaggct	120
ccaggggaagg	gactgaaatg	ggtctcaagt	gttagtgga	gtggtgctgg	aacatactac	180
gcagactccg	tgaagggccg	gttcaccatc	tccagagaca	atcccaagaa	tacactgtat	240
ctgcaaatga	acagtctgag	agccgaggac	acggccgtat	attattgtgt	gaaagaaggg	300
ggcagccggg	gttttgacta	ctggggccag	ggaaccctgg	tcaccgtctc	ctcagcctcc	360
accaagggcc	catcgggtctt	ccccctggca	ccctcctcca	agagcacctc	tgggggcaca	420
gcggccctgg	gctgcctgg	caaggactac	ttccccgaac	cggtgacgg	gtcgtggaac	480
tcaggcgccc	tgaccagcgg	cgtgcacacc	ttcccggtg	tcctacagtc	ctcaggactc	540
tactccctta	gtagcgtgg	gaccgtgccc	tccagcagct	tgggcaccca	gacctacatc	600
tgcaacgtga	atcacaagcc	cagcaacacc	aaggtggaca	agaaagttga	gccccaatct	660
tgtgacaaaa	ctcacacatg	cccaccgtgc	ccagcacctg	aactcctggg	gggaccgtca	720
gtcttctct	tcccccaaaa	acccaaggac	accctcatga	tctcccgga	ccctgaggtc	780
acatgcgtgg	tggtggacgt	gagccacgaa	gaccctgagg	tcaagttcaa	ctggtacgtg	840
gacggcgtgg	aggtgcataa	tgccaagaca	aagccgcggg	aggagcagta	caacagcacg	900
taccgtgtgg	tcagcgtcct	caccgtcctg	caccaggact	ggctgaatgg	caaggagtac	960
aagtgcaagg	tctccaacaa	agccctccca	gcccccatcg	agaaaaccat	ctccaaagcc	1020
aaagggcagc	cccgagaacc	acaggtgtac	accctgcccc	catcccgga	tgagctgacc	1080
aagaaccagg	tcagcctgac	ctgcctggtc	aaaggcttct	atcccagcga	catcgccgtg	1140

gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac 1200
 tccgacggct ccttcttctt ctacagcaag ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag 1260
 gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag 1320
 agcctctccc tgtctccggg taaatga 1347

<210> 3

<211> 214

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> L-ланцюг антитіла проти TSLP-рецептора людини

<400> 3

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 Asp Ile Ser Asn Tyr
 20 25 30

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

Tyr Thr Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Lys 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 Tyr Asn Leu Tyr Pro Pro
 85 90 95

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

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

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

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

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165

170

175

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 4
<211> 645
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Ген L-ланцюга антитіла проти TSLP-рецептора людини

<400> 4
gacatccaga tgacccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttggtc gggcgagtc ggacattagc aattatttag cctgggttca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagtcctt gatctatact gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aagttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ctgccaacag tataatcttt atcctccgac gttcggccaa 300
gggaccaagg tggaaatcaa acggactgtg gctgcacat ctgtcttcat cttcccgcca 360
tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420
cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttag 645

<210> 5
<211> 1395
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Ген TSLP-рецептора людини-Fc
людини

<400> 5
atgtctgtgc ctaccaggt gctgggactg ctgctgctgt ggctgacaga cggcgcgtgt 60
ggagcagcag aaggagtaca gattcagatc atctacttca attagaaac cgtgcagggtg 120

acatggaatg ccagcaaata ctccaggacc aacctgactt tccactacag attcaacggt 180
 gatgaggcct atgaccagtg caccaactac cttctccagg aagggtcacac ttctgggtgc 240
 ctctagacg cagagcagcg agacgacatt ctctatttct ccatcaggaa tgggacgcac 300
 cccgttttca ccgcaagtcg ctggatgggt tattacctga aaccagttc cccgaagcac 360
 gtgagatttt cgtggcatca ggatgcagt acggtgacgt gttctgacct gtctacggg 420
 gatctctct atgagggttca gtaccggagc ccttcgaca ccgagtggca gtccaaacag 480
 gaaaatacct gcaacgtcac catagaaggc ttggatgccg agaagtgtta ctctttctgg 540
 gtcagggtga aggctatgga ggatgtatat gggccagaca catacccaag cgactgggtca 600
 gaggtgacat gctggcagag aggcgagatt cgggatgcct gtgcagagac accaacgcct 660
 cccaaaccaa agctgtccaa aatcgaaggc aggatggacc ccaaattctg tgacaaaact 720
 cacacatgcc caccgtgcc agcacctgaa ctctggggg gaccgtcagt ctctctcttc 780
 cccccaaaac ccaaggacac cctcatgac tcccggaccc ctgagggtcac atgcgtgggtg 840
 gtggacgtga gccacgaaga ccctgagggtc aagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag 900
 gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag gagcagtaca acagcacgta ccgtgtggtc 960
 agcgtctca cgtctctgca ccaggactgg ctgaatggca aggagtacaa gtgcaaggtc 1020
 tccaacaaag cctcccagc ccccatcgag aaaaccatct ccaaagccaa agggcagccc 1080
 cgagaaccac aggtgtacac cctgccccca tcccgggatg agctgaccaa gaaccaggtc 1140
 agcctgacct gcctgggtcaa aggtttctat cccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc 1200
 aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc acgcctcccg tctggactc cgacggtcc 1260
 ttctctctct acagcaagct caccgtggac aagagcaggt ggcagcaggg gaacgtcttc 1320
 tcatgctccg tgatgcatga ggctctgcac aaccactaca cgcagaagag cctctccctg 1380
 tctccgggta aatga 1395

<210> 6
 <211> 1437
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Ген TSLP-рецептора людини-Fc
 миші

<400> 6
 atgtctgtgc ctaccaggt gctgggactg ctgctgctgt ggctgacaga cggccgctgt 60
 caggcagtgc acgccgcaca tgcagaaatc aacgaaggag cagcagaagg agtacagatt 120
 cagatcatct acttcaattt agaaaccgtg caggtgacat ggaatgccag caaatactcc 180

aggaccaacc tgactttcca ctacagattc aacggtgatg aggcctatga ccagtgcacc	240
aactaccttc tccaggaagg tcacacttcg ggggtgcctcc tagacgcaga gcagcgagac	300
gacattctct atttctccat caggaatggg acgcaccccg ttttcaccgc aagtcgctgg	360
atggtttatt acctgaaacc cagttccccg aagcacgtga gattttcgtg gcatcaggat	420
gcagtgcagg tgacgtgttc tgacctgtcc tacggggatc tcctctatga ggttcagtac	480
cggagcccct tcgacaccga gtggcagtc aaacaggaaa atacctgcaa cgtcaccata	540
gaaggcttgg atgccgagaa gtgttactct ttctgggtca gggatgaaggc tatggaggat	600
gtatatgggc cagacacata cccaagcgac tggtcagagg tgacatgctg gcagagaggc	660
gagattcggg atgcctgtgc agagacacca acgcctccca aaccaaagct gtccaaaatc	720
gaaggcagga tggacgagcc tcgaggtcct acaatcaagc cgtgtccacc ttgtaagtgc	780
cccgcgccaa atctgctggg tggtccttct gtattcatat ttccgcccga gataaaagat	840
gtcttgatga tctctttgtc tccgatcgta acgtgcgtgg tcgtggatgt gtccgaagat	900
gacctgacg ttcagatttc atggtttgtc aacaacgtgg aagtgcatac ggctcagact	960
cagaccacc gagaggatta caattccact ctgagagttg tgagcgctct tccgatccag	1020
caccaagatt ggatgagcgg gaaagaattt aagtgc aaag tgaacaataa ggaccttccc	1080
gcgcctatcg aaagaaccat atctaagcca aagggatccg tgcgagctcc acaggtgtac	1140
gtgctgcctc cgccagagga ggaaatgact aagaaacagg tgacctcac atgcatggta	1200
accgacttca tgctgaaga tatttacgtg gaatggacca acaacggaaa aaccgaactc	1260
aactacaaaa acacagagcc cgttctggac tccgacggga gctacttcat gtactccaaa	1320
ctgaggggtg agaaaaagaa ttgggtggaa cgaaatagtt attcatgcag tgtagtccat	1380
gaggggctgc ataatcacca taccacaaag tctttcagca gaaccctgg gaaatga	1437

<210> 7

<211> 1395

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Ген TSLP-рецептора яванської макаки-Фс
людини

<400> 7

atgtctgtgc ctaccaggt gctgggactg ctgctgctgt ggctgacaga cgccgctgt	60
gcaacaggag aaggactaca gattcagatc atctacttta atctagaaac ggtgcagggtg	120
acatggaatg ccagccacta cccaggagt aacctgagtt tccactacaa attcagtcga	180
gatgaggcct atgaccagtg caccgtctac attctccagg aaggtcacac ctcggggtgc	240

```

ctcctagacg cagagcagca agacgatatt ctgtatttct ccatcaggaa cgggacgcac      300
cccgttttca cgcgcagtcg ctggatcttt tattacctga agcccagttc tccgaagcag      360
gtgagctttt cgtggcatca ggacgcggtg acagtgcagt gctctgacct gtcctacagg      420
gggtctctct atgagggttca gtaccggagc cccttcgaca cggagtggca gtccaaacag      480
gaaaaatacct gcaatgtcac tatagaagac ttggatgccg agaagtgtta tgctttccgg      540
gcccggtgga aggccatgga ggatgcgtat gggccggaca cgtaccggag cgactggtca      600
gaggtgacgt gctggcagag aggcgagact cgcgattcgt gcccagagcc tcgcacgcct      660
cccaaaccga agctgtccaa aatcgaaggc aggatggacc ccaaattctt tgacaaaact      720
cacacatgcc caccgtgcc agcacctgaa ctctggggg gaccgtcagt ctctctcttc      780
ccccaaaac ccaaggacac cctcatgac tcccggacc ctgaggtcac atgcgtgggtg      840
gtggacgtga gccacgaaga ccctgaggtc aagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag      900
gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag gagcagtaca acagcacgta ccgtgtgggtc      960
agcgtctctca ccgtctctgca ccaggactgg ctgaatggca aggagtacaa gtgcaagggtc     1020
tccaacaaag ccctcccagc ccccatcgag aaaaccatct ccaaagccaa agggcagccc     1080
cgagaaccac aggtgtacac cctgccccca tcccgggatg agctgaccaa gaaccagggtc     1140
agcctgacct gcctgggtcaa aggtttctat cccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc     1200
aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc acgcctcccg tgctggactc cgacggctcc     1260
ttcttctct acagcaagct caccgtggac aagagcaggt ggcagcaggg gaacgtcttc     1320
tcatgtctcg tgatgcatga ggctctgcac aaccactaca cgcagaagag cctctccctg     1380
tctccgggta aatga                                           1395

```

<210> 8
 <211> 483
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Ген мутованого TSLP людини-Flag

```

<400> 8
atgtctgtgc ctaccaggt gctgggactg ctgctgctgt ggctgacaga cgcgcgtgt      60
tacgacttca ctaactgtga ctttgagaag attaaagcag cctatctcag tactatttct      120
aaagacctga ttacatatat gagtgggacc aaaagtactg agttcaacaa caccgtctct      180
tgtagcaatc ggccacattg ccttactgaa atccagagcc taaccttcaa tcccaccgcc      240
ggctgcgcgt cgctcgccaa agaaatgttc gccatgaaaa ctaaggctgc cttagctatc      300
tggtgcccag gctattcgga aactcagata aatgctactc aggcaatgaa gaagaggaga      360

```

aaagccaaag tcacaacca taaatgtctg gaacaagtgt cacaattaca aggattgtgg 420
cgctcgcttca atcgaccttt actgaaacaa caggactaca aggacgacga tgacaaatga 480
taa 483

<210> 9
<211> 498
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Ген мутованого TSLP яванської макаки-Flag

<400> 9
atggagacag acacactcct gctatgggta ctgctgctct gggttccagg ttccaccggt 60
tacgacttca ctaactgtga ctttcagaag attgaagcag actatctccg tactatttct 120
aaagacctga ttacatatat gagtgggact aaaagtaccg acttcaacaa caccgtctcc 180
tgtagcaatc ggccacactg ctttactgaa atccagagcc taaccttcaa tcccaccccc 240
cgctgcgcgt cgctcgccaa ggaaatgttc gccaggaaaa ctaaggctac cctcgctctc 300
tggtgcccag gctattcgga aactcagata aatgctactc aggcaatgaa gaagaggaga 360
aaagccaaag tcacaacca taaatgtctg gaacaagtgt cacaattact aggattgtgg 420
cgctcgcttca ttcgaacttt actgaaacaa cagcaccacc accaccacca tgactataaa 480
gacgatgacg acaaatga 498

<210> 10
<211> 1116
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<400> 10
atggggcggc tggttctgct gtggggagct gccgtcttct tgctgggagg ctggatggct 60
ttggggcaag gaggagcagc agaaggagta cagattcaga tcacttactt caatttagaa 120
accgtgcagg tgacatggaa tgccagcaaa tactccagga ccaacctgac tttccactac 180
agattcaacg gtgatgaggc ctatgaccag tgcaccaact accttctcca ggaagggtcac 240
acttcgggggt gcctcctaga cgcagagcag cgagacgaca ttctctatct ctccatcagg 300
aatggggacgc accccgtttt caccgcaagt cgctggatgg tttattacct gaaaccacgt 360
tccccgaagc acgtgagatt ttcgtggcat caggatgcag tgacggtgac gtgttctgac 420
ctgtcctacg gggatctcct ctatgagggt cagtaccgga gccccttcga caccgagtgg 480
cagtcctaac aggaaaatac ctgcaacgtc accatagaag gcttggatgc cgagaagtgt 540
tactctttct gggtcagggt gaaggctatg gaggatgtat atgggccaga cacataccca 600

agcgactggt cagaggtgac atgctggcag agaggcgaga ttcgggatgc ctgtgcagag	660
acaccaacgc ctcccaaacc aaagctgtcc aaatttattt taatttccag cctggccatc	720
cttctgatgg tgtctctcct ccttctgtct ttatggaaat tatggagagt gaggaagttt	780
ctcattccca gcgtgccaga cccgaaatcc atcttccccg ggctctttga gatacaccaa	840
gggaacttcc aggagtggat cacagacacc cagaacgtgg cccacctcca caagatggca	900
ggtgcagagc aagaaagtgg ccccgaggag cccttggtag tccagttggc caagactgaa	960
gccgagtctc ccaggatgct ggaccacacag accgaggaga aagaggcctc tgggggatcc	1020
ctccagcttc cccaccagcc cctccaaggt ggtgatgtgg tcacaatcgg gggcttcacc	1080
tttgtgatga atgaccgctc ctacgtggcg ttgtga	1116

<210> 11

<211> 1380

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 11

atgacaattc taggtacaac ttttggcatg gttttttctt tacttcaagt cgtttctgga	60
gaaagtggct atgctcaaaa tggagacttg gaagatgcag aactggatga ctactcattc	120
tcattgctata gccagttgga agtgaatgga tcgcagcact cactgacctg tgcttttgag	180
gacctcagatg tcaacatcac caatctggaa tttgaaatat gtggggccct cgtggaggta	240
aagtgcctga atttcaggaa actacaagag atatatttca tcgagacaaa gaaattctta	300
ctgattggaa agagcaatat atgtgtgaag gttggagaaa agagtctaac ctgcaaaaaa	360
atagacctaa ccactatagt taaacctgag gctccttttg acctgagtggt cgtctatcgg	420
gaaggagcca atgactttgt ggtgacattt aatacatcac acttgcaaaa gaagtatgta	480
aaagttttta tgcacgatgt agcttaccgc caggaaaagg atgaaaacaa atggacgcat	540
gtgaatttat ccagcacaaa gctgacactc ctgcagagaa agctccaacc ggcagcaatg	600
tatgagatta aagttcgatc catccctgat cactatttta aaggcttctg gagtgaatgg	660
agtccaagtt attacttcag aactccagag atcaataata gctcagggga gatggatcct	720
atcttactaa ccatcagcat tttgagtttt ttctctgtcg ctctgttggt catcttggcc	780
tgtgtgttat ggaaaaaaag gattaagcct atcgtatggc ccagtctccc cgatcataag	840
aagactctgg aacatctttg taagaaacca agaaaaatt taaatgtgag tttcaatcct	900
gaaagtttcc tggactgcca gattcatagg gtggatgaca ttcaagctag agatgaagtg	960
gaaggtttcc tgcaagatac gtttcctcag caactagaag aatctgagaa gcagaggctt	1020
ggaggggatg tgcagagccc caactgccc tctgaggatg tagtcatcac tccagaaagc	1080


```

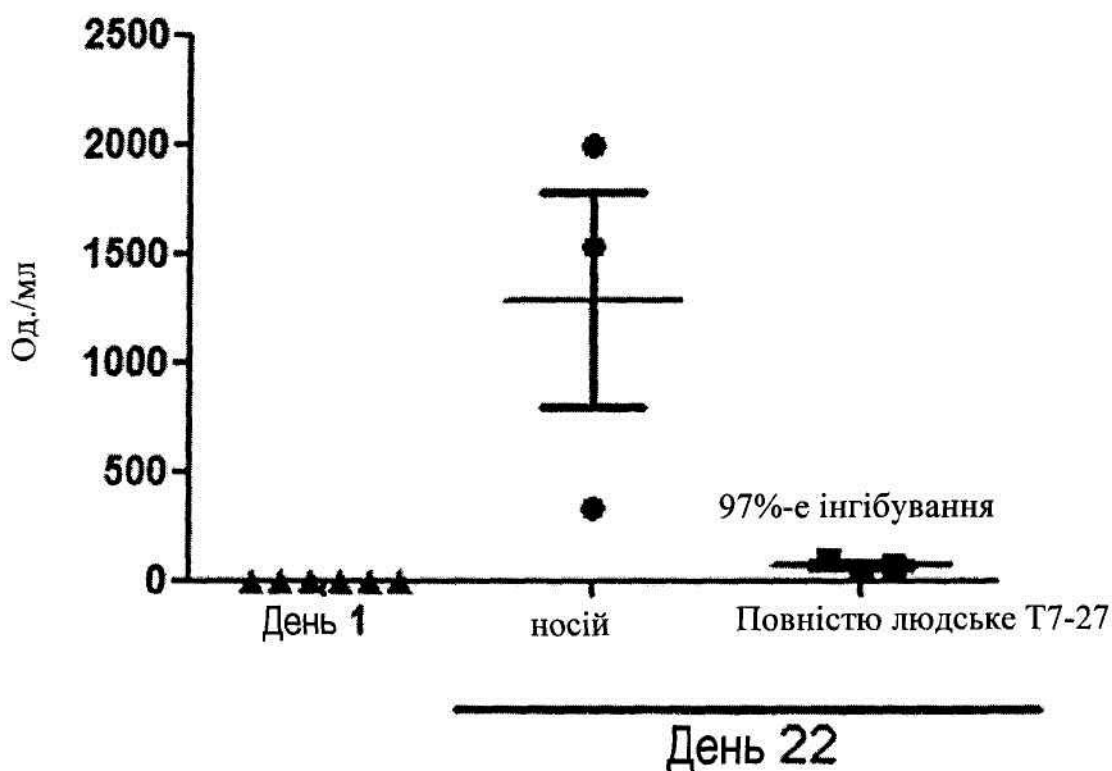
tttgggaagag attcatccct cacatgcctg gctgggaatg tcagtgcattg tgacgcccc 1140
attctctcct cttccagggtc cctagactgc agggagagtg gcaagaatgg gcctcatgtg 1200
taccaggacc tcttgcttag ccttgggact acaaacagca cgctgcccccc tccattttct 1260
ctccaatctg gaatcctgac attgaaccca gttgctcagg gtcagcccat tcttacttcc 1320
ctgggatcaa atcaagaaga agcatatgtc accatgtcca gcttctacca aaaccagtga 1380

```

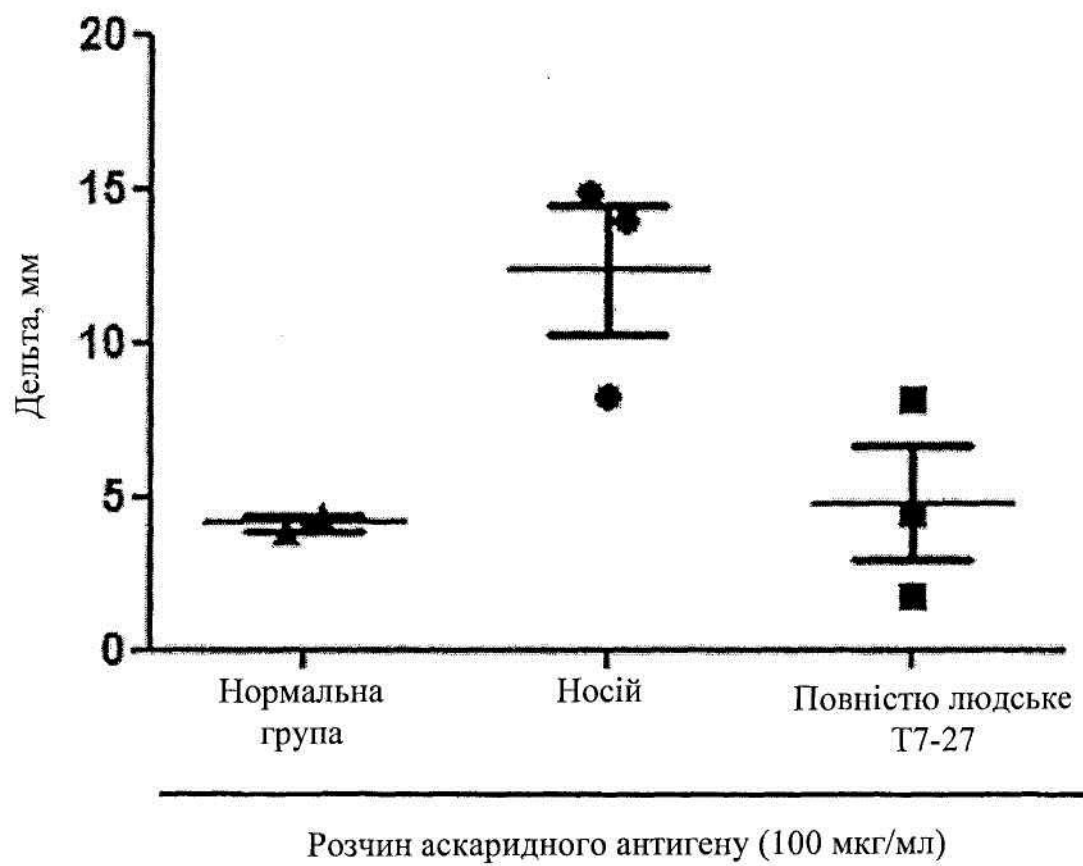
ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

- 5 1. Антитіло до TSLP-рецептора людини або його антигензв'язувальний фрагмент, що вибране з наступного (1) або (2):
 - (1) антитіла до TSLP-рецептора людини або його антигензв'язувального фрагмента, що містить варіабельну область важкого ланцюга, що складається з амінокислотної послідовності з номерами амінокислот 1-118 з SEQ ID NO: 1, і варіабельну область легкого ланцюга, що складається з амінокислотної послідовності з номерами амінокислот 1-108 з SEQ ID NO: 3,
 - 10 (2) антитіла до TSLP-рецептора людини або його антигензв'язувального фрагмента, в якому глутамінова кислота на N-кінці важкого ланцюга антитіла або його антигензв'язувального фрагмента (1) модифікована в піроглутамінову кислоту.
- 15 2. Антитіло до TSLP-рецептора людини за п. 1, вибране з наступних (1) або (2):
 - (1) антитіла до TSLP-рецептора людини, що містить важкий ланцюг, що складається з амінокислотної послідовності, представленої в SEQ ID NO: 1, і легкий ланцюг, що складається з амінокислотної послідовності, представленої в SEQ ID NO: 3,
 - (2) антитіла до TSLP-рецептора людини, що містить важкий ланцюг, що складається з амінокислотної послідовності, представленої в SEQ ID NO: 1, в якій глутамінова кислота в
 - 20 позиції амінокислот 1 в SEQ ID NO: 1 модифікована в піроглутамінову кислоту і/або видалений лізин з амінокислотним номером 448 в SEQ ID NO: 1, і легкий ланцюг, що складається з амінокислотної послідовності, представленої в SEQ ID NO: 3.
- 25 3. Антитіло до TSLP-рецептора людини за п. 2, що містить важкий ланцюг, що складається з амінокислотної послідовності, представленої в SEQ ID NO: 1, і легкий ланцюг, що складається з амінокислотної послідовності, представленої в SEQ ID NO: 3.
4. Антитіло до TSLP-рецептора людини за п. 2, що містить важкий ланцюг, який складається з амінокислотної послідовності з номерами амінокислот 1-447 з SEQ ID NO: 1, і легкий ланцюг, який складається з амінокислотної послідовності, представленої в SEQ ID NO: 3.
5. Експресійний вектор, що містить:
 - 30 (i) полінуклеотид, що містить нуклеотидну послідовність, що кодує варіабельну область важкого ланцюга антитіла за п. 1(1), і
 - (ii) полінуклеотид, що містить нуклеотидну послідовність, що кодує варіабельну область легкого ланцюга антитіла за п. 1(1).
6. Експресійний вектор, що містить:
 - 35 (i) полінуклеотид, що містить нуклеотидну послідовність, що кодує важкий ланцюг антитіла за п. 3, і
 - (ii) полінуклеотид, що містить нуклеотидну послідовність, що кодує легкий ланцюг антитіла за п. 3.
7. Клітина-хазяїн, трансформована експресійним вектором, яка вибрана з групи, що складається з наступних пп. (a)-(b):
 - 40 (a) клітина-хазяїн, трансформована експресійним вектором, що включає полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує варіабельну область важкого ланцюга антитіла до TSLP-рецептора людини за п. 1(1), і полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує варіабельну область легкого ланцюга цього антитіла за п. 1(1);
 - 45 (b) клітина-хазяїн, трансформована експресійним вектором, що включає полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує варіабельну область важкого ланцюга антитіла до TSLP-рецептора людини за п. 1(1), і експресійним вектором, що включає полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує варіабельну область легкого ланцюга цього антитіла за п. 1(1).
- 50 8. Клітина-хазяїн, трансформована експресійним вектором, яка вибрана з групи, яка складається з наступних пп. (a)-(b):

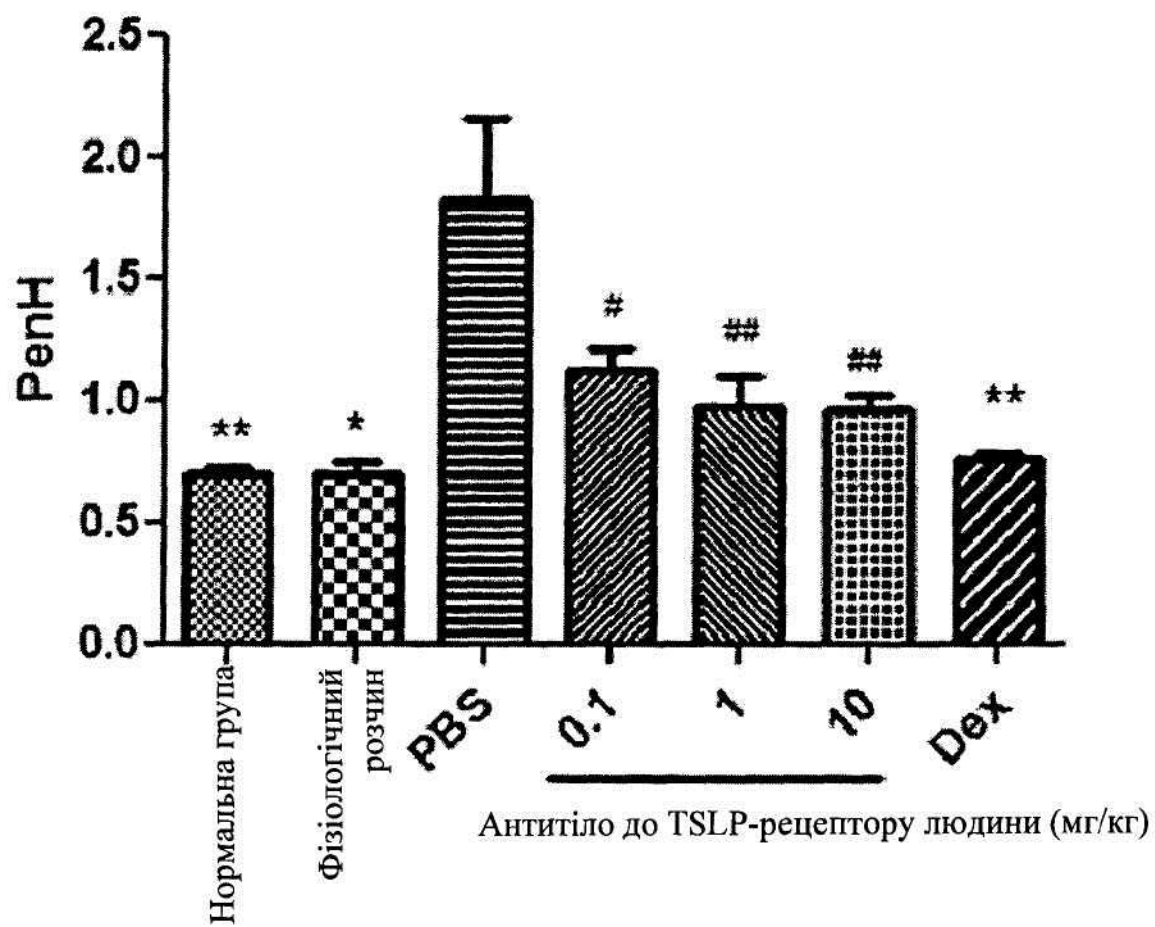
- (а) клітина-хазяїн, трансформована експресійним вектором, що включає полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує важкий ланцюг антитіла до TSLP-рецептора людини за п. 3, і полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує легкий ланцюг цього антитіла за п. 3;
- 5 (b) клітина-хазяїн, трансформована експресійним вектором, що включає полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує важкий ланцюг антитіла до TSLP-рецептора людини за п. 3, і експресійним вектором, що включає полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує легкий ланцюг цього антитіла за п. 3.
9. Спосіб отримання антитіла до TSLP-рецептора людини або його антигензв'язувального фрагмента, який включає культивування клітини-хазяїна за п. 7 для експресії антитіла до TSLP-рецептора людини або його антигензв'язувального фрагмента.
10. Спосіб отримання антитіла до TSLP-рецептора людини, який включає культивування клітини-хазяїна за п. 8 для експресії антитіла до TSLP-рецептора людини.
11. Фармацевтична композиція, яка містить антитіло до TSLP-рецептора людини за п. 3 і/або антитіло до TSLP-рецептора людини за п. 4 і фармацевтично прийнятну допоміжну речовину.
- 15 12. Фармацевтична композиція за п. 11, яка є фармацевтичною композицією для профілактики або лікування астми.
13. Антитіло до TSLP-рецептора людини за п. 3 для застосування в профілактиці або ліванні астми.
- 20 14. Застосування антитіла до TSLP-рецептора людини за п. 2 для виготовлення фармацевтичної композиції для профілактики або лікування астми.



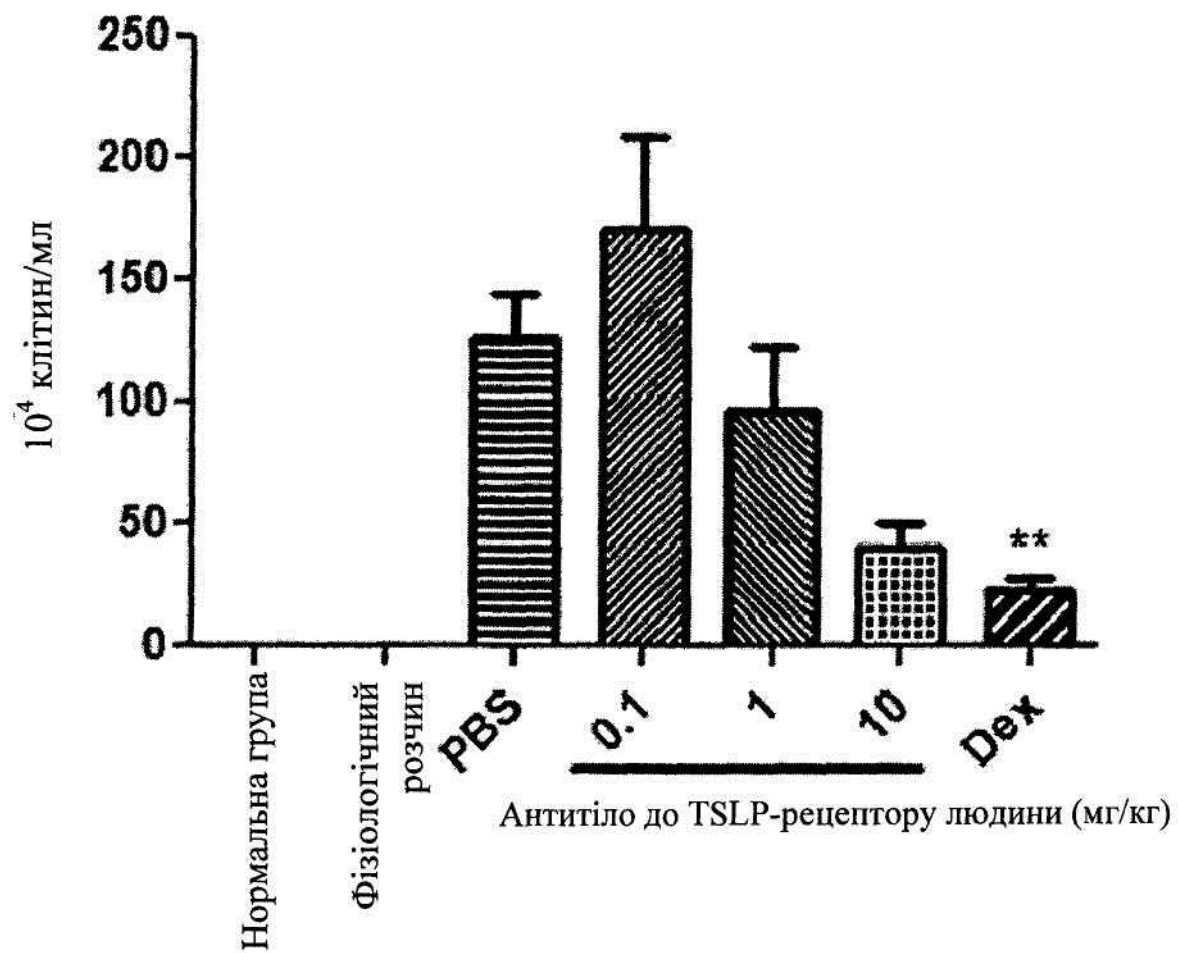
Фіг. 1



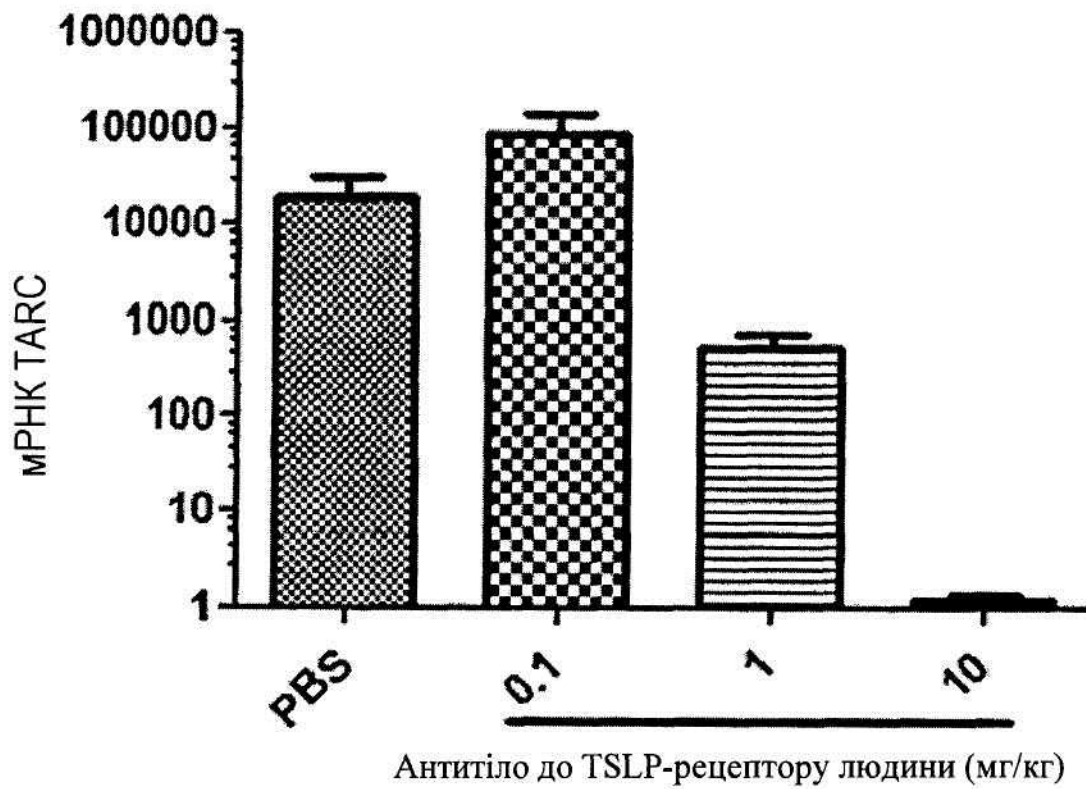
Фіг. 2



Фіг. 3



Фіг. 4



Фіг. 5

Комп'ютерна верстка О. Гергіль

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