



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 119973

(13) C2

(51) МПК

C07K 16/24 (2006.01)

C12N 15/13 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 11/06 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ  
ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА  
СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД**

<b>(21)</b> Номер заявки:	<b>а 2016 06000</b>	<b>(56)</b> Перелік документів, взятих до уваги експертизою:
<b>(22)</b> Дата подання заявки:	<b>06.11.2014</b>	Isolation and optimization for affinity and biophysical characteristics of anti-CCL17 antibodies from the VH1-69 germline gene / JohnW.Kehoe, Brian Whitaker, Deidra Bethea et al. // Protein Engineering, Design & Selection. – 2014. - Vol. 27 (6). - P. 199–206
<b>(24)</b> Дата, з якої є чинними права на винахід:	<b>10.09.2019</b>	Surrogate antibodies that specifically bind and neutralize CCL17 but not CCL22 / Sandra Santulli-Marotto, Jamie Fisher, Theodore Petley et al. // Monoclonal antibodies in immunodiagnosis and immunotherapy. – 2013. – Vol. 32 (3). – P. 162-171
<b>(31)</b> Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	<b>61/900,596</b>	Therapeutic targeting Of Ccl17 via the systemic administration of a monoclonal antibody ameliorates experimental fungal asthma / U. B. Ismailoglu, A. P. Moreira, M. Ryan et al. // American journal respiratory and critical care medicine. – 2011. – Vol. 183. – P. A4504
<b>(32)</b> Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	<b>06.11.2013</b>	WO 2012047584 A2, 12.04.2012
<b>(33)</b> Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заяву:	<b>US</b>	An engineered Fc variant of an IgG eliminates all immune effector functions via structural perturbations / Omid Vafa, Gary L. Gilliland, Randall J. Brezski et al. // Methods. – 2014. – Vol. 65. – P. 114–126
<b>(41)</b> Публікація відомостей про заявку:	<b>25.07.2016, Бюл.№ 14</b>	G. E. Morris epitope mapping of protein antigens by competition ELISA / Glenn E. Morris // The Protein Protocols Handbook. – 1996. – P. 595-600
<b>(46)</b> Публікація відомостей про видачу патенту:	<b>10.09.2019, Бюл.№ 17</b>	US 20100278844 A1, 04.11.2010
<b>(86)</b> Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ	<b>PCT/US2014/064302, 06.11.2014</b>	WO 2011056997 A1, 12.05.2011
<b>(72)</b> Винахідник(и): <b>Боукай Кен (US), Дель Векчіо Альфред (US), Кіхоу Джон (US), Лейсі Ейлін (US), Мюрей Лін (GB), Раян Мері (US), Сантулі-Марото Сандра (US), Вілер Джон (US), Вітакер Браян (US), Тепляков Алексей (US)</b>		WO 2009120922 A3, 17.12.2009
<b>(73)</b> Власник(и): <b>ЯНССЕН БАЙОТЕК, ІНК., 800/850 Ridgeview Drive, Horsham, Pennsylvania 19044, United States of America (US)</b>		Engagement of two distinct binding domains on CCL17 is required for signaling through CCR4 and establishment of localized inflammatory conditions in the lung / Sandra Santulli-Marotto, Ken Boakye, Eilyn Lacy et al. // PLOS ONE. – 2013. – Vol. 8 (12). – P. e81465
<b>(74)</b> Представник: <b>Мошинська Ніна Миколаївна, реєстр. №115</b>		

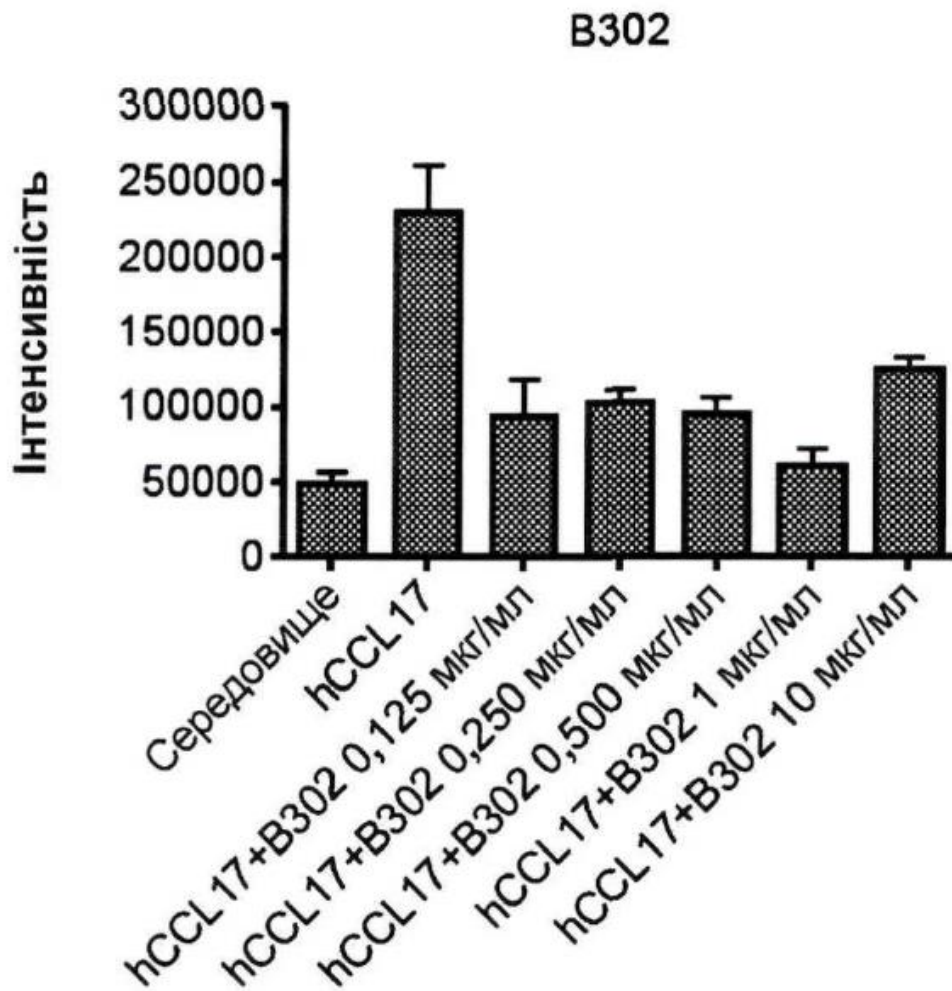
**(54) АНТИТИЛО ДО CCL17**

UA 119973 C2

## (57) Реферат:

Винахід стосується виділеного антитіла до CCL17. Винахід також стосується фармацевтичної композиції, виділеного полінуклеотиду, вектора, клітини хазяїна, способу отримання антитіла, способу лікування захворювання, опосередкованого CCL17, способу лікування бронхіальної астми або гіперреактивності дихальних шляхів та застосування даного антитіла в терапії.

Фіг. 1А.



Ця заявка заявляє пріоритет щодо попередньої заявки на патент США № 61/900,596, поданої 6 листопада 2013 р., повний зміст якої в повному обсязі включено в цей документ шляхом посилання.

Галузь техніки, до якої відноситься винахід

5 Цей винахід стосується антитіл, які специфічно зв'язують CCL17, полінуклеотидів, які кодують антитіла або фрагменти, і способів отримання й використання вищезгаданого.

Рівень техніки

10 Гомеостатичний хемокін, CCL17 (TARC, хемокін (C-C мотив) ліганд 17) є ефективним хемоатрактантом лімфоцитів. CCL17 є лігандом для CCR4, GPCR, який вважають важливим у функціонуванні Т-клітин і хемотаксису й міграції імунних клітин до ділянок запалення. CCR4 переважно експресується на лімфоцитах Th2, природних клітинах-кілерах і клітинах iNKT.

Встановлено зв'язок CCL17 із захворюваннями людини, які уражують різні органи, такими як виразковий коліт (UC), atopічний дерматит (AD), ідіопатичний легеневи фіброз (IPF) і бронхіальна астма (Belperio et al., J Immunol, 173: 4692–469, 2004; Christophi et al., Inflamm Bowel Dis. doi: 10.1002/ibd.2295; Inoue et al., Eur Respir J, 24: 49–56, 2004; Kakinuma et al., J Allergy Clin Immunol, 107: 535–541, 2001; Saeki and Tamaki, J Dermatol Sci, 43: 75–84, 2006; Tamaki et al., J Dermatol, 33: 300–302, 2006). У мишей CCL17 зв'язаний із різними запальними станами і інфекціями, такими як хронічне запалення легенів, що є присутнім у моделях фіброзу й бронхіальної астми, коліт і шистосомоз, імовірно, шляхом індукції відповідей Th2 через рекрутування імунних клітин CCR4<sup>+</sup>. Нейтралізація CCL17 полегшує впливи захворювання як у моделях бронхіальної астми, викликаній *A. Fumigatus* і овальбуміном (OVA), так і ураження печінки в мишачій моделі індукованого *P. acnes* ураження печінки шляхом блокування вхідного потоку Т-клітин (Carpenter and Hogamoam Infect Immun, 73:7198–7207, 2005; Heiseke et al., Gastroenterology, 142:335–345; Hogamoam et al., Med Mycol, 43 Suppl 1, S197–202, 2005; Ismailoglu et al., Therapeutic targeting of CCL17 via the systemic administration of a monoclonal antibody ameliorates experimental fungal asthma. Стаття представлена в Am J Respir Crit Care Med, 2011; Jakubzick et al., Am J Pathol, 165:1211–122, 2004; Kawasaki et al., J Immunol, 166:2055–2062, 2001; Yoneyama et al., J Clin Invest, 102:1933–1941, 1998).

30 CCL22 (MDC) є другим лігандом для CCR4. Взаємодія CCR4 із кожним хемокіном призводить до відмінних наслідків (Allen et al., Annu Rev Immunol 25:787–820, 2007; Imai et al., J Biol Chem 273:1764–1768, 1998), можливо зумовлених відмінностями в афінностях зв'язування двох лігандів для CCR4. CCL22 зв'язує CCR4 із вищою афінністю й легше індує інтерналізацію рецептора, ніж CCL17 (Baatar et al., J Immunol 179:1996–2004, 2007; Imai et al., J Biol Chem 273:1764–1768, 1998; Mariani et al., Eur J Immunol 34:231–240, 2004), і легше стимулює адгезію клітин, ніж CCL17 (D'Ambrosio et al., J Immunol 169:2303–2312, 2002). CCL22 демонструє більш обмежену експресію, причому його виробництво обмежене імунними клітинами, тоді як CCL17 експресується й секретується багатьма відмінними типами клітин, включаючи неімунні клітини (Alferink et al., J Exp Med 197:585–599, 2003; Berin et al., Am J Respir Cell Mol Biol 24:382–389, 2001; Godiska et al., J Exp Med 185:1595–1604, 1997; Imai et al., J Biol Chem 271:21514–21521, 1996; Saeki and Tamaki, J Dermatol Sci 43:75–84, 2006). У мишачій моделі експериментального сепсису з перев'язуванням і пункцією сліпої кишки (CLP), CCL22 стимулював вроджений імунітет, тоді як CCL17 здавалося виявляв шкідливий вплив і, за деяких обставин, сприяв пошкодженню органів (Matsukawa et al., Rev Immunogenet 2:339–358, 2000). У мишачій моделі інвазивного аспергільозу легенів CCL22 відіграв захисну роль у вродженій протигрибковій відповіді, тоді як CCL17 відігравав роль супресора (Carpenter and Hogaboam, Infect Immun 73:7198–7207, 2005). Ці два хемокіни можуть відігравати протилежні ролі у виникненні локалізованого запалення через відмінні впливи на гомеостаз Treg, оскільки рекрутуванню Treg сприяє CCL22, але не CCL17 (Heiseke et al., Gastroenterology 142:335–345, 2011; Montane et al., J Clin Invest, 121:3024–30, 2011; Weber et al., J Clin Invest 121:2898–2910, 2011).

50 У тваринних моделях контактної гіперчутливості CCL17 є основним фактором ініціації запальної відповіді, яка призводить до контактної гіперчутливості (CHS) у відповідь на навантаження у вигляді FITC або DNFB, і нокаут CCL17 у цих мишей збільшував виживання серцевих алотрансплантатів порівняно з гетерозиготними мишами, що мали один функціональний алель CCL17 (Alferink et al., J Exp Med 197:585–599, 2003).

Антагоністи CCR4 можуть бути неселективними і інгібувати функції як CCL17, так і CCL22. Таким чином, існує необхідність у антитілах до CCL17 для потенційного лікування різноманітних захворювань, опосередкованих CCL17, включаючи бронхіальну астму.

Суть винаходу

Одним варіантом втілення винаходу є виділене антитіло, яке специфічно зв'язує людський CCL17, яке містить варіабельну область важкого ланцюга (VH) і варіабельну область легкого ланцюга (VL), де антитіло конкурує за зв'язування з людським CCL17 з антитілом, яке містить VH із SEQ ID NO: 45 і VL із SEQ ID NO: 52.

5 Іншим варіантом втілення винаходу є виділене антитіло, яке специфічно зв'язує людський CCL17, яке має послідовність із SEQ ID NO: 1, де антитіло зв'язує людський CCL17 принаймні в межах амінокислотних залишків CCL17 21–23, 44–45 і 60–68.

10 Іншим варіантом втілення винаходу є виділене антитіло, яке специфічно зв'язує людський CCL17, де антитіло зв'язує людський CCL17 із константою афінності ( $K_D$ ) приблизно  $1 \times 10^{-10}$  М або менше, де  $K_D$  вимірюють із використанням рівноважної афінності в розчині в сольовому буфері на основі трис, що містить 0,05 % твін-20, після спільної інкубації антитіла й людського CCL17 протягом 48 годин за 4 °C.

Іншим варіантом втілення винаходу є виділене антитіло, яке специфічно зв'язує людський CCL17, що містить певні послідовності HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 і LCDR3.

15 Іншим варіантом втілення винаходу є виділене антитіло, яке специфічно зв'язує людський CCL17, що містить певні послідовності VH і VL.

20 Іншим варіантом втілення винаходу є виділене антитіло, яке специфічно зв'язує людський CCL17, де антитіло містить VH, що містить амінокислотну послідовність принаймні на 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентичну VH із SEQ ID NO: 46, і VL, що містить амінокислотну послідовність принаймні на 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентичну VL із SEQ ID NO: 62.

Іншим варіантом втілення винаходу є фармацевтична композиція, що містить антитіло згідно з винаходом і фармацевтично прийнятний носій.

25 Іншим варіантом втілення винаходу є виділений полінуклеотид, що кодує VH або VL згідно з винаходом.

Іншим варіантом втілення винаходу є вектор, що містить полінуклеотид згідно з винаходом.

Іншим варіантом втілення винаходу є клітина-хазяїн, що містить вектор згідно з винаходом.

30 Іншим варіантом втілення винаходу є спосіб отримання антитіла згідно з винаходом, що включає культивування клітини-хазяїна згідно з винаходом в умовах, за яких продукується антитіло.

Іншим варіантом втілення винаходу є спосіб лікування захворювання, опосередкованого CCL17, що включає введення суб'єкту, який цього потребує, антитіла згідно з винаходом протягом періоду часу, достатнього для лікування захворювання, опосередкованого CCL17.

35 Іншим варіантом втілення винаходу є спосіб лікування бронхіальної астми або гіперреактивності дихальних шляхів, що включає введення суб'єкту антитіла згідно з винаходом протягом періоду часу, достатнього для лікування бронхіальної астми.

Короткий опис рисунків

На Фіг. 1A показано інгібування хемотаксису антитілом B302 до CCL17, індукованим 1 нМ людського CCL17 у клітинах CCRF-CEM. B302 являє собою C17B302.

40 На Фіг. 1B показано інгібування хемотаксису антитілом B311 до CCL17, індукованим 1 нМ людського CCL17 у клітинах CCRF-CEM. B311 являє собою C17B311.

На Фіг. 1C показано вплив контролю ізотипу IgG2 на хемотаксис, індукований 1 нМ людського CCL17 у клітинах CCRF-CEM.

45 На Фіг. 1D показано вплив контролю ізотипу IgG4 на хемотаксис, індукований 1 нМ людського CCL17 у клітинах CCRF-CEM.

На Фіг. 2A показано інгібування хемотаксису антитілом B302 до CCL17, індукованим 1 нМ CCL17 яванського макака в клітинах HSC-F. B302 являє собою C17B302.

На Фіг. 2B показано інгібування хемотаксису антитілом B311 до CCL17, індукованим 1 нМ CCL17 яванського макака в клітинах HSC-F. B311 являє собою C17B311.

50 На Фіг. 2C показано вплив контролю ізотипу IgG2 на хемотаксис, індукований 1 нМ CCL17 яванського макака в клітинах HSC-F.

На Фіг. 2D показано вплив контролю ізотипу IgG4 на хемотаксис, індукований 1 нМ CCL17 яванського макака в клітинах HSC-F.

55 На Фіг. 3 показано послідовності VH антитіл до CCL17, що зв'язуються з людським CCL17 із  $K_D$  100 нМ або нижче.

На Фіг. 4 показано консенсусні послідовності VH і HCDR антитіл до CCL17, показаних на Фіг. 3, що зв'язуються з людським CCL17 із  $K_D$  100 нМ або нижче.

На Фіг. 5 показано послідовності VL антитіл до CCL17, що зв'язуються з людським CCL17 із  $K_D$  100 нМ або нижче.

На Фіг. 6A показано консенсусну послідовність VL антитіл до CCL17, показаних на Фіг. 5, що зв'язуються з людським CCL17 із  $K_D$  100 нМ або нижче.

На Фіг. 6B показано консенсусні послідовності LCDR антитіл до CCL17, показаних на Фіг. 5, що зв'язуються з людським CCL17 із  $K_D$  100 нМ або нижче.

5 На Фіг. 7 показано епітопний і паратопний залишки антитіла C17B236. Паратопні залишки VH і VL обведені прямокутниками, а епітопні залишки CCL17 обведені колами. Нумерація залишків відповідає SEQ ID NO: 45 (VH), SEQ ID NO: 52 (VL), SEQ ID NO: 1 (CCL17).

Детальний опис винаходу

10 Усі публікації, включаючи, серед іншого, патенти й патентні заявки, наведені в цьому описі, включені в цей документ шляхом посилання так, нібито їх було викладено повністю.

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

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

20 У контексті цього документа термін "специфічне зв'язування" або "специфічно зв'язується" або "зв'язується" стосується зв'язування антитіла з заздалегідь встановленим антигеном із більшою афінністю, ніж для інших антигенів. Зазвичай антитіло зв'язується з заздалегідь встановленим антигеном із константою дисоціації ( $K_D$ ) приблизно  $1 \times 10^{-7}$  М або менше, наприклад, приблизно  $1 \times 10^{-8}$  М або менше, приблизно  $1 \times 10^{-9}$  М або менше, приблизно  $1 \times 10^{-10}$  М або менше, приблизно  $1 \times 10^{-11}$  М або менше, приблизно  $1 \times 10^{-12}$  М або менше, приблизно  $1 \times 10^{-13}$  М або менше або приблизно  $1 \times 10^{-14}$  М або менше, зазвичай із  $K_D$ , яка принаймні в  
25 десять разів менша, ніж його  $K_D$  для зв'язування з неспецифічним антигеном або епітопом (наприклад, BSA, казеїном). Константу дисоціації можна виміряти з використанням стандартних процедур. Однак антитіла, які специфічно зв'язуються з заздалегідь встановленим антигеном, можуть мати перехресну реактивність з іншими спорідненими антигенами, наприклад, із тим  
30 самим заздалегідь встановленим антигеном від інших видів (гомологами), таких як людина або мавпа, наприклад, *Macaca fascicularis* (яванський макак, суну) або *Pan troglodytes* (шимпанзе, chimp).

"Моноклональне антитіло, яке специфічно зв'язує людський CCL17" стосується антитіл, що специфічно зв'язують людський зрілий CCL17, який має послідовність, наведену в SEQ ID NO: 1.  
35

У контексті цього документа, "нейтралізуюче" або "нейтралізує" або "нейтралізуюче антитіло" або "антагоніст антитіла" стосується антитіла або фрагмента антитіла, які частково або повністю інгібує, у будь-який спосіб, біологічну активність CCL17. Нейтралізуючі антитіла можна ідентифікувати з використанням аналізів біологічної активності CCL17, як описано нижче.  
40 Нейтралізуючі антитіла CCL17 можуть інгібувати виміряну біологічну активність CCL17 на 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 %.

Взаємозамінні в контексті цього документа терміни "людський CCL17" або "huCCL17" відносяться до людського білка CCL17, що має амінокислотну послідовність, наведену в SEQ ID NO: 1. Послідовність повнорозмірного CCL17, включаючи сигнальну послідовність, доступна в GenBank; номер доступу NP\_002978.  
45

Взаємозамінні в контексті цього документа терміни "CCL17 яванського макака" або "cCCL17" відносяться до білка CCL17 *Macaca fascicularis* (яванського макака), що має амінокислотну послідовність, наведену в SEQ ID NO: 2.

У контексті цього документа термін "антитіла" використовуються в широкому значенні і включає молекули імуноглобуліну, включаючи моноклональні антитіла, включаючи мишачі, людські, гуманізовані й химерні антитіла, фрагменти антитіл, біспецифічні або мультиспецифічні антитіла, утворені принаймні з двох інтактних антитіл або фрагментів антитіл, димерних, тетрамерних або мультимерних антитіл, одноланцюгових антитіл, і будь-яку іншу конфігурацію молекули імуноглобуліну, яка містить сайт розпізнавання антигена з потрібною специфічністю.  
50  
55

Імуноглобуліни можна віднести до п'яти основних класів, а саме IgA, IgD, IgE, IgG і IgM, залежно від амінокислотної послідовності константного домену важких ланцюгів. IgA і IgG додатково поділяють на ізотипи IgA<sub>1</sub>, IgA<sub>2</sub>, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub> і IgG<sub>4</sub>. Легкі ланцюги антитіл будь-якого виду хребетних можна віднести до одного з двох чітко відмінних типів, а саме каппа (κ) і лямбда (λ), на основі амінокислотних послідовностей їхніх константних доменів.  
60

Термін "фрагменти антитіл" стосується частини молекули імуноглобуліну, яка зберігає антиген-зв'язуючий сайт важких ланцюгів і/або легких ланцюгів, наприклад, області, що визначають комплементарність, важких ланцюгів (HCDR) 1, 2 і 3, області, що визначають комплементарність, легких ланцюгів (LCDR) 1, 2 і 3, варіабельну область важких ланцюгів (VH) або варіабельну область легких ланцюгів (VL). Фрагменти антитіла включають фрагмент Fab, одновалентний фрагмент, що складається з VL або VH; фрагмент F(ab)<sub>2</sub>, двовалентний фрагмент, що містить два фрагменти Fab, зв'язаних дисульфідним містком у шарнірній ділянці; фрагмент Fd, що складається з доменів VH і CH1; фрагмент Fv, що складається з доменів VL і VH єдиного плеча антитіла; фрагмент dAb (Ward et al., Nature 341:544–546, 1989), який складається з домену VH. Домени VH і VL можуть бути сконструйовані і зв'язані один з одним за допомогою синтетичного лінкера з утворенням різних типів конструкцій одноланцюгових антитіл, де домени VH/VL паруються внутрішньомолекулярно або міжмолекулярно в тих випадках, коли домени VH і VL експресуються окремими конструкціями одноланцюгових антитіл з утворенням сайту зв'язування одновалентного антигена, наприклад, одноланцюговим Fv (ScFv) або діатілом; описані, наприклад, у міжнародній патентній публікації № WO1998/44001, міжнародній патентній публікації № WO1988/01649; міжнародній патентній публікації № WO1994/13804; міжнародній патентній публікації № WO1992/01047. Ці фрагменти антитіл отримують із використанням добре відомих способів, і ці фрагменти характеризують у такий самий спосіб, що і інтактні антитіла.

Фраза "виділене антитіло" стосується антитіла, яке по суті не містить інших антитіл, що мають відмінні антигенні специфічності (наприклад, виділене антитіло, яке специфічно зв'язує людський CCL17 по суті не містить антитіл, які специфічно зв'язують антигени людини, крім людського CCL17). Виділене антитіло, яке специфічно зв'язує людський CCL17 може, однак, мати перехресну реактивність до інших антигенів, таких як ортологи людського CCL17, такі як CCL17 *Mascas fascicularis* (яванського макака). Крім того, виділене антитіло може по суті не містити інший клітинний матеріал і/або хімічні речовини.

Варіабельна область антитіла складається з області "каркаса", що переривається трьома "антиген-зв'язуючими сайтами". Антиген-зв'язуючі сайти визначаються з використанням різних термінів: (i) області, що визначають комплементарність (CDR), три у VH (HCDR1, HCDR2, HCDR3) і три у VL (LCDR1, LCDR2, LCDR3) на основі варіабельності послідовностей (Wu and Kabat, J Exp Med 132:211–50, 1970; Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991); (ii) "гіперваріабельні області", "HVR" або "HV", три у VH (H1, H2, H3) і три у VL (L1, L2, L3), відносяться до областей варіабельних доменів антитіл, які мають гіперваріабельну структуру за визначенням Chothia і Lesk (Chothia and Lesk Mol Biol 196:901–17, 1987). Інші терміни включають "IMGT-CDR" (Lefranc et al., Dev Comparat Immunol 27:55–77, 2003) і "використання залишку, який визначає специфічність" (SDRU) (Almagro, Mol Recognit, 17:132–43, 2004). Міжнародна база даних ImMunoGeneTics (IMGT) (<http://www.imgt.org>) пропонує стандартизовану нумерацію й визначення антиген-зв'язуючих сайтів. Відповідність між визначеннями CDR, HV і IMGT описана в публікації Lefranc et al., Dev Comparat Immunol 27:55–77, 2003.

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

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

Термін "гуманізоване антитіло" стосується антитіла, в якому антиген-зв'язуючий сайт отриманий із видів не людського походження, а каркаси варіабельної області отримано з послідовностей імуноглобуліну людини. Гуманізовані антитіла можуть включати заміщення в областях каркасів, так що каркас може не бути точною копією експресованого людського імуноглобуліну або генних послідовностей зародкової лінії.

Термін "людське антитіло" означає антитіло, яке має варіабельні області важкого й легкого ланцюгів, в яких каркас і антиген-зв'язуючий сайт отримано з послідовностей людського походження. Якщо антитіло містить константну область, цю константну область також отримують із послідовностей людського походження.

Людське антитіло містить варіабельні області важкого або легкого ланцюга, які "отримані з" послідовностей людського походження, якщо варіабельні області антитіла отримують із системи, в якій використовуються гени імуноглобулінів зародкової лінії людини або перебудованих імуноглобулінів. Такі системи включають бібліотеки генів імуноглобулінів

людини, наприклад, бібліотеки, продемонстровані на фагові й трансгенних тваринах не людського походження, наприклад, мишах із локусами імуноглобуліну людини, як описано в цьому документі. "Людське антитіло" може містити амінокислотні відмінності порівняно з послідовностями імуноглобуліну зародкової лінії або перебудованого імуноглобуліну внаслідок, наприклад, природних соматичних мутацій або навмисного введення заміщень. Зазвичай амінокислотна послідовність "людського антитіла" принаймні приблизно на 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентична амінокислотній послідовності, що кодується геном імуноглобуліну людської зародкової лінії або перебудованим геном імуноглобуліну. У деяких випадках "людське антитіло" може містити консенсусні каркасні послідовності, отримані з аналізу людської каркасної послідовності, наприклад, як описано в публікації Knappik et al., J Mol Biol 296:57–86, 2000), або синтетичну HCDR3, введenu в бібліотеки генів імуноглобулінів людини, продемонстровані на фагові, наприклад, як описано в публікації Shi et al., J Mol Biol 397:385–96, 2010 і міжнародній патентній публікації № WO2009/08546).

Виділені гуманізовані антитіла можуть бути синтетичними. У той час як людські антитіла отримують із послідовностей людського імуноглобуліну, вони можуть бути отримані з використанням таких систем, як фаговий дисплей, що включає синтетичні CDR і/або синтетичні каркаси, або можуть піддаватись *in vitro* мутагенезу, щоб покращити властивості антитіл, що призводить до отримання антитіл, які не існують у природі в репертуарі зародкової лінії антитіл людини *in vivo*.

Людські антитіла можуть включати заміщення в каркасі, або в антиген-зв'язуючому сайті, тому вони можуть не бути точними копіями експресованого людського імуноглобуліну або генних послідовностей людської зародкової лінії. Однак антитіла, в яких антиген-зв'язуючі сайти отримано з видів не людського походження, не включено у визначення терміну "людське антитіло".

У контексті цього документа термін "рекомбінантне антитіло" включає всі антитіла, які отримані, експресовані, створені або виділені основаними на рекомбінації способами, такі як антитіла, виділені з організму тварини (наприклад миші), що є трансгенною або трансхромосомною для генів імуноглобуліну людини, або з гібридами, отриманої від неї (додатково описано нижче), антитіла, виділені з клітини-хазяїна, трансформованої для експресії антитіла, антитіла, виділені з рекомбінантної комбінаторної бібліотеки антитіл, і антитіла, отримані, експресовані, створені або виділені будь-якими іншими способами, які включають сплайсинг послідовностей генів імуноглобуліну людини з іншими послідовностями ДНК.

У контексті цього документа термін "моноклональне антитіло" стосується препарату молекул антитіл одномолекулярної композиції.

У контексті цього документа термін "по суті ідентичні" означає, що дві амінокислотні послідовності варіабельної області антитіла, які порівнюють, є однаковими або мають "несуттєві відмінності". Несуттєві відмінності - це заміщення 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 або 15 амінокислот у послідовності варіабельної області антитіла, які не мають негативного впливу на властивості антитіла. Розкриті в цьому документі по суті ідентичні до послідовностей варіабельної області амінокислотні послідовності перебувають у рамках цього винаходу. У деяких варіантах втілення ідентичність послідовності може становити приблизно 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або вище. Відсоток ідентичності можна визначити, наприклад, шляхом попарного вирівнювання з використанням налаштувань за замовчуванням модуля AlignX Vector NTI v.9.0.0 (Invitrogen, м. Карлсбад, штат Каліфорнія, США). Послідовності білка згідно з цим винаходом можна використати як послідовність запиту для здійснення пошуку в публічно доступних або патентних базах даних, наприклад, для визначення споріднених послідовностей. Типовими програмами, які використовують для здійснення таких пошуків, є програми XBLAST або BLASTP (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) або комплект GenomeQuest™ (GenomeQuest, м. Уестборо, штат Массачусетс, США) із використанням налаштувань за замовчуванням.

У контексті цього документа термін "епітоп" означає частину антигена, з якою специфічно зв'язується антитіло. Епітопи, як правило, складаються з хімічно активних (наприклад полярних, неполярних і гідрофобних) поверхневих скупчень функціональних груп, таких як амінокислоти або бічні ланцюги полісахаридів, і можуть мати специфічні тривимірні структурні характеристики, а також специфічні характеристики зарядів. Епітоп може складатися з суміжних і/або несуміжних амінокислот, які утворюють конформаційну просторову одиницю. Для несуміжного епітопу амінокислоти з різних частин лінійної послідовності антигена опиняються в безпосередній близькості в 3-вимірному просторі в результаті складання білкової молекули.

У контексті цього документа термін "біспецифічний" стосується антитіла або молекули, що зв'язує два різні антигени або два різні епітопи в межах антигена.

У контексті цього документа термін "моноспецифічний" стосується антитіла, яке зв'язує один антиген або один епітоп.

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

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

Термін "експресійний вектор" означає вектор, який можна використати в біологічній системі або у відновленій біологічній системі для спрямування трансляції поліпептиду, кодованого полінуклеотидною послідовністю, присутньою в експресійному векторі.

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

"Комплементарна ДНК" або "кДНК" стосується добре відомого синтетичного полінуклеотиду, який розділяє розташування елементів послідовності, що знаходяться в нативних зрілих видах мРНК, із суміжними екзонами, з видаленими проміжними інтронами, присутніми в геномній ДНК. Кодони, що кодують ініціаторний метіонін, можуть бути присутніми або відсутніми в кДНК. кДНК можна синтезувати, наприклад, шляхом зворотної транскрипції або збирання синтетичного гена.

У контексті цього документа термін "синтетичний" або "неприродний" стосується молекули полінуклеотиду або поліпептиду, яка не зустрічається в природі.

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

Загальноприйняті одно- і трибуквені коди амінокислот, які використовуються в цьому документі, як показано в таблиці 1.

Таблица 1

Амінокислота	Трибуквенний код	Однобуквенний код
Аланін	Ala	A
Аргінін	Arg	R
Аспарагін	Asn	N
Аспартат	Asp	D
Цистеїн	Cys	C
Глутамат	Glu	E
Глутамін	Gln	Q
Гліцин	Gly	G
Гістидин	His	H
Ізолейцин	Ile	I
Лейцин	Leu	L
Лізин	Lys	K
Метіонін	Met	M
Фенілаланін	Phe	F
Пролін	Pro	P
Серин	Ser	S
Треонін	Thr	T
Триптофан	Trp	W
Тирозин	Tyr	Y
Валін	Val	V

#### Композиції речовини

У цьому винаході пропонуються моноклональні антитіла, які специфічно зв'язують людський CCL17. Антитіла згідно з винаходом інгібують біологічну активність CCL17 у клітині, і можуть



необов'язково перехресно реагувати з CCL17 яванського макака. У цьому винаході пропонуються синтетичні полінуклеотиди, що кодують антитіла і їхні фрагменти, вектори й клітини-хазяїни, і способи утворення й використання антитіл згідно з винаходом.

Одним із варіантів втілення винаходу є виділене антитіло, яке специфічно зв'язує людський CCL17.

Іншим варіантом втілення винаходу, описаного в цьому документі, є виділене антитіло, яке специфічно зв'язує людський CCL17, що містить варіабельну область важкого ланцюга (VH) і варіабельну область легкого ланцюга (VL), де антитіло конкурує за зв'язування з людським CCL17 з антитілом, яке містить VH із SEQ ID NO: 45 і VL із SEQ ID NO: 52.

Конкуренцію між специфічним зв'язуванням із людським CCL17 з антитілами згідно з винаходом, що містять певні амінокислотні послідовності VH і VL, можна досліджувати *in vitro* з використанням добре відомих способів. Наприклад, зв'язування MSD Sulfo-Tag™ NHS-естерміченого антитіла з людським CCL17 за присутності неміченого антитіла можна проаналізувати за допомогою аналізів ELISA або Biacore, або, для демонстрації конкуренції з антитілами згідно з винаходом, можна використати проточну цитометрію. Здатність досліджуваного антитіла інгібувати зв'язування антитіла, яке містить VH із SEQ ID NO: 45 і VL із SEQ ID NO: 52, з людським CCL17 показує, що досліджуване антитіло може конкурувати з цими антитілами за зв'язування з людським CCL17.

Іншим варіантом втілення винаходу, описаного в цьому документі, є виділене антитіло, яке специфічно зв'язує людський CCL17, що має послідовність із SEQ ID NO: 1, де антитіло зв'язує людський CCL17 принаймні в межах амінокислотних залишків CCL17 21–23, 44–45 і 60–68. "Принаймні в межах амінокислотних залишків 21–23, 44–45 і 60–68 людського CCL17" означає, що антитіло до CCL17 зв'язує принаймні один залишок, що розташований у межах амінокислотного проміжку з залишків 21–23 із SEQ ID NO: 1, і принаймні один залишок, що розташований у межах амінокислотного проміжку залишків 44–45 із SEQ ID NO: 1, і принаймні один залишок, що розташований у межах амінокислотного проміжку залишків 60–68 із SEQ ID NO: 1. Антитіло може зв'язувати більше ніж один залишок у межах залишків 21–23, 44–45 і 60–68, і додаткові залишки поза межами залишків 21–23, 44–45 і 60–68 із SEQ ID NO: 1.

У деяких варіантах втілення, описаних у цьому документі, антитіло зв'язує людський CCL17 принаймні на залишках R22 і K23 із SEQ ID NO: 1.

У деяких варіантах втілення, описаних у цьому документі, антитіло зв'язує людський CCL17 принаймні на залишках L21, R22, K23, V44, Q45, N60, Y64, S67 і L68 із SEQ ID NO: 1.

Типовим антитілом, яке зв'язує людський CCL17 у межах амінокислотних залишків CCL17 21–23, 44–45 і 60–68 із SEQ ID NO: 1 є C17B236, що має VH із SEQ ID NO: 45 і VL із SEQ ID NO: 52. На основі аналізу кристалічної структури основними епітопними залишками, зв'язаними C17B236, є R22 і K23 CCL17 із SEQ ID NO: 1, на основі кількості контактів між цими залишками і залишками VH антитіла.

Іншими типовими антитілами, які зв'язують людський CCL17 у межах амінокислотних залишків 21–23, 44–45 і 60–68 CCL17 є різновиди C17B236 із дозрілою афінністю, причому всі антитіла утворюються в результаті кампанії дозрівання афінності одного й того ж батьківського антитіла. Послідовності VH і VL типових антитіл наведені на Фіг. 3 і Фіг. 5. Дозрівання афінності антитіл зазвичай включає заміщення амінокислот у CDR або в зоні Верньєра (каркасні області, що лежать у основі CDR). Дозрілі різновиди відбирають шляхом пеннінгу комбінаторних бібліотек, що можуть містити до  $10^8$  мутантів. Обмеження розміру бібліотеки обмежує кількість варіабельних положень до 6–7, якщо у кожному положенні дозволені всі 20 амінокислот. У кожній комбінаторній бібліотеці збережено більшість паратопних залишків, що забезпечує також збереження зв'язуючого епітопа. Декілька кристалографічних досліджень батьківських і дозрілих антитіл продемонстрували, що епітоп завжди зберігається протягом дозрівання афінності (наприклад, Fransson et al., J. Mol. Biol. 2010; 398:214–231; Gustchina et al., PLoS Pathog. 2010, 6:e1001182; La Porte et al., MAbs 2014; 6:1059–1068).

Антитіла до CCL17, що зв'язують людський CCL17 у межах амінокислотних залишків 21–23, 44–45 і 60–68 CCL17, зв'язують людський CCL17 із високою афінністю, зазвичай із  $K_D$  менше ніж приблизно  $1 \times 10^{-10}$  М.

Антитіла, які зв'язують людський CCL17 у межах амінокислотних залишків 21–23, 44–45 і 60–68 CCL17 можна отримати, наприклад, шляхом імунізації мишей химерним білком CCL17, що має послідовності людського CCL17 у положеннях залишків 21–23, 44–45 і 60–68, або пеннінгом диким типом людського CCL17 бібліотек фагового дисплея й перехресним скринінгом отриманих найкращих хітів із різновидами CCL17, що мають заміщення в кожному або декількох положеннях залишків у межах залишків 21–23, 44–45 і 60–68 людського CCL17 із використанням способів, описаних у цьому документі.

У деяких варіантах втілення цього винаходу, описаних у цьому документі, антитіло, яке специфічно зв'язує людський CCL17, блокує взаємодію CCL17/CCR4.

Антитіла можна тестувати на їхню здатність блокувати взаємодію CCL17/CCR4 за допомогою стандартної проточної цитометрії. Наприклад, клітини, що експресують CCR4, інкубують із флуоресцентно-міченим людським CCL17 і досліджуваними антитілами, після чого зв'язування флуоресцентно-міченого людського CCL17 із клітинами, що експресують CCR4, оцінюють із використанням стандартних способів. Антитіла, які "блокують взаємодію CCL17/CCR4" або "інгібують взаємодію CCL17/CCR4", можуть інгібувати зв'язування CCL17 із клітинами, що експресують CCR4, на 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % порівняно зі зв'язуванням CCL17 за відсутності антитіла.

Іншим варіантом втілення винаходу, описаного в цьому документі, є виділене антитіло, яке специфічно зв'язує людський CCL17, де антитіло зв'язує людський CCL17 із константою афінності ( $K_D$ ) приблизно  $1 \times 10^{-7}$  М або менше, приблизно  $1 \times 10^{-8}$  М або менше, приблизно  $1 \times 10^{-9}$  М або менше, приблизно  $1 \times 10^{-10}$  М або менше, приблизно  $1 \times 10^{-11}$  М або менше, приблизно  $1 \times 10^{-12}$  М або менше, приблизно  $1 \times 10^{-13}$  М або менше або приблизно  $1 \times 10^{-14}$  М або менше, коли  $K_D$  вимірюють із використанням рівноважної афінності в розчині в сольовому буфері на основі трис, що містить 0,05 % твін-20, після спільної інкубації антитіла й людського CCL17 протягом 48 годин за 4 °С.

У деяких варіантах втілення, описаних у цьому документі, антитіло зв'язує людський CCL17 із константою афінності ( $K_D$ ) приблизно  $1 \times 10^{-10}$  М або менше, коли  $K_D$  вимірюють із використанням рівноважної афінності в розчині в сольовому буфері на основі трис, що містить 0,05 % твін-20, після спільної інкубації антитіла й людського CCL17 протягом 48 годин за 4 °С.

У деяких варіантах втілення, описаних у цьому документі, антитіло зв'язує людський CCL17 з  $K_D$  приблизно  $5 \times 10^{-12}$  М або менше.

В інших варіантах втілення, описаних у цьому документі, антитіло згідно з винаходом, що специфічно зв'язує людський CCL17, зв'язує CCL17 *Mascas fascicularis* (яванського макака) з константою афінності ( $K_D$ ) приблизно  $1 \times 10^{-6}$  М або менше, приблизно  $1 \times 10^{-7}$  М або менше, приблизно  $1 \times 10^{-8}$  М або менше, приблизно  $1 \times 10^{-9}$  М або менше, приблизно  $1 \times 10^{-10}$  М або менше, приблизно  $1 \times 10^{-11}$  М або менше або приблизно  $1 \times 10^{-12}$  М або менше, коли  $K_D$  вимірюють із використанням рівноважної афінності в розчині в сольовому буфері на основі трис, що містить 0,05 % твін-20, після спільної інкубації антитіла й CCL17 яванського макака протягом 48 годин за 4 °С.

У деяких варіантах втілення, описаних у цьому документі, антитіло згідно з винаходом зв'язує CCL17 *Mascas fascicularis* (яванського макака) з  $K_D$  приблизно  $1 \times 10^{-8}$  М або менше, коли  $K_D$  вимірюють із використанням рівноважної афінності в розчині в сольовому буфері на основі трис, що містить 0,05 % твін-20, після спільної інкубації антитіла й CCL17 яванського макака протягом 48 годин за 4 °С.

Афінність антитіла до людського CCL17, що має послідовність із SEQ ID NO: 1 або CCL17 яванського макака, що має послідовність із SEQ ID NO: 2 можна виміряти експериментально з використанням будь-якого відповідного способу. У таких способах можна застосовувати вимірювальні прилади Proteon, Biacore або KinExA, як-от ProteOn XPR36 або Biacore 3000, аналізи рівноважної афінності в розчині (SEA), ELISA або аналізи конкурентного зв'язування, відомі фахівцям у цій галузі. Типовими способами є такі, що описані в прикладі 3. Вимірювання афінності конкретної взаємодії антитіла/CCL17 може змінюватися, якщо вимірюється за різних умов (наприклад, осмолярність, pH, буфер, концентрація детергентів). Таким чином, вимірювання афінності та інших параметрів зв'язування (наприклад,  $K_D$ ,  $K_{\text{пряма}}$ ,  $K_{\text{зворотня}}$ ) переважно проводять за стандартних умов і зі стандартизованим буфером, такими як буфер, описаний у цьому документі. Фахівцям у цій галузі буде зрозуміло, що внутрішня помилка під час вимірювання афінності, наприклад, із використанням рівноважної афінності в розчині, Biacore 3000 або Proteon (вимірюється як стандартне відхилення, SD), може звичайно перебувати в межах 5–33 % для вимірювання в типових межах виявлення. Таким чином, термін "приблизно" відображає типове стандартне відхилення в аналізі. Наприклад, типове SD для  $K_D$   $1 \times 10^{-9}$  М становить до  $\pm 0,33 \times 10^{-9}$  М.

Іншим варіантом втілення винаходу, описаного в цьому документі, є виділене антитіло, яке специфічно зв'язує людський CCL17, де антитіло інгібує біологічну активність CCL17.

У контексті цього документа "біологічна активність CCL17" відноситься до будь-якої активності, що виникає в результаті зв'язування CCL17 із його рецептором CCR4. Типова біологічна активність CCL17 є результатом мобілізації внутрішньоклітинного кальцію або хемотаксису клітин, наприклад, клітин CCRF-CEM (Т-лімфобластоїдної клітинної лінії від

пацієнта з гострим лейкозом). Антитіла згідно з винаходом можна тестувати на їхню здатність інгібувати біологічну активність CCL17 з використанням стандартних способів і способів, описаних у цьому документі. Наприклад, здатність антитіл згідно з винаходом інгібувати CCL17-залежну мобілізацію внутрішньоклітинного кальцію можна досліджувати шляхом вимірювання впливу антитіл на CCL17-індуковану мобілізацію кальцію з використанням флуоресцентних барвників, таких як Fluo-8 NW, Fluo-4 AM або Fluo-3 AM. Здатність антитіл згідно з винаходом інгібувати CCL17-індукований хемотаксис можна виміряти шляхом вимірювання міграції клітин CCRF-CEM через напівпроникний фільтр 5 мкм у двокамерній системі культивування і вимірювання життєздатності клітин, що мігрують через фільтр. Антитіла згідно з винаходом можуть інгібувати біологічну активність CCL17 на приблизно 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 %.

Іншим варіантом втілення винаходу, описаного в цьому документі, є антитіло, яке специфічно зв'язує CCL17, де антитіло інгібує індуковану 10 нг/мл людського CCL17 мобілізацію кальцію в клітинах CCRF-CEM, як виміряно з використанням Fluo-8 NW, із значенням  $IC_{50}$  приблизно  $1 \times 10^{-7}$  М або менше, приблизно  $1 \times 10^{-8}$  М або менше або приблизно  $1 \times 10^{-9}$  М або менше.

Іншим варіантом втілення винаходу, описаного в цьому документі, є антитіло, яке специфічно зв'язує CCL17, де антитіло містить області, що визначають комплементарність, важких ланцюгів (HCDR) 1 (HCDR1), 2 (HCDR2) і 3 (HCDR3), і області, що визначають комплементарність, легких ланцюгів (LCDR) 1 (LCDR1), 2 (LCDR2) і 3 (LCDR3), де HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 і LCDR3 містять амінокислотні послідовності із SEQ ID NO: 4, 5, 71, 72, 73 і 74, відповідно.

Антитіла, які містять послідовності HCDR і LCDR із SEQ ID NO: 4, 5, 71, 72, 73 і 74 зв'язують людський CCL17 із  $K_D$   $1 \times 10^{-10}$  або менше.

HCDR1: SYWIG (SEQ ID NO: 4).

HCDR2: IIDPSDSDTRYSPSFQG (SEQ ID NO: 5).

Консенсусна послідовність HCDR3  
VGPADVWDX<sub>1</sub>FDY (SEQ ID NO: 71),

де

X<sub>1</sub> являє собою S, A або T.

Консенсусна послідовність LCDR1:

KSSQSVLX<sub>1</sub>SX<sub>2</sub> × <sub>3</sub>NX<sub>4</sub>NX<sub>5</sub>LA (SEQ ID NO: 72),

де

X<sub>1</sub> являє собою L, Y, S або N;

X<sub>2</sub> являє собою F, P, H або I;

X<sub>3</sub> являє собою D, Y, W, T або V;

X<sub>4</sub> являє собою I, F, S, T, Y, N, K або V; і

X<sub>5</sub> являє собою K, A, Q, T або D.

Консенсусна послідовність LCDR2:

X<sub>1</sub>ASTRE (SEQ ID NO: 73),

де

X<sub>1</sub> являє собою N, H, G, E, T або D.

Консенсусна послідовність LCDR3:

QQX<sub>1</sub> × <sub>2</sub>X<sub>3</sub> × <sub>4</sub>PX<sub>5</sub>T (SEQ ID NO: 74);

де

X<sub>1</sub> являє собою F, Y, T або H;

X<sub>2</sub> являє собою Y, L, N або W;

X<sub>3</sub> являє собою S, A, L, I, T, Q або H;

X<sub>4</sub> являє собою V, T, I, Y, L або D; і

X<sub>5</sub> являє собою S, F, A або L.

У деяких варіантах втілення, описаних у цьому документі, HCDR1 містить послідовність із SEQ ID NO: 4, HCDR2 містить послідовність із SEQ ID NO: 5, і HCDR3 містить послідовність із SEQ ID NO: 6, 42, 43 або 44 у антитілі згідно з винаходом, що специфічно зв'язує CCL17.

У деяких варіантах втілення, описаних у цьому документі, HCDR1 містить амінокислотну послідовність із SEQ ID NO: 4, HCDR2 містить амінокислотну послідовність із SEQ ID NO: 5, і HCDR3 містить амінокислотну послідовність із SEQ ID NO: 6, 42 або 43.

У деяких варіантах втілення, описаних у цьому документі, LCDR1 містить послідовність із SEQ ID NO: 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 або 18; LCDR2 містить послідовність із SEQ ID NO: 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 39, 40 або 41; і LCDR3 містить послідовність із SEQ ID NO: 27,

28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37 або 38 у антитілі згідно з винаходом, що специфічно зв'язує CCL17.

У деяких варіантах втілення, описаних у цьому документі, LCDR1 містить амінокислотну послідовність із SEQ ID NO: 8, 9, 10, 13, 14, 15, 17 або 18, LCDR2 містить амінокислотну послідовність із SEQ ID NO: 20, 21, 22, 24, 25 і 26, і LCDR3 містить амінокислотну послідовність із SEQ ID NO: 28, 29, 30, 33, 34, 35, 37 або 38.

У деяких варіантах втілення, описаних у цьому документі, антитіло, яке специфічно зв'язує CCL17, містить VH із SEQ ID NO: 75 і VL із SEQ ID NO: 76.

Консенсусна послідовність VH (SEQ ID NO: 75).

EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIDPSDSDTRYSPSF  
QGQVTISADKSISTAYLQWSSSLKASDTAMYYCARVGPADVWD<sub>X1</sub>FDYWGGQGLTVTVSS

де

X<sub>1</sub> являє собою S, A або T.

Консенсусна послідовність VL (SEQ ID NO: 76):

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLX<sub>1</sub>SX<sub>2</sub>

<sub>3</sub>NX<sub>4</sub>NX<sub>5</sub>LAWYQQKPGQPPKLLIYX<sub>6</sub>ASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQX<sub>7</sub> x

<sub>8</sub>X<sub>9</sub> x <sub>10</sub>PX<sub>11</sub>TFGQGTKVEIK; де

X<sub>1</sub> являє собою L, Y, S або N;

X<sub>2</sub> являє собою F, P, H або I;

20 X<sub>3</sub> являє собою D, Y, W, T або V;

X<sub>4</sub> являє собою I, F, S, T, Y, N, K або V;

X<sub>5</sub> являє собою K, A, Q, T або D;

X<sub>6</sub> являє собою N, H, G, E, T або D;

X<sub>7</sub> являє собою F, Y, T або H;

25 X<sub>8</sub> являє собою Y, L, N або W;

X<sub>9</sub> являє собою S, A, L, I, T, Q або H;

X<sub>10</sub> являє собою V, T, I, Y, L або D; і

X<sub>11</sub> являє собою S, F, A або L.

У деяких варіантах втілення, описаних у цьому документі, антитіло, яке специфічно зв'язує CCL17, містить VH із SEQ ID NO: 45, 46, 47 або 48.

У деяких варіантах втілення, описаних у цьому документі, антитіло, яке специфічно зв'язує CCL17, містить VL із SEQ ID NO: 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65 або 66.

У деяких варіантах втілення, описаних у цьому документі, антитіло, яке специфічно зв'язує CCL17, містить VH, що містить амінокислотну послідовність із SEQ ID NO: 45, 46 або 47.

У деяких варіантах втілення, описаних у цьому документі, антитіло, яке специфічно зв'язує CCL17, містить VL, що містить амінокислотну послідовність із SEQ ID NO: 50, 51, 52, 55, 56, 57, 59, 60 або 62.

Іншим варіантом втілення винаходу, описаного в цьому документі, є виділене антитіло, яке специфічно зв'язує CCL17, де антитіло містить послідовності HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 і LCDR3 із

SEQ ID NO: 4, 5, 6, 7, 19 і 27, відповідно;

SEQ ID NO: 4, 5, 6, 8, 20 і 28, відповідно;

SEQ ID NO: 4, 5, 6, 9, 21 і 29, відповідно;

45 SEQ ID NO: 4, 5, 6, 10, 22 і 30, відповідно;

SEQ ID NO: 4, 5, 6, 11, 23 і 31, відповідно;

SEQ ID NO: 4, 5, 6, 12, 24 і 32, відповідно;

SEQ ID NO: 4, 5, 6, 13, 21 і 33, відповідно;

SEQ ID NO: 4, 5, 6, 14, 20 і 34, відповідно;

50 SEQ ID NO: 4, 5, 6, 15, 25 і 35, відповідно;

SEQ ID NO: 4, 5, 6, 16, 21 і 36, відповідно;

SEQ ID NO: 4, 5, 6, 17, 25 і 37, відповідно;

SEQ ID NO: 4, 5, 6, 18, 26 і 38, відповідно;

SEQ ID NO: 4, 5, 6, 8, 39 і 28, відповідно;

55 SEQ ID NO: 4, 5, 6, 8, 24 і 28, відповідно;

SEQ ID NO: 4, 5, 6, 8, 22 і 28, відповідно;

SEQ ID NO: 4, 5, 6, 8, 40 і 28, відповідно;

SEQ ID NO: 4, 5, 6, 8, 26 і 28, відповідно;

SEQ ID NO: 4, 5, 6, 8, 41 і 28, відповідно;

60 SEQ ID NO: 4, 5, 42, 8, 24 і 28, відповідно;

SEQ ID NO: 4, 5, 43, 8, 24 і 28, відповідно; або

SEQ ID NO: 4, 5, 44, 8, 24 і 28, відповідно.

Іншим варіантом втілення винаходу, описаного в цьому документі, є виділене антитіло, яке специфічно зв'язує CCL17, де антитіло містить

5 VH із SEQ ID NO: 45 і VL із SEQ ID NO: 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65 або 66;

VH і VL із SEQ ID NO: 46 і 62, відповідно;

VH і VL із SEQ ID NO: 47 і 62, відповідно; або

VH і VL із SEQ ID NO: 48 і 62, відповідно.

10 Іншим варіантом втілення винаходу, описаного в цьому документі, є виділене антитіло, яке специфічно зв'язує CCL17, де антитіло містить

VH із SEQ ID NO: 45 і VL із SEQ ID NO: 50, 51, 52, 55, 56, 57, 59 або 60;

VH і VL із SEQ ID NO: 46 і 62, відповідно; або

VH і VL із SEQ ID NO: 47 і 62, відповідно.

15 Іншим варіантом втілення винаходу, описаного в цьому документі, є виділене антитіло, яке специфічно зв'язує CCL17, де антитіло містить VH із SEQ ID NO: 45 і VL із SEQ ID NO: 50.

Іншим варіантом втілення винаходу, описаного в цьому документі, є виділене антитіло, яке специфічно зв'язує CCL17, де антитіло містить VH із SEQ ID NO: 45 і VL із SEQ ID NO: 51.

20 Іншим варіантом втілення винаходу, описаного в цьому документі, є виділене антитіло, яке специфічно зв'язує CCL17, де антитіло містить VH із SEQ ID NO: 45 і VL із SEQ ID NO: 52.

Іншим варіантом втілення винаходу, описаного в цьому документі, є виділене антитіло, яке специфічно зв'язує CCL17, де антитіло містить VH із SEQ ID NO: 45 і VL із SEQ ID NO: 55.

Іншим варіантом втілення винаходу, описаного в цьому документі, є виділене антитіло, яке специфічно зв'язує CCL17, де антитіло містить VH із SEQ ID NO: 45 і VL із SEQ ID NO: 56.

25 Іншим варіантом втілення винаходу, описаного в цьому документі, є виділене антитіло, яке специфічно зв'язує CCL17, де антитіло містить VH із SEQ ID NO: 45 і VL із SEQ ID NO: 57.

Іншим варіантом втілення винаходу, описаного в цьому документі, є виділене антитіло, яке специфічно зв'язує CCL17, де антитіло містить VH із SEQ ID NO: 45 і VL із SEQ ID NO: 59.

30 Іншим варіантом втілення винаходу, описаного в цьому документі, є виділене антитіло, яке специфічно зв'язує CCL17, де антитіло містить VH із SEQ ID NO: 45 і VL із SEQ ID NO: 60.

Іншим варіантом втілення винаходу, описаного в цьому документі, є виділене антитіло, яке специфічно зв'язує CCL17, де антитіло містить VH із SEQ ID NO: 46 і VL із SEQ ID NO: 62.

Іншим варіантом втілення винаходу, описаного в цьому документі, є виділене антитіло, яке специфічно зв'язує CCL17, де антитіло містить VH із SEQ ID NO: 47 і VL із SEQ ID NO: 62.

35 Іншим варіантом втілення винаходу, описаного в цьому документі, є виділене антитіло, яке специфічно зв'язує CCL17, де антитіло містить VH, що містить амінокислотну послідовність принаймні на 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентичну VH із SEQ ID NO: 46, і VL, що містить амінокислотну послідовність принаймні на 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентичну VL із SEQ ID NO: 62.

40 Такими типовими антитілами є антитіла, наведені в таблиці 9.

Антитіла, в яких CDR важкого ланцюга, CDR легкого ланцюга, амінокислотні послідовності VH або VL по суті не відрізняються від тих, що наведені в таблицях 3, 4, 6, 7 і 9, включено в рамки цього винаходу. Як правило, вони включають одне або більше консервативних амінокислотних заміщень амінокислотою, що має подібний заряд, гідрофобність або

45 стереохімічні характеристики в антиген-зв'язуючому сайті або в каркасі без негативної зміни властивостей антитіла. Консервативні заміщення також можуть бути виконані для покращення властивостей антитіла, наприклад стабільності або афінності. У послідовності VH або VL можна виконати 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 або 15 амінокислотних заміщень. Наприклад,

50 "консервативне амінокислотне заміщення" може включати заміщення нативного амінокислотного залишку ненативним залишком таким чином, що вплив на полярність або заряд амінокислотного залишку в цьому положенні є незначним або відсутнім. Крім того, будь-

який нативний залишок у поліпептиді також можна замінити аланіном, як описано вище, для аланін-скануючого мутагенезу (MacLennan et al (1998) Act Physiol. Scand. Suppl. 643:55–67; Sasaki et al (1998) Adv. Biopsy's. 35:1–24). Фахівці в цій галузі можуть визначити бажані

55 заміщення амінокислот на момент, коли такі заміщення є бажаними. Наприклад, амінокислотні заміщення можуть бути використані для ідентифікації важливих залишків у послідовності молекули або для підвищення або зниження афінності молекул, описаних у цьому документі. Наступні вісім груп містять амінокислоти, які являють собою консервативні амінокислотні

60 заміщення одна одною: 1) аланін (A), гліцин (G); 2) аспарагінова кислота (D), глутамінова кислота (E); 3) аспарагін (N), глутамін (Q); 4) аргінін (R), лізин (K); 5) ізолейцин (I), лейцин (L), метіонін

(M), валін (V); 6) фенілаланін (F), тирозин (Y), триптофан (W); 7) серин (S), треонін (T); і 8) цистеїн (C), метіонін (M) (див., наприклад, Creighton, *Proteins* (1984)).

Амінокислотні заміщення можна провести, наприклад, за допомогою ПЛР-мутагенезу (патент США № 4,683,195). Бібліотеки різновидів можна отримувати з використанням добре відомих способів, наприклад із використанням випадкових (NNK) або не випадкових кодонів, наприклад DVK кодонів, які кодують 11 амінокислот (Ala, Cys, Asp, Glu, Gly, Lys, Asn, Arg, Ser, Tug, Trp), і скринінгу бібліотек на різновиди з бажаними властивостями.

Хоча варіанти втілення, проілюстровані в цих прикладах, містять пари варіабельних областей, одну з важкого ланцюга й одну з легкого ланцюга, фахівець у цій галузі буде розуміти, що альтернативні варіанти втілення можуть містити єдину варіабельну область важкого або легкого ланцюга. Єдину варіабельну область можна використовувати для скринінгу на варіабельні домени, що здатні формувати дводоменний специфічний антиген-зв'язуючий фрагмент, здатний, наприклад, зв'язувати людський CCL17, що має послідовність із SEQ ID NO: 1. Скринінг можна здійснити за допомогою способів скринінгу фагового дисплея з використанням, наприклад, комбінаторного ієрархічного подвійного підходу, розкритого в міжнародній патентній публікації № WO1992/01047. При такому підході окремі колонії, що містять клон або H-, або L-ланцюга, використовують для інфікування повної бібліотеки клонів, що кодують інший ланцюг (L або H), і отриманий дволанцюговий специфічний антиген-зв'язуючий домен вибирають відповідно до методик фагового дисплея, як описано. Таким чином, окремі поліпептидні ланцюги VH і VL є корисними для ідентифікації додаткових антитіл, що специфічно зв'язують людський CCL17, що має послідовність із SEQ ID NO: 1 із використанням способів, розкритих у міжнародній патентній публікації № WO1992/01047.

Антитіла згідно з винаходом, описаним у цьому документі, можна отримати з використанням різноманітних технологій для створення моноклональних антитіл. Наприклад, можна використовувати гібридомний спосіб Kohler and Milstein, *Nature* 256:495, 1975. У гібридомному способі мишу або іншу тварину-хазяїна, таку як хом'як, щур або мавпа, імунізують з використанням людського білка CCL17 і/або білка CCL17 яванського макака, або фрагментів цих білків, таких як позаклітинна ділянка людського CCL17, із наступним з'єднанням клітин селезінки імунізованих тварин із мієломними клітинами з використанням стандартних способів для отримання гібридомних клітин (Gooding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, pp.59–103 (Academic Press, 1986)). Проводять скринінг колоній, що утворюються з одиночних імморталізованих гібридомних клітин, на продукування антитіл із бажаними властивостями, такими як специфічність зв'язування, перехресна реактивність (або їх відсутність) і афінність до антигена.

Для отримання антитіл до людського CCL17 можна використовувати різноманітних тварин-хазяїнів. Наприклад, можна використовувати мишей лінії Balb/c для генерації мишачих антитіл до людського CCL17. Антитіла, отримані в мишах Blab/c і інших тваринах не людського походження можна гуманізувати з використанням різноманітних технологій для генерації більшої кількості послідовностей, подібних людським. Типові методики гуманізації, включаючи відбір каркасів людських акцепторів, відомі фахівцю в цій галузі й включають CDR-щеплення (патент США № 5,225,539), SDR-щеплення (патент США № 6,818,749), технологію зміни поверхні (Palin, *Mol Immunol* 28:489–499, 1991), зміну поверхні залишків, що визначають специфічність (публікація патенту США № 2010/0261620), людської адаптації (або адаптації людського каркаса) (публікація патенту США № US2009/0118127), супергуманізації (патент США № 7,709,226) і керованої селекції (Osborn et al., *Methods* 36:61–68, 2005; патент США № 5,565,332).

Гуманізовані антитіла можна додатково оптимізувати для покращення їхньої селективності або афінності до бажаного антигена шляхом включення змінених залишків підтримки каркаса для збереження афінності зв'язування (зворотні мутації) за допомогою методик, таких як ті, що розкриті й описані в міжнародній патентній публікації № WO1990/007861 і в міжнародній патентній публікації № WO1992/22653.

Трансгенних мишей, що несуть людські локуси імуноглобулінів у своєму геномі можна використовувати для генерування людських антитіл проти білка-мішені, і це описано, наприклад, у міжнародній патентній публікації № WO1990/04036, патенті США № 6,150,584, міжнародній патентній публікації № WO1999/45962, міжнародній патентній публікації № WO2002/066630, міжнародній патентній публікації № WO2002/43478, Loner et al., *Nature* 368:856–9, 1994; Green et al., *Nature Genet.* 7:13–21, 1994; Green & Jakobovits *Exp Med* 188:483–95, 1998; Lonberg and Huszar *Int Rev Immunol* 13:65–93, 1995; Bruggemann et al., *Eur J Immunol* 21:1323–1326, 1991; Fishwild et al., *Nat Biotechnol* 14:845–851, 1996; Mendez et al., *Nat Genet* 15:146–156, 1997; Green, *J Immunol Methods* 231:11–23, 1999; Yang et al., *Cancer Res* 59:1236–

1243, 1999; Brüggemann and Taussig Curr Opin Biotechnol 8:455–458, 1997; міжнародній патентній публікації № WO2002/043478). Ендогенні локуси імуноглобулінів у таких мишей можна зруйнувати або видалити, і можна вставити в геном миші принаймні один повний або частковий локус людського імуноглобуліну з використанням гомологічної або негомологічної рекомбінації з використанням трансхромосом або з використанням мінігенів. Для отримання людських антитіл, спрямованих проти вибраного антигена з використанням технології, описаної вище, можна залучати такі компанії, як Regeneron ([http://\\_www\\_regeneron\\_com](http://_www_regeneron_com)), Harbour Antibodies ([http://\\_www\\_harbourantibodies\\_com](http://_www_harbourantibodies_com)), Open Monoclonal Technology, Inc. (OMT) ([http://\\_www\\_omtinc\\_net](http://_www_omtinc_net)), KyMab ([http://\\_www\\_kymab\\_com](http://_www_kymab_com)), Trianni ([http://\\_www.trianni\\_com](http://_www.trianni_com)) і Ablexis ([http://\\_www\\_ablexis\\_com](http://_www_ablexis_com)).

Людські антитіла можна вибирати з бібліотеки фагового дисплея, де фаг піддає інжинірингу для експресії людських імуноглобулінів або їхніх ділянок, таких як Fab, однокланові антитіла (scFv) або неспарені або спарені варіабельні області антитіл (Knappik et al., J Mol Biol 296:57–86, 2000; Krebs et al., J Immunol Meth 254:67–84, 2001; Vaughan et al., Nature Biotechnology 14:309–314, 1996; Sheets et al., PITAS (USA) 95:6157–6162, 1998; Hoogenboom and Winter, J Mol Biol 227:381, 1991; Marks et al., J Mol Biol 222:581, 1991). Антитіла згідно з винаходом можна виділити, наприклад, із бібліотеки фагового дисплея, що експресує варіабельні області важкого й легкого ланцюгів антитіла як гібридні білки з білком оболонки рІХ бактеріофага, як описано в публікації Shi et al., J Mol Biol 397:385–96, 2010 і міжнародній патентній публікації № WO2009/085462). Бібліотеки антитіл піддають скринінгу на зв'язування з позаклітинним доменом людського CCL17 і додатково характеризують отримані позитивні клони, виділяють Fab із лізатів клонів і експресують як повнорозмірні IgG. Такі способи з використанням способів фагового дисплея для виділення людських антитіл визнані в цій галузі. Див., наприклад: патенти США №№ 5,223,409; 5,403,484; і 5,571,698 авторів Ladner et al.; патенти США №№ 5,427,908 і 5,580,717 авторів Dower et al.; патенти США №№ 5,969,108 і 6,172,197 авторів McCafferty et al.; і патенти США №№ 5,885,793; 6,521,404; 6,544,731; 6,555,313; 6,582,915 і 6,593,081 авторів Griffiths et al.

Підготовку імуногенних антигенів і отримання моноклонального антитіла можна виконати з використанням будь-якого відповідного способу, такого як отримання рекомбінантного білка. Імуногенні антигени можна вводити тварині у формі очищеного білка або сумішей білків, включаючи цілі клітини або екстракти клітин або тканин, або антиген можна отримати de novo у тілі тварини з нуклеїнових кислот, що кодують вказаний антиген або його ділянку.

Антитіла згідно з винаходом, описані в цьому документі, можуть бути людськими або гуманізованими.

Антитіла згідно з винаходом, описані в цьому документі, можуть бути синтетичними або рекомбінантними.

Антитіла згідно з винаходом, описані в цьому документі, можуть бути типу IgA, IgD, IgE, IgG або IgM. Антитіла згідно з винаходом, описані в цьому документі, можуть бути ізотипу IgG1, IgG2, IgG3, IgG4.

Імунні ефektorні властивості антитіл згідно з винаходом можна посилювати або пригнічувати через Fc-модифікації за допомогою методик, відомих фахівцям у цій галузі. Наприклад, Fc-ефektorні функції, такі як зв'язування C1q, комплемент-залежна цитотоксичність (CDC), антитіло-залежна клітинно-опосередкована цитотоксичність (ADCC), фагоцитоз, негативна регуляція рецепторів клітинної поверхні (наприклад, B-клітинного рецептора; BCR) тощо, можна піддавати модуляції шляхом модифікації залишків у Fc, що відповідають за ці види активності. Фармакокінетичні властивості також можна посилити шляхом мутації залишків у домені Fc, що подовжують період напіврозпаду антитіл Типовими модифікаціями Fc є IgG4 S228P/L234A/L235A, IgG2 M252Y/S254T/T256E (Dall'Acqua et al., J Biol Chem 281:23514–24, 2006; або IgG2 V234A/G237A/P238S, V234A/G237A/H268Q, H268A/V309L/A330S/P331 або V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S на IgG2 (міжнародна патентна публікація № WO2011/066501), або ті, що описані у патенті США № 6,737,056 (нумерація відповідно до нумерації EU).

У деяких варіантах втілення, описаних у цьому документі, антитіло, яке специфічно зв'язує людський CCL17, містить заміщення в області Fc.

У деяких варіантах втілення, описаних у цьому документі, заміщення включає заміщення V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S або P331S у IgG2, або заміщення S228P, L234A або L235A у IgG4, де нумерація залишків відповідає індексу EU.

Крім того, антитіла згідно з винаходом, описані в цьому документі, можна модифікувати після трансляції за допомогою таких способів, як глікозилювання, ізомеризація, деглікозилювання або ковалентна модифікація, що не зустрічається в природі, наприклад,

доповнення функціональними групами поліетиленгліколю (пегілювання) і ліпідизація. Такі модифікації можуть відбуватись *in vivo* або *in vitro*. Наприклад, для покращення фармакокінетичних профілів антитіл такі антитіла згідно з винаходом можна кон'югувати з поліетиленгліколем (ПЕГілювати). Кон'югацію можна здійснити за допомогою способів, відомих фахівцям у цій галузі. Було продемонстровано, що кон'югація терапевтичних антитіл із ПЕГ покращує фармакодинаміку без перешкоджання функції (Knight et al., *Plateles* 15:409–418, 2004; Leong et al., *Cytokine* 16:106–119, 2001; Yang et al., *Protein Eng* 16:761–770, 2003).

Антитіла або їхні фрагменти згідно з винаходом, описані в цьому документі, можна модифікувати для покращення стабільності, селективності, перекресної реактивності, афінності, імуногенності або іншої бажаної біологічної або біофізичної властивості, перебувають у рамках цього винаходу. Стабільність антитіла залежить від ряду факторів, у тому числі (1) складу ядра окремих доменів, що впливає на їхню внутрішню стабільність, (2) взаємодій білка/білкового інтерфейсу, які впливають на спарювання HC і LC, (3) запасу полярних і заряджених залишків, (4) мережі Н-зв'язування полярних і заряджених залишків; і (5) розподілу поверхневих зарядів і полярних залишків серед інших внутрішньо- й міжмолекулярних сил (Worn and Pluckthun, *J Mol Biol* 305:989–1010, 2001). Залишки, які мають потенціал для дестабілізації структур, можна ідентифікувати на основі кристалічної структури антитіла або, у певних випадках, молекулярного моделювання, а вплив залишків на стабільність антитіла можна проаналізувати шляхом створення та оцінки різновидів, які несуть мутації в ідентифікованих залишках. Одним із шляхів підвищення стабільності антитіла є підвищення середньої точки температурного переходу ( $T_m$ ), яку вимірюють за допомогою диференціальної скануючої калориметрії (ДСК). Загалом  $T_m$  білка корелює з його стабільністю й зворотно корелює з його схильністю до розгортання й денатурації в розчині та процесів деградації, які залежать від схильності білка до розгортання (Remmele et al., *Pharm Res* 15:200–208, 1997). У ряді досліджень виявлено кореляцію між розподілом за фізичною стабільністю композицій, виміряною як термічну стабільність за допомогою ДСК, і фізичною стабільністю, виміряною за допомогою інших способів (Bedu-Addo et al., *Pharm Res* 21:1353–1361, 2004; Gupta and Kaisheva, *AAPS PharSci*, 5E8, 2003; Maa and Hsu, *Int J Pharm* 140:155–168, 1996; Remmele et al., *Pharm Res* 15:200–208, 1997; Zhang et al., *J Pharm Sci* 93:3076–3089, 2004). Дослідження композицій показують, що  $T_m$  Fab демонструє зв'язок із довготривалою фізичною стабільністю відповідного mAb. Відмінності в амінокислотах у каркасі або в CDR можуть мати значні впливи на термічну стабільність домену Fab (Yasui et al., *FEBS Lett* 353:143–146, 1994).

Антитіла CCL17 згідно з винаходом, описані в цьому документі, можна створити у формі біспецифічних антитіл, які також включено в рамки цього винаходу. Області VL і/або VH антитіл згідно з винаходом можна створити з використанням опублікованих способів у формі одноланцюгових біспецифічних антитіл, таких як структури конструкцій TandAb® (міжнародна патентна публікація № WO1999/57150; публікація патенту США № US2011/0206672) або у формі біспецифічних scFVs, таких як структури, розкриті в патенті США № 5,869,620; міжнародній патентній публікації № WO1995/15388, міжнародній патентній публікації № WO1997/14719 або міжнародній патентній публікації № WO2011/036460.

Області VL і/або VH антитіл згідно з винаходом, описаних у цьому документі, можна створити у формі біспецифічних повнорозмірних антитіл, де кожне плече антитіла зв'язує певний антиген або епітоп. Такі біспецифічні антитіла звичайно створюють шляхом модуляції взаємодій СН3 між важкими ланцюгами двох антитіл з отриманням біспецифічних антитіл із використанням методик, таких як ті, що описані в патенті США № 7,695,936; міжнародній патентній публікації № WO2004/111233; публікації патенту США № US2010/0015133; публікації патенту США № US2007/0287170; міжнародній патентній публікації № WO2008/119353; публікації патенту США № US2009/0182127; публікації патенту США № US2010/0286374; публікації патенту США № US2011/0123532; міжнародній патентній публікації № WO2011/131746; міжнародній патентній публікації № WO2011/143545; або публікації патенту США № US2012/0149876. Додатковими біспецифічними структурами, в які можна вбудувати області VL і/або VH антитіл згідно з винаходом, є, наприклад, імуноглобуліни з подвійним варіабельним доменом (міжнародна патентна публікація № WO2009/134776) або структури, які включають різноманітні димеризаційні домени для поєднання двох плечей антитіла з відмінною специфічністю, такі як "лейцинова застібка" або колагенові димеризаційні домени (міжнародна патентна публікація № WO2012/022811, патент США № 5,932,448; патент США № 6,833,441).

Іншим варіантом втілення винаходу є виділений полінуклеотид, що кодує будь-яку з варіабельних областей важких ланцюгів антитіла або варіабельних областей легких ланцюгів антитіла згідно з винаходом. Певні типові полінуклеотиди розкрито в цьому документі, однак інші полінуклеотиди, які, враховуючи виродженість генетичного коду або переваги кодонів у



даній системі експресії, кодують антитіла згідно з винаходом, також перебувають в рамках цього винаходу. Полінуклеотидні послідовності, що кодують VH або VL або їхній фрагмент антитіла згідно з винаходом, можна функціонально пов'язати з одним або більше регуляторними елементами, такими як промотор і енхансер, що дозволяє експресію нуклеотидної послідовності в призначеній для цього клітині-хазяїні. Полінуклеотидом може бути кДНК.

Іншим варіантом втілення винаходу є вектор, що містить полінуклеотид згідно з винаходом. Такі вектори можуть бути плазмідними векторами, вірусними векторами, векторами для експресії бакуловірусів, векторами на основі транспозону або будь-якими іншими векторами, придатними для введення полінуклеотиду цього винаходу в певний організм або генетичне середовище за допомогою будь-яких засобів. Наприклад, полінуклеотиди, що кодують варіабельні області легкого й важкого ланцюга антитіла згідно з винаходом, необов'язково зв'язані з константними областями, вставляють у експресійні вектори. Легкі й важкі ланцюги можуть бути клоновані в однакові або різні експресійні вектори. Сегменти ДНК, що кодують ланцюги імуноглобулінів, функціонально пов'язані з регуляторними послідовностями в експресійному (-их) векторі (-ах), що забезпечують експресію поліпептидів імуноглобуліну. Такі регуляторні послідовності включають сигнальні послідовності, промотори (наприклад природні або гетерологічні промотори), елементи-енхансери й послідовності завершення транскрипції, і їх вибирають, щоб вони були сумісними з клітиною-хазяїном, вибраною для експресії антитіла. Після введення вектора у відповідного хазяїна, цього хазяїна утримують в умовах, що підходять для високого рівня експресії білків, які кодуються введеними полінуклеотидами.

Відповідні експресійні вектори звичайно здатні до реплікації в організмах-хазяїнах як епісоми або як невід'ємна частина хромосомної ДНК хазяїна. Звичайно експресійні вектори містять селективні маркери, наприклад, резистентності до ампіциліну, резистентності до гігromіцину, резистентності до тетрацикліну, резистентності до канаміцину або резистентності до неоміцину, щоб дозволити виявлення клітин, трансформованих бажаними послідовностями ДНК.

Відповідні промотори й енхансерні елементи відомі в цій галузі. Для експресії в бактеріальній клітині типові промотори включають lacI, lacZ, T3, T7, gpt, lambda P і trc. Для експресії в еукаріотичній клітині типові промотори включають промотор і енхансерний елемент гена легкого і/або важкого ланцюгу імуноглобуліну; безпосередній ранній промотор цитомегаловірусів; промотор тимідинкінази вірусу простого герпесу; ранній і пізній промотори SV40; промотор, присутній у довгих кінцевих повторах ретровірусу; промотор металотіонеїну-І миші; і різноманітні відомі в цій галузі тканиноспецифічні промотори. Для експресії у дріжджовій клітині типовий промотор є конститутивним промотором, таким як промотор ADH1, промотор PGK1, промотор ENO, промотор PYK1 тощо; або регульований промотор, такий як промотор GAL1 промотор GAL10, промотор ADH2, промотор PH05, промотор CUP1, промотор GAL7, промотор MET25, промотор MET3, промотор CYC1, промотор HIS3, промотор ADH1, промотор PGK, промотор GAPDH, промотор ADC1, промотор TRP1, промотор URA3, промотор LEU2, промотор ENO, промотор TP1 і AOX1 (наприклад, для використання в *Pichia*). Вибір відповідного вектора й промотора перебуває в межах рівня звичайного фахівця у цій галузі.

Фахівцю в цій галузі відома значна кількість відповідних векторів і промоторів; багато з них є комерційно доступними для отримання рекомбінантних конструкцій, що є предметом обговорення. Наступні вектори надані як приклад. Бактеріальні: pBs, phagescript, PsiX174, pBluescript SK, pBs KS, pNH8a, pNH16a, pNH18a, pNH46a (Stratagene, м. Ла-Хойя, штат Каліфорнія, США); pTrc99A, pKK223-3, pKK233-3, pDR540 і pRIT5 (Pharmacia, м. Уппсала, Швеція). Еукаріотичні: pWLneo, pSV2cat, pOG44, PXR1, pSG (Stratagene) pSVK3, pBPV, pMSG і pSVL (Pharmacia).

Іншим варіантом втілення винаходу є клітина-хазяїн, що містить вектор згідно з винаходом. Термін "клітина-хазяїн" стосується клітини, в яку ввели вектор. Зрозуміло, що термін "клітина-хазяїн" призначений для позначення не тільки конкретної клітини, що є предметом обговорення, але й потомства такої клітини. Оскільки в наступних поколіннях можуть відбутися деякі модифікації внаслідок або мутації, або впливів навколишнього середовища, таке потомство може не бути ідентичним батьківській клітині, але все ще буде включене в рамки терміна "клітина-хазяїн", що використовується в цьому документі. Такі клітини-хазяїни можуть бути еукаріотичними клітинами, прокаріотичними клітинами, рослинними клітинами або клітинами архей.

Прикладами прокаріотичних клітин-хазяїв є *Escherichia coli*, бацили, такі як *Bacillus subtilis*, і інші ентеробактерії, такі як *Salmonella*, *Serratia* і різноманітні види *Pseudomonas*. Для експресії також підходять інші мікроорганізми, такі як дріжджі. Прикладами відповідних дріжджових клітин-хазяїв є *Saccharomyces* (наприклад, *S. cerevisiae*) і *Pichia*. Типовими еукаріотичними клітинами

є клітини ссавців, комах, птахів або інші клітини тваринного походження. Еукаріотичні клітини ссавців включають іморталізовані клітинні лінії, такі як гібридами або лінії клітин мієломи, такі як мишачі клітинні лінії SP2/0 (Американська колекція типових культур (ATCC), м. Манассас, штат Вірджинія, США CRL-1581), NS0 (Європейська колекція культур клітин (ECACC), м. Солсбері, графство Вілтшир, Великобританія, ECACC № 85110503), FO (ATCC CRL-1646) і Ag653 (ATCC CRL-1580). Типовою лінією клітин мієломи людини є U266 (ATCC CRL-TIB-196). Інші придатні клітинні лінії включають отримані з яєчника китайського хом'ячка (CHO), такі як CHO-K1SV (Lonza Biologics, м. Уолкерсвіль, штат Меріленд, США), CHO-K1 (ATCC CRL-61) або DG44.

Іншим варіантом втілення винаходу є спосіб отримання антитіла згідно з винаходом, що включає культивування клітини-хазяїна згідно з винаходом і відновлення антитіла, що продукується клітиною-хазяїном. Способи отримання антитіл і їхнього очищення добре відомі у цій галузі. Після синтезу (або хімічного, або рекомбінантного), цілі антитіла, їхні димери, окремі легкі й важкі ланцюги або інші фрагменти антитіла, такі як VH або VL, можна очистити відповідно до стандартних процедур цієї галузі, включаючи преципітацію сульфатом амонію, афінну колонку, колонкову хроматографію, очищення високоефективною рідинною хроматографією (BEPX), гель-електрофорез тощо (див. загалом Scopes, Protein Purification (Springer-Verlag, N.Y., (1982)). Антитіло, яке є предметом обговорення, може бути по суті чистим, наприклад, принаймні приблизно на від 80 % до 85 % чистим, принаймні приблизно на від 85 % до 90 % чистим, принаймні приблизно на від 90 % до 95 % чистим, принаймні приблизно на від 98 % до 99 % або більше чистим, наприклад, вільним від забруднюючих речовин таких як клітинний детрит, макромолекули, відмінні від антитіла, яке є предметом обговорення, тощо.

Полінуклеотиди, які кодують певні послідовності VH або VL згідно з винаходом, вбудовують у вектори з використанням стандартних способів молекулярної біології. Трансформацію клітини-хазяїна, культивування, експресію антитіла й очищення виконують із використанням добре відомих способів.

#### Способи обробки

Антитіла, які специфічно зв'язують людський CCL17, можуть бути придатними для лікування або попередження спектру станів, опосередкованих CCL17.

У контексті цього документа термін "стан, опосередкований CCL17" включає всі захворювання й медичні стани, в яких CCL17 прямо або опосередковано відіграє роль у захворюванні або медичному стані, включаючи етіологію, патогенез, перебіг, тривалість клінічну патологію захворювання або стану.

У контексті цього документа термін "запальний стан, опосередкований CCL17" стосується запального стану, що принаймні частково виникає в результаті біологічної активності CCL17. Типовими запальними станами, опосередкованими CCL17, є бронхіальна астма й алергії.

Способи згідно з винаходом можна використовувати для лікування хворих тварин, які належать до будь-якої класифікації. Приклади таких тварин включають ссавців, таких як люди, гризуни, собаки, коти й свійські тварини. Наприклад, антитіла згідно з винаходом є придатними для профілактики й лікування станів, опосередкованих CCL17, таких як бронхіальна астма й респіраторні алергічні захворювання, такі як алергічна астма, алергічний риніт, хронічне обструктивне захворювання легенів (ХОЗЛ), ідіопатичний легеневий фіброз (IPF), захворювання гіперчутливості легенів тощо, алергічні захворювання, такі як системні анафілактичні реакції або реакції гіперчутливості, алергії на лікарські засоби, алергічний бронхолегеневий аспергільоз (ABPA), алергії на жалення комах і харчові алергії, запальні захворювання кишечника, такі як хвороба Крона, виразковий коліт, ілеїт і ентерит, вагініт, псоріаз і запальні дерматози, такі як дерматит, екзема, atopічний дерматит, алергічний контактний дерматит, кропив'янка й свербіж, васкуліт, спондилоартропатії, склеродермія, аутоімунні захворювання, такі як артрит (включаючи ревматоїдний і псоріатичний), розсіяний склероз, системний червоний вовчак, цукровий діабет I типу, гломерулонефрит тощо, відторгнення трансплантату (включаючи відторгнення алотрансплантату й реакцію "трансплантат проти хазяїна") і інші захворювання, під час яких необхідно інгібувати небажані запальні відповіді, такі як атеросклероз, міозит, опосередковані Т-клітинами нейродегенеративні захворювання, розсіяний склероз, енцефаліт, менінгіт, гепатит, нефрит, сепсис, саркоїдоз, алергічний кон'юнктивіт, отит, хвороба Кастлемана, синусит, ендотоксичний шок, індукований ліпополісахаридами (LPS), синдром Бехчета й подагра.

Антитіла згідно з винаходом, описані в цьому документі, також придатні для отримання медичного препарату для такого лікування, причому медичний препарат готують для введення в дозах, визначених у цьому документі.

Способи й використання цього можуть бути призначені для використання у тварин і пацієнтів які мають, або піддаються ризику розвитку будь-якого захворювання або стану, пов'язаного з експресією або біологічною активністю CCL17, або в яких CCL17 відіграє біологічну роль.

Без наміру бути зв'язаними будь-якою теорією, антитіла згідно з винаходом можуть забезпечити ефективний вплив на різні запальні захворювання шляхом прямого інгібування рекрутингу клітин Th2, і таким чином одночасного інгібування численних цитокінів Th2. Антитіла згідно з винаходом можуть забезпечити покращений профіль безпечності порівняно з антитілами до CCR4 шляхом селективного блокування тільки CCL17. Ці антитіла не будуть взаємодіяти з тромбоцитами, які експресують CCR4. Крім того, ці антитіла не будуть блокувати корисні ефекти вродженого імунітету CCL22 на CCR4 (Matsukawa et al., *J. Immunol* 164:5382–8, 2000).

У контексті цього документа термін "запальний стан" стосується гострих або хронічних локалізованих або системних реакцій на шкідливі подразники, такі як патогени, ушкоджені клітини, фізична травма або подразники, які частково опосередковані активністю цитокінів, хемокінів або запальних клітин (наприклад, нейтрофіли, моноцити, лімфоцити, макрофаги, тучні клітини, дендритні клітини, нейтрофіли), і характеризується в більшості випадків болем, почервонінням, набряком і порушенням функції тканини.

Прикладом запального стану, опосередкованого CCL17, є запальний стан легенів. Типові запальні стани легенів включають: стани легенів, індуковані інфекцією, включаючи ті, що пов'язані з вірусними, бактеріальними, грибковими, паразитарними або пріонними інфекціями; стани легенів, індуковані алергенами; стани легенів, індуковані забруднювачами навколишнього середовища, такі як азбестоз, силікоз або бериліоз; стани легенів, індуковані аспірацією шлункового вмісту, порушення імунної регуляції, запальні стани з генетичною схильністю, такі як муковісцидоз, і стани легенів, індуковані фізичною травмою, такою як травма внаслідок штучної вентиляції легенів. Ці запальні стани також включають бронхіальну астму, емфізему, бронхіт, хронічне обструктивне захворювання легенів (ХОЗЛ), саркоїдоз, гістіоцитоз, лімфангіоматоз, гостре пошкодження легенів, гострий респіраторний дистрес-синдром, хронічні захворювання легенів, бронхолегеневу дисплазію, позаликарняну пневмонію, нозокоміальну пневмонію, вентиляторну пневмонію, сепсис, вірусну пневмонію, інфекцію грипу, інфекцію парагрипу, ротавірусну інфекцію, людську метапневмовірусну інфекцію, респіраторно-синцитіальну вірусну інфекцію і аспергільоз або інші грибкові інфекції. Типові запальні захворювання, пов'язані з інфекцією, можуть включати вірусну або бактеріальну пневмонію, включаючи тяжку пневмонію, муковісцидоз, бронхіт, загострення захворювань дихальних шляхів і гострий респіраторний дистрес-синдром (ГРДС). Такі стани, пов'язані з інфекцією, можуть включати в себе численні інфекції, такі як первинна вірусна інфекція та вторинна бактеріальна інфекція.

Бронхіальна астма — це запальне захворювання легенів, яке характеризується гіперчутливістю дихальних шляхів (ГДШ), бронхоспазмом, свистячим диханням, еозинофіліїним або нейтрофіліїним запаленням, гіперсекрецією слизу, субепітеліальним фіброзом і підвищенням рівнів IgE. Пацієнти з бронхіальною астмою відчувають "загострення", посилення симптомів найчастіше внаслідок мікробних інфекцій дихальних шляхів (наприклад, викликаной риновірусом, вірусом грипу, *Haemophilus influenza* тощо). Напади бронхіальної астми можуть викликати фактори навколишнього середовища (наприклад, аскариди, комахи, тварини (наприклад, коти, собаки, кролики, миші, щури, хом'яки, морські свинки і птахи), гриби, забруднювачі повітря (наприклад, тютюновий дим), подразнюючі гази, дим, пари, аерозолі, хімічні речовини, пилок, фізичні навантаження або холодне повітря. Крім бронхіальної астми, декілька хронічних запальних захворювань, які вражають легені, характеризуються нейтрофілією інфільтрацією дихальних шляхів, наприклад, хронічне обструктивне захворювання легенів (ХОЗЛ), бактеріальна пневмонія і муковісцидоз (Linden et al., *Eur Respir J* 15:973–7, 2000; Rahman et al., *Clin Immunol* 115:268–76, 2005), і захворювання, такі як ХОЗЛ, алергічний риніт і муковісцидоз характеризуються гіперчутливістю дихальних шляхів (Fahy and O'Byrne *Am J Respir Crit Care Med* 163:822–3, 2001).

При алергічній астмі присутність високих рівнів алерген-специфічного IgE є віддзеркаленням імунної відповіді аберантних клітин Th2 на поширені алергени навколишнього середовища, які вдихаються. Алергени презентують Т-клітинам дендритні клітини (DC), які постійно відбирають зразки вхідних чужорідних антигенів. Після правильної активації за участі DC алерген-специфічні лімфоцити, які присутні в уражених захворюванням дихальних шляхах, продукують Th2-цитокіни інтерлейкіни (IL)-4, IL-5 і IL-13, які додатково керують виходом лейкоцитів із судин у тканину, гіперплазією келихоподібних клітин і гіперреактивністю бронхів (BHR). CCL17, що продукується DC, індукує селективну міграцію клітин Th2, але не клітин Th1, шляхом ініціювання

CCR4. У мишачих моделях бронхіальної астми таке лікування за допомогою антитіл до CCL17 знижувало кількість Т-клітин CD4<sup>+</sup> і еозинофілів у рідині бронхоальвеолярного лаважу (БАЛ), продукування цитокінів Th2 і гіперчутливість дихальних шляхів після стимуляції алергеном, що дозволяє припустити, що нейтралізація CCL17 є можливою стратегією для інгібування алергічного запалення у людей.

Поширені моделі бронхіальної астми й запалення дихальних шляхів у тварин включають модель із стимуляцією овальбуміном, моделі метахолінової сенсibilізації і сенсibilізації з використанням *Aspergillus fumigatus* (Hessel et al., Eur J Pharmacol 293:401–12, 1995). Як моделі *in vitro* також можна використати інгібування продукування цитокінів і хемокинів з культивованих людських бронхіальних епітеліальних клітин, фібробластів або клітин гладких м'язів дихальних шляхів. Введення антитіл згідно з винаходом у будь-якій із цих моделей можна використовувати для оцінки їхньої ефективності для полегшення симптомів і зміни перебігу бронхіальної астми, запалення дихальних шляхів, ХОЗЛ тощо.

Прикладом запального стану, опосередкованого CCL17, є atopічний дерматит.

Одним аспектом цього винаходу є спосіб лікування захворювання, опосередкованого CCL17, що включає введення суб'єктові, який цього потребує, антитіла згідно з винаходом протягом часу, достатнього для лікування захворювання, опосередкованого CCL17.

У деяких варіантах втілення, описаних у цьому документі, захворювання, опосередковане, CCL17 є запальним захворюванням.

У деяких варіантах втілення, описаних у цьому документі, запальним захворюванням є бронхіальна астма, виразковий коліт (UC), atopічний дерматит (AD) або ідіопатичний легеневий фіброз (IPF).

Одним варіантом втілення винаходу є спосіб лікування бронхіальної астми, що включає введення суб'єктові антитіла згідно з винаходом, описаного у цьому документі, протягом часу, достатнього для лікування астми.

Одним варіантом втілення винаходу є спосіб лікування виразкового коліту, що включає введення суб'єктові антитіла згідно з винаходом, описаного в цьому документі, протягом часу, достатнього для лікування виразкового коліту.

Одним варіантом втілення винаходу є спосіб лікування atopічного дерматиту, що включає введення суб'єктові антитіла згідно з винаходом, описаного в цьому документі, протягом часу, достатнього для лікування atopічного дерматиту.

Одним варіантом втілення винаходу є спосіб лікування ідіопатичного легеневого фіброзу, що включає введення суб'єктові антитіла згідно з винаходом, описаного в цьому документі, протягом часу, достатнього для лікування ідіопатичного легеневого фіброзу.

Введення/фармацевтичні композиції

У цьому винаході запропоновано фармацевтичні композиції, які містять антитіла згідно з винаходом, що специфічно зв'язують CCL17 згідно з винаходом, і фармацевтично прийнятний носій. Для терапевтичного використання антитіла, яке специфічно зв'язує CCL17 згідно з винаходом, можна отримати у вигляді фармацевтичних композицій, що містять ефективну кількість домену, молекули або антитіла як активного інгредієнта у фармацевтично прийнятному носії. Термін "носій" означає розріджувач, ад'ювант, наповнювач або носій, з яким вводять активну сполуку. Такі носії можуть бути рідинами, такими як вода й олії, у тому числі олії з нафти, тваринного, рослинного або синтетичного походження, такі як арахісова олія, соєва олія, мінеральна олія, кунжутна олія тощо. Наприклад, можна використовувати 0,4 % фізіологічний розчин і 0,3 % гліцин. Ці розчини повинні бути стерильними й не містити жодних твердих частинок. Їх можна стерилізувати за допомогою загальноприйнятих, добре відомих способів стерилізації (наприклад, фільтрації). Композиції можуть містити фармацевтично прийнятні допоміжні речовини, необхідні для наближення до фізіологічних умов, такі як регулятори рН і буферні агенти, стабілізатори, загущувачі, ковзні агенти й барвники тощо. Концентрація молекул або антитіл згідно з винаходом, описаним у цьому документі, у такій фармацевтичній композиції може змінюватися в широких межах, тобто від менше ніж приблизно 0,5 %, звичайно на рівні або принаймні приблизно 1 %, до 15 або 20 % за масою, і буде вибрана в першу чергу виходячи з необхідної дози, об'ємів рідини, в'язкості тощо залежно від вибраного конкретного способу введення. Відповідні носії й композиції включно з іншими білками людини, наприклад сироватковим альбуміном людини, описані, наприклад, в публікації Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21<sup>st</sup> Edition, Troy, D.B. ed., Lipincott Williams and Wilkins, Philadelphia, PA 2006, Part 5, Pharmaceutical Manufacturing pp 691–1092, див. особливо pp. 958–989.

Спосіб введення для терапевтичного використання антитіл, які специфічно зв'язують CCL17 згідно з винаходом, описаним у цьому документі, може бути будь-яким відповідним шляхом, що

доставляє агент до хазяїна, таким як парентеральне введення, наприклад, внутрішньошкірне, внутрішньом'язове, внутрішньоочеревинне, внутрішньовенне або підшкірне, легеневе; черезслизове (пероральне, інтраназальне, інтравагінальне, ректальне); з використанням композиції в таблетці, капсулі, розчині, порошку, гелі, частинці; і такої, що міститься в шприці, імплантованому пристрої, осмотичній pompі, картриджі, мікропомпі; або іншими способами, зрозумілими фахівцю в цій галузі, які добре відомі в цій галузі. Введення, специфічне для певного місцерозташування, може бути досягнуте, наприклад, шляхом внутрішньосуглобової, внутрішньобронхіальної, внутрішньочеревної, внутрішньокапсульної, внутрішньохрящової, у внутрішню порожнину, у черевну порожнину, у мозочок, інтрацеребровентрикулярної, у товстий кишечник, інтрацервікальної, у шлунок, внутрішньопечінкової, внутрішньосерцевої, внутрішньокисткової, внутрішньотазової, внутрішньоперикардіальної, внутрішньоочеревинної, внутрішньоплевральної, у передміхурову залозу, внутрішньолегеневої, інтраректальної, внутрішньониркової, інтаретинальної, інтраспінальної, внутрішньосиновіальної, внутрішньогрудної, внутрішньоматкової, внутрішньосудинної, внутрішньоміхурової, внутрішньовогнищевої, вагінальної, ректальної, булакальної, сублінгвальної, інтраназальної або трансдермальної доставки.

Таким чином, фармацевтичну композицію згідно з винаходом, описаним у цьому документі, для внутрішньом'язової ін'єкції можна приготувати так, щоб вона містила 1 мл стерильної буферної води й приблизно від 1 нг до приблизно 100 мг/кг, наприклад від приблизно 50 нг до приблизно 30 мг/кг, або переважно від приблизно 5 мг до приблизно 25 мг/кг антитіл, які специфічно зв'язують CCL17, згідно з цим винаходом.

Доза, яку вводять пацієнтові з захворюванням, опосередкованим CCL17, є достатньою, щоб полегшити симптоми або лікувати стан, опосередкований CCL17 ("терапевтично ефективна кількість"), і може іноді становити 0,1–10 мг/кг маси тіла, наприклад 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 або 10 мг/кг, але може бути навіть вищою, наприклад 15, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 або 100 мг/кг. Можна також вводити фіксовану одиничну дозу, наприклад 50, 100, 200, 500 або 1000 мг, або доза може бути заснована на площі поверхні тіла пацієнта, наприклад 400, 300, 250, 200 або 10 мг/м<sup>2</sup>. Зазвичай можна вводити 1–8 доз (наприклад 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 або 8), але можна вводити 10, 12, 20 або більше доз. Введення антитіл, які специфічно зв'язують CCL17, згідно з винаходом, описаним у цьому документі, можна повторювати через один день, два дні, три дні, чотири дні, п'ять днів, шість днів, один тиждень, два тижні, три тижні, один місяць, п'ять тижнів, шість тижнів, сім тижнів, два місяці, три місяці, чотири місяці, п'ять місяців, шість місяців або довше. Повторні курси лікування також можливі як довготривале введення. Повторне введення може бути в тій самій дозі або в іншій дозі.

Дозування антитіл до CCL17 згідно з винаходом, описаним у цьому документі, яке продемонструє ефективне лікування запальних захворювань, таких як бронхіальна астма, можна визначити шляхом введення антитіл до CCL17 відповідним тваринним моделям, добре відомим у цій галузі й описаним у цьому документі.

Аналізи *in vitro* можна необов'язково використовувати як допоміжний засіб для визначення оптимальних діапазонів доз. Вибір конкретної ефективної дози можуть визначити (наприклад, шляхом клінічних досліджень) фахівці в цій галузі з урахуванням декількох факторів. До таких факторів належить захворювання, яке потрібно лікувати або попередити, пов'язані симптоми, маса тіла пацієнта, імунний статус пацієнта і інші фактори, відомі фахівцям у цій галузі. Точна доза для застосування в композиції буде також залежати від шляху введення й тяжкості захворювання, і її необхідно підбирати відповідно до оцінки лікаря, який проводить лікування, а також обставин для кожного пацієнта. Ефективні дози можна екстраполювати з кривих "доза-відповідь", отриманих із дослідних систем *in vitro* або тваринних моделей випробування. Антитіла згідно з винаходом можна тестувати на їхню ефективність і ефективну дозу з використанням будь-якої моделі, описаної в цьому документі.

Наприклад, для введення пацієнтові з масою 80 кг можна приготувати фармацевтичну композицію, яка містить антитіла, які специфічно зв'язують CCL17, згідно з винаходом, описаним у цьому документі, для внутрішньовенної інфузії, яка містить приблизно 200 мл стерильного розчину Рінгера й від приблизно 8 мг до приблизно 2400 мг, від приблизно 400 мг до приблизно 1600 мг або від приблизно 400 мг до приблизно 800 мг антитіл, що специфічно зв'язують CCL17 згідно з цим винаходом. Способи приготування композицій, які вводять парентерально, добре відомі й детальніше описані, наприклад, у "Remington's Pharmaceutical Science", 15th ed., Mack Publishing Company, Easton, PA.

Антитіла, які специфічно зв'язують CCL17, згідно з винаходом, описаним у цьому документі, можна ліофілізувати для зберігання й відновлювати у відповідному носії перед використанням.

Доведено, що ця методика є ефективною при використанні звичайних білкових препаратів, і можна використовувати відомі у галузі методики ліофілізації й відновлення.

Антитіла, які специфічно зв'язують CCL17, згідно з винаходом, описаним у цьому документі, можна вводити в комбінації з другим терапевтичним агентом одночасно, послідовно або окремо.

Цей винахід далі буде описаний з посиланням на наступні специфічні необмежуючі приклади.

#### Приклад 1. Генерація антитіл, які нейтралізують CCL17

Fab, які зв'язують людський CCL17, вибрали з бібліотек фагового дисплея *de novo* pIX, як описано Shi et al., J. Mol. Biol. 397:385–396, 2010; міжнародній патентній публікації № WO2009/085462; публікації патенту США № US2010/0021477; публікації патенту США № US2012/0108795. Коротко, бібліотеки створювали шляхом диверсифікації каркасів людського походження, де гени IGHV1-69\*01, IGHV3-23\*01 і IGHV5-51\*01 зародкової лінії VH рекомбінували з людським мінігеном IGHJ-4 через петлю H3, і гени O12 (IGKV1-39\*01), L6 (IGKV3-11\*01), A27 (IGKV3-20\*01) і B3 (IGKV4-1\*01) людської зародкової лінії VL каппа рекомбінували з мінігеном IGKJ-1 для складання повних доменів VH і VL. Для диверсифікації вибрали положення варіабельних областей важких і легких ланцюгів навколо петель H1, H2, L1, L2 і L3, які відповідають положенням, визначеним як ті, що часто контактують із білковими й пептидними антигенами. Відмінність послідовності в обраних положеннях обмежувалася залишками, які зустрічаються в кожному положенні в сімействах генів IGHV або IGLV зародкової лінії відповідних генів IGHV або IGLV. Відмінність на петлі H3 створювали з використанням короткої та середньої синтетичних петель довжиною 7–14 амінокислот. Розподіл амінокислот на H3 створили з метою імітації варіації амінокислот, яку спостерігали в людських антитілах. Розробку бібліотеки докладно описано в Shi et al., J Mol Biol 397:385–96, 2010. Каркаси, які використовували для створення бібліотек, назвали відповідно до генів VH і VL людської зародкової лінії їхнього походження. Для отримання 24 унікальних комбінацій VH:VL для скринінгу три бібліотеки важких ланцюгів об'єднували з чотирма легкими ланцюгами зародкової лінії або бібліотеками легких ланцюгів зародкової лінії. Усі 24 комбінації бібліотек VH:VL використали для експериментів фагового пеннінгу проти людського CCL17.

Пеннінг бібліотек проводили з використанням людського CCL17 із SEQ ID NO: 1. Коротко кажучи, людський CCL17 було біотинільовано з використанням стандартних способів, і виконували захоплення біотинільованого людського CCL17 (Bt-huCCL17) на магнітних кульках, покритих стрептавідином (Dyna, M280), і до кульок додавали фагові бібліотеки Fab-pIX. Використовувані концентрації Bt-huCCL17 становили 100 нМ для циклів 1 і 2, і 10 мМ для циклів 3 і 4). За допомогою ELISA проводили скринінг зв'язування Fab із білком людського CCL17. Для пеннінгу магнітні кульки, покриті bt-huCCL17, промили й заблокували з використанням фосфатно-сольового буфера з твіном ФСБТ-М (ФСБ із додаванням 0,05 % твін-20 і 3 % знежиреного сухого молока). Заблокований фаг із бібліотек додавали до кульок і обертали за кімнатної температури протягом 1 циклу. Кульки промивали, а потім інкубували в культурі лог-фази *E. coli*, (MC1061F<sup>+</sup>), клітини й інфіковану *E. coli* вирощували на планшетах з агаром Лурія-Бертані (LB) протягом ночі за температури 37 °C. Наступного ранку культури зіскрібали з планшетів у середовище 2xYT 2 мл (20 % гліцерину) на планшет, до 50 мл 2xYT (вуглеводи) додавали 50 мкл бактеріальної суспензії, і вирощували за 37 °C зі струшуванням протягом 2 годин. Допоміжний фаг додавали до культур у середині лог-фази, і інкубували культури за 37 °C протягом 30 хвилин. До кожної культури додавали канаміцин і IPTG до кінцевої концентрації 35 мкг/мл і 1 мМ відповідно, і вирощували протягом ночі зі струшуванням за температури 30 °C. Ампліфікований фаг із бактеріального середовища осаджували з використанням ПЕГ/NaCl і ресуспендували в 1 мл фосфатно-сольового буфера (ФСБ). Для наступного циклу пеннінгу використовували 200 мкл.

Після трьох циклів пеннінгу фагеміду ДНК виділяли з інфікованих клітин MC1061F<sup>+</sup> і піддавали розщепленню з використанням рестриктаз, щоб видалити послідовність, яка кодує pIX, і вирізали й очищали лінеаризовану плазмідну ДНК з агарозного гелю. Потім відбувалося самолігування цієї ДНК з лігазою ДНК T4. Проводили електропорацію лігваної ДНК у клітини MC1061F<sup>+</sup> і висівали на планшети з агаром LB (вуглеводи/глюкоза). Колонії з цієї електропорації збирали для скринінгу ELISA й оцінки експресії Fab. Fab містять His-мітку всередині рамки читування на С-кінці важкого ланцюга. В ході вихідного скринінгу 24 Fab були частково очищені через С-кінцеву His-мітку з використанням стандартних способів і додатково характеризували.

Fab характеризували за їхнім зв'язуванням із людським CCL17 (SEQ ID NO: 1), CCL17 яванського макака (SEQ ID NO: 2) і CCL22 яванського макака (SEQ ID NO: 3) у аналізі ELISA. Коротко, 96-ямковий планшет Maxisorp покривали 1 мкг/мл козячих антитіл до каппа-ланцюга

людини (Southern Biotech). До кожного планшета додавали напівочищений Fab. До кожного планшета з захопленим Fab додавали біотинільований huCCL17, cCCL17 або cCCL22. Білки, зв'язані з захопленими Fab виявляли з використанням стрептавідину:HRP (пероксидази хрому). П'ять Fab (F21, F24, F34, F43 і F44), зв'язаних з CCL17 людини і яванського макака, але не з CCL22 яванського макака, вибирали для дозрівання афінності.

Приклад 2. Дозрівання афінності антитіл до CCL17

Для дозрівання афінності обирали п'ять Fab на основі їхнього профілю вихідних характеристик. Fab піддавали дозріванню афінності шляхом диверсифікації легких ланцюгів з використанням технології лінійного дозрівання, описаної Shi et al. (Shi et al., J Mol Biol 397:385–396, 2010), і зберігання незмінності важких ланцюгів. Важкий ланцюг у Fab являв собою VH3–23 або VH5–51. Бібліотеки дозрівання афінності F24 продукували покращенні речовини, які зв'язують CCL17.

Коротко, дозрівання афінності F24 відбувалася з використанням бібліотеки легкого ланцюга V3. Схему диверсифікації бібліотеки V3 показано в таблиці 2. Положення зазначені відповідно до нумерації Кабат.

Таблиця 2

Положення залишку (Кабат)	Залишок зародкової лінії	Композиції бібліотек
27d	Y	SYHFA
30	K	KTNE
32	Y	YFHNWDAS
50	W	YWSRDYA
91	Y	YSHA
92	Y	YNDSHIFK
93	S	SNTDGHR
94	T	TYLVFAS
96	L	WYFLIR

Області VH Fab клонували у фагеміду бібліотеки LC, що призводило до повної повторної диверсифікації LC для кожного Fab. Області VH виділяли шляхом рестрикції розщеплення мініпрепаратів ДНК з використанням NcoI і ApaI. Області VH виділяли на гелі й лігували в розщеплену подібним способом ДНК бібліотеки LC. Лігатури очищали й трансформували в клітини MC1061F". Клітини вирощували в середовищі 2xYT (вуглеводи) до досягнення росту лог-фази (оптична густина,  $OD_{600\text{ nm}} \approx 0,6$ ). Додавали допоміжний фаг і інкубували культури за 37 °C протягом 30 хвилин. До кожної культури додавали канаміцин і IPTG до кінцевої концентрації 35 мкг/мл і 1 мМ відповідно, і вирощували протягом ночі зі струшуванням за температури 30 °C. Фаг з бактеріального середовища осаджували з використанням ПЕГ/NaCl і ресуспендували у ФСБ.

Для пеннінгу дозрівання афінності виконували захоплення Bt-CCL17 на 50 мкл магнітних кульок, покритих стрептавідином. Концентрації антигена становили 100 нМ для 1-го циклу, 10 нМ для 2-го циклу й 10 нМ для 3-го циклу. Кульки промивали 6 разів з використанням ФСБТ і один раз ФСБ, після чого інфікували E. coli, як описано вище. Виділення плазмід експресії Fab і експресію Fab виконували як описано вище.

Fab з дозрілою афінністю піддавали скринінгу на зв'язування з huCCL17 в аналізі ELISA (SEQ ID NO: 1), cCCL17 (SEQ ID NO: 2) і cCCL22 (SEQ ID NO: 3), як описано вище для зв'язування з huCCL17. Ідентифіковані клони секвенували, перетворювали на повні антитіла IgG1, і підтверджували їхнє зв'язування з huCCL17, cCCL17 і cCCL22 з використанням MSD-SEA.

Послідовності CDR батьківських антитіл і антитіл з дозрілою афінністю показані в таблиці 3 і таблиці 4 для CDR важкого ланцюга й легкого ланцюга відповідно.

Таблиця 3

mAb ID	HDCR1		HCDR2		HCDR3	
	Послідов- ність	SEQ ID NO:	послідовність	SEQ ID NO:	послідовність	SEQ ID NO:
C17F24 (батьківський)	SYWIG	4	IIDPSDS DTRYSPSFQG	5	VGPADVWDSFDY	6
C17B234	SYWIG	4	IIDPSDS DTRYSPSFQG	5	VGPADVWDSFDY	6
C17B235	SYWIG	4	IIDPSDS DTRYSPSFQG	5	VGPADVWDSFDY	6
C17B236	SYWIG	4	IIDPSDS DTRYSPSFQG	5	VGPADVWDSFDY	6
C17B237	SYWIG	4	IIDPSDS DTRYSPSFQG	5	VGPADVWDSFDY	6
C17B238	SYWIG	4	IIDPSDS DTRYSPSFQG	5	VGPADVWDSFDY	6
C17B239	SYWIG	4	IIDPSDS DTRYSPSFQG	5	VGPADVWDSFDY	6
C17B240	SYWIG	4	IIDPSDS DTRYSPSFQG	5	VGPADVWDSFDY	6
C17B241	SYWIG	4	IIDPSDS DTRYSPSFQG	5	VGPADVWDSFDY	6
C17B242	SYWIG	4	IIDPSDS DTRYSPSFQG	5	VGPADVWDSFDY	6
C17B243	SYWIG	4	IIDPSDS DTRYSPSFQG	5	VGPADVWDSFDY	6
C17B244	SYWIG	4	IIDPSDS DTRYSPSFQG	5	VGPADVWDSFDY	6

Таблиця 4

mAb ID	LCDR1		LCDR2		LCDR3	
	послідовність	SEQ ID NO:	послідовність	SEQ ID NO:	послідовність	SEQ ID NO:
C17F24 (батьківсь- кий)	KSSQSVLYSSNNKNYLA	7	WASTRES	19	QQYYSTPLT	27
C17B234	KSSQSVLLSFDNINKLA	8	NASTRES	20	QQFYSPVST	28
C17B235	KSSQSVLYSFYNFNALA	9	HASTRES	21	QQFYATPFT	29
C17B236	KSSQSVLLSPWNSNQLA	10	GASTRES	22	QQYYLIPST	30
C17B237	KSSQSVLTSYNNSNYLA	11	LASTRES	23	QQYLSPST	31
C17B238	KSSQSVLISAFNQNPALA	12	DASTRES	24	QQYQFIPFT	32
C17B239	KSSQSVLSSFTNTNTLA	13	HASTRES	21	QQYLIYPST	33
C17B240	KSSQSVLYSHVNYNALA	14	NASTRES	20	QQYYTLPAT	34
C17B241	KSSQSVLNSFTNNNALA	15	EASTRES	25	QQTNSIPLT	35
C17B242	KSSQSVLFSDNLTNTLA	16	HASTRES	21	QQYYAVPQT	36
C17B243	KSSQSVLNSFDNKNDLA	17	EASTRES	25	QQHWQTPLT	37
C17B244	KSSQSVLSSITNVNDLA	18	TASTRES	26	QQYYHDPFT	38

Приклад 3. Зв'язування антитіл до CCL17 з дозрілою афінністю CCL17 людини і яванського макака

Оцінювали зв'язування антитіл із людським CCL17 і CCL17 яванського макака з використанням рівноважної афінності в розчині (SEA). Процедура для цих експериментів була схожою з тією, що використовували Haenel et al (Haenel et al., Anal Biochem 339:182–184, 2005). Для приготування комплексів антиген-антитіло виконували серійне розведення людського CCL17 або CCL17 яванського макака у сольовому буфері на основі трис, який містив 0,05 %

твін-20, TBST, (Thermo Scientific) у співвідношенні 1: 6, починаючи з концентрації 2 000 000 пМ у 96-ямкових глибоких поліпропіленових планшетах. До кожного розведення хемокину додавали однакові об'єми моноклональних антитіл mAb до hCCL17 у концентрації 40 пМ або 200 пМ, щоб отримати суміші, які містять серійне розведення хемокинів, починаючи з кінцевої концентрації 1 мкм, і постійну концентрацію (20 пМ або 100 пМ) антитіла до CCL17. Суміші готувалися в двох

повторах і інкубували за 4 °C протягом 48 годин для досягнення рівноваги. Вільне антитіло виявляли з використанням інструменту SECTOR Imager 6000 (Meso Scale Discovery). Отримані криві зв'язування апроксимували для досягнення рівноважної константи дисоціації ( $K_D$ ) з використанням програмного забезпечення GraphPad Prism (версія 5.01), використовуючи модель зв'язування 1:1 для виконання нелінійного регресійного аналізу даних способом



найменших квадратів. У таблиці 5 показані афінності антитіл до CCL17 людини і яванського макака. Афінності варіювалися від приблизно 2 пМ до приблизно 700 пМ для людського CCL17 і від приблизно 200 пМ до приблизно 9500 пМ для CCL17 яванського макака. Отримані антитіла зв'язували людський CCL17 з афінностями, які приблизно від 2 до приблизно 150 разів перевищували афінності зв'язування з CCL17 яванського макака.

Таблиця 5

mAb ID	Афінність (пМ)		Кратність зв'язування з CCL17 людини/яванського макака
	людський CCL17	CCL17 яванського макака	
C17F24 (батьківський)	1000	НВ*	
C17B234	2	230	115,0
C17B235	72	9497	131,9
C17B236	39	297	7,6
C17B237	657	3066	4,7
C17B238	115	1456	12,7
C17B239	92	630	6,8
C17B240	83	4596	55,4
C17B241	50	583	11,7
C17B242	167	384	2,3
C17B243	28	677	24,2
C17B244	33	565	17,1

\*Не визначено

#### Приклад 4. Оптимізація антитіл до CCL17

Антитіла до CCL17 C17B234 і C17B240 містили потенційний N-зв'язаний сайт глікозилювання на початку LCDR2 (NAS). Залишок аспарагіну (N) у положенні залишку 50 (нумерація Кабат) C17B234 був мутований до шести різних амінокислот (A, D, G, S, T і I).

Потенційний мотив ізомеризації аспарагінової кислоти DS ідентифікували в HCDR3 у батьківському C17F24 і в усіх його різновидах із дозрілою афінністю. Щоб протестувати вплив заміщень у цьому положенні залишок серину в положенні 100с (нумерація Кабат) був мутований на A, T, або S, або D в положенні 100b був мутований на E у важкому ланцюзі mAb C17B234. Отримані важкі ланцюги спарювали з легким ланцюгом mAb C17B258.

Антитіла експресували як IgG1, і вимірювали їхню афінність до CCL17 людини і яванського макака. У таблиці 6 і таблиці 7 показано CDR-послідовності важкого і легкого ланцюга оптимізованих антитіл. У таблиці 8 показано афінність антитіл до CCL17 людини і яванського макака. Мутагенез N50 у легкому ланцюзі призвів до покращення зв'язування у 2–100 разів.

Таблиця 6

mAb ID	HCDR1		HCDR2		HCDR3	
	Послідовність	SEQ ID NO:	Послідовність	SEQ ID NO:	Послідовність	SEQ ID NO:
C17B257	SYWIG	4	IIDPSDSDTRYSPSFQG	5	VGPADVWDSFDY	6
C17B258	SYWIG	4	IIDPSDSDTRYSPSFQG	5	VGPADVWDSFDY	6
C17B260	SYWIG	4	IIDPSDSDTRYSPSFQG	5	VGPADVWDSFDY	6
C17B262	SYWIG	4	IIDPSDSDTRYSPSFQG	5	VGPADVWDSFDY	6
C17B263	SYWIG	4	IIDPSDSDTRYSPSFQG	5	VGPADVWDSFDY	6
C17B264	SYWIG	4	IIDPSDSDTRYSPSFQG	5	VGPADVWDSFDY	6
C17B293	SYWIG	4	IIDPSDSDTRYSPSFQG	5	VGPADVWDAFDY	42
C17B294	SYWIG	4	IIDPSDSDTRYSPSFQG	5	VGPADVWDTFDY	43
C17B295	SYWIG	4	IIDPSDSDTRYSPSFQG	5	VGPADVWESFDY	44

Таблиця 7

mAb ID	LCDR1		LCDR2		LCDR3	
	Послідовність	SEQ ID NO:	Послідовність	SEQ ID NO:	Послідовність	SEQ ID NO:
C17B257	KSSQSVLLSFDNINKLA	8	AASTRES	39	QQFYSPST	28
C17B258	KSSQSVLLSFDNINKLA	8	DASTRES	24	QQFYSPST	28
C17B260	KSSQSVLLSFDNINKLA	8	GASTRES	22	QQFYSPST	28
C17B262	KSSQSVLLSFDNINKLA	8	SASTRES	40	QQFYSPST	28
C17B263	KSSQSVLLSFDNINKLA	8	TASTRES	26	QQFYSPST	28
C17B264	KSSQSVLLSFDNINKLA	8	IASTRES	41	QQFYSPST	28
C17B293	KSSQSVLLSFDNINKLA	8	DASTRES	24	QQFYSPST	28
C17B294	KSSQSVLLSFDNINKLA	8	DASTRES	24	QQFYSPST	28
C17B295	KSSQSVLLSFDNINKLA	8	DASTRES	24	QQFYSPST	28

Таблиця 8

mAb ID	Афінність (пМ)		Кратність зв'язування з CCL17 людини/яванського макака
	Людський CCL17	CCL17 яванського макака	
C17B257	0,1	65,6	656,0
C17B258	0,1	41,6	416,0
C17B260	0,5	36,4	72,8
C17B262	0,3	55,5	185,0
C17B263	0,1	75,59	755,9
C17B264	0,4	71,83	179,6
C17B293	< 0,1	39	
C17B294	1	22	22,0
C17B295	175	29892	170,8

Залишок триптофану в HCDR3 у положенні 100a (нумерація Kabat) у mAb C17B236 ідентифікували як імовірний сайт небажаного окиснення після трансляції. Цей залишок був мутований на 17 інших амінокислот (всіх, за виключенням C і M) у Fab C17F319, батьківського mAb для C17B236. Для отримання цього набору провели мутагенез Кункеля з NNK або визначеними олігонуклеотидами кодона. Потім виконали скринінг цих Fab з використанням ранжування ELISA щодо зв'язування з bt-CCL17 людини й bt-CCL17 яванського макака. П'ять різновидів (W → R, Y, F, T, I) продемонстрували деяке зв'язування в аналізі ELISA зв'язування Fab (таблиця 5). Три найкращі різновиди перетворили на mAb (M17B288, C17B289, C17B290) для експресії і MSD-SEA (таблиця 6). Більшість різновидів продемонстрували знижену афінність до CCL17 людини і яванського макака.

Послідовності VH і VL антитіл показано в таблиці 9.

Таблиця 9

mAb	VH із SEQ ID NO:	VL із SEQ ID NO:
C17F24 (батьківський)	45	49
C17B234	45	50
C17B235	45	51
C17B236	45	52
C17B237	45	53
C17B238	45	54
C17B239	45	55
C17B240	45	56
C17B241	45	57
C17B242	45	58
C17B243	45	59
C17B244	45	60

mAb	VH із SEQ ID NO:	VL із SEQ ID NO:
C17B257	45	61
C17B258	45	62
C17B260	45	63
C17B262	45	64
C17B263	45	65
C17B264	45	66
C17B293	46	62
C17B294	47	62
C17B295	48	62

#### Приклад 6. Вибір константних областей

- Вибрані антитіла клонували як IgG2 або IgG4 з наступними заміщеннями: IgG4 S228P/L234A/L235A або IgG2 V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S з використанням стандартних способів. У таблиці 10 показано отримані антитіла.

Таблиця 10

Назва mAb	ізотип	Варіабельні області з mAb
C17B302	IgG2 V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S	C17B293
C17B311	IgG4 S228P/L234A/L235A	C17B293
C17B301	IgG2 V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S	C17B294
C17B312	IgG4 S228P/L234A/L235A	C17B294

Важкі й легкі ланцюги певних антитіл показані нижче:

- 10 CB302 HC (SEQ ID NO: 67)  
 EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIDPSDSDTRYSPSF  
 QGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARVGPADVWDAFDYWGGQTLTVSSASTKGPSVF  
 PLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTSSNF  
 GTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPKPPAPPAASSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV  
 15 DVSAEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP  
 SSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP  
 MLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK  
 CB302 LC (SEQ ID NO: 68)  
 DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLLSFDNINKLAWYQQKPGQPPKLLIYDASTRESGVPD  
 20 RFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQFYSPSTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG  
 TASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACE  
 VTHQGLSSPVTKSFNRGEC  
 CB301 HC (SEQ ID NO: 69)  
 EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIDPSDSDTRYSPSF  
 25 QGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARVGPADVWDTFDYWGGQTLTVSSASTKGPSVF  
 PLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTSSNF  
 GTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPKPPAPPAASSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV  
 DVSAEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP  
 SSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP  
 30 MLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK  
 CB301 LC (SEQ ID NO: 70)  
 DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLLSFDNINKLAWYQQKPGQPPKLLIYDASTRESGVPD  
 RFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQFYSPSTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG  
 TASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACE  
 35 VTHQGLSSPVTKSFNRGEC

#### Приклад 7. Характеристика антитіл до CCL17

Вибрані антитіла до CCL17 характеризували в аналізі потоку кальцію, аналізі репортерного гена  $\beta$ -арестину й аналізі хемотаксису для оцінки їхньої здатності інгібувати види біологічної активності CCL17.

- 40 Аналіз потоку кальцію. Аналіз мобілізації кальцію використовували для перевірки здатності гібридами mAb нейтралізувати сигналінг CCL17. Клітини CCRF-CEM (ATCC® CCL-119™) культивували в середовищі RPMI з GlutaMAX; 10 % FBS (фетальна бичача сироватка); 10 мМ

ГЕПЕС, 1 мМ пірувату натрію, 4500 мг/л глюкози й 1500 мг/мл бікарбонату натрію в інкубаторі за 37 °C із насиченням 5 % CO<sub>2</sub>. Виконували мічення клітин барвником з використанням набору реагентів для аналізу Fluo-8 NW No Wash Calcium Assay Kit (№ 36315) виробництва ABD Bioquest, Inc. Досліджувані антитіла і 10 нг/мл людського CCL17 або 5 нг/мл CCL17 яванського макака попередньо інкубували з досліджуваними антитілами, і додавали суміш до клітин. Сигнал флуоресценції виявляли за допомогою приладу FDSS 6000 (Hamamatsu, м. Бріджвотер, штат Нью-Джерсі, США) з використанням збудження на 490 нм і емісії на 525 нм.

Аналіз репортерного гена β-арестину. Аналіз β-арестину виконували для оцінки здатності антитіл до CCL17 нейтралізувати функцію CCL17. Аналіз проводили з використанням набору для аналізу PathHunter eXpress β-arrestin assay (DiscoverX). Коротко, здатність антитіл до CCL17 інгібувати рекрутування β-арестину, індуковане CCL17, оцінювали в клітинах Hek293, коекспресуючих CCR4, злитий у рамці зчитування з невеликим фрагментом ферменту ProLink™ і гібридним білком β-арестину і мутантної β-галактозидазою з делецією на N-кінцевому фрагменті (так званім акцептором ферменту або АФ). Антитіла до CCL17 у різних концентраціях (від 0,15 нМ до 1 мкМ) об'єднували з 20 нМ CCL17, і перед додаванням до клітин комплексу антитіло-CCL17 інкубували суміш за 37 °C протягом 20–30 хвилин. Суміш додавали до клітин і інкубували за 37 °C (95 % O<sub>2</sub>/5 % CO<sub>2</sub>) протягом 90 хвилин. Додавали 55 мкл реагенту для виявлення на ямку, і інкубували протягом 60 хвилин за кімнатної температури. Зразки аналізували з використанням стандартного спектрофотометру для зчитування планшетів із візуалізацією флуоресценції, після чого розраховували значення IC<sub>50</sub>.

Аналіз хемотаксису. Аналіз хемотаксису використовували для демонстрації того, що антитіла до CCL17 інгібують функцію CCL17. Міграцію клітин HSC-F (клітини HSC-F отримували з джерел реагентів від нелюдиноподібних приматів, NIH) або клітин CCRF-CEM (ATCC® CCL-119™) оцінювали з використанням 96-ямкової камери для аналізу хемотаксису з використанням полікарбонатного фільтру 5 мкм згідно з протоколом, описаним у Imai et al. 1997; Imai et al. 1999. Коротко, нижні камери наповнювали 320 мкл 0,1 % RPMI/BSA і 1 нМ CCL17 людини або яванського макака без антитіл або з різними концентраціями антитіл (0,125, 0,25, 0,5, 1 і 10 мкг/мл), після чого їх обережно покривали полікарбонатною мембраною. Клітини промивали з використанням ФСБ і суспендували в 0,1 % RPMI/BSA в концентрації 0,5 × 10<sup>6</sup> клітин/мл, після чого суспензію з клітинами додавали у верхні камери. Камери інкубували протягом 60 хвилин у зволоженому інкубаторі з 5 % CO<sub>2</sub> за 37 °C, і міграцію клітин через мембрану в нижню камеру визначали за допомогою аналізу життєздатності клітин з використанням набору реагентів The Cell Titer-Glo Luminescence Cell Viability.

У таблиці 11 показано значення IC<sub>50</sub> для аналізу потоку кальцію. Дані являють собою середнє значення з трьох незалежних експериментів. Кожне mAb повністю нейтралізувало потік кальцію, індукований CCL17 людини або яванського макака, за використання 10 нг/мл (1,25 нМ) людського CCL17, або 5 нг/мл (0,625 нМ) CCL17 яванського макака, і, як показано в таблиці 11, значення IC<sub>50</sub> приблизно еквівалентні для кожного з антитіл до білка як людини, так і яванського макака.

Таблиця 11

mAb	IC <sub>50</sub> (нМ)	
	Людський CCL17	CCL17 яванського макака
C17B302	0,593	0,238
C17B311	0,553	0,239
C17B318	0,275	0,237
C17B319	0,753	0,289
C17B234	0,421	0,369
C17B235	0,558	0,919
C17B236	0,385	0,349
C17B237	0,882	0,549
C17B238	0,387	0,348
C17B239	0,427	0,430
C17B240	0,405	0,308
C17B241	0,456	0,339
C17B242	0,483	0,340
C17B243	0,231	0,310
C17B244		0,311

У таблиці 12 показано значення  $IC_{50}$  для аналізу  $\beta$ -арестину. Дані являють собою середнє значення з трьох незалежних експериментів. Усі mAb виявили здатність повністю інгібувати рекрутування  $\beta$ -арестину, індуковане CCL17 людини або яванського макака в концентрації 20 нМ і дозозалежним чином інгібувати рекрутування  $\beta$ -арестину, індуковане CCL17 людини або яванського макака з еквівалентною ефективністю.

Таблиця 12

	Людський CCL17		CCL17 яванського макака	
	$IC_{50}$ (нМ)	СВ	$IC_{50}$ (нМ)	СВ
C17B302	13,94	9,56	13,412	6,403
C17B311	10,65	2,89	10,324	2,569
C17B318	11,006	2,886	12,141	2,294
C17B319	14,225	4,133	17,51	6,605
C17B234	8,42	5,525	5,391	0,0431
C17B236	6,98	3,33	9,502	0,073

На Фіг. 1 і Фіг. 2 продемонстроване інгібування хемотаксису відібраними антитілами в клітинах людини і яванського макака відповідно. Усі досліджувані антитіла інгібували хемотаксис клітин CCRF-CEM, індукований людським CCL17, на рівні інгібування приблизно 50 % за концентрації антитіл 0,5 мкг/мл. C17B302 і C17B311 інгібували хемотаксис клітин HSC-F яванського макака, індукований CCL17 яванського макака на рівні інгібування приблизно 50 % за концентрації антитіл 0,5 мкг/мл.

Приклад 8. Картування епітопів антитіла C17B236 до CCL17

Зв'язуючий епітоп антитіла C17B236 (VH: SEQ ID NO: 45; VL: SEQ ID NO: 52) визначали за допомогою рентгенівської кристалографії.

CCL17 експресували в E. coli, виділяли з тілець включень і піддавали рефолдингу. Fab фрагмент mAb C17B236 експресували в клітинах HEK293F. Комплекс CCL17: C17B236 отримували шляхом змішування в молярному співвідношенні 1,6: 1 з надлишком CCL17. Після цього комплекс очищали за допомогою гель-хроматографії. Комплекс кристалізували пародифузійним способом з розчину, який містив 20 % ПЕГ 3350 і 0,2 М тартрату K/Na. Дані рентгенівської дифракції збирали до роздільної здатності 1,9 Å. Структуру визначали шляхом молекулярної заміни і очищали до R-фактора 18,0 %.

Епітоп C17B236 є конформаційним і перекриває 3 сегменти молекули CCL17, а саме дві петлі (залишки 21–23 і 44–45) і C-кінцеву спіраль (залишки 60–68). Найважливіші взаємодії включають основні залишки CCL17: Arg22 і Lys23, і групу кислотних залишків у HCDR2, у тому числі Asp52, Asp55 і Asp57. На додаток до цих електростатичних взаємодій у центрі епітопу виникають контакти Ван-дер Ваальса між Trp33 і Trp105 VH, і Arg22 CCL17. Враховуючи кількість контактів, ключовим залишком епітопу є Arg22, який складається біля Trp33 VH і виконує численні контакти з HCDR3. Залишки паратопу та епітопу показані на Фіг. 7.

Паратоп (залишки антитіл, які беруть участь у зв'язуванні CCL17) включає в себе 18 залишків, що належать до 5 із 6 CDR (усі, за винятком LCDR2).

Епітоп C17B236 перебуває на протилежному боці мономера CCL17 відносно його поверхні димеризації. C17B236, таким чином, не блокує димеризацію CCL17. Нейтралізуюча дія C17B236 виникає з конкурування з CCR4 за епітопи, які перекриваються.

Послідовності				
SEQ ID NO	Тип	Вид	Опис	Послідовність
1	PRT	Homo sapiens	CCL17	argtnvgreccleyfkgaiprlklktwyqtsedc srdaivfvtvqgraicsdpnnkrvknvaykylqsl ers
2	PRT	Яванський макак	CCL17	margtnvgrecclkyfkgaiprlklktwyqtsed csrdaivfvtvqnkaicsdpndkvvkalkylq slers
3	PRT	яванський макак	CCL22	gpyganmedsvccrdyvrrmplrvvkhfyw tsdscprpgvlltsrdkeicadprvpwvkmil nklsq

SEQ ID NO	Тип	Вид	Опис	Послідовність
4	PRT	Штучна послідовність	HCDR1 із C17F24	SYWIG
5	PRT	Штучна послідовність	HCDR2 із C17F24	IIDPSDSDTRYSPSFQG
6	PRT	Штучна послідовність	HCDR3 із C17F24	VGPADVWDSFDY
7	PRT	Штучна послідовність	LCDR1 із C17F24 (батьківський)	KSSQSVLYSSNNKNYLA
8	PRT	Штучна послідовність	LCDR1 із C17B234	KSSQSVLLSFDNINKLA
9	PRT	Штучна послідовність	LCDR1 із C17B235	KSSQSVLYSFYNFNALA
10	PRT	Штучна послідовність	LCDR1 із C17B236	KSSQSVLLSPWNSNQLA
11	PRT	Штучна послідовність	LCDR1 із C17B237	KSSQSVLTSYNNSNYLA
12	PRT	Штучна послідовність	LCDR1 із C17B238	KSSQSVLISAFNQNPALA
13	PRT	Штучна послідовність	LCDR1 із C17B239	KSSQSVLSSFTNTNTLA
14	PRT	Штучна послідовність	LCDR1 із C17B240	KSSQSVLYSHVNYNALA
15	PRT	Штучна послідовність	LCDR1 із C17B241	KSSQSVLNSFTNNNALA
16	PRT	Штучна послідовність	LCDR1 із C17B242	KSSQSVLFSDNLNTLA
17	PRT	Штучна послідовність	LCDR1 із C17B243	KSSQSVLNSFDNKNDLA
18	PRT	Штучна послідовність	LCDR1 із C17B244	KSSQSVLSSITNVNDLA
19	PRT	Штучна послідовність	LCDR2 із C17F24 (батьківський)	WASTRES
20	PRT	Штучна послідовність	LCDR2 із C17B234	NASTRES
21	PRT	Штучна послідовність	LCDR2 із C17B235	HASTRES
22	PRT	Штучна послідовність	LCDR2 із C17B236	GASTRES
23	PRT	Штучна послідовність	LCDR2 із C17B237	LASTRES
24	PRT	Штучна послідовність	LCDR2 із C17B238	DASTRES
25	PRT	Штучна послідовність	LCDR2 із C17B241	EASTRES
26	PRT	Штучна послідовність	LCDR2 із C17B244	TASTRES
27	PRT	Штучна послідовність	LCDR3 із C17F24 (батьківський)	QQYYSTPLT
28	PRT	Штучна послідовність	LCDR3 із C17B234	QQFYSPST
29	PRT	Штучна послідовність	LCDR3 із C17B235	QQFYATPFT
30	PRT	Штучна послідовність	LCDR3 із C17B236	QQYYLIPST
31	PRT	Штучна послідовність	LCDR3 із C17B237	QQYLSPST

SEQ ID NO	Тип	Вид	Опис	Послідовність
32	PRT	Штучна послідовність	LCDR3 із C17B238	QQYQFIPFT
33	PRT	Штучна послідовність	LCDR3 із C17B239	QQYLIYPST
34	PRT	Штучна послідовність	LCDR3 із C17B240	QQYYTLPAT
35	PRT	Штучна послідовність	LCDR3 із C17B241	QQTNSIPLT
36	PRT	Штучна послідовність	LCDR3 із C17B242	QQYYAVPQT
37	PRT	Штучна послідовність	LCDR3 із C17B243	QQHWQTPLT
38	PRT	Штучна послідовність	LCDR3 із C17B244	QQYYHDPFT
39	PRT		LCDR2 із C17B257	AASTRES
40	PRT		LCDR2 із C17B262	SASTRES
41	PRT		LCDR2 із C17B264	IASTRES
42	PRT		HCDR3 із C17B293	VGPADVWDAFDY
43	PRT		HCDR3 із C17B294	VGPADVWDTFDY
44	PRT		HCDR3 із C17B295	VGPADVWESFDY
45	PRT	Homo sapiens	VH із C17F24, C17B234, C17B235, C17B236, C17B237, C17B238, C17B239, C17B240, C17B241, C17B242, C17B243, C17B244, C17B257, C17B258, C17B260, C17B262, C17B266, C17B264	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCK GSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGL EWMGIIDPSDSDTRYSPSFQQGV TISADKSISTAYLQWSSLKASDTA MYYCARVGPADVWDSFDYWGG GTLVTVSS
46	PRT	Homo sapiens	VH із C17M293	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCK GSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGL EWMGIIDPSDSDTRYSPSFQQGV TISADKSISTAYLQWSSLKASDTA MYYCARVGPADVWDAFDYWGG GTLVTVSS
47	PRT	Homo sapiens	VH із C17B294	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCK GSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGL EWMGIIDPSDSDTRYSPSFQQGV TISADKSISTAYLQWSSLKASDTA MYYCARVGPADVWDTFDYWGG GTLVTVSS
48	PRT	Homo sapiens	VH із C17B295	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCK GSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGL EWMGIIDPSDSDTRYSPSFQQGV TISADKSISTAYLQWSSLKASDTA MYYCARVGPADVWESFDYWGG GTLVTVSS
49	PRT	Homo sapiens	VL із C17F24 (батьківський)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCK SSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKP GQPPKLLIYWASTRESGVPDRFS GSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYY CQQYYSTPLTFGQGKTKVEIK

SEQ ID NO	Тип	Вид	Опис	Послідовність
50	PRT	Homo sapiens	VL із C17B234	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC KSSQSVLLSFDNINKLAWYQQKP GQPPKLLIYNASTRESGVPDRFS SGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVY YCQQFYSPSTFGQGGTKVEIK
51	PRT	Homo sapiens	VL із C17B235	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC KSSQSVLYSFYNFNALAWYQQK PGQPPKLLIYHASTRESGVPDRF SGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAV YYCQQFYATPFTFGQGGTKVEIK
52	PRT	Homo sapiens	VL із C17B236	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC KSSQSVLLSPWNSNQLAWYQQK PGQPPKLLIYGASTRESGVPDRF SGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAV YYCQQYYLIPSTFGQGGTKVEIK
53	PRT	Homo sapiens	VL із C17B237	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC KSSQSVLTSYNNSNYLAWYQQK PGQPPKLLIYLASTRESGVPDRF SGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAV YYCQQYLSPSTFGQGGTKVEIK
54	PRT	Homo sapiens	VL із C17B238	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC KSSQSVLISAFNQNP LAWYQQK PGQPPKLLIYDASTRESGVPDRF SGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAV YYCQQYQFIPFTFGQGGTKVEIK
55	PRT	Homo sapiens	VL із C17B239	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC KSSQSVLSSFTNTNTLAWYQQK PGQPPKLLIYHASTRESGVPDRF SGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAV YYCQQYLIYPSTFGQGGTKVEIK
56	PRT	Homo sapiens	VL із C17B240	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC KSSQSVLYSHVNYNALAWYQQK PGQPPKLLIYNASTRESGVPDRF SGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAV YYCQQYYTLPATFGQGGTKVEIK
57	PRT	Homo sapiens	VL із C17B241	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC KSSQSVLNSFTNNNALAWYQQK PGQPPKLLIYEASTRESGVPDRF SGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAV YYCQQTNSIPLTFQGGTKVEIK
58	PRT	Homo sapiens	VL із C17B242	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC KSSQSVLFSDNLNTLAWYQQK PGQPPKLLIYHASTRESGVPDRF SGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAV YYCQQYYAVPQTFQGGTKVEIK
59	PRT	Homo sapiens	VL із C17B243	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC KSSQSVLNSFDNKNDLAWYQQK PGQPPKLLIYEASTRESGVPDRF SGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAV YYCQQHWQTPLTFQGGTKVEIK
60	PRT	Homo sapiens	VL із C17B244	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC SSQSVLSSITNVNDLAWYQQKPG QPPKLLIYASTRESGVPDRFSGS GSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQ QYYHDPFTFGQGGTKVEIK



SEQ ID NO	Тип	Вид	Опис	Послідовність
61	PRT	Homo sapiens	VL із C17B257	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC KSSQSVLLSFDNINKLAWYQQKP GQPPKLLIYAASSTRESGVPDRFS GSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVY YCQQFYSPSTFGQGTKVEIK
62	PRT	Homo sapiens	VL із C17B258	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC KSSQSVLLSFDNINKLAWYQQKP GQPPKLLIYDASTRESGVPDRFS GSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVY YCQQFYSPSTFGQGTKVEIK
63	PRT	Homo sapiens	VL із C17B260	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC KSSQSVLLSFDNINKLAWYQQKP GQPPKLLIYGASTRESGVPDRFS GSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVY YCQQFYSPSTFGQGTKVEIK
64	PRT	Homo sapiens	VL із C17B262	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC KSSQSVLLSFDNINKLAWYQQKP GQPPKLLIYSASTRESGVPDRFS GSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVY YCQQFYSPSTFGQGTKVEIK
65	PRT	Homo sapiens	VL із C17B263	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC KSSQSVLLSFDNINKLAWYQQKP GQPPKLLIYTASTRESGVPDRFS GSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVY YCQQFYSPSTFGQGTKVEIK
66	PRT	Homo sapiens	VL із C17B264	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC KSSQSVLLSFDNINKLAWYQQKP GQPPKLLIYIASTRESGVPDRFS SGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYY CQQFYSPSTFGQGTKVEIK
67	PRT	Homo sapiens	CB302 HC	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCK GSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGL EWMGIIDPSDSDTRYSPSFQQV TISADKSISTAYLQWSSLKASDTA MYYCARVGPADVWDAFDYWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVTSSNFGTQTYTCN VDHKPSNTKVDKVERKCCVECP PCPAPPA AASSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSAEDPEVQ FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF NSTFRVVSFLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEKTIKTKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO	Тип	Вид	Опис	Послідовність
68	PRT	Homo sapiens	CB302 LC	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCK SSQSVLLSFDNINKLAWYQQKPG QPPKLLIYDASTRESGVPDRFSG SGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC QQFYSPSTFGQGTKVEIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDYSLSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC
69	PRT	Homo sapiens	CB301 HC	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCK GSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGL EWMGIIDPSDS TRYSPSFQGGV TISADKSISTAYLQWSSLKASDTA MYYCARVGPADVWDTFDYWGG GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVTSSNFGTQTYTCN VDHKPSNTKVDKVERKCCVECP PCPAPPA AASSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSAEDPEVQ FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF NSTFRVVS VLT V L H Q D W L N G K E Y KCKVSNKGLPSSIEKISKTKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFIYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSV M H E A L H N HYTQKSLSLSPGK
70	PRT	Homo sapiens	CB301 LC	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCK SSQSVLLSFDNINKLAWYQQKPG QPPKLLIYDASTRESGVPDRFSG SGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC QQFYSPSTFGQGTKVEIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDYSLSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC

ПЕРЕЛІК ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

<110> Janssen Biotech, Inc.  
 Boakye, Ken  
 Del Vecchio, Alfred  
 Kehoe, John  
 Lacy, Eilyn  
 Murray, Lynne  
 Ryan, Mary  
 Santulli-Marotto, Sandra  
 Teplyakov, Alexey  
 Wheeler, John  
 Whitaker, Brian

<120> Антитіла до CCL17

<130> JBI5040WOPCT

<140> Переуступка прав

<141> 2014-11-06

<150> 61/900,596

<151> 2013-11-06

<160> 76

<170> PatentIn, версія 3.5

<210> 1

<211> 71

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Ala Arg Gly Thr Asn Val Gly Arg Glu Cys Cys Leu Glu Tyr Phe Lys  
 1 5 10 15

# UA 119973 C2

Gly Ala Ile Pro Leu Arg Lys Leu Lys Thr Trp Tyr Gln Thr Ser Glu  
20 25 30

Asp Cys Ser Arg Asp Ala Ile Val Phe Val Thr Val Gln Gly Arg Ala  
35 40 45

Ile Cys Ser Asp Pro Asn Asn Lys Arg Val Lys Asn Ala Val Lys Tyr  
50 55 60

Leu Gln Ser Leu Glu Arg Ser  
65 70

<210> 2  
<211> 72  
<212> PRT  
<213> *Macaca fascicularis*

<400> 2

Met Ala Arg Gly Thr Asn Val Gly Arg Glu Cys Cys Leu Lys Tyr Phe  
1 5 10 15

Lys Gly Ala Ile Pro Leu Arg Lys Leu Lys Thr Trp Tyr Gln Thr Ser  
20 25 30

Glu Asp Cys Ser Arg Asp Ala Ile Val Phe Val Thr Val Gln Asn Lys  
35 40 45

Ala Ile Cys Ser Asp Pro Asn Asp Lys Lys Val Lys Lys Ala Leu Lys  
50 55 60

# UA 119973 C2

Tyr Leu Gln Ser Leu Glu Arg Ser  
65 70

<210> 3  
<211> 69  
<212> PRT  
<213> Macaca fascicularis

<400> 3

Gly Pro Tyr Gly Ala Asn Met Glu Asp Ser Val Cys Cys Arg Asp Tyr  
1 5 10 15

Val Arg Tyr Arg Met Pro Leu Arg Val Val Lys His Phe Tyr Trp Thr  
20 25 30

Ser Asp Ser Cys Pro Arg Pro Gly Val Val Leu Leu Thr Ser Arg Asp  
35 40 45

Lys Glu Ile Cys Ala Asp Pro Arg Val Pro Trp Val Lys Met Ile Leu  
50 55 60

Asn Lys Leu Ser Gln  
65

<210> 4  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Штучна послідовність

<220>  
<223> HCDR1 із C17F24

<400> 4

Ser Tyr Trp Ile Gly  
1 5

<210> 5

<211> 17

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> HCDR2 із C17F24

<400> 5

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

Gly

<210> 6

<211> 12

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> HCDR3 із C17F24

<400> 6

Val Gly Pro Ala Asp Val Trp Asp Ser Phe Asp Tyr  
1 5 10

<210> 7

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

<220>  
 <223> LCDR1 із C17F24

<400> 7

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

Ala

<210> 8  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність

<220>  
 <223> LCDR1 із C17B234

<400> 8

Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Leu Ser Phe Asp Asn Ile Asn Lys Leu  
 1 5 10 15

Ala

<210> 9  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> LCDR1 із C17B235

<400> 9

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

Ala

<210> 10

<211> 17

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> LCDR1 із C17B236

<400> 10

Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Leu Ser Pro Trp Asn Ser Asn Gln Leu  
1 5 10 15

Ala

<210> 11

<211> 17

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> LCDR1 із C17B237



<400> 11

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

Ala

<210> 12

<211> 17

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> LCDR1 із C17B238

<400> 12

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

Ala

<210> 13

<211> 17

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> LCDR1 із C17B239

<400> 13

Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Ser Ser Phe Thr Asn Thr Asn Thr Leu  
1 5 10 15

Ala

<210> 14  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> Штучна послідовність

<220>  
<223> LCDR1 із C17B240

<400> 14

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

Ala

<210> 15  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> Штучна послідовність

<220>  
<223> LCDR1 із C17B241

<400> 15

Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Asn Ser Phe Thr Asn Asn Asn Ala Leu  
1 5 10 15

Ala

<210> 16  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність

<220>  
 <223> LCDR1 із C17B242

<400> 16

Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Phe Ser His Asp Asn Leu Asn Thr Leu  
 1 5 10 15

Ala

<210> 17  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність

<220>  
 <223> LCDR1 із C17B243

<400> 17

Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Asn Ser Phe Asp Asn Lys Asn Asp Leu  
 1 5 10 15

Ala

<210> 18  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність

<220>  
 <223> LCDR1 із C17B244

<400> 18

Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Ser Ser Ile Thr Asn Val Asn Asp Leu  
 1 5 10 15

Ala

<210> 19  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність

<220>  
 <223> LCDR2 із C17F24

<400> 19

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser  
 1 5

<210> 20  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> LCDR2 із C17B234

<400> 20

Asn Ala Ser Thr Arg Glu Ser

1 5

<210> 21

<211> 7

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> LCDR2 із C17B235

<400> 21

His Ala Ser Thr Arg Glu Ser

1 5

<210> 22

<211> 7

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> LCDR2 із C17B236

<400> 22

Gly Ala Ser Thr Arg Glu Ser

1 5

<210> 23

<211> 7

<212> PRT  
<213> Штучна послідовність

<220>  
<223> LCDR2 із C17B237

<400> 23

Leu Ala Ser Thr Arg Glu Ser  
1 5

<210> 24  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Штучна послідовність

<220>  
<223> LCDR2 із C17B238

<400> 24

Asp Ala Ser Thr Arg Glu Ser  
1 5

<210> 25  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Штучна послідовність

<220>  
<223> LCDR2 із C17B241

<400> 25

Glu Ala Ser Thr Arg Glu Ser  
1 5

<210> 26  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність

<220>  
 <223> LCDR2 із C17B244

<400> 26

Thr Ala Ser Thr Arg Glu Ser  
 1 5

<210> 27  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність

<220>  
 <223> LCDR3 із C17F24

<400> 27

Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Leu Thr  
 1 5

<210> 28  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність

<220>  
 <223> LCDR3 із C17B234

<400> 28

Gln Gln Phe Tyr Ser Val Pro Ser Thr  
1 5

<210> 29  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Штучна послідовність

<220>  
<223> LCDR3 із C17B235

<400> 29

Gln Gln Phe Tyr Ala Thr Pro Phe Thr  
1 5

<210> 30  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Штучна послідовність

<220>  
<223> LCDR3 із C17B236

<400> 30

Gln Gln Tyr Tyr Leu Ile Pro Ser Thr  
1 5

<210> 31  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Штучна послідовність

<220>  
<223> LCDR3 із C17B237



<400> 31

Gln Gln Tyr Leu Ser Pro Pro Ser Thr  
1 5

<210> 32

<211> 9

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> LCDR3 із C17B238

<400> 32

Gln Gln Tyr Gln Phe Ile Pro Phe Thr  
1 5

<210> 33

<211> 9

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> LCDR3 із C17B239

<400> 33

Gln Gln Tyr Leu Ile Tyr Pro Ser Thr  
1 5

<210> 34

<211> 9

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> LCDR3 із C17B240

<400> 34

Gln Gln Tyr Tyr Thr Leu Pro Ala Thr  
1 5

<210> 35

<211> 9

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> LCDR3 із C17B241

<400> 35

Gln Gln Thr Asn Ser Ile Pro Leu Thr  
1 5

<210> 36

<211> 9

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> LCDR3 із C17B242

<400> 36

Gln Gln Tyr Tyr Ala Val Pro Gln Thr  
1 5

<210> 37

<211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність

<220>  
 <223> LCDR3 із C17B243

<400> 37

Gln Gln His Trp Gln Thr Pro Leu Thr  
 1 5

<210> 38  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність

<220>  
 <223> LCDR3 із C17B244

<400> 38

Gln Gln Tyr Tyr His Asp Pro Phe Thr  
 1 5

<210> 39  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність

<220>  
 <223> LCDR2 із C17B257

<400> 39

Ala Ala Ser Thr Arg Glu Ser  
 1 5

<210> 40  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність

<220>  
 <223> LCDR2 із C17B262

<400> 40

Ser Ala Ser Thr Arg Glu Ser  
 1 5

<210> 41  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність

<220>  
 <223> LCDR2 із C17B264

<400> 41

Ile Ala Ser Thr Arg Glu Ser  
 1 5

<210> 42  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність

<220>  
 <223> HCDR3 із C17B293

<400> 42

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

<210> 43  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> Штучна послідовність

<220>  
<223> HCDR3 із C17B294

<400> 43

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

<210> 44  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> Штучна послідовність

<220>  
<223> HCDR3 із C17B295

<400> 44

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

<210> 45  
<211> 121  
<212> PRT  
<213> Штучна послідовність

<220>

<223> VH is C17F24, C17B234, C17B235, C17B236,  
C17B237, C17B238, C17B239, C17B240, C17B241,  
C17B242, C17B243, C17B244, C17B257, C17B258,  
C17B260, C17B262, C17B266, C17B264

<400> 45

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

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr  
20 25 30

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

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

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

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Val Gly Pro Ala Asp Val Trp Asp Ser Phe Asp Tyr Trp Gly  
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
115 120

<210> 46  
 <211> 121  
 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність

<220>  
 <223> VH із C17M293

<400> 46

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

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr  
 20 25 30

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

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

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

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

Ala Arg Val Gly Pro Ala Asp Val Trp Asp Ala Phe Asp Tyr Trp Gly  
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 47

<211> 121

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> VH із C17B294

<400> 47

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

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr  
20 25 30

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

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

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

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys  
85 90 95

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



Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
115 120

<210> 48  
<211> 121  
<212> PRT  
<213> Штучна послідовність

<220>  
<223> VH із C17B295

<400> 48

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

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr  
20 25 30

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

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

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

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Val Gly Pro Ala Asp Val Trp Glu Ser Phe Asp Tyr Trp Gly  
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 49  
 <211> 113  
 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність

<220>  
 <223> VL is C17F24

<400> 49

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

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

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

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val  
 50 55 60

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

# UA 119973 C2

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

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

Lys

<210> 50  
<211> 113  
<212> PRT  
<213> Штучна послідовність

<220>  
<223> VL із C17B234

<400> 50

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

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

Phe Asp Asn Ile Asn Lys Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln  
35 40 45

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

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

# UA 119973 C2

65 70 75 80

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

Phe Tyr Ser Val Pro Ser Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile  
100 105 110

Lys

<210> 51

<211> 113

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> VL із C17B235

<400> 51

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

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

Phe Tyr Asn Phe Asn Ala Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln  
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr His Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val  
50 55 60

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

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

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

Lys

<210> 52  
<211> 113  
<212> PRT  
<213> Штучна послідовність

<220>  
<223> VL із C17B236

<400> 52

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

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

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

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

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

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

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

Lys

<210> 53  
<211> 113  
<212> PRT  
<213> Штучна послідовність

<220>  
<223> VL із C17B237

<400> 53

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

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

# UA 119973 C2

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

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

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

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

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

Lys

<210> 54  
<211> 113  
<212> PRT  
<213> Штучна послідовність

<220>  
<223> VL із C17B238

<400> 54

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

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

# UA 119973 C2

```

                20                25                30
Ala Phe Asn Gln Asn Pro Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
      35                40                45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
      50                55                60

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

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

Tyr Gln Phe Ile Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
      100                105                110

Lys

<210> 55
<211> 113
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> VL із C17B239

<400> 55

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

```



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

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

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr His Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val  
50 55 60

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

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

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

Lys

<210> 56

<211> 113

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> VL із C17B240

<400> 56

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

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

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

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

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

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

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

Lys

<210> 57

<211> 113

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

# UA 119973 C2

<223> VL is C17B241

<400> 57

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

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

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

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

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

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

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

Lys

<210> 58

<211> 113

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> VL із C17B242

<400> 58

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

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

His Asp Asn Leu Asn Thr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln  
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr His Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val  
50 55 60

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

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

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

Lys

<210> 59  
 <211> 113  
 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність

<220>  
 <223> VL із C17B243

<400> 59

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

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

Phe Asp Asn Lys Asn Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln  
 35 40 45

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

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

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

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

Lys

```

<210> 60
<211> 113
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> VL із C17B244

<400> 60

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

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

Ile Thr Asn Val Asn Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
              35              40              45

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

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

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

Tyr Tyr His Asp Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
              100             105             110

```

Lys

<210> 61

<211> 113

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> VL із C17B257

<400> 61

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

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

Phe	Asp	Asn	Ile	Asn	Lys	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln
		35				40						45			

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

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

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

Phe Tyr Ser Val Pro Ser Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile  
 100 105 110

Lys

<210> 62  
 <211> 113  
 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність

<220>  
 <223> VL із C17B258

<400> 62

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

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

Phe Asp Asn Ile Asn Lys Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln  
 35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val  
 50 55 60

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



# UA 119973 C2

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

Phe Tyr Ser Val Pro Ser Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile  
100 105 110

Lys

<210> 63

<211> 113

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> VL із C17B260

<400> 63

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

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

Phe Asp Asn Ile Asn Lys Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln  
35 40 45

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

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

UA 119973 C2

65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln

85 90 95

Phe Tyr Ser Val Pro Ser Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile  
100 105 110

Lys

```
<210> 64
<211> 113
<212> PRT
<213> Штучна послідовність
```

```
<220>
<223> VL is C17B262
```

<400> 64

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

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

Phe Asp Asn Ile Asn Lys Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln  
35 40 45

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

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

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

Phe Tyr Ser Val Pro Ser Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile  
100 105 110

Lys

<210> 65  
<211> 113  
<212> PRT  
<213> Штучна послідовність

<220>  
<223> VL із C17B263

<400> 65

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

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

Phe Asp Asn Ile Asn Lys Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln  
35 40 45

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

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

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

Phe Tyr Ser Val Pro Ser Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile  
100 105 110

Lys

<210> 66  
<211> 113  
<212> PRT  
<213> Штучна послідовність

<220>  
<223> VL із C17B264

<400> 66

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

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

# UA 119973 C2

Phe Asp Asn Ile Asn Lys Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln  
35 40 45

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

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

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

Phe Tyr Ser Val Pro Ser Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile  
100 105 110

Lys

<210> 67

<211> 447

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> CB302 HC

<400> 67

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

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

# UA 119973 C2

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

# UA 119973 C2

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val  
180 185 190

Thr Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His  
195 200 205

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

Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Ala Ala Ala Ser Ser Val  
225 230 235 240

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

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Ala Glu Asp Pro Glu  
260 265 270

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

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

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

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

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

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

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn  
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser  
385 390 395 400

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

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

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

<210> 68  
<211> 220  
<212> PRT  
<213> Штучна послідовність

<220>  
<223> CB302 LC

<400> 68



# UA 119973 C2

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

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

Phe Asp Asn Ile Asn Lys Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln  
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val  
50 55 60

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

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

Phe Tyr Ser Val Pro Ser Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile  
100 105 110

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp  
115 120 125

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn  
130 135 140

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu  
145 150 155 160

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp  
165 170 175

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr  
180 185 190

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

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
210 215 220

<210> 69  
<211> 447  
<212> PRT  
<213> Штучна послідовність

<220>  
<223> CB301 HC

<400> 69

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

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr  
20 25 30

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

# UA 119973 C2

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

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

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys  
85 90 95

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

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

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

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val  
145 150 155 160

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

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val  
180 185 190

Thr Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His  
195 200 205

# UA 119973 C2

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

Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Ala Ala Ala Ser Ser Val  
 225 230 235 240

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

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Ala Glu Asp Pro Glu  
 260 265 270

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

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

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

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

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

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

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn  
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser  
385 390 395 400

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

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

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

<210> 70  
<211> 220  
<212> PRT  
<213> Штучна послідовність

<220>  
<223> CB301 LC

<400> 70

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

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

# UA 119973 C2

Phe Asp Asn Ile Asn Lys Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln  
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val  
50 55 60

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

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

Phe Tyr Ser Val Pro Ser Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile  
100 105 110

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp  
115 120 125

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn  
130 135 140

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu  
145 150 155 160

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp  
165 170 175

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr  
180 185 190

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

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210 215 220

<210> 71  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність

<220>  
 <223> Консенсусна послідовність HCDR3

<220>  
 <221> ОСОБЛИВА ОЗНАКА  
 <222> (9)..(9)  
 <223> Хаа може являти собою Ser, Ala або Thr

<400> 71

Val Gly Pro Ala Asp Val Trp Asp Xaa Phe Asp Tyr  
 1 5 10

<210> 72  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність

<220>  
 <223> Консенсусна послідовність LCDR1

```

<220>
<221> ОСОБЛИВА ОЗНАКА
<222> (8)..(8)
<223> Хаа може являти собою Leu, Tyr, Ser або Asn

<220>
<221> ОСОБЛИВА ОЗНАКА
<222> (10)..(10)
<223> Хаа може являти собою Phe, Pro, His або Ile

<220>
<221> ОСОБЛИВА ОЗНАКА
<222> (11)..(11)
<223> Хаа може являти собою Asp, Tyr, Trp, Thr або Val

<220>
<221> ОСОБЛИВА ОЗНАКА
<222> (13)..(13)
<223> Хаа може являти собою Ile, Phe, Ser, Thr, Tyr, Asn, Lys або Val

<220>
<221> ОСОБЛИВА ОЗНАКА
<222> (15)..(15)
<223> Хаа може являти собою Lys, Ala, Gln, Thr або Asp

<400> 72

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

Ala

<210> 73
<211> 6
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

```



<220>

<223> Консенсусна послідовність LCDR2

<220>

<221> ОСОБЛИВА ОЗНАКА

<222> (1)..(1)

<223> Хаа може являти собою Asn, His, Gly, Glu, Thr або Asp

<400> 73

Xaa Ala Ser Thr Arg Glu

1 5

<210> 74

<211> 9

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Консенсусна послідовність LCDR3

<220>

<221> ОСОБЛИВА ОЗНАКА

<222> (3)..(3)

<223> Хаа може являти собою Phe, Tyr, Thr або His

<220>

<221> ОСОБЛИВА ОЗНАКА

<222> (4)..(4)

<223> Хаа може являти собою Tyr, Leu, Asn або Trp

<220>

<221> ОСОБЛИВА ОЗНАКА

<222> (5)..(5)

<223> Хаа може являти собою Ser, Ala, Leu, Ile, Thr, Qln або His

<220>  
 <221> ОСОБЛИВА ОЗНАКА  
 <222> (6)..(6)  
 <223> Хаа може являти собою Val, Thr, Ile, Tyr, Leu або Asp

<220>  
 <221> ОСОБЛИВА ОЗНАКА  
 <222> (8)..(8)  
 <223> Хаа може являти собою Ser, Phe, Ala або Leu

<400> 74

Gln Gln Хаа Хаа Хаа Хаа Pro Хаа Thr  
 1 5

<210> 75  
 <211> 121  
 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність

<220>  
 <223> Консенсусна послідовність VH

<220>  
 <221> ОСОБЛИВА ОЗНАКА  
 <222> (107)..(107)  
 <223> Хаа може являти собою Ser, Ala або Thr

<400> 75

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

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr  
 20 25 30

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

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

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

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Val Gly Pro Ala Asp Val Trp Asp Xaa Phe Asp Tyr Trp Gly  
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
115 120

<210> 76  
<211> 113  
<212> PRT  
<213> Штучна послідовність

<220>  
<223> Консенсусна послідовність VL

<220>  
<221> ОСОБЛИВА ОЗНАКА  
<222> (31)..(31)  
<223> Xaa може являти собою Leu, Tyr, Ser або Asn

<220>  
 <221> ОСОБЛИВА ОЗНАКА  
 <222> (33)..(33)  
 <223> Хаа може являти собою Phe, Pro, His або Ile

<220>  
 <221> ОСОБЛИВА ОЗНАКА  
 <222> (34)..(34)  
 <223> Хаа може являти собою Asp, Tyr, Trp, Thr або Val

<220>  
 <221> ОСОБЛИВА ОЗНАКА  
 <222> (36)..(36)  
 <223> Хаа може являти собою Ile, Phe, Ser, Thr, Tyr, Asn, Lys або Val

<220>  
 <221> ОСОБЛИВА ОЗНАКА  
 <222> (38)..(38)  
 <223> Хаа може являти собою Lys, Ala, Qln, Thr або Asp

<220>  
 <221> ОСОБЛИВА ОЗНАКА  
 <222> (56)..(56)  
 <223> Хаа може являти собою Asn, His, Gly, Glu, Thr або Asp

<220>  
 <221> ОСОБЛИВА ОЗНАКА  
 <222> (97)..(97)  
 <223> Хаа може являти собою Phe, Tyr, Thr або His

<220>  
 <221> ОСОБЛИВА ОЗНАКА  
 <222> (98)..(98)  
 <223> Хаа може являти собою Tyr, Leu, Asn або Trp

<220>  
 <221> ОСОБЛИВА ОЗНАКА  
 <222> (99)..(99)

<223> Хаа може являти собою Ser, Ala, Leu, Ile, Thr, Qln або His

<220>

<221> ОСОБЛИВА ОЗНАКА

<222> (100)..(100)

<223> Хаа може являти собою Val, Thr, Ile, Tyr, Leu або Asp

<220>

<221> ОСОБЛИВА ОЗНАКА

<222> (102)..(102)

<223> Хаа може являти собою Ser, Phe, Ala або Leu

<400> 76

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

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

Xaa Xaa Asn Xaa Asn Xaa Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln  
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Xaa Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val  
50 55 60

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

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

Xaa Xaa Xaa Xaa Pro Xaa Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile  
100 105 110

Lys

## ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

5

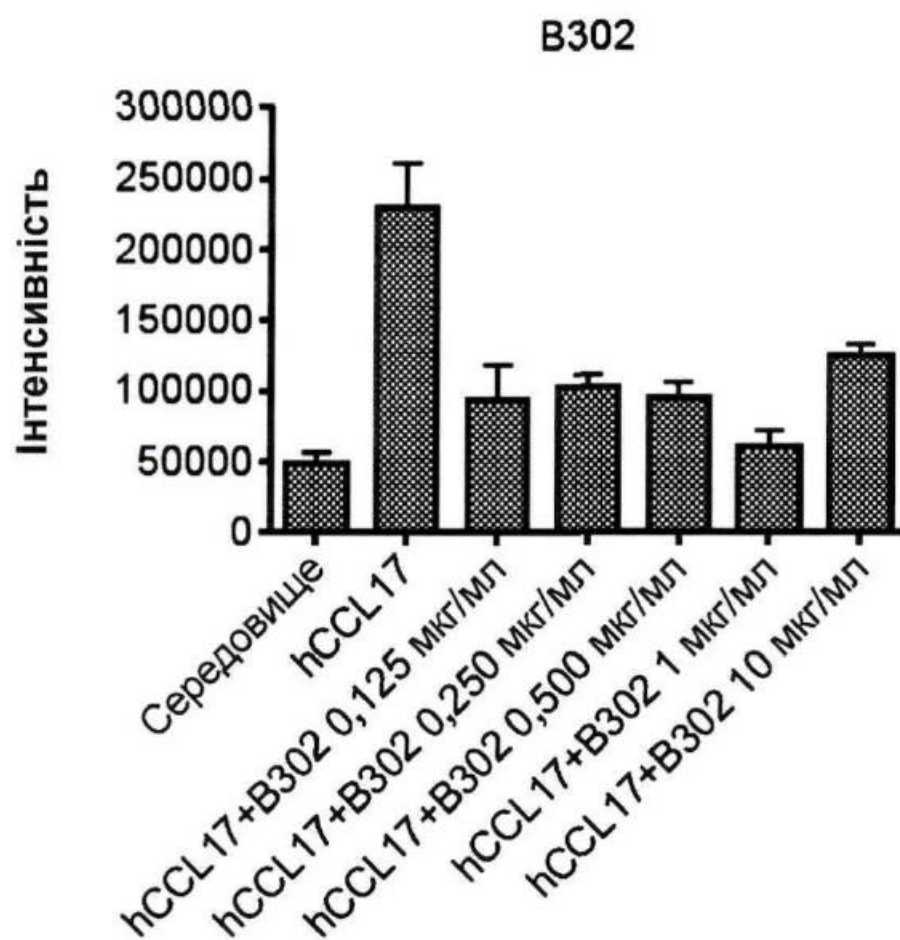
1. Виділене антитіло, яке специфічно зв'язує людський CCL17, яке містить області, що визначають комплементарність, важких ланцюгів (HCDR), 1 (HCDR1), 2 (HCDR2) і 3 (HCDR3), і області, що визначають комплементарність, легких ланцюгів (LCDR), 1 (LCDR1), 2 (LCDR2) і 3 (LCDR3), причому HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 і LCDR3 містять амінокислотні послідовності SEQ ID NO: 4, 5, 42, 8, 24 і 28, відповідно.

10

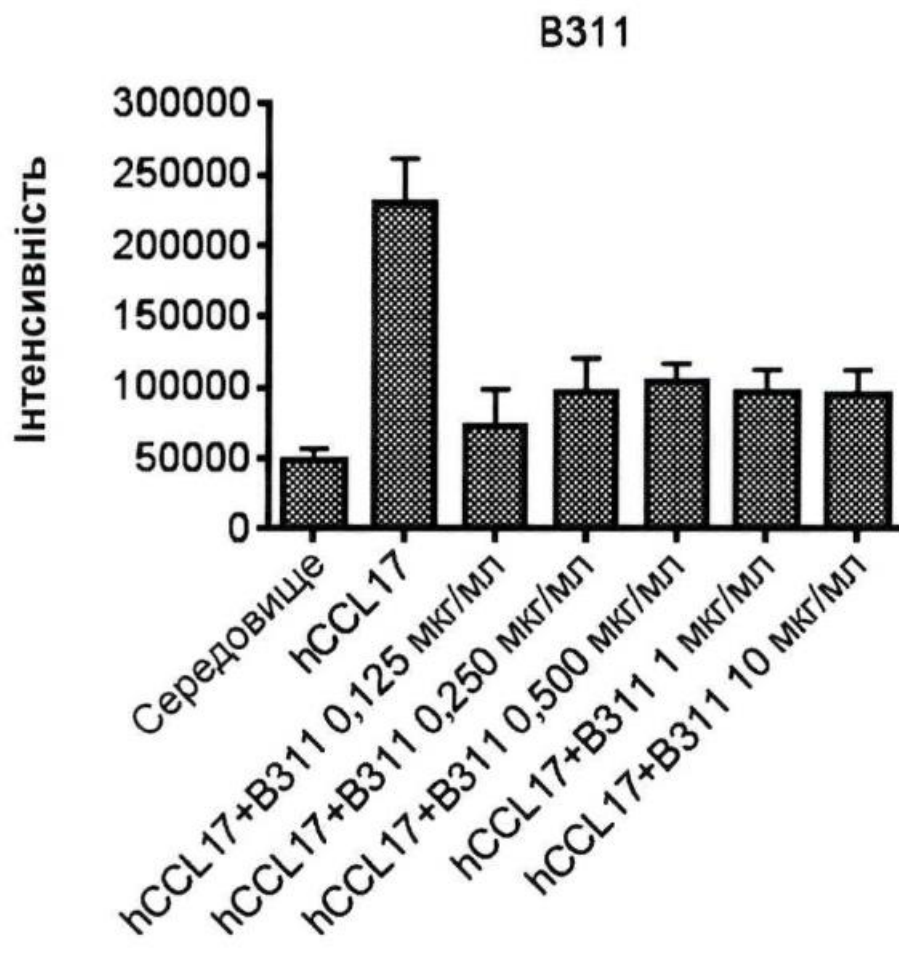
2. Антитіло за п. 1, яке **відрізняється** тим, що антитіло містить варіабельну область важкого ланцюга (VH) і варіабельну область легкого ланцюга (VL), де VH та VL містять SEQ ID NO: 46 і 62, відповідно.

3. Антитіло за п. 1 або 2, яке **відрізняється** тим, що антитіло є людським або гуманізованим.
4. Антитіло за п. 3, яке **відрізняється** тим, що антитіло має ізотип IgG1, IgG2, IgG3 або IgG4.
5. Антитіло за п. 4, яке **відрізняється** тим, що антитіло містить одне або більше заміщень в області Fc.
- 5 6. Антитіло за п. 5, яке **відрізняється** тим, що заміщення включає заміщення V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S або P331S у IgG2 або заміщення S228P, L234A або L235A у IgG4, де нумерація залишків відповідає індексу EU.
7. Антитіло за п. 5, яке **відрізняється** тим, що заміщення включає заміщення V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S у IgG2 або заміщення S228P/L234A/L235A у IgG4, де нумерація залишків відповідає індексу EU.
- 10 8. Антитіло за будь-яким із пп. 1-7, яке **відрізняється** тим, що антитіло блокує взаємодію CCL17/CCR4.
9. Антитіло за будь-яким із пп. 1-8, яке **відрізняється** тим, що антитіло зв'язує людський CCL17 з константою афінності ( $K_D$ ) приблизно  $1 \times 10^{-10}$  М або менше, коли  $K_D$  вимірюється із використанням рівноважної афінності у розчині у сольовому буфері на основі трис, який містить 0,05 % твін-20 після спільної інкубації антитіла і людського CCL17 протягом 48 годин при 4 °С.
- 15 10. Антитіло за п. 9, яке **відрізняється** тим, що антитіло зв'язує людський CCL17 із KD приблизно  $5 \times 10^{-12}$  М або менше.
11. Антитіло за будь-яким із пп. 1-10, яке **відрізняється** тим, що антитіло зв'язує *Mascas fascicularis* (супо) CCL17 з  $K_D$  приблизно  $1 \times 10^{-8}$  М або менше, коли  $K_D$  вимірюється із використанням рівноважної афінності у розчині у сольовому буфері на основі трис, який містить 0,05 % твін-20 після спільної інкубації антитіла і супо CCL17 протягом 48 годин при 4 °С.
- 20 12. Антитіло за будь-яким із пп. 1-11, яке **відрізняється** тим, що антитіло інгібує індуковану 10 нг/мл людського CCL17 мобілізацію кальцію у клітинах CCRF-CEM, як виміряно з використанням Fluor-8 NW із значенням  $IC_{50}$  приблизно  $1 \times 10^{-9}$  М або менше.
- 25 13. Фармацевтична композиція, яка містить антитіло за будь-яким із пп. 1-12 і фармацевтично прийнятний носій.
14. Виділений полінуклеотид, який кодує VH або VL антитіла за будь-яким із пп. 1-12.
15. Вектор, який містить полінуклеотид за п. 14.
- 30 16. Клітина-хазяїн, яка містить вектор за п. 15.
17. Спосіб отримання антитіла, який включає культивування клітини-хазяїна за п. 16 в таких умовах, за яких отримують антитіло.
18. Спосіб лікування захворювання, опосередкованого CCL17, який включає введення суб'єктові, який цього потребує, антитіла за пп. 1-12 протягом часу, достатнього для лікування захворювання, опосередкованого CCL17.
- 35 19. Спосіб за п. 18, який **відрізняється** тим, що захворювання, опосередковане CCL17, є запальним захворюванням.
20. Спосіб за п. 19, який **відрізняється** тим, що запальним захворюванням є бронхіальна астма, виразковий коліт (UC), атонічний дерматит (AD) або ідіопатичний легеневий фіброз (IPF).
- 40 21. Спосіб лікування бронхіальної астми або гіперреактивності дихальних шляхів, який включає введення суб'єктові антитіла за пп. 1-12 протягом періоду часу, достатнього для лікування бронхіальної астми.
22. Застосування антитіла за пп. 1-12 для терапії.
23. Антитіло за пп. 1-12 для застосування в терапії.
- 45 24. Антитіло за пп. 1-12 для застосування в лікуванні суб'єкта, який має захворювання, опосередковане CCL17.

Фіг. 1А.

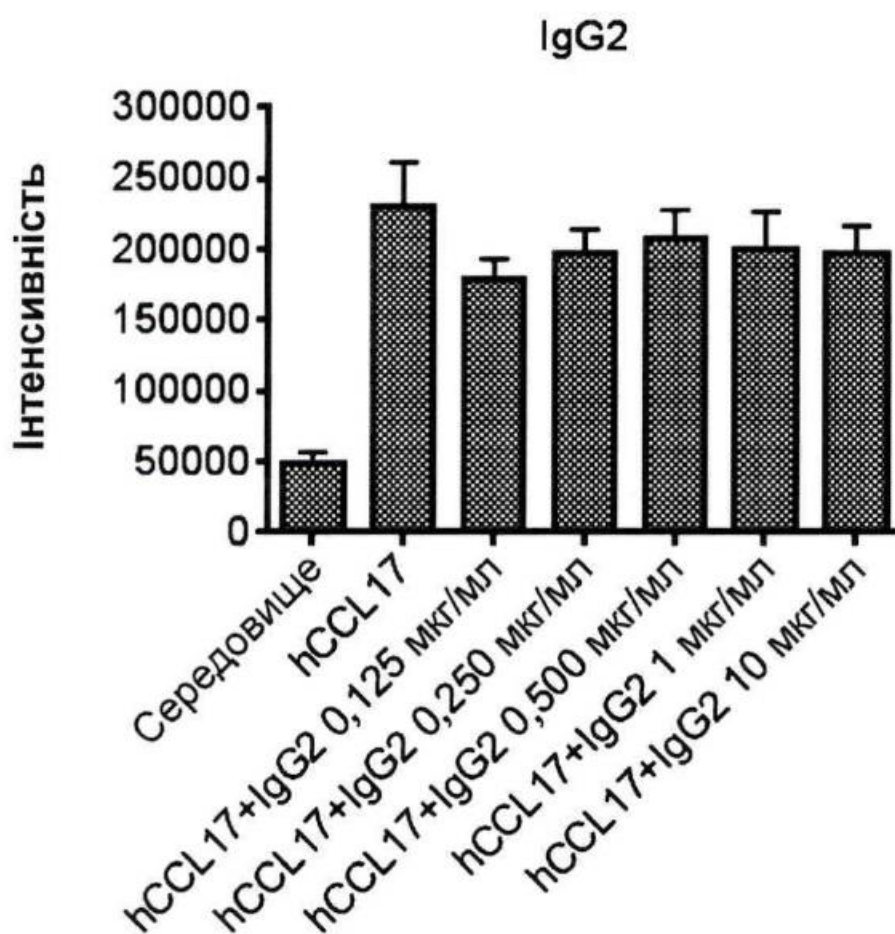


Фіг. 1В.





Фиг. 1С.



Фіг. 1D.

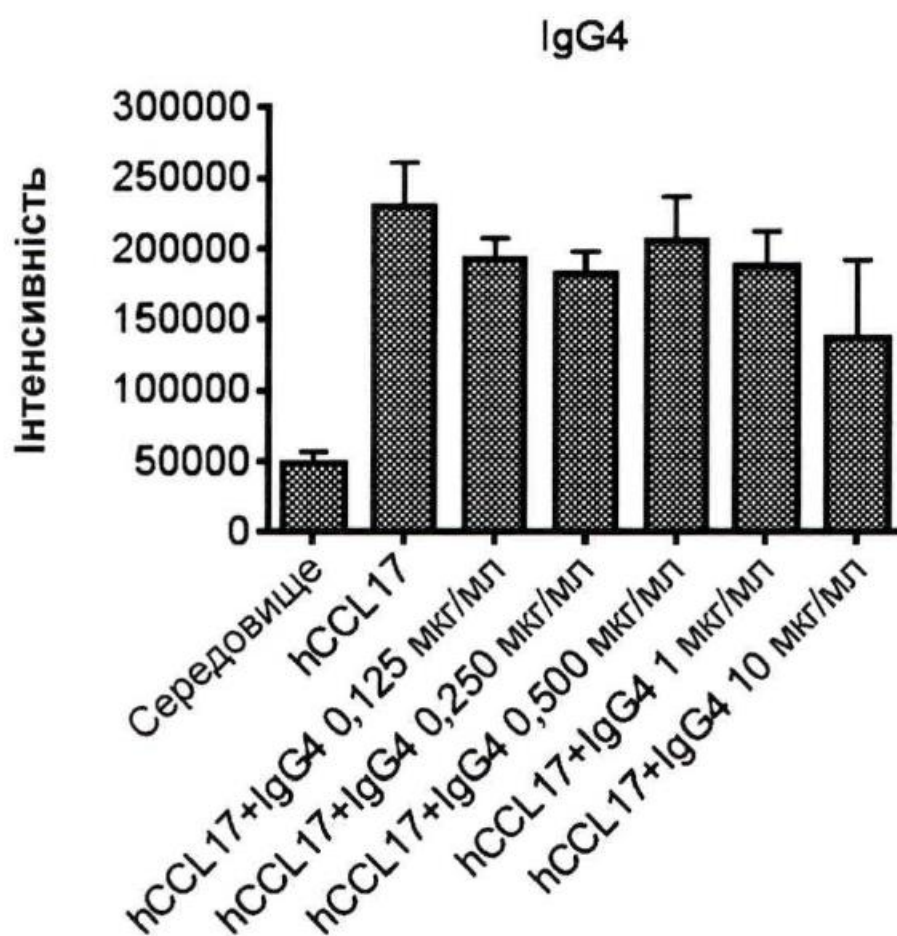
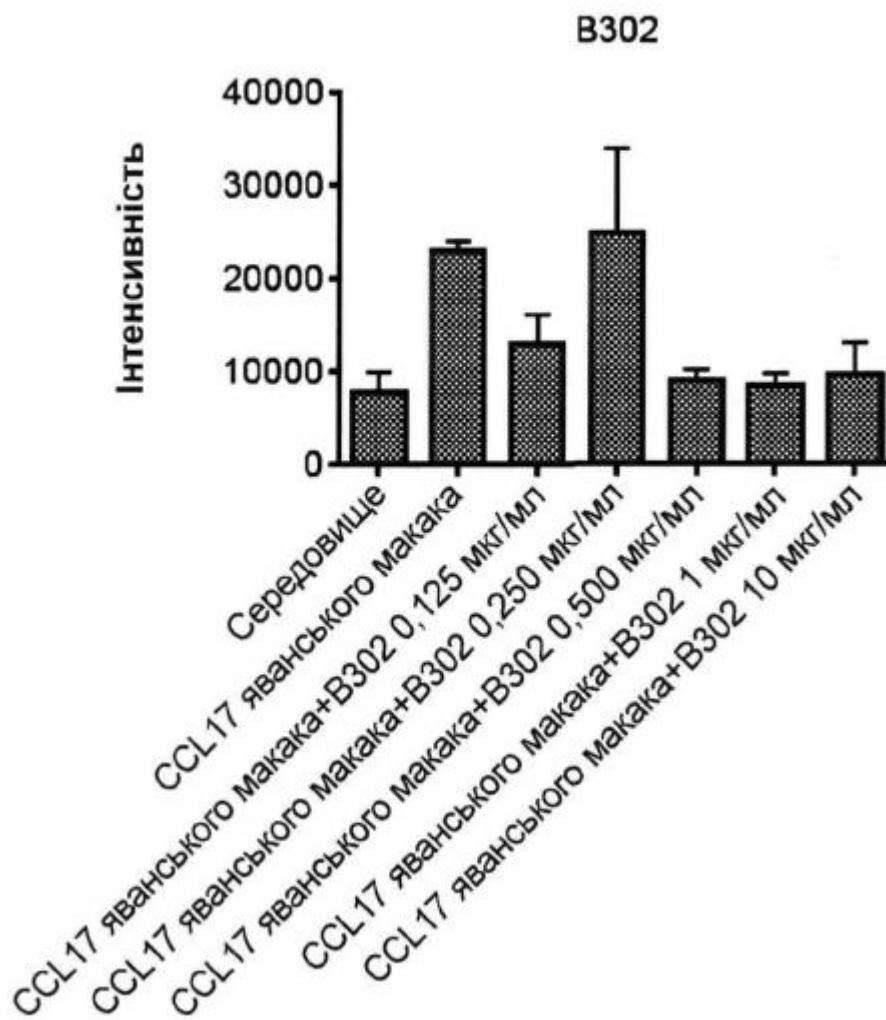
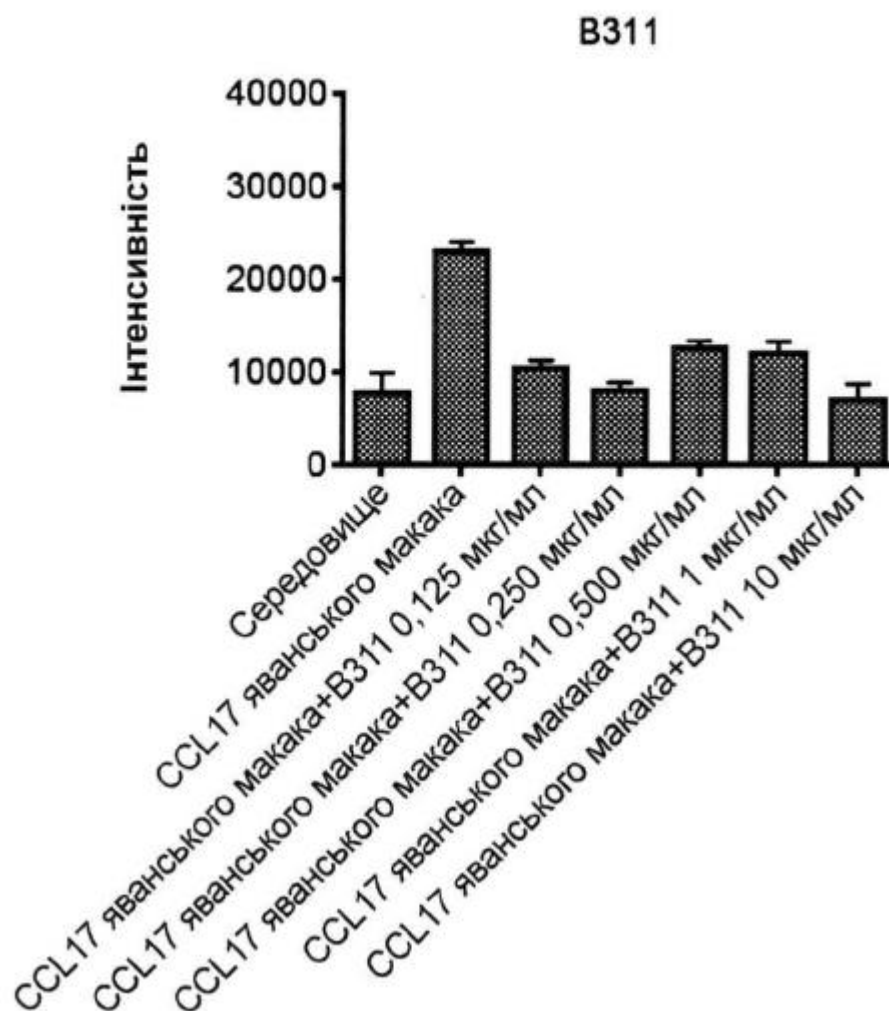


Fig. 2A.



Фіг. 2В.



Фіг. 2С.

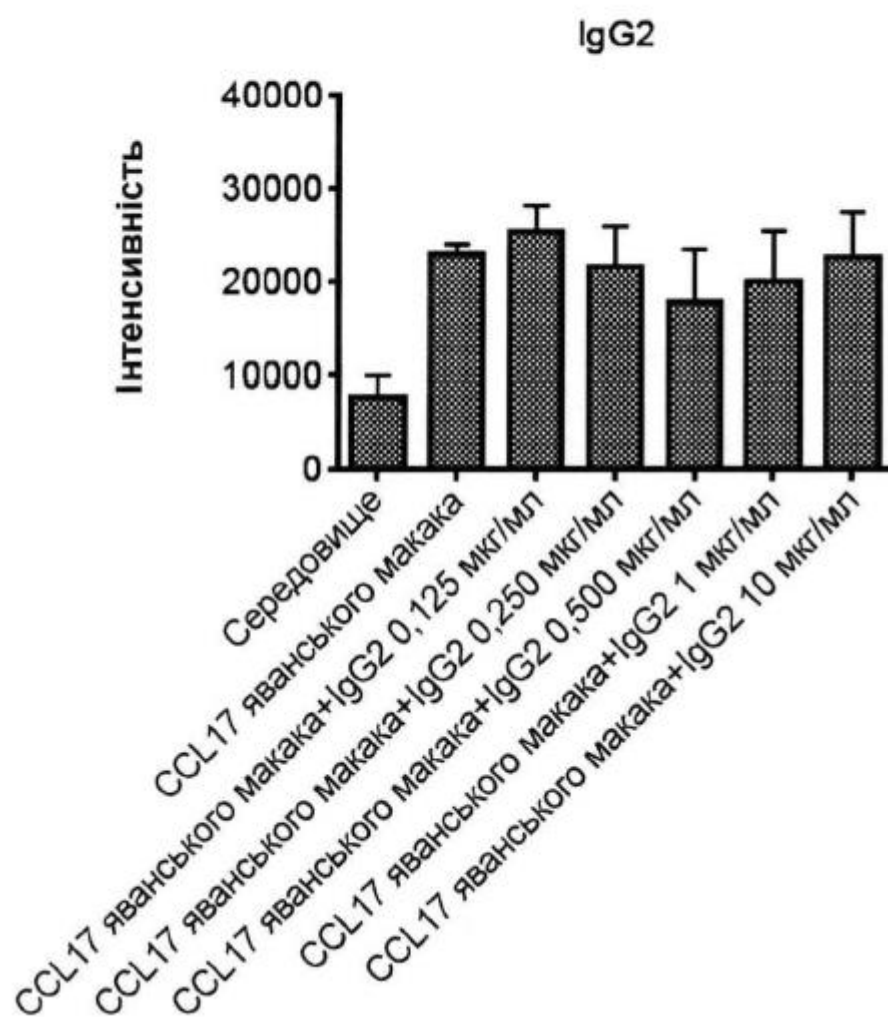


Fig. 2D.

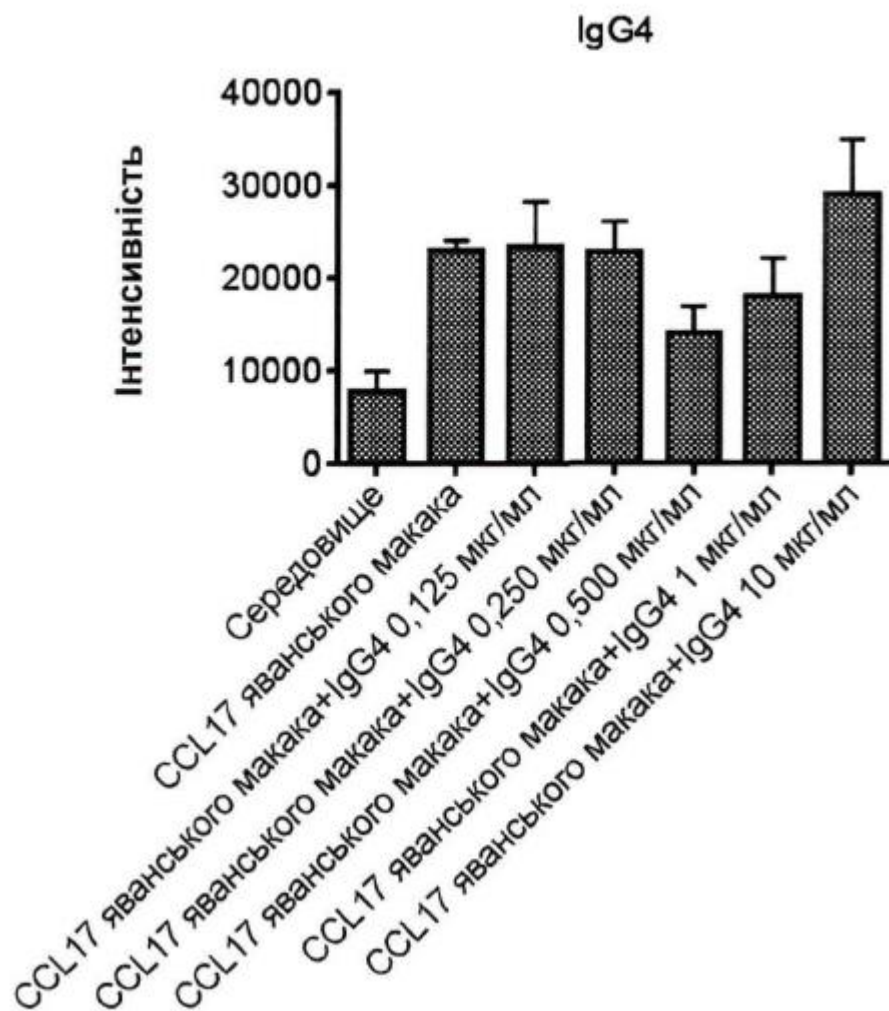


Fig. 3.

	1	30
C17B234_VH_45	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFT	
C17B235_VH_45	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFT	
C17B236_VH_45	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFT	
C17B239_VH_45	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFT	
C17B240_VH_45	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFT	
C17B241_VH_45	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFT	
C17B243_VH_45	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFT	
C17B244_VH_45	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFT	
C17B293_VH_46	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFT	
C17B294_VH_47	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFT	
	*****	
	31	60
C17B234_VH_45	SYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIDPSDS DTRY	
C17B235_VH_45	SYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIDPSDS DTRY	
C17B236_VH_45	SYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIDPSDS DTRY	
C17B239_VH_45	SYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIDPSDS DTRY	
C17B240_VH_45	SYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIDPSDS DTRY	
C17B241_VH_45	SYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIDPSDS DTRY	
C17B243_VH_45	SYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIDPSDS DTRY	
C17B244_VH_45	SYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIDPSDS DTRY	
C17B293_VH_46	SYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIDPSDS DTRY	
C17B294_VH_47	SYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIDPSDS DTRY	
	*****	

Фіг. 3, продовження

	61	90
C17B234_VH_45	SPSFQGGVTTISADKSISTAYLQWSSLKASD	
C17B235_VH_45	SPSFQGGVTTISADKSISTAYLQWSSLKASD	
C17B236_VH_45	SPSFQGGVTTISADKSISTAYLQWSSLKASD	
C17B239_VH_45	SPSFQGGVTTISADKSISTAYLQWSSLKASD	
C17B240_VH_45	SPSFQGGVTTISADKSISTAYLQWSSLKASD	
C17B241_VH_45	SPSFQGGVTTISADKSISTAYLQWSSLKASD	
C17B243_VH_45	SPSFQGGVTTISADKSISTAYLQWSSLKASD	
C17B244_VH_45	SPSFQGGVTTISADKSISTAYLQWSSLKASD	
C17B293_VH_46	SPSFQGGVTTISADKSISTAYLQWSSLKASD	
C17B294_VH_47	SPSFQGGVTTISADKSISTAYLQWSSLKASD	
	*****	
	91	121
C17B234_VH_45	TAMYYCARVGPADVWDSFDYWGQGTTLVTVSS	
C17B235_VH_45	TAMYYCARVGPADVWDSFDYWGQGTTLVTVSS	
C17B236_VH_45	TAMYYCARVGPADVWDSFDYWGQGTTLVTVSS	
C17B239_VH_45	TAMYYCARVGPADVWDSFDYWGQGTTLVTVSS	
C17B240_VH_45	TAMYYCARVGPADVWDSFDYWGQGTTLVTVSS	
C17B241_VH_45	TAMYYCARVGPADVWDSFDYWGQGTTLVTVSS	
C17B243_VH_45	TAMYYCARVGPADVWDSFDYWGQGTTLVTVSS	
C17B244_VH_45	TAMYYCARVGPADVWDSFDYWGQGTTLVTVSS	
C17B293_VH_46	TAMYYCARVGPADVWDAFDYWGQGTTLVTVSS	
C17B294_VH_47	TAMYYCARVGPADVWDTFDYWGQGTTLVTVSS	
	*****;	

Фіг. 4.

VH консенсусна послідовність (SEQ ID NO: 75)  
 EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIDPSDSDT  
 RYSPSFQGGVTTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARVGPADVWDX<sub>1</sub>FDYWGQGT  
 LVTVSS

де

X<sub>1</sub> являє собою S, A або T.

HCDR1 послідовність  
 SYWIG (SEQ ID NO: 4)

HCDR2 послідовність  
 IIDPSDSDTRYSPSFQG (SEQ ID NO: 5)

HCDR3 консенсусна послідовність  
 VGPADVWDX<sub>1</sub>FDY (SEQ ID NO: 71),

де

X<sub>1</sub> являє собою S, A або T.



Φir. 5.

	1	30
C17B234_VL_50	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVL	
C17B235_VL_51	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVL	
C17B236_VL_52	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVL	
C17B239_VL_55	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVL	
C17B240_VL_56	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVL	
C17B241_VL_57	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVL	
C17B243_VL_59	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVL	
C17B244_VL_60	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVL	
C17B293_VL_62	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVL	
C17B294_VL_62	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVL	
	*****	
	31	60
C17B234_VL_50	LSFDNINKLAWYQQKPGQPPKLLIYNASTR	
C17B235_VL_51	YSFYNFNALAWYQQKPGQPPKLLIYHASTR	
C17B236_VL_52	LSPWNSNQLAWYQQKPGQPPKLLIYGASTR	
C17B239_VL_55	SSFTNTNTLAWYQQKPGQPPKLLIYHASTR	
C17B240_VL_56	YSHVNYNALAWYQQKPGQPPKLLIYNASTR	
C17B241_VL_57	NSFTNNNALAWYQQKPGQPPKLLIYEASTR	
C17B243_VL_59	NSFDNKNDLAWYQQKPGQPPKLLIYEASTR	
C17B244_VL_60	SSITNVNDLAWYQQKPGQPPKLLIYTASTR	
C17B293_VL_62	LSFDNINKLAWYQQKPGQPPKLLIYDASTR	
C17B294_VL_62	LSFDNINKLAWYQQKPGQPPKLLIYDASTR	
	* * * ***** *	

Fig. 5, продовження

	61	90
C17B234_VL_50	ESGV	PDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVA
C17B235_VL_51	ESGV	PDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVA
C17B236_VL_52	ESGV	PDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVA
C17B239_VL_55	ESGV	PDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVA
C17B240_VL_56	ESGV	PDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVA
C17B241_VL_57	ESGV	PDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVA
C17B243_VL_59	ESGV	PDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVA
C17B244_VL_60	ESGV	PDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVA
C17B293_VL_62	ESGV	PDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVA
C17B294_VL_62	ESGV	PDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVA
	*****	

	91	113
C17B234_VL_50	VYYC	QQFYVPSTFGQGTKVEIK
C17B235_VL_51	VYYC	QQFYATPFTFGQGTKVEIK
C17B236_VL_52	VYYC	QQYYLIPSTFGQGTKVEIK
C17B239_VL_55	VYYC	QQYLYPSTFGQGTKVEIK
C17B240_VL_56	VYYC	QQYYTLPATFGQGTKVEIK
C17B241_VL_57	VYYC	QQTNSIPLTFGQGTKVEIK
C17B243_VL_59	VYYC	QQHWQTPLTFGQGTKVEIK
C17B244_VL_60	VYYC	QQYYHDPFTFGQGTKVEIK
C17B293_VL_62	VYYC	QQFYVPSTFGQGTKVEIK
C17B294_VL_62	VYYC	QQFYVPSTFGQGTKVEIK
	*****	* *****

Fig. 6A.

VL консенсусна послідовність (SEQ ID NO: 76):

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLX<sub>1</sub>SX<sub>2</sub>NX<sub>3</sub>NX<sub>4</sub>NX<sub>5</sub>LAWYQQKPGQPPKLLIY  
X<sub>6</sub>ASTRESGVDPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQX<sub>7</sub>X<sub>8</sub>X<sub>9</sub>X<sub>10</sub>PX<sub>11</sub>TFGQGT  
KVEIK; де

X<sub>1</sub> являє собою L, Y, S або N;

X<sub>2</sub> являє собою F, P, H або I;

X<sub>3</sub> являє собою D, Y, W, T або V;

X<sub>4</sub> являє собою I, F, S, T, Y, N, K або V;

X<sub>5</sub> являє собою K, A, Q, T або D;

X<sub>6</sub> являє собою N, H, G, E, T або D;

X<sub>7</sub> являє собою F, Y, T або H;

X<sub>8</sub> являє собою Y, L, N або W;

X<sub>9</sub> являє собою S, A, L, I, T, Q або H;

X<sub>10</sub> являє собою V, T, I, Y, L або D; i

X<sub>11</sub> являє собою S, F, A або L.

Фіг. 6В.

LCDR1 консенсусна послідовність:

KSSQSVLX<sub>1</sub>SX<sub>2</sub>X<sub>3</sub>NX<sub>4</sub>NX<sub>5</sub>LA (SEQ ID NO: 72),

де

X<sub>1</sub> являє собою L, Y, S або N;

X<sub>2</sub> являє собою F, P, H або I;

X<sub>3</sub> являє собою D, Y, W, T або V;

X<sub>4</sub> являє собою I, F, S, T, Y, N, K або V; і

X<sub>5</sub> являє собою K, A, Q, T або D;

LCDR2 консенсусна послідовність

X<sub>1</sub>ASTRE (SEQ ID NO: 73),

де

X<sub>1</sub> являє собою N, H, G, E, T або D.

LCDR3 консенсусна послідовність

QQX<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>PX<sub>5</sub>T (SEQ ID NO: 74);

де

X<sub>1</sub> являє собою F, Y, T або H;

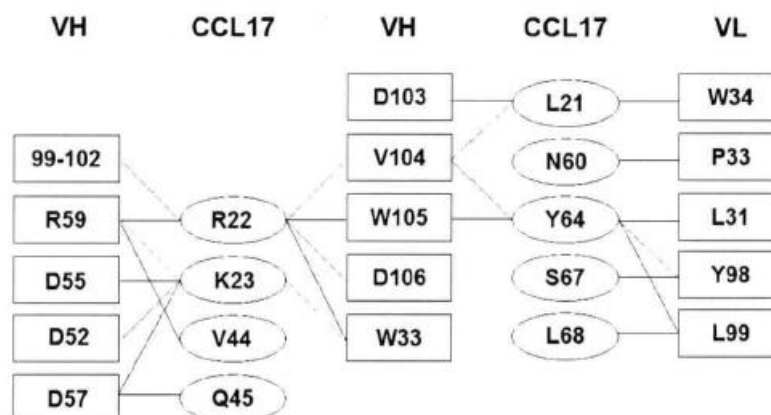
X<sub>2</sub> являє собою Y, L, N або W;

X<sub>3</sub> являє собою S, A, L, I, T, Q або H;

X<sub>4</sub> являє собою V, T, I, Y, L або D; і

X<sub>5</sub> являє собою S, F, A або L.

Фіг. 7.



---

Комп'ютерна верстка М. Мацело

---

Міністерство розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України,  
вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

---

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601